بررسی تأثیر اسانس سه گونه مرزه (*Satureja mutica*، *S. edmondi* و *S. bachtiarica*) بر سالمونلا پاراتیفی

فاطمه سفیدکن*[1]، فاطمه عسکری[1]، لیلا صادق زاده[2] و پرویز اولیاء[3]

[1] تهران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

[2] تهران، شرکت پژوهشگران نانوفناوری

[3] تهران، دانشگاه شاهد

تاریخ دریافت: 86/8/22 تاریخ پذیرش: 87/11/21

چکیده

امروزه بیش از 22000 سویه سالمونلا، به عنوان عوامل ایجاد بیماریهای عفونی تشخیص داده شده اند. با شناسایی سویه های مختلف سالمونلا، تدریجا ارگانیسم های مقاوم به دارو نیز پدیدار شده و بر معضلات درمانی، افزوده است. هرچند این پدیده را به علل مختلفی نسبت داده اند ولی یکی از علل مهم آن را مصرف گسترده آنتی بیوتیکها در حیوانات ذکر کرده اند. با توجه به مقاوم بودن سویه های مختلف سالمونلا به بسیاری از آنتی بیوتیکهای رایج، در حال حاضر، یافتن داروهای مؤثر بر سالمونلا به ویژه ترکیبهای طبیعی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در این تحقیق اثر اسانس سه گونه مرزه بر علیه سالمونلا پاراتیفی A و B مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور، سرشاخه گلدار *S. mutica* , *S. bachtiarica* و *S. edmondi* در مرحله گلدهی کامل از رویشگاههای طبیعی آنها در استانهای یزد، خراسان و کرمانشاه جمع آوری گردید و پس از خشک شدن در محیط آزمایشگاه، به روش تقطیر با آب، مورد اسانس گیری قرار گرفت. سپس ترکیبهای تشکیل دهنده اسانسها با استفاده از کروماتوگرافی گازی تجزیه ای (GC) و گازکروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) و محاسبه اندیس های بازداری، مورد شناسایی قرار گرفت. برای بررسی اثر ضد میکروبی اسانسها، با استفاده از DMSO غلظتهای 2/5 درصد و 5 درصد از اسانس تهیه شده و به روش دیسک دیفیوژن اثر این غلظتها بر روی رشد دو نوع میکروب (*Salmonella paratyphi*) با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد به دست آمد. میکروبهای مورد مطالعه سالمونلا پارا تیفی A و B. بودند. نتایج نشان داد که بازده اسانس *S. bachtiarica* , *S. mutica* و *S. edmondi* به ترتیب 2/15 ، 2/31 و 1/0 درصد بود. کارواکرول (66/5 درصد) و پارا–سیمن (15/2 درصد) اجزای اصلی اسانس *S. bachtiarica* ، کارواکرول (30/9 درصد)، تیمول (26/5 درصد)، گاما–ترپینن (14/9 درصد) و پاراسیمن (10/3 درصد) ترکیبهای عمده در اسانس *S. mutica* و پارا–سیمن (61/1 درصد)، گاما–ترپینن (9/6 درصد) و تیمول (5/0 درصد) بیشترین ترکیبها در اسانس *S. edmondi* بودند. نتایج حاصل از میانگین سه تکرار این مرحله نشان داد که غلظتهای 2/5 و 5 درصد اسانسها باعث ایجاد هاله عدم رشد برای سالمونلا پارا تیفی A به ترتیب در مورد *S. bachtiarica* به میزان 8 و11، در مورد *S. mutica* 8 و 10 و در مورد *S. edmondi* 7 و 11 میلی متر و به همان ترتیب هاله عدم رشد برای سالمونلا پارا تیفی B (9 و 11) ، (8 و 12) و (6 و 12) میلی متر شده است. نتایج حاصل نشان از قدرت مهار کنندگی و میکروب کشی بالای اسانسهای فوق داشت. به نظرمی‌رسد حضور تیمول، کارواکرول، پارا–سیمن و گاما–ترپینن در اسانسهای مورد مطالعه می‌تواند باعث وجود خواص ضد میکروبی در آنها باشد.

واژه های کلیدی: سالمونلا پاراتیفی، اثرات ضدمیکروبی، اسانس، *Satureja mutica*, *Satureja edmondi, Satureja bachtiarica,* تیمول، کارواکرول.

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: 5-44195901 پست الکترونیک:frsef@rifr.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سالمونلا: دانیل سالمون، در سال 1885 اوّلین سالمونلا را شناسایی و گزارش نمود ولی امروزه بیش از 22000 سویه سالمونلا، تشخیص داده شده و هنوز دفتر سالمونلا بسته نشده است. با شناسایی سویه های مختلف سالمونلا، تدریجاً ارگانیسم های مقاوم به دارو نیز پدیدار شده و بر معضلات درمانی، افزوده است و هرچند این پدیده را به علل مختلفی نسبت داده اند ولی یکی از علل مهم آن را مصرف گسترده آنتی بیوتیکها در حیوانات ذکر کرده اند (4).

در ایالات متحده، طی مطالعه ای با نمونه گیـری مناسب از گاوهـا، خوکها، مرغها و بوقلمونها حدود 59/6 درصد سالمونلاهای جدا شده، نسبت به تمامی آنتی بیوتیکهای مورد مطالعه، حساس بوده، 11/8 درصد نسبت به یک آنتی بیوتیک و 13/5 درصد نسبت به دو آنتی بیوتیک، مقاوم بوده اند. در این مطالعه، مقاومت نسبت به تتراسیکلین 34 درصد، سولفامتوکسازول 28 درصد، تیکارسیلین و آمپی سیلین 13 درصد، نئومایسین 8 درصد و پیپراسیلین 7 درصد به دست آمده است. همچنین بسیاری از سویه های سالمونلای بررسی شده در فدراسیون روسیه نسبت به کلرامفنیکل، تتراسیکلین و آمینوگلیکوزیدها مقاوم بوده، به طوری که شیوع مقاومت نسبت به کلرامفنیکل 48-20 درصد، تتراسیکلین 68-31 درصد و نئومایسین 40-35 درصد گزارش گردیده است و روند سالانه، نشان دهنده افزایش میزان مقاومت، بوده است (4).

طی مطالعه ای در تهران 40 سویه سالمونلا تیفیِ جدا شده از بیماران به سه داروی رده اوّل (کلرامفنیکل، آمپی سیلین و کوتریموکسازول) مقاوم بوده اند. همچنین طی مطالعه ای که در تبریز صورت گرفته است میزان مقاومت به یک دارو را در رابطه با سالمونلا تیفی، بالغ بر 68/4 درصد و در ارتباط با پاراتیفی 70/4 درصد گزارش کرده اند (2).

سالمونلا پاراتیفی باعث ایجان تب روده در انسان می شود. عامل تیفوئید، نوعی باسیل گرم منفی متحرّک، از خانواده آنتروباکتریاسه ها است که دارای آنتی‌ژن فلاژله ای (H) و دیواره سلولی (O) و پلی ساکاریدی (Vi) در کپسول خود می باشد. زنجیره پلی ساکاریدی جانبی آنتی‌ژن O موجب ویژگی سرولوژیک میکروارگانیسم می گردد و در ویرولانس آن نقش اساسی دارد و لذا سالمونلاهایی غیر از سالمونلا تیفی، سالمونلا پاراتیفی A، سالمونلا پاراتیفی B و پاراتیفی C قادر به ایجاد تب روده در انسان، نمی باشند.

ضمناً مطالعات انجام شده در بخشهای اطفال دانشگاه شهید بهشتی، نشان دهنده آنست که مقاومت سالمونلا تیفی نسبت به آنتی بیوتیکهای ردهٔ اول، در سال 1372، 1/4 درصد ولی در سال 1373 به 23/5 درصد افزایش یافته است (2).

تحقیقات نشان داده که اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) قدرت مهار کنندگی سالمونلا پاراتیفی A و B را دارا می باشد (5)

همچنین در تحقیق دیگری اثر ضد میکروبی اسانس دو گونه مرزه به نامهای *Satureja khuzistanica* و *S. bachtiarica* بر روی تعدادی از باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که اسانس هر دو گونه دارای اثر ضد میکروبی می باشند (3).

مطالعه اثر اسانس *S. Montana* و *S. cuneifolia* بر علیه 9 میکروارگانیسم نشان داده که هر دو اسانس دارای اثرات ضد باکتری و ضد قارچی هستند (8).

در این تحقیق اثر اسانس سه گونه مرزه بر سالمونلا پاراتیفی A و B مورد مطالعه قرار گرفت.

مرزه: جنس مرزه با نام علمی *Satureja* غالباً در مناطق مدیترانه ای پراکندگی دارد. این جنس در ایران دارای 15 گونه می‌باشد که 9 گونه از آنها به نامهای *S. edmondi, S.*

Archive of SID

www.SID.ir

sahendica, S. kallarica, S. bachtiarica, S. rechingeri, S. intermedia, S. isophylla, S. atropatana, S. *khuzistanica* انحصاری کشور هستند و سایر گونه ها علاوه بر ایران در تالش، ترکمنستان، ترکیه، قفقاز، ماورای قفقاز و عراق نیز می رویند. گونه های این جنس بیشتر در دامنه های کوهستانی مناطق شمال، شمال غربی، شمال شرقی، مرکزی و جنوب غربی ایران پراکندگی داشته و روی صخره های آهکی و یا دامنه های سنگلاخی می رویند (12).

S. mutica روی صخره‌های آهکی در شمال شرقی ایران می‌روید. گونه *S. bachtiarica* دارای پراکندگی به نسبت وسیعی در ایران بوده و از استانهای غرب، مرکزی و جنوب غربی ایران جمع آوری گردیده است.

سرشاخه های گلدار و به طور کلی قسمتهای هوایی گیاه مرزه که معمولاً در زمان گلدهی چیده می شود و در سایه خشک می گردد، بوی معطر و اثر نیرو دهنده، تسهیل کننده عمل هضم، مقوی معده، مدر، بادشکن، و به طور خفیف اثر قابض، ضد نزله، رفع اسهال و ضد کرم دارد (1).

از مرزه می توان مانند انواع دارویی آویشن در رفع ضعف و حالت چنگ زدگی معده استفاده کرد. بعلاوه آن را در حالت بحرانی آسم هم بکار می برند. به طور کلی، دو گونه معروف و مهم مرزه در دنیا مورد مصرف خوراکی دارند.*Satureja hortensis* L و *Satureja montana* L.، می باشند. گونه اول که به نام مرزه تابستانی (summer savory) نیز معروف است یک گونه یک ساله و بومی جنوب اروپا و قسمتهای شمالی امریکاست. گونه دوم که به مرزه زمستانی (winter savory) نیز نامیده می‌شود یک گونه چند ساله، با ساقه سخت و چوبی است که بومی اروپا و افریقای شمالی است و استفاده محدودتری دارد.

گلهای هر دو گونه ذکر شده صورتی و آبی مایل به سفید است و مورد توجه زنبورهای عسل می باشد. ترکیبهای اصلی اسانس مرزه تابستانی، فنلهایی مثل کارواکرول، تیمول و همچنین پارا–سیمن، بتا–کاریوفیلن و لینالول هستند و ترکیبهای اصلی اسانس مرزه زمستانی را فنلهای کارواکرول و تیمول و نیز پارا–سیمن، لینالول، ترپینئول، بورنئول و اسیدهای مختلف آلی تشکیل می دهند. اسانس هر دو گونه به وسیله روشهای تقطیر به دست می آید و اولئورزین آنها، در صنایع غذایی استفاده فراوان دارد. همچنین اسانس این گونه ها، به صورت منفرد و یا مخلوط با اسانسهای دیگر در صنایع عطر سازی کاربرد دارد. اسانس هر دو گونه به دلیل وجود کارواکرول و تیمول دارای خواص ضد میکروبی است (www.hort.purdue.edu).

تحقیقات انجام شده در مورد اسانس گونه های مختلف مرزه: به دلیل استفاده‌های وسیع درمانی و همچنین حضور 9 گونه مرزه انحصاری در ایران، تمام گونه های مرزه موجود در کشور از نظر میزان اسانس و ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس مورد بررسی قرار گرفته است.

ترکیبهای عمده اسانس *S. khuzistanica* پارا–سیمن (39/6 درصد) و کارواکرول (29/6 درصد) گزارش شده اند (15) در حالیکه اسانس *S. bachtiarica* جمع آوری شده از استان چهارمحال بختیاری حاوی تیمول (44/5 درصد) و گاما–ترپینن (23/9 درصد)، به عنوان ترکیبهای اصلی بوده است (16). اسانس *S. spicigera* نیز شامل تیمول (35/1 درصد)، پارا–سیمن (22/1 درصد) و گاما–ترپینن (13/7 درصد) بوده است (17). بررسی اسانس 8 جمعیت مختلف از *S. sahandica* نیز نشان داده که ترکیبهای عمده شامل تیمول (41/7–19/6 درصد)، پارا–سیمن (54/9–32/5 درصد) و گاما–ترپینن (12/8–1/0 درصد) بوده است (14).

ترکیبهای اصلی اسانس *S. mutica* کارواکرول (30/9 درصد)، تیمول (26/5 درصد)، گاما–ترپینن (14/9 درصد) و پارا–سیمن (10/3 درصد) بوده است(21). اسانس *S. macrantha* بیشتر حاوی پارا–سیمن (25/8 درصد) و لیمونن (16/3 درصد) بوده و تیمول به مقدار کمتر (8/1 درصد) در آن وجود داشته است. تیمول (32/3

Archive of SID

www.SID.ir

درصد)، گاما-ترپینن (29/3 درصد) و پارا-سیمن (14/7 درصد) ترکیبهای اصلی اسانس *S. intermedia* بوده اند (18).

بررسی اسانس دیگر گونه های مرزه در سایر نقاط جهان نشان دهنده ترکیبهای متفاوتی در آنها بوده است. مثلا در اسانس *S. boissieri* از ترکیه 40/8 درصد کارواکرول و 26/4 درصد گاما-ترپینن یافت شده است (11). اسانس *S. brownei* از ونزوئلا دارای 64/3 درصد پولگون و 20/2 درصد منتون بوده است (13). ترکیب اصلی اسانس *S. parvifolia* از آرژانتین پیپریتون اکسید و ترکیبهای مهم اسانس *S. boliviana* گاما-ترپینن، بتا-کاریوفیلن و جرماکرن دی بوده‌است (20). جرماکرن دی همچنین، ترکیب عمده اسانس *S. coerulea* از ترکیه بوده است (19). ترکیبهای اصلی *S. hortensis* کاشته شده در ایران نیز کارواکرول و گاما-ترپینن بوده است (8).

مواد و روشها

جمع آوری گیاه و استخراج اسانس: اندامهای هوایی گیاهان در مرحله گلدهی کامل از استانهای مختلف جمع‌آوری گردید. *S. bachtiarica* (مرزه بختیاری) از رویشگاه طبیعی آن در استان یزد، ، *S. mutica* از استان خراسان و *S. edmondi* از منطقه بیستون (ارتفاع 1650 متری) در استان کرمانشاه جمع‌آوری گردید. پس از تأیید شناسایی گیاه توسط هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، گیاه در سایه و دمای مناسب برای خشک شدن قرار گرفت. سپس آن را مقداری خرد کرده (در حدود 70-50 گرم) و به روش تقطیر با آب، اسانس استخراج گردید و توسط سولفات سدیم رطوبت زدایی شد و تا زمان تزریق به دستگاههای GC و GC/MS نگهداری شد. جهت تعیین رطوبت گیاه در زمان اسانس گیری، مقدار 5 گرم از گیاه در دمای 50 درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از رسیدن به وزن ثابت، میزان رطوبت و درصد آن محاسبه گردید.

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده: پس از تزریق اسانسها به دستگاه گازکروماتوگراف (GC) و یافتن مناسب ترین برنامه ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانسهای حاصله با دی کلرو متان رقیق شده و به دستگاه گازکروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق شده و طیفهای جرمی و کروماتوگرام های مربوطه بدست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، اندیس بازداری کواتس، مطالعه طیفهای جرمی و مقایسه با ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم افزار SATURN، ترکیبات تشکیل دهنده اسانسها، مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت (6). برای محاسبه اندیس های بازداری از تزریق هیدروکربنهای نرمال 9 تا 22 کربنه، در شرایط برنامه ریزی حرارتی ستون (مشابه با تزریق نمونه) استفاده گردید.

مشخصات دستگاههای مورد استفاده- دستگاه GC: از گازکروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A مجهز به ستون DB-5 به طول 30 متر و قطر 0/25 میلی متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن 0/25 میکرومتر می باشد، استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون از 60 درجه سانتی گراد شروع شده و پس از 5 دقیقه توقف در همان دما، بتدریج با سرعت 3 درجه در دقیقه افزایش یافته تا به 210 درجه رسید. دمای محفظه تزریق 300 درجه سانتی گراد بود. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و دمای آن در 270 درجه سانتی گراد تنظیم گردید. از گاز هلیم به عنوان گاز حامل استفاده شده که فشار ورودی آن به ستون برابر 3 کیلوگرم بر سانتیمتر مربع تنظیم شد.

دستگاه GC-MS: از گاز کروماتوگراف واریان 3400 متصل به طیف سنج جرمی از نوع تله یونی استفاده شده است که ستون آن DB-5 به طول 30 متر و قطر 0/25 میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن در آن 0/25 میکرو متر بود. برنامه ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه ریزی ستون در دستگاه GC بوده، فقط دمای نهایی ستون تا 250

Archive of SID

www.SID.ir

درجه سانتی گراد بالا برده شد. دمای محفظه تزریق 10 درجه بالاتر از دمای نهایی ستون (260 درجه سانتی گراد) تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت 31/5 سانتیمتر بر ثانیه در طول ستون حرکت می کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون 70 الکترون ولت و ناحیه جرمی از 40 تا 340 بوده است.

بررسی اثرات ضد میکروبی: به منظور بررسی اثر ضد میکروبی اسانسهای مورد مطالعه از روش انتشار در آگار به صورت دیسک دیفیوژن استفاده شد (4). برای این منظور با استفاده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان حلال غلظتهای 2/5 و 5 درصد اسانس تهیه گردید. سپس با استفاده از سواب استریل از سوسپانسیون کشت 24 ساعته باکتریهای مورد نظر، بر روی محیط مولر-هنیتون آگار تلقیح کرده و سپس دیسکهای بلانک با قطر 6 میلی متر و حاوی 30 میکرو لیتر از اسانس با غلظتهای مذکور بر روی پلیت قرار گرفت. بعد از 24 ساعت قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی لیتر اندازه گیری شد. هر یک از این غلظتها برای هر یک از باکتریها 3 بار تکرار شد و متوسط 3 بار تکرار به دست آمد. از دیسک بلانک حاوی 30 میکرو لیتر DMSO به عنوان شاهد منفی استفاده گردید

باکتریهای مورد مطالعه: در این مطالعه از دو سویه استاندارد سالمونلا پاراتیفی A (PTCC 1230) و سالمونلا پاراتیفی B (PTCC 1231) استفاده شد. این دو سویه به شکل آمپولهای بیوفیلیزه از انستیتو پاستور تهیه گردید و همواره از کشت 24 ساعته آن برای بررسیهای میکروبی استفاده می شد.

نتایج

راندمان اسانس با تعیین درصد رطوبت هر نمونه در زمان اسانس گیری، نسبت به وزن خشک گیاه محاسبه گردید. بازده اسانس نمونه *S. bachtiarica* (2/15 درصد) ، *S. mutica* (2/31 درصد) و S. edmondi (1/0 درصد) بدست آمد. نتایج حاصل از آنالیز اسانسها در جدول 1 دیده می‌شود.

با مطالعه طیفهای جرمی و محاسبه اندیس های بازداری، تعداد 22 ترکیب در اسانس نمونه *S. bachtiarica*، 45 ترکیب در اسانس *S. mutica* و 30 ترکیب در اسانس *S. edmondi* شناسایی شد. مهمترین ترکیبها در اسانسهای *S. bachtiarica*، *S. mutica* و *S. edmondi* به ترتیب عبارت از: کارواکرول (66/5 ، 30/9 و 1/0 درصد)، تیمول (0/3 ، 26/5 و 5/0 درصد)، پارا-سیمن (15/2 ، 10/3 و 61/1 درصد) و گاما-ترپینن (3/0 ، 14/9 و 9/6 درصد) بودند. سایر ترکیبها تنها در بعضی اسانسها شاخص بودند مانند: لینالول (4/6 درصد) در اسانس *S. bachtiarica*، آلفا-ترپینئول (4/8 درصد) در اسانس *S. edmondi*.

جدول 1- ترکیبات موجود در اسانس اندام هوایی *S. Edmondi*،*Satureja mutica* و *S. bachtiarica*

نام ترکیب	اندیس بازداری	درصد		اسانس
		Satureja bachtiarica	*Satureja mutica*	*Satureja edmondi*
α-thujene	929	0/3	0/8	0/5
α-pinene	937	0/5	0/5	1/2
camphene	952	0/5	0/1	0/6
sabinene	975	–	ناچیز	–
β-pinene	979	0/1	0/2	0/9
myrcene	989	0/6	1/1	0/9
3-octanol	992	0/1	ناچیز	0/2
α-phellanderene	1004	–	0/2	–
δ-3-carene	1010	–	0/1	–
α-terpinene	1016	0/5	2/0	0/7

Archive of SID

www.SID.ir

61/1	**10/3**	**15/2**	**1025**	**p-cymene**
0/6	2/6	0/2	1030	limonene
–	0/9	–	1033	1,8-cineole
0/4	–	–	1039	(z)-β-ocimene
0/5	0/1	–	1050	(e)-β-ocimene
9/6	**14/9**	**3/0**	**1060**	**gamma-terpinene**
–	0/7	–	1068	Cis-sabinene hydrate
0/3	0/1	0/2	1095	trans-sabinene hydrate
1/1	–	4/6	1098	linalool
–	0/1	–	1101	α-thujone
–	0/1	–	1113	beta-thujone
–	0/1	–	1121	Cis-pinene hydrate
–	0/1	–	1133	Cis-limonene oxide
–	0/1	–	1138	trans limonene oxide
–	0/1	–	1143	camphor
–	0/7	–	1154	menthone
–	0/1	–	1163	menthofurane
2/1	0/3	2/0	1164	borneol
–	0/8	–	1172	l-menthol
0/4	0/3	0/6	1176	terpinen-4-ol
0/7	–	0/2	1182	p-cymene-8-ol
4/8	0/1	–	1189	α-terpineol
–	0/1	–	1203	n-decanal
–	0/1	–	1216	trans carveol
–	0/2	–	1241	carvone
ناچیز	0/5	–	1244	methyl carvacrol
0/3	–	–	1284	bornyl acetate
0/4	–	0/2	1286	p-cymene-7-ol
5/0	**26/5**	**0/3**	**1290**	**thymol**
0/4	–	0/3	1295	3′-methoxy acetophenone
1/0	**30/9**	**66/5**	**1298**	**carvacrol**
–	0/1	–	1354	thymyl acetate
1/1	1/1	0/7	1418	β-caryophyllene
–	0/1	–	1453	alpha-humulene
–	0/2	–	1478	germacrene d
–	0/1	–	1493	bicyclogermacrene
0/4	0/9	–	1508	β-bisabolene
–	0/1	–	1522	δ-cadinene
–	0/1	–	1554	germacrene b
0/9	–	–	1562	trans-nerolidol
1/0	–	0/3	1575	spathulenol
1/6	0/1	1/3	1580	caryophyllene oxide
1/0	–	–	1588	viridiflorol
–	0/2	–	1620	dill apiol
99/7	98/8	98/2		total

□ اندیس های بازداری بر حسب ستون DB-5 محاسبه گردیده اند. ناچیز = کمتر از 0/05 درصد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره 2- بررسی اثرات ضدمیکروبی سه گونه *Satureja* (*S. mutica, S. edmondi, S. bakhtiarica*) بر روی *Salmonella paratyphi* A (منطقه بازدارندگی رشد برحسب mm)

	2/5 درصد				5 درصد			
	تکرار1	تکرار2	تکرار3	**میانگین**	تکرار1	تکرار2	تکرار3	**میانگین**
Satureja mutica	7	7	10	**8**	10	9	11	**10**
S. edmondi	8	6	7	**7**	12	10	11	**11**
S. Bakhtiarica	7	7	9	**8**	10	11	12	**11**

جدول شماره 3- بررسی اثرات ضدمیکروبی سه گونه *Satureja* (*S. mutica, S. edmondi, S. Bakhtiarica*) بر روی *Salmonella paratyphi* B

	2/5 درصد				5 درصد			
	تکرار1	تکرار2	تکرار3	**میانگین**	تکرار1	تکرار2	تکرار3	**میانگین**
Satureja mutica	7	7	10	**8**	12	12	13	**12**
S. edmondi	5	6	7	**6**	11	12	12	**12**
S. Bakhtiarica	10	8	9	**9**	12	10	11	**11**

بررسی اثرات ضد میکروبی: نتایج اثر غلظتهای 2/5 و 5 درصد اسانسها بر سالمونلا پاراتیفی A و سالمونلا پاراتیفی B در جدول شماره 2 آورده شده است.

همانگونه که مشاهده می شود میانگین هاله ممانعت از رشد اسانسها بر روی دو گونه سالمونلا پاراتیفی A و B تفاوت چندانی ندارد. ولی در مورد هر دو گونه اثر بازدارندگی غلظت 5 درصد (خصوصاً در مورد پاراتیفی B) قویتر از غلظت 2/5 درصد است.

بحث

مقایسه بازده اسانس نمونه‌های *S. bachtiarica* ، *S. mutica* و *S. edmondi* (2/15 ، 2/31 و 1/0 درصد) نشان دهنده میزان مناسب اسانس در این گونه‌ها است. ازآنجایی که با اعمال تیمارهای مختلف، امکان افزایش بازده وجود دارد، می‌توان به افزایش بازده اسانس در این گونه‌ها امیدوار بود. به عنوان مثال میزان اسانس *S. hortensis* کشت شده در ایران (کرج) 1/75 درصد بوده که تحت تأثیر تنش خشکی به 2/3-2 درصد افزایش یافته است (7). بازده اسانس تعدادی از گونه‌های *Satureja* به شرح ذیل است.

میزان اسانس *S. montana* در سرشاخه گلدار حدود 1/6 درصد و اسانس *S. hortensis* بین 1/5-0/3 درصد می باشد (8). بازده اسانس اندام هوایی *S. sicigera* گیلان 3/82 درصد (17)، *S. sahandica* زنجان 2/88 درصد-1/53 درصد (14)، *S. sahandica* 2/56 درصد (14)، *S. sahandica* کردستان 1/50 درصد (14)،*S. Intermedia* اردبیل 1/45 درصد (17)، *S. macrantha* ارومیه 1/48 (17)، *S. mutica* خراسان 2/31 (17)، *S. khuzistanica* لرستان3/0 (15)، *S. bachtiarica* چهارمحال بختیاری 3/03 درصد (16)، *S. hortensis* تهران1/75 درصد (7) گزارش شده است.

مقایسه ترکیبهای عمده موجود در این سه اسانس نشان می دهد که در حالیکه ترکیب عمده تشکیل دهنده اسانس مرزه بختیاری کارواکرول است، در اسانس *S. mutica* مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول بخش عمده اسانس را تشکیل می دهند حال آنکه اسانس *S. edmondi* حاوی

Archive of SID

www.SID.ir

بیش از 60 درصد پارا–سیمن است و مقدار تیمول و کارواکرول آن بسیار پایین است.

در این تحقیق برای اولین بار اثر این سه اسانس بر روی سالمونلا پاراتیفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر سه اسانس مورد استفاده بر علیه دو نوع سالمونلا استفاده شده اثر قوی دارد. همانگونه که در جدول 2 و 3 مشاهده می شود اختلاف معنی داری بین اثر اسانسها بر روی دو نوع سالمونلا وجود ندارد اما اثر اسانسها در غلظت 5 درصد بیش از اثر همین اسانسها در غلظت 2/5 درصد است.

همانگونه که در جدول 1 ملاحظه می شود، مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول 66/8 درصد اسانس *S. bachtiarica* و 57/4 درصد اسانس *S. mutica* را تشکیل می دهد حال آنکه مجموع این دو ترکیب در اسانس *S. edmondi* فقط 6 درصد است. در حالیکه بین اثر این سه اسانس بر علیه هر دو نوع سالمونلا پاراتیفی بکار برده شده تفاوت چندانی دیده نمی شود. دلیل این موضوع از اینجا ناشی می شود که در اسانس *S. edmondi* بیش از 70 درصد از دو ترکیب پارا–سیمن و گاما–ترپینن وجود دارد. این دو ترکیب که پیش ماده های تیمول و کارواکرول هستند می توانند باعث تشدید خاصیت ضد میکروبی ترکیبات فنلی شوند. قابل ذکر است که مجموع دو ترکیب پارا–سیمن و گاما–ترپینن 18/2 درصد اسانس *S. bachtiarica* و 24/2 درصد اسانس *S. mutica* را تشکیل می دهد.

نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج Cox و همکاران (2001) و Cristani و همکاران (2007) در خصوص برهم کنش پارا–سیمن و گاما–ترپینن با تیمول و کارواکرول در نشان دادن خواص ضد میکروبی تطابق دارد (9 و 10).

با توجه به نسبت درصد بالای اسانس در این سه گونه مرزه و اثر بازدارندگی بر روی سالمونلا پاراتیفی می توان نتیجه گیری کرد که مصرف سرشاخه این گیاهان به صورت خوراکی و همچنین تهیه دارو از اسانس آنها می تواند بر علیه بیماریهای ناشی از سالمونلا مفید باشد.

منابع

1- زرگری، ع.، 1361، گیاهان دارویی، جلد دوم، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تهران، 1001 صفحه.

2- حاتمی، ح. و پهلوان زاده، ح.، 1384. نوپدیدی و بازپدیدی بیماری ها و سلامت حرفه های پزشکی (نوپدیدی سالمونلاهای مقاوم به درمان و مروری بر تب روده)، جلد دوم، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تبریز، 398 صفحه.

3- سفیدکن، ف.، جمزاد، ز. و برازنده، م.م.، 1383. اسانس *Satureja bachtiarica* Bunge به عنوان منبعی غنی از کارواکرول، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 20(4): 439-425.

4- شریف زاده، ع.، همت زاده، ف.، نامجو، ع. و دانش، آ.، 1383. بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی سالمونلاهای مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از موارد اسهال کودکان (2-0 ساله) در شهرستان شهرکرد و بررسی پدیده انتقال مقاومت به باکتری E.Coli k_{12}، مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، *دوره ششم، شماره 1/ 6-1*.

5- صادق زاده، ل.، سفیدکن، ف. و اولیا، پ.، 1386. بررسی ترکیب و خواص ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی، پژوهش و سازندگی، جلد 71، 56-52.

6- Adams, P.R., 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy, Allured Publishing Corp., Carol Stream, New York.

7- Baher, Z. F., Mirza, M., Ghorbanli, M., Rezaii, M. 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and

Archive of SID
www.SID.ir

composition in *Satureja hortensis* L., Flavour and Fragrance Journal, 17(4): 275-277.

8- Bezic, N., Skocibusic, M., Dunkic V., 2005. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. and *Satureja cuneifolia* Ten. Essential oils, Acta Bot. Croat. 64(2), 313-322.

9- Cox, S.D., Mann, C.M. and Marham, J.L., 2001. Interaction between components of the essential oil of Melalenaco alternifolia, J. Applied Microbiology, 91, 492-497.

10- Cristani, M., Dariigo, M., Mandarbi, G., Catelli, F., Sarpietro, M.G., Miciel, V., Venuti, V., Bisgnano, G., Saijia, A. and Trombetta, D., 2007. Interaction of four monoterpens contained in essential oils with model memberans, Implications for their antimicrobial activity, J. Agric. Food Chem., 55(15), 6300-6308.

11- 11- Kurcuoglu, M., Tumen, G., Baser, K.H.C., 2001. Essential oil constituents of *Satureja Biossieri* from Turkey, Khim. Prir. Soedin. 37(4): 280-281.

12- Rechinger, K. H., 1982. Satureja in Fl. Iranica,. Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz., vol. 150, pp. 495-504.

13- Rojas, L. B., Usubillaga, A., 2000. Composition of the essential oil of *Satureja brownei* (SW.) Briq. From Venezuela. Flavour and Fragrance Journal, 15(1): 21-22.

14- Sefidkon, F., Jamzad, Z., & Mirza, M. 2004. Chemical variation in the essential oil of *Satureja sahendica* from Iran, Food Chem.88: 325-328.

15- Sefidkon, F., Ahmadi, Sh., 2000. Essential oil of *Satureja khhuzistanica* Jamzad, J. Essent. Oil Res., 12: 427-428.

16- Sefidkon, F., Jamzad, Z., 2000. Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge, J. Essent. Oil Res., 12: 545-546.

17- Sefidkon, F., Jamzad, Z., 2004. Essential oil Composition of *Satureja spicigera* from Iran, Flavour and Fragrance J., 19 (6), 571-573.

18- Sefidkon, F., Jamzad, Z., 2005. Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica, S. macrantha and S. intermedia*), Food Chemistry, 91, 1-4.

19- Tumen, G., Baser, K. H. C., Demirci, B., Ermin, N., 1998. The essential oils of *Satureja coerulea* Janka and Thymus aznavourii Velen, Flavour and Fragrance Journal, 13(1): 65-67.

20- Viturro, C. I., Molina, A., Guy, I., Charles, B., Guinaudeau, H., Fournet, A., 2000. Essential oils of *Satureja boliviana* and S. pavifolia growing in the region of Jujuy, Argentina, Flavour and Fragrance Journal, 15(6): 377-382.

21- Viturro, C. I., Molina, A., Villa, W.C., Saavedra O.N., Zampini, M., Gonzalvez, E., Garcia, E., 2000. Perliminary assay of adaptation in Juluy (Argentina) of *Satureja hortensis*, *Ocimun basilicum* and *Coriandrum sativum*, Acta Horticulturae, 500.

Archive of SID

www.SID.ir

Antimicrobial effects of the essential oils of *satureja mutica, S. edmondi* and *S. bachtiarica* against *Salmonella paratifi* A and B

Sefidkon F.[1], Askari F.[1], SadeghzadehL.[2] and Owlia P.[3]

[1]Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. of IRAN
[2]Nanotechnology Researchers Company, Tehran, I.R. of IRAN

[3]Shahed University, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Today over than 22000 strains of *Salmonella* were investigated. Species of medicine resistance were presented due to consuming of Antibiotic in Animals. Genus of *Satureja* with the Persian name of "Marzeh" consists of 15 species in Iran, 9 of them (*S. bachtiarica,* S. *edmondi, S. sahendica, S. kallarica, S. rechingeri, S. intermedia, S. isophylla, S. atropatana,* S. *khuzistanica*) are endemic. In this research anti-microbial effect and chemical composition of the essential oils of these plants were investigated. The aerial parts of *S. bachtiarica,* S. *edmondi* and *S. mutica were* collected at full flowering stage from habitats in Yazd, Khorassan and Kermanshah provinces, respectively. The plant materials were hydro-distilled in order to obtain their essential oils. The oils were analyzed by capillary GC and GC/MS. The results showed the oil yields of *S. bachtiarica,* S. *edmondi* and *S. mutica* were %2.15, %2.31 and %1/0, respectively. Carvacrol (%66.5) and p-cymene (%15.2) were characterized in the oil of *S. bachtiarica* samples. In the oil of *S. Mutica*, carvacrol (%30.9); thymol (%26.5), gamma-terpinene (%14.9) and p-cymene (%10.3) were the main constituents. In the oil of *S. edmondi* p-cymene (%61.1), gamma-terpinene (%9.6) and thymol (%5.0) were the main constituents. For study of anti-microbial effect of the oil samples, the oils was diluted by DMSO at %2.5 and %5 and tested against two kinds of *Salmonella paratyphi* (A and B) by disk diffusion method. The results of three replicate showed, the oil by concentration of %2.5 and %5 inhibited the growth of *Salmonella paratyphi* A at 8 & 11mm (*S. bachtiarica*), 8 & 10 mm (*S. mutica*) and 7 & 11 mm (*S. edmondi)* and inhibited the growth of *Salmonella paratyphi* B at (9 & 11)mm, (8 & 12)mm and (6 & 12)mm respectively. The results showed the high anti-microbial effect of these oils. It seems the presence of thymol, carvacrol, P-cymene and gamma-terpinene in these oils caused the strong anti microbial effect of them.

Keywords: *Salmonella paratyphi,* anti-microbial effect, *Satureja mutica*, *Satureja edmondi, Satureja bachtiarica,* thymol, carvacrol, P-cymene, gamma-terpinene.

Archive of SID

www.SID.ir