

Nghiên cứu hoạt tính kháng nấm *Aspergillus flavus* và *Aspergillus niger* của tinh dầu bạch đàn và tinh dầu sả

Lê Thị Hoàng Oanh*, Vũ Hà Giang

Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN,
334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 29 tháng 9 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 31 tháng 10 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 16 tháng 11 năm 2017

Tóm tắt: Nấm mốc gây hư hỏng thực phẩm và một số loại còn sinh ra độc tố làm ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Việc sử dụng các loại thuốc diệt nấm có nguồn gốc hóa học gây tác hại cho sức khỏe con người nên cần tìm giải pháp hạn chế sử dụng chúng. Tinh dầu có tính kháng vi sinh vật mạnh nên được ứng dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm như là giải pháp thay thế cho các chất bảo quản hóa học và đáp ứng nhu cầu sử dụng các sản phẩm tự nhiên của con người. Nghiên cứu này nhằm xác định khả năng ức chế nấm *Aspergillus flavus* và *Aspergillus niger* của tinh dầu bạch đàn liễu (*Eucalyptus exserta*) và sả chanh (*Cymbopogon citratus*). Bằng phương pháp macrodilution, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của tinh dầu bạch đàn và sả đối với *Aspergillus flavus* và *Aspergillus niger* được xác định lần lượt là 0,6 $\mu\text{L}/\text{mL}$; 0,15 $\mu\text{L}/\text{mL}$; 1,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và 0,3 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Kết hợp 2 loại tinh dầu đã làm giảm giá trị MIC của từng loại. Chỉ số nồng độ ức chế thành phần (FIC) tìm được đối với *Aspergillus flavus* và *Aspergillus niger* là 0,77 và 0,75; cho thấy việc kết hợp hai loại tinh dầu thể hiện tác dụng tăng cường hoạt tính kháng nấm.

Từ khóa: Tinh dầu bạch đàn, tinh dầu sả, MIC, FIC, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*.

1. Mở đầu

Nấm mốc thường phát triển mạnh ở khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới do có các điều kiện phù hợp về nhiệt độ và độ ẩm. Trong quá trình sinh trưởng một số loại nấm có khả năng sinh ra độc tố. Cho đến nay, đã biết có hơn 300 loại độc tố nấm được sinh ra chủ yếu bởi 3 chi: *Aspergillus*, *Fusarium* và *Penicillium* [1]. Trong các loại độc tố nấm, Aflatoxin có độc tính và khả năng gây ung thư cao, phần lớn do *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) sinh ra. *Aspergillus niger* (*A. niger*) lại gây hiện tượng

mốc đen trên một số loại ngũ cốc, gia vị như hành tỏi. Chúng có khả năng sinh ra độc tố Orchatoxin A, gây độc đối với các sinh vật tiêu thụ. Bên cạnh đó, nấm mốc cũng gây ra nhiều thiệt hại về kinh tế. Theo tổ chức Nông lương Thế giới (FAO), ước tính mỗi năm có khoảng 1 tỉ tấn thực phẩm trên toàn cầu bị hỏng do độc tố nấm sinh ra trong quá trình bảo quản [2].

Do tác hại lên sức khỏe và môi trường của các chất bảo vệ thực vật hoá học, việc sử dụng các hợp chất thiên nhiên trong kiểm soát thực phẩm ngày càng được chú trọng. Những năm gần đây, nhu cầu về các hợp chất thiên nhiên trong bảo quản thực phẩm chống hư hỏng và vi sinh vật gây bệnh cũng tăng cao [3]. Nhiều tinh dầu thể hiện hoạt tính mạnh mẽ trong ức chế vi sinh vật nên được nghiên cứu và có tiềm năng

* Tác giả liên hệ: ĐT: 84-964720795.

Email: hoangoanh.le@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4153>

ứng dụng làm chất kiểm soát vi sinh vật trên thực phẩm.

Tinh dầu là hỗn hợp phức tạp của các chất bay hơi và không bay hơi thường ưa mỡ như các alkaloid, flavonoid, isoflavon, monoteren, phenolic axit, carotenoid và aldehyt. Bản chất hoá học đa dạng và phức tạp này khiến cho chúng có phổ hoạt động rộng và càng được quan tâm ứng dụng trong bảo quản thực phẩm. Tuy nhiên, liều lượng tinh dầu sử dụng thường lớn, gây hạn chế về kinh tế và có tác động tiêu cực đến cảm quan của sản phẩm. Để giải quyết vấn đề này, các tinh dầu có thể được trộn lẫn với nhau [4]. Cho đến nay, có hơn 3000 loại tinh dầu khác nhau và hơn 300 loại được quan tâm thương mại hoá; nhưng nghiên cứu về tác dụng của hỗn hợp tinh dầu chưa có nhiều.

Do vậy, trong nghiên cứu này khả năng kháng nấm của tinh dầu bạch đàn liễu (*Eucalyptus exserta*) và tinh dầu sả chanh (*Cymbopogon citratus*) ở dạng đơn lẻ và dạng kết hợp với nhau được xác định để đánh giá khả năng thay thế hoá chất độc hại của chúng trong bảo quản thực phẩm.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Bào tử nấm *A. flavus* và *A. niger* được thu trên môi trường PDA sau 5 ngày nuôi cấy ở 27°C (giống nấm *A. flavus* và *A. niger* được cung cấp bởi khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên). Tinh dầu được thu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước từ lá bạch đàn liễu (*Eucalyptus exserta*) và thân sả chanh (*Cymbopogon citratus*).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết tinh dầu

Tinh dầu bạch đàn và tinh dầu sả được tách chiết bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước. Nguyên liệu được thu hái, rửa sạch, để ráo nước và cắt nhỏ tới kích thước khoảng 0,5 cm. Nguyên liệu sau khi cắt nhỏ được trộn với nước theo tỉ lệ 5:1 về khối lượng và tiến hành chưng cất trong thời gian 3 giờ. Tinh dầu thu

được sẽ được bảo quản trong lọ tối màu ở 4°C cho đến khi tiến hành thí nghiệm.

2.2.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu bạch đàn và tinh dầu sả

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) - nồng độ nhỏ nhất có khả năng gây ức chế sinh trưởng của tinh dầu đối với *A. flavus* và *A. niger* được xác định bằng phương pháp macro-dilution [5]. Đầu tiên, tinh dầu được cho vào các ống nghiệm có nắp kín khí để được dãy nồng độ chia đôi 80; 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,2; 0,6; 0,3; 0,15; 0,08 và 0,04 µL/mL. Mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần. Để tăng khả năng hoà tan của tinh dầu, còn 96° được sử dụng với hàm lượng 0,2% thể tích tổng môi trường nuôi cấy (hàm lượng này không gây ức chế nấm). Tiếp đó, thêm môi trường PDA đã thanh trùng vào sao cho vừa đủ thể tích 1 mL và trộn đều trong 20 giây bằng máy Vortex. Đến khi thạch đông rắn, dùng pipet hút 20 µL bào tử (mật độ 10⁶ bào tử/mL) nhỏ lên mặt thạch. Nuôi trong tủ ẩm ở nhiệt độ 27°C để quan sát sự phát triển của nấm mốc và xác định giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) sau 72h. Thí nghiệm đối chứng tiến hành tương tự nhưng không có tinh dầu trong môi trường nuôi cấy.

2.2.3. Xác định chỉ số nồng độ ức chế thành phần

Chỉ số nồng độ ức chế thành phần (FIC) được dùng để xác định loại hình ức chế của hỗn hợp các tinh dầu. Chỉ số này được xác định bằng phương pháp checkerboard dilution [4].

$$FIC = FIC(A) + FIC(B)$$

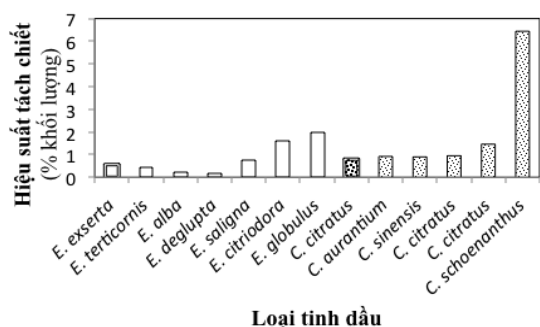
Trong đó:

$$FIC(A) = \frac{MIC(A) \text{ khi sử dụng kết}}{MIC(A) \text{ khi sử dụng đơ}}$$

$$FIC(B) = \frac{MIC(B) \text{ khi sử dụng kết}}{MIC(B) \text{ khi sử dụng đơ}}$$

MIC là nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu tương ứng.

FIC ≤ 0,5 thể hiện tác động cộng hợp (synergistic effect); 0,5 < FIC ≤ 1 thể hiện tác động tăng cường (additive effect); 1 < FIC ≤ 4 thể hiện tác động trung lập (indifference) hoặc FIC > 4 thể hiện tác động đối kháng (antagonism) [4].



Hình 1. Hiệu suất tách chiết tinh dầu từ một số loại bạch đàn và sả.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Hiệu suất tách chiết tinh dầu

Hiệu suất tách chiết tinh dầu bạch đàn liễu và sả chanh lần lượt là 0,56% và 0,8%.

So sánh hiệu suất tách chiết tinh dầu trong nghiên cứu và một số loại bạch đàn và sả bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước (Hình 1) cho thấy, hiệu suất tách chiết tinh dầu bạch đàn liễu trong nghiên cứu có giá trị trung bình. Hiệu suất tách chiết tinh dầu bạch đàn dao động trong khoảng 0,2-2,0% [6]. Tuy nhiên, hiệu suất chiết tách tinh dầu sả chanh trong nghiên cứu thấp hơn so với ở các nghiên cứu khác trên sả chanh cũng như các loài sả khác [7-9].

Hiệu suất tách chiết chênh lệch nhau có thể được giải thích bằng nhiều yếu tố như điều kiện tách chiết khác nhau, hàm lượng tinh dầu của các thực vật khác nhau, bộ phận dùng làm nguyên liệu tách chiết khác biệt, và độ tuổi của nguyên liệu khác nhau [6].

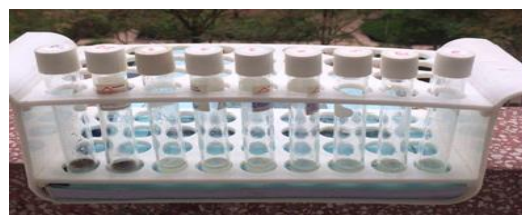
3.2. Khả năng ức chế của tinh dầu bạch đàn và tinh dầu sả đối với *A. niger* và *A. flavus* khi sử dụng đơn lẻ

Hình 2 minh họa sự ức chế của tinh dầu bạch đàn đối với *A. flavus* và *A. niger*.

Ống đầu tiên phía bên trái là mẫu đối chứng, các ống tiếp theo có chứa tinh dầu với nồng độ giảm/tăng từ 80 đến 0,04 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Sự ức chế của tinh dầu đối với cả 2 loại nấm ở cả 2 mẫu lặp lại cùng một nồng độ là như nhau.



(a)



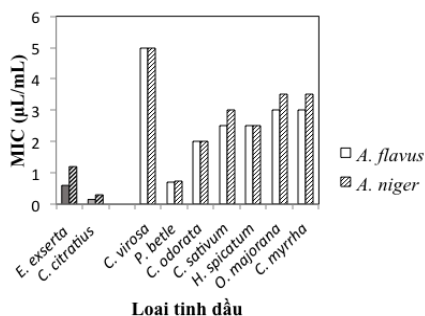
(b)

Hình 2. Giá trị MIC của tinh dầu bạch đàn đối với *A. flavus* (a) và *A. niger* (b).

Sau 72h, 2 loại nấm mốc phát triển tốt ở các mẫu đối chứng. Mẫu nuôi cấy *A. flavus* và mẫu nuôi cấy *A. niger* có nồng độ tinh dầu bạch đàn và tinh dầu sả lần lượt nhỏ hơn 0,6 và 1,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và 0,15 và 0,3 $\mu\text{L}/\text{mL}$ có sự phát triển của nấm với mật độ tương tự nhau và ít hơn mẫu đối chứng.

Như vậy, *A. flavus* bị ức chế bởi tinh dầu sả ở nồng độ từ 80 đến 0,15 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và tinh dầu bạch đàn ở nồng độ từ 80 đến 0,6 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Giá trị MIC của tinh dầu sả và tinh dầu bạch đàn đối với *A. flavus* lần lượt là 0,15 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và 0,6 $\mu\text{L}/\text{mL}$. *A. niger* bị ức chế bởi tinh dầu sả ở nồng độ từ 80 đến 0,3 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và tinh dầu bạch đàn ở nồng độ từ 80 đến 1,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Nồng độ tinh dầu sả ở 0,3 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và tinh dầu bạch đàn ở 1,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ là các giá trị MIC đối với *A. niger*. MIC của cả 2 tinh dầu đối với *A. niger* đều cao hơn đối với *A. flavus*. Điều này cho thấy *A. niger* khó bị ức chế hơn.

MIC của một số loại tinh dầu đối với *A. flavus* và *A. niger* được so sánh với MIC của 2 tinh dầu trong nghiên cứu ở Hình 3. Số liệu cho thấy tinh dầu sả chanh trong nghiên cứu có khả năng kháng tốt nhất đối với 2 loại nấm trên. Tinh dầu bạch đàn liễu có hoạt tính kém hơn tinh dầu sả chanh nhưng cao hơn các tinh dầu còn lại (trừ tinh dầu *Piper betle*) đối với cả *A. flavus* và *A. niger*.



Hình 3. Giá trị MIC của một số loại tinh dầu đối với *A. flavus* và *A. niger* [5, 11, 12].

MIC của tất cả các tinh dầu đối với *A. niger* đều lớn hơn hoặc bằng MIC đối với *A. flavus*. Điều này tiếp tục khẳng định *A. niger* khó bị ức chế bởi các tinh dầu hơn so với *A. Flavus*.

Có sự khác nhau về giá trị MIC là do sự khác nhau về thành phần hoá học của tinh dầu. Cấu trúc hoá học và các nhóm chức của các chất thành phần trong tinh dầu đóng vai trò quan trọng và ảnh hưởng đến hoạt tính kháng nấm của chúng. Đặc tính ưa mỡ của khung hydrocarbon và tính ưa nước của các nhóm chức là những yếu tố quan trọng liên quan đến hoạt tính kháng nấm của tinh dầu. Thứ tự giảm dần về hoạt tính kháng nấm của các thành phần trong tinh dầu là: phenol > aldehyt > keton > alcohol > ester > hydrocacbon [10].

Tinh dầu bạch đàn chứa thành phần chính là 1,8 cineol có bản chất là eter mạch vòng và monoterpenoid. Ngoài hợp chất này, các thành phần quan trọng khác của các loại tinh dầu bạch đàn là globulol, limonen, terpineol, pinen, và cymen [8]. Trong khi đó, tinh dầu sả chanh có thành phần chính gồm citral với hàm lượng lên đến 90% và limonen với khoảng 2,5% (nhỏ hơn so với ở tinh dầu bạch đàn) [6]. Có thể bản chất aldehyt của citral đã khiến cho hoạt tính chống nấm của tinh dầu sả chanh mạnh hơn tinh dầu bạch đàn.

3.3. Khả năng ức chế của hỗn hợp tinh dầu bạch đàn và tinh dầu sả đối với *A. flavus* và *A. Niger*

Giá trị MIC của tinh dầu bạch đàn và sả khi sử dụng ở dạng đơn lẻ và dạng kết hợp được minh hoạ ở Bảng 1.

Bảng 1. MIC đối với *A. flavus* và *A. niger* của tinh dầu sả và bạch đàn ở dạng đơn lẻ và kết hợp

Loại nấm	MIC của tinh dầu (µL/mL)			
	Bạch đàn (ĐL)	Bạch đàn (KH)	Sả (ĐL)	Sả (KH)
<i>A. flavus</i>	0,60	0,30	0,15	0,04
<i>A.niger</i>	1,20	0,30	0,30	0,15

KH: kết hợp, DL: đơn lẻ.

MIC của tinh dầu sả và bạch đàn trong hỗn hợp đối với *A. flavus* lần lượt là 0,04 µL/mL và 0,3 µL/mL. Kết quả này đối với *A. niger* lần lượt là 0,15 µL/mL và 0,3 µL/mL. MIC của từng tinh dầu thành phần đã giảm từ 2 đến 4 lần khi sử dụng kết hợp với nhau. Đồng thời, hàm lượng tổng của 2 loại tinh dầu lại giảm 1,7-2,2 lần. Tuy nhiên so với trường hợp chỉ dùng tinh dầu sả, hàm lượng tổng 2 tinh dầu vẫn lớn hơn. Giống như trường hợp tinh dầu được dùng đơn lẻ, hỗn hợp tinh dầu cũng cần liều lượng lớn hơn để ức chế *A. niger* so với *A. flavus*. Chỉ số FIC của hỗn hợp tinh dầu bạch đàn và sả đối với *A. flavus* và *A. niger* lần lượt là 0,77 và 0,75. Vậy khi kết hợp với nhau, hỗn hợp 2 tinh dầu có hoạt tính tăng cường đối với cả hai loại nấm *A. flavus* và *A. niger* (additive effect).

Tác động tăng cường và đối kháng của các cặp tinh dầu đã được phát hiện trong một số nghiên cứu [4]. Bên cạnh đó, cặp tinh dầu carvacrol và thymol đã được chứng minh có tác động cộng hợp đối với *A. flavus* và tăng cường với *A. niger* [13, 14]. Tác động cộng hợp được giải thích do hoạt động phối hợp của các chất thành phần trong tinh dầu. Các thành phần có hàm lượng rất nhỏ trong tinh dầu lại có vai trò quan trọng để làm tăng cường hoạt tính của các thành phần chính. Ví dụ, khả năng phản ứng của các hydrocacbon với màng tế bào vi sinh vật làm tăng cường khả năng thâm của các terpenoid, phenol terpene, phenylpropanoid, và cồn vào trong tế bào. Tác động tăng cường nghĩa là tác động của hỗn hợp tinh dầu bằng tổng tác động của từng tinh dầu thành phần. Trong trường hợp này, các thành phần của các

loại tinh dầu không có phản ứng gây biến đổi khả năng kháng nấm của từng loại.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy tinh dầu bạch đàn liễu và sả chanh có hoạt tính kháng mạnh đối với *A. flavus* và *A. niger*. Hoạt tính của tinh dầu sả chanh mạnh hơn của tinh dầu bạch đàn liễu và cả hai đều mạnh hơn so với nhiều loại tinh dầu khác. Sự kết hợp 2 tinh dầu này đã tạo ra hiệu quả tăng cường hoạt tính kháng nấm của chúng; giảm tổng liều lượng tinh dầu bạch đàn liễu và tinh dầu sả cần sử dụng nhằm gây hiệu quả ức chế hoàn toàn đối với 2 loại nấm. Như vậy, việc ứng dụng 2 loại tinh dầu này trong bảo quản thực phẩm là rất tiềm năng. Việc kết hợp từng tinh dầu này với các tinh dầu khác cần tiếp tục được nghiên cứu.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được sự giúp đỡ về cơ sở vật chất của phòng thí nghiệm Khoa Môi trường, Khoa Hoá học và Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tài liệu tham khảo

- [1] J.L.Richard, Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – An overview, International Journal of Food Microbiology 119 (2007) 3.
- [2] B. Prakash, A. Kedia, P. K. Mishra, N.K. Dubey, Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities e Potentials and challenges, Food Control 47 (2015) 381.
- [3] El Asbahani, A. Miladi, K. Badri, W. Sala, M. Addi, E.H.A. Casabianca, H. El Mousadik, A. Hartmann, D. Jilale, A. Renaud, F.N.R. Elaissari, A., Essential oils: from extraction to encapsulation, Int. J. Pharm. 483 (2015) 220.
- [4] M.Nikkhah, M.Hashemi, M.B. Habibi, R. Farhoosh, Synergistic effects of some essential oils against fungal spoilage on pear fruit, Int J Food Microbiol. 18 (2017) 285.
- [5] B. Prakash, S. Ravindra, P. Singh, A. Kumar, K.P. Mishra, K.N. Dubey, Efficacy of chemically characterized *Piper betle* L. essential oil against fungal and aflatoxin contamination of some edible commodities and its antioxidant activity, International Journal of Food Microbiology 142 (2010) 114.
- [6] M.N. Boukhatem, F. M. Amine, A. Kameli, F. Saidi, K. Walid, S. B. Mohamed, Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin, International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy Online 36 (2014) 303.
- [7] M.Ranitha, H.N. Abdurahman, S.A. Ziad, H.N. Azhari, S.R. Thana, Comparison of Essential Oil of Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*) Extracted with Microwave-Assisted Hydrodistillation (MAHD) and Conventional Hydrodistillation (HD) Method, Australian Journal of Basic and Applied Sciences 8(19) (2014) 72.
- [8] N. Sonker, A.K. Pandey, P. Singh, N.N. Tripathi, Assessment of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Essential Oil as Herbal Preservatives Based on Antifungal, Antiaflatoxin, and Antiochratoxin Activities and In Vivo Efficacy during Storage, Journal of Food Science 79(4) (2014) 628.
- [9] M.R. Amina, L.B. Aliero, M.A. Gumi, Phytochemical screening and oil yield of a potential herb, camel grass (*Cymbopogon schoenanthus* Spreng.), Central European Journal of Experimental Biology 2(3) (2013) 15.
- [10] D. Kalemba, A. Kunicka, Antibacterial and antifungal properties of essential oils, Current Medicinal Chemistry 10(10) (2003) 813.
- [11] B. Prakash, P. Singh, A. Kedia, N.K. Dubey, Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and in vivo efficacy in food system, Food Research International 49 (2012) 201.
- [12] J. Tian, X. Ban, H. Zeng, J. He, B. Huang, Y. Wang, Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak, Int J Food Microbiol 145(2-3) (2011) 464.
- [13] T. Stević, T. Berić, K. Šavikin, M. Soković, D. Gođevac, I. Dimkić, S. Stanković, Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant *Ivica Dimki c sa Stankovi c*, Ind. Crop. Prod. 55 (2014) 116.
- [14] F. Hossain, P. Follett, K. Dang Vu, M. Harich, S. Salmieri, M. Lacroix, Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food, Food Microbiol 53 (2016) 24.

Antifungal Activities of Messmate and Lemongrass Essential Oils Against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*

Le Thi Hoang Oanh, Vu Ha Giang

Faculty of Environmental Science, VNU University of Science,
334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

Abstract: Molds damage food and some produce toxins that affect human health. The use of chemical fungicides is harmful to human health and should be limited. Essential oils having strong anti-microbial properties are applied in the food industry as an alternative to chemical preservatives and meet the human needs of using natural products. This study aimed to determine the inhibition capacity of messmate (*Eucalyptus exserta*) and lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oils on *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*. By mean of the macrodilution method, the minimum inhibitory concentrations (MICs) of messmate and lemongrass essential oils against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* were found to be 0.6 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 0.15 $\mu\text{L}/\text{mL}$; and 1.2 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 0.3 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectively. Mixture of two essential oils reduced the MIC of each fraction. The fractional inhibitory concentrations (FICs) index found for *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* were 0.77 and 0.75, respectively; expressing the additive effect of the mixture of these two essential oils.

Keywords: Eucalyptus essential oil, lemongrass essential oil, MIC, FIC, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*.