بررسی اثر اسانس سه گونه مرزه (*Satureja spicigera , S.rechingeri , S. macrantha*) علیه باکتریهای عامل عفونت بیمارستانی و قارچ *کاندیدا آلبیکنس*

المیرا احسانی[۱]، فاطمه سفیدکن[۲*] و فرزانه حسینی[۳]

[۱] **ساری، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران**

[۲] **تهران**، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، **مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور**

[۳] **تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی**

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۲۷

چکیده

به‌منظور بررسی اثر اسانس سه گونه مرزه (*Satureja spicigera ,S. rechingeri ,S. macrantha*) علیه باکتریهای عامل عفونت بیمارستانی و قارچ *کاندیدا آلبیکنس*، سرشاخه گلدار دو جمعیت از هر سه گونه مرزه فوق از مزرعه تحقیقاتی باغ گیاه‌شناسی ملی ایران در سال ۱۳۹۱جمع آوری شده و اسانس آنها به روش تقطیر با آب جداسازی شد. آنالیز ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانسها توسط دستگاه GC و GC/MS انجام شد. نتایج نشان داد که ترکیبات غالب در همه اسانسها تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن بودند. در این آزمایش، رقت اسانس در ۳ سطح شامل یک‌پنجم، یک‌بیست‌وپنجم و یک‌پنجاهم تهیه و مقایسه آنها با آنتی‌بیوتیکهای سفتی‌زوکسیم و سیپروفلوکسازین و میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نیز در ۵ سطح شامل *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeroginosa* و *Candida albicans* انجام گردید. اثرات ضد میکروبی اسانسهای حاصل با استفاده از روش انتشار از دیسک در مقابل ۵ گونه فوق سنجیده شد. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانسها با روش رقیق سازی در محیط مایع اندازه‌گیری شد. *Pseudomonas aeruginosa* مقاوم‌ترین باکتری به این ۳ اسانس بود و مخمر *Candida albicans* نسبت به اسانسها حساستر از باکتریها بود. اسانس *Satureja macrantha* بیشترین اثر ضدمیکروبی و اسانس *Satureja spicigera* کمترین اثر ضدمیکروبی را از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: *S.spicigera*، *S.rechingeri*، *S.macrantha*، اسانس، اثر ضدمیکروبی و GC/MS

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۴۴۷۸۷۲۷۹ ، پست الکترونیکی: sefidkon@rifr-ac.ir

مقدمه

با وجود تولید آنتی‌بیوتیکهای جدید توسط کارخانجات دارویی، به علت افزایش مقاومت به آنتی بیوتیکها در میکروارگانیسم ها و نیز وجود اثرات جانبی مضر داروهای سنتزی، چالش جدی برای مبارزه با بیماریهای عفونی وجود دارد که در نتیجه باعث افزایش تقاضا برای مواد ضد میکروبی جدید شده است (۳۴). گیاهان همواره منبع ارزشمندی از ترکیبات متعدد برای تأمین بهداشت و سلامتی جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماریها بوده اند. این بخش از منابع طبیعی قدمتی همپای بشر داشته و یکی از مهم ترین منابع تأمین غذایی و دارویی بشر در طول زمان بوده است. مرزه از خانواده نعناعیان، گیاه دارویی است که در طب سنتی از آن برای درمان بیماریهای ریوی، درمان سرفه و کاهش دردهای روماتیسمی و عصبی استفاده می شود. بخشهای هوایی آن

Archive of SID

www.SID.ir

دارای ترکیبات متعددی است که منجر به استفاده از آن در صنایع دارویی و غذایی می شود (۱). مرزه در مناطق مختلف دنیا از جمله ایران، آذربایجان، ترکمنستان، ترکیه، قفقاز، ماوارای قفقازو عراق می روید. این جنس در ایران ۱۵ گونه یکساله و چند ساله دارد که ۹ گونه آن انحصاری کشور ایران هستند، شامل *S. edmondi*، *S. Bachtiarica*، *S. Khuzestanica*، *S. sahandica*، *S. kallarica*، *S rechingeri*، *S. Intermedia*، *S. Isophylla*، *S. Atropatana* و گونه‌های *S. mutica*، *S. boissieri*، *S. spicigera* و *S. macrantera* . 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 یا دامنه‌های سنگلاخی می‌رویند (۶).

مرزه به علت داشتن ترکیبات فنولی در اسانس و ترکیبات تانني در برگ، دارای خاصیت ضد قارچی، ضد میکروبی، ضد اسپاسم و ضد اسهال می باشد. مطالعات زیادی بر روی ترکیبات اسانس مرزه انجام شده است که نشان می دهد ترکیباتی مانند تیمول، کارواکرول، گاما ترپینن و پاراسیمن در گونه های مرزه جمع آوری شده از عرصه های طبیعی یا گونه های زراعی با نسبتهای مختلف وجود دارد (۷ و ۳۲). کارواکرول که ترکیب اصلی اسانس مرزه را تشکیل می‌دهد یک منوترپن فنولی، به صورت مایع بیرنگ و تا اندازه ای چسبناک که در مجاورت نور و هوا تیره می شود. از کارواکرول در تولید محصولات بهداشتی به عنوان یک ضد عفونی کننده، در اسپریهای خوشبو کننده و به عنوان دافع حشرات استفاده می شود. ترکیب کارواکرول درتولید صابون به عنوان خوشبو کننده و ضدعفونی کننده کاربرد دارد. در تهیه برخی اسانسهای مصنوعی نیز از کارواکرول استفاده می شود (۹).

Satureja macrantha گیاهی بوته ای به ارتفاع ۳۰ تا ۵۰ سانتیمتر، از قاعده با انشعابهای زیاد، شاخه ها نازک و پیچ و تاب دار، پوشیده از کرکهای زبر است. برگها خطی، بدون دمبرگ و زمان گلدهی در پاییز است (۳).

S. rechingeri گیاهی چند ساله بسیار معطر، با قاعده چوبی، از قاعده منشعب، ساقه به ارتفاع حدود ۵۰ سانتیمتر، تمام گیاه پوشیده از کرکهای بلند خاکستری رنگ و زمان گلدهی در پائیز است (۳).

S. rechingeri به طور کلی به واسطه گلهای زرد و پرزهای متراکم سفید و غدد ناهموار گسترده در هر دو سطح برگ توصیف می گردد (۲۰).

S. spicigera گیاهی علفی با قاعده چوبی، به ارتفاع ۲۵ تا ۶۰ سانتیمتر، با ساقه های نازک، پیچ و تاب دار و گسترده، با برگهای متراکم و با انشعابهای زیاد از قسمت قاعده است. برگها همگی علفی، در دو سطح برگ به یک رنگ، سبز روشن و زمان گلدهی در پاییز است (۳).

مطالعات متعددی بر روی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گونه های مختلف مرزه انجام شده است. سفیدکن و همکاران در سال ۲۰۰۴ با بررسی اسانس سرشاخه گلدار گونه *S. specigera* جمع آوری شده از استان گیلان، بازده اسانس را ۳/۸۲ درصد و ترکیبات اسانس را تیمول (۳۵/۱ درصد)، پاراسیمن (۲۲/۱ درصد)، گاماترپینن(۱۳/۷ درصد) و کارواکرول (۴/۰ درصد) گزارش کردند (۳۳).

در مطالعه دیگری که بر روی اسانس سرشاخه گلدار گونه *S. rechingeri* جمع آوری شده از استان ایلام انجام شد، بازده اسانس ۴/۷۲-۲/۶ درصد و ترکیب اصلی آن کارواکرول (۸۹-۸۳٪) گزارش شده است (۳۱).

بررسی ترکیبهای موجود در اسانس سه گونه مرزه به نام-های *S. mutica*، *S. intermedia* و*S. macrantha* نشان داده که اسانس *S. mutica* به طور عمده دارای کارواکرول (۳۰/۹ درصد) و تیمول (۲۶/۵ درصد) و اسانس *S. macrantha* دارای پاراسیمن (۲۵/۸) و لیمونن (۱۶/۳

Archive of SID

www.SID.ir

درصد) و اسانس *S. intermedia* دارای تیمول (۳۲/۳ درصد) و گاماترپینن(۲۹/۳ درصد) می باشد (۳۲).

در تحقیق دیگری که بر روی اسانس ۲۰ نمونه وحشی و کشت شده *Satureja hortensis* انجام شده است، کارواکرول با ۶۳-۴۲ درصد و تیمول با ۴۳-۲۹ درصد اجزای اصلی اسانس بودند (۱۲).

مطالعه بر روی اسانس حاصل از *S. hortensis* نشان می‌دهد که تیمول نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی این اسانس دارد (۲۴). ترکیبات اصلی بسیاری از گونه های مرزه تیمول، کارواکرول، پاراسیمن و گاماترپینن گزارش شده است(۳۱). وجود این ترکیبات که اثرات ضد میکروبی آنها ثابت شده است نشان دهنده پتانسیل اسانس این گونه در مقابله با عوامل مولد بیماریهای عفونی است.

فاکر باهر و همکاران (۱۳۸۰) در مطالعه ای نشان دادند که اسانس *S. hortensis* به شدت مانع از رشد *Staphylococcusaureus* و نیز *Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* می شود. به نظر می‌رسد اثر ممانعت کننده اسانس مرزه علیه *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* بستگی به مقدار ترکیب گاما -ترپینن دراسانس دارد، درحالی که مقدار کارواکرول در ممانعت از رشد *Pseudomonas aeruginosa* اهمیت بیشتری دارد (۸).

در تحقیقی که به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره های متانولی و هگزان *S. hortensis* انجام شد، فعالیت ضد میکروبی عصاره، برعلیه ۵۵ گونه باکتری و یک مخمر و ۴ گونه قارچ، بوسیله روش انتشار دیسک مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عصاره هگزان، فاقد اثر ضد قارچی بوده ولی مانع رشد گونه های باسیلوس می‌شود، در حالیکه عصاره متانولی هم اثر ضد قارچی و هم اثر ضد باکتریایی دارد (۳۰).

بررسی های Skocibusic و Bezic در سال ۲۰۰۴ بر روی اسانس دو گونه *S. Montana* و *S. cuneifolia* نشان داد که روغن مرزه اثرات ضدمیکروبی قوی بر علیه *اشرشیاکلی*، *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین و *کاندیدا آلبیکنس* دارد، بعلاوه نتایج نشان دهنده اثرات بازدارنده قوی اسانس مرزه در جلوگیری از رشد باکتریهایی مانند *اشرشیاکلی* و *Staphylococcus aureus* بود. اثرات ضد قارچی اسانس بر علیه *C. albicans* و *S. cerevisiae* نیز مشاهده شد. با بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *S. Cuneifolia* و *S. Montana* توسط GC/MS کارواکرول با ۴۵/۷ درصد مهمترین ترکیب اسانس شناسایی شد (۳۶).

هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس سه گونه از مرزه *Satureja spicigera*، *S.rechingeri* و *S. macrantha* و وجود اثرات ضدمیکروبی اسانس بر علیه باکتریهای عامل عفونت بیمارستانی و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* و تعیین حداقل غلظت بازدارنده از رشد و کشنده است.

مواد و روشها

جمع آوری گیاه و استخراج اسانس: دو جمعیت از گونه های *S. spicigera* , *S. rechingeri* , *S. macrantha* از باغ گیاه شناسی ملی ایران جمع‌آوری شده و در سایه و دمای محیط خشک شدند. بخش مورد استفاده این گیاهان سرشاخه های گلدار گیاه در زمان اوج گلدهی بودند. سپس آنها را مقداری خرد کرده و به روش تقطیر با آب (Hydro distillation) استخراج شدند.

محاسبه شاخص بازداری و شناسایی ترکیبها: برای محاسبه اندیسهای بازداری ترکیبات،آلکانهای نرمال C9- C22 به دستگاه GC تزریق گردید. شناسایی ترکیبها با مطالعه طیفهای جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیبهای استاندارد، با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوئیدها در رایانه و به کمک شاخصهای بازداری

Archive of SID

www.SID.ir

محاسبه شد و مقایسه آنها با شاخصهای بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشرگردیده، انجام شد. محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز–R3A Chromatepac به روش نرمال کردن سطح (Area normalization method) ونادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factors) مربوط به طیفها انجام شد.

مشخصات دستگاه مورد استفاده: مشخصات گاز کروماتوگرافی (GC) : کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu – 9A مجهز به دتکتورF.I.D (یونیزاسیون شعله هیدروژن) و داده پرداز Chromatepac استفاده شد. ستون دستگاه DB–5 به طول ۳۰ متر، قطرداخلی ۲۵ میکرون وضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. سرعت جریان گاز حامل هلیم cm/s ۲۲/۷ بود. دمای محفظه تزریق ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد، برنامه ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سانتیگراد تا دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتی گراد که در هر دقیقه ۴ درجه سانتی گراد به آن افزوده شد.

دستگاه GC/MS: کروماتوگراف گازی Varian-3400متصل شده با طیف سنج جرمی(saturn II) ، ستون دستگاه DB-5 به طول ۳۰ متر قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. دتکتور"Ion Trap" گاز حامل هلیم، سرعت جریان گاز حامل ۳۵ml/min و انرژی یونیزاسیون در طیف سنج جرمی برابر ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی ستون از۶۰ درجه سانتی گراد تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۳ درجه سانتی گراد در دقیقه تنظیم شد. دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه سانتی گراد بود.

جدول ۱– میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این تحقیق

باکتری‌های گرم مثبت	باکتری‌های گرم منفی	قارچ
Staphylococcus aureus *Bacillus subtilis*	*Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa*	*Candida albicans*

بررسی اثرات ضدباکتریایی: میکروارگانیسم‌های فوق از کلکسیون میکروبی مرکز پژوهشهای علمی صنعتی ایران تهیه شدند. به کمک دو روش انتشار از دیسک (Disk Diffusion method) و روش رقیق سازی در محیط مایع (method Microbroth dilution) اثرات ضدباکتریایی اسانسها بررسی شد (جدول ۱).

در روش انتشار از دیسک (Disk Diffusion method) از کشت ۲۴ ساعت باکتریها در محیط کشت Tryptic SoyAgar (ساخت شرکت مرک) سوسپانسیونی با رقت برابر استاندارد ۱ مک فارلند (۳×۱۰^{۸} cfu/ml) در محیط کشت Tryptic Soy Broth تهیه شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون هریک از میکروارگانیسم‌ها به محیط کشت جامد منتقل و با سواپ استریل به شکل یکنواخت پخش شدند. اسانس‌ها به نسبت‌های یک پنجم (۱:۵)، یک بیست وپنجم (۱:۲۵) و یک پنجاهم (۱:۵۰) رقیق و۳۰ میکرولیتر بر روی دیسکهای کاغذی استریل بلانک ۶ میلی‌متر (ساخت شرکت پادتن طب) قرار داده شده و بر روی پلیتهای کشت‌شده قرار گرفتند. برای رقیق کردن اسانسها از دی متیل سولفوکساید که فاقد اثر ضدمیکروبی است، استفاده شد. از آنجا که اسانس روغنی است و بر روی سطح محیط کشت به صورت یکنواخت پخش نمی شود، حلال DMSO مورد استفاده قرار گرفت. پلیتها در ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت هاله عدم رشد اندازه گیری شد. آزمایش تعیین اثر ضدباکتریایی با ۳ تکرار انجام شد و متوسط فعالیت ضدمیکروبی گزارش شده است. برای مقایسه فعالیت ضدمیکروبی اسانسها از دیسکهای سفتی‌زوکسیم (۳۰ µg) و سیپروفلوکسازین (۵ µg) استفاده شد که از شرکت پادتن طب تهیه شده بودند.

روش رقیق سازی در محیط مایع (Microbroth dilution method): حداقل غلظت مهار یا بازدارندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای

Archive of SID

www.SID.ir

میکروارگانیسم های مورد نظر با استفاده از روش رقیق سازی در محیط مایع تعیین شد. رقیق کردن اسانسها در محیط Broth Tryptic Soy به نحوی که بالاترین غلظت مورد نظرμg/ml ۲۵۶ باشد. از این غلظت ۶ رقت متوالی تهیه شد، به نحوی که آخرین غلظت μg/ml ۸ بود. در تمام چاهکها ۱۰۰ میکرولیتر TSB ریخته شد.

انتقال ۱۰۰ میکرولیتر اسانس به چاهک اول و پس از پیپتینگ انتقال ۱۰۰ میکرولیتر از آن به چاهک بعدی و پس از پیپتینگ دوباره، این کار برای چاهکهای بعدی انجام شد و در نهایت از چاهک آخر (رقت ششم) ۱۰۰ میکرولیتر دور ریخته شد. بنابراین به ترتیب از چاهک اول تا آخر غلظت اسانس ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶ و μg/ml۸ بود. به تهیه سوسپانسیون میکروبی با غلظتی برابر ۰/۵ مک فارلند از کشت ۲۴ ساعت میکروارگانیسمها که در محیط Tryptic SoyBroth رقیق شدند، سوسپانسیون میکروبی به میزان ۱۰ میکرولیتر به هر ۶ چاهک اضافه شد.

پلیتها در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. برای هر باکتری یک چاهک کنترل منفی(حاوی محیط کشت) و یک چاهک کنترل مثبت (حاوی محیط کشت و باکتری مورد نظر) در نظر گرفته شد. بعد از ۲۴ ساعت ابتدا چاهک کنترل منفی بررسی می‌شد، این چاهک باید کاملا شفاف باشد. غلظت اولین چاهک بدون کدورت حاصل از رشد باکتری، به عنوان MIC در نظر گرفته می شود. برای تعیین MBC، ۱۰۰ میکرولیتر از هر چاهک بدون کدورت در یک پلیت Tryptic Soy Agar کشت چمنی داده می شود و پلیتها به مدت زمان یکسان در تمام آزمایشها گرمخانه گذاری می‌شوند. تعداد کلنیها پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری ۳۷ درجه سانتی گراد شمرده شده، پلیتی که حاوی کمتر و یا دارای ۵ کلنی باشد به عنوان MBC در نظر گرفته شده و غلظت اسانس موجود در چاهک مربوطه به عنوان MBC گزارش می شود (۲۶).

نتایج

شناسایی ترکیب‌های اسانس‌ها: از اسانس *Satureja macrantha*، ۱۶ ماده جداسازی شد که تیمول(۳۹/۱ درصد) بیشترین ترکیب جداسازی شده از این اسانس بود. دومین ماده‌ای که بالاترین مقدار را داشت، پاراسیمن(۲۵/۱ درصد) وسومین ماده گاماترپینن(۲۱/۰ درصد) بود و کمترین مقدار مربوط به آلفافلاندرن (۰/۲ درصد) بود.

از اسانس *Satureja rechingeri* ، ۱۵ماده جداسازی شد که کارواکرول(۸۵/۲ درصد) بیشترین ماده جداسازی شده از این اسانس بود. دومین ماده‌ای که بالاترین مقدار را داشت، پاراسیمن(۳/۱ درصد) وسومین ماده گاماترپینن(۱/۷ درصد) و کمترین مقدار مربوط به آلفافلاندرن (۰/۱ درصد) بود.

از اسانس *Satureja spicigera*، ۱۶ ماده جداسازی شد که تیمول(۴۶/۷ درصد) بیشترین ماده جداسازی شده از این اسانس بود. دومین ماده‌ای که بالاترین مقدار را داشت پاراسیمن(۱۸/۸ درصد) و سومین ماده گاماترپینن(۱۲/۹ درصد) بود و کمترین مقدار مربوط به آلفافلاندرن(۰/۲ درصد) بود (جدول ۲).

تعیین اثرات ضدمیکروبی اسانسها: در اسانس *Satureja macrantha* بیشترین هاله عدم رشد در رقت ۱:۵ در *Bacillus subtilis* وکمترین هاله عدم رشد در هر سه رقت در *Pseudomonas aeruginosa* مشاهده شد. در اسانس *Satureja rechingeri* بیشترین هاله عدم رشد در رقت ۱:۵ و ۱:۲۵ در *Candida albicans* وکمترین هاله عدم رشد در هر سه رقت در *Pseudomonas aeruginosa* مشاهده شد و در اسانس *Satureja spicigera* بیشترین هاله عدم رشد در رقت ۱:۵ و ۱:۵۰ در *Candida albicans* وکمترین هاله عدم رشد در هر سه رقت در *Pseudomonas aeruginosa* مشاهده شد (جدول ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده در سه گونه مرزه مورد تحقیق

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری (RI)	درصد *Satureja macrantha*	درصد *Satureja rechingeri*	درصد *Satureja spicigera*
۱	α-pinene	۹۳۷	۱/۳	۰/۳	۰/۵
۲	β-pinene	۹۸۴	۰/۲	–	–
۳	α –thujene	۹۳۰	–	۰/۴	
۴	Myrcene	۹۸۹	۲/۰	۱/۰	۱/۶
۵	α-phellandrene	۱۰۰۲	۰/۲	۰/۱	۰/۲
۶	α-terpinene	۱۰۱۳	۱/۵	۰/۳	۱/۵
۷	p-cymene	۱۰۲۱	۲۵/۱	۳/۱	۱۸/۸
۸	Limonen	۱۰۲۶	۰/۵	–	–
۹	γ-terpinene	۱۰۵۸	۲۱/۰	۱/۷	۱۲/۹
۱۰	P-mentha-3,8-diene	۱۰۷۲	۰/۳	–	–
۱۱	Borneol	۱۱۶۵	۰/۸	۰/۵	۰/۴
۱۲	Terpinene-4-ol	۱۱۷۵	۰/۵	۰/۴	۰/۳
۱۳	Thymol	۱۲۹۰	۳۹/۱	۱/۳	۴۶/۷
۱۴	Carvacrol	۱۲۹۵	۳/۵	۸۵/۲	۷/۹
۱۵	E-carryophyllene	۱۴۱۷	۰/۸	۰/۴	۲/۹
۱۶	Spathulenol	۱۵۷۵	۰/۶	–	۰/۴
۱۷	Carryophyllene oxide	۱۵۸۹	۰/۳	–	–
۱۸	1,8-cineole	۱۰۲۹	–	۰/۴	۰/۷
۱۹	Terpinolene	۱۰۸۰	–	۰/۹	۰/۴
۲۰	Germacerene D	۱۴۸۳	–	۰/۹	۰/۲
۲۱	Methyl ether thymol	۱۲۳۴	–	–	۲/۰

نتایج MIC و MBC نشان داد که اسانس *Satureja macrantha* روی *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis* و *Candida albicans* (۸–۱۶µg/ml)، روی *Staphylococcus aureus* (۱۶µg/ml) و روی *Pseudomonas aeruginosa* (۱۲۸ –۲۵۶<µg/ml) اثر ضدمیکروبی نشان داد. اسانس *Satureja rechingeri* روی *Candida albicans* (۸–۱۶µg/ml)، روی *Bacillus subtilis* (۱۶µg/ml) ، روی *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* (۱۶ –۳۲µg/ml) و روی *Pseudomonas aeruginosa* (۱۲۸ –۲۵۶<µg/ml) اثر ضدمیکروبی نشان داد.

همچنین اسانس *Satureja spicigera* روی *Candida albicans* (۸–۱۶µg/ml)، روی *Ecoli* و *Bacillus subtilis* (۱۶–۳۲µg/ml)، روی *Staphylococcus aureus* (۳۲–۶۴µg/ml) و روی *Pseudomonas aeruginosa* (۱۲۸ –۲۵۶<µg/ml) اثر ضدمیکروبی نشان داد (جدول ۴).

نتایج تحقیق حاضر به این صورت بررسی گردید که *Pseudomonas aeruginosa* مقاوم ترین باکتری به این ۳ اسانس بود. قارچ *Candida albicans* حساس‌تر از باکتریها به این ۳ اسانس بود. اسانس *Satureja macrantha* بیشترین اثر ضدمیکروبی را از خود نشان داد. اسانس

Archive of SID

www.SID.ir

Satureja spicigera کمترین اثر ضدمیکروبی را از خود نشان داد.

تعیین مقدار MIC و MBC اسانس‌ها در مقابل میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش به روش میکرودیلوشن انجام گرفت.

جدول ۳- میانگین هاله عدم رشد اسانسها علیه میکروارگانیسم‌ها در غلظتهای مختلف برحسب میلی متر

میکروارگانیسم	اسانس	۱:۵	۱:۲۵	۱:۵۰
E. coli	*Saturejamacrantha* جمعیت۱	۵۱/۷±۱۲/۵۸	۱۹/۳±۱/۱۵	۱۳/۷ ±۰/۵۸
	Saturejamacrantha جمعیت۲	۳۷ ±۱/۴۱	۲۳ ± ۴	۱۳/۷ ±۰/۵۸
E. coli	*Satureja rechingeri* جمعیت۱	۳۸/۷±۴/۷۳	۲۳/۷ ±۱/۵۳	۱۴ /۷ ±۱/۵۳
	Satureja rechingeri جمعیت۲	۳۵/۳±۳/۰۵	۱۷/۷±۰/۵۸	۱۱±۱
E. coli	*Satureja spicigera* جمعیت۱	۴۲/۳±۳/۵۱	۲۰/۳±۱/۵۳	۱۲±۱
	Satureja spicigera جمعیت۲	۳۶/۷±۷/۰۹	۱۸/۷±۱/۱۵	۱۳/ ۳ ±۲/۰۸
S. aureus	*Saturejamacrantha*جمعیت۱	۳۹ ±۱	۲۰ ±۱	۱۳ ±۰
	Saturejamacrantha جمعیت۲	۳۵/۷ ±۵/۱۳	۱۹ ±۱/۷۳	۱۱/۷ ±۱/۵۳
S. aureus	*Satureja rechingeri* جمعیت۱	۳۱/۷ ±۳/۵۱	۲۱/۷ ±۱/۵۳	۱۱/۷ ±۰/۵۸
	Satureja rechingeri جمعیت۲	۲۸±۱	۱۴/۷ ±۱/۵۳	۱۰/۷ ±۰/۵۸
S. aureus	*Satureja spicigera* جمعیت۱	۳۰ ±۲	۱۷ /۷ ±۲/۰۸	۱۱/۳±۰/۵۸
	Satureja spicigera جمعیت۲	۳۰/۳ ±۳/۷۹	۱۷/۳ ±۱/۵۳	۱۲ ±۱
P. aeruginosa	*Saturejamacrantha* جمعیت۱	۲۰ ±۱	۱۱±۱	۹/۷±۰/۵۸
	Saturejamacrantha جمعیت۲	۲۰/۷ ±۱/۵۳	۱۱±۰	۹±۰
P. aeruginosa	*Satureja rechingeri* جمعیت۱	۹/۷ ±۰/۵۸	۹/۳±۰/۵۸	۹/۳ ±۰/۵۸
	Satureja rechingeri جمعیت۲	۹/۷ ±۰/۵۸	۹/۷ ±۰/۵۸	۹/۳±۰/۵۸
P. aeruginosa	*Satureja spicigera* جمعیت۱	۱۵/۳ ±۱/۱۵	۱۰/۳±۰/۵۸	۹/۷±۰/۵۸
	Satureja spicigera جمعیت۲	۱۶/۳ ±۱/۱۵	۱۰ ± ۱	۹±۰
B. subtilis	*Saturejamacrantha* جمعیت۱	۵۴±۷/۵۵	۲۳/۳± ۲/۵۲	۱۳ /۳±۱/۵۳
	Saturejamacrantha جمعیت۲	۴۰±۱	۲۰±۲	۱۱/۳ ±۱/۱۵
B. subtilis	*Satureja rechingeri* جمعیت۱	۴۰/۳±۵/۷۷	۲۳/۷±۷/۳۷	۱۳/۳ ± ۳/۲۱
	Satureja rechingeri جمعیت۲	۴۲±۴	۱۹/۷±۰/۵۸	۱۰±۰
B. subtilis	*Satureja spicigera* جمعیت۱	۳۶ ±۵/۲۹	۲۰/۷±۵۳	۱۳/۷ ±۰/۵۸
	Satureja spicigera جمعیت۲	۳۷±۵/۵۷	۲۰±۱/۲/۶۵	۱۲/ ۳ ±۱/۱۵
C. albicans	*Saturejamacrantha* جمعیت۱	۴۹/ ۳ ±۰/۵۸	۲۰±۲	۱۲/۳±۱/۵۳
	Saturejamacrantha جمعیت۲	۳۸/۳±۷/۲۳	۲۵±۲	۱۳/ ۳±۱/۵۳
C. albicans	*Satureja rechingeri* جمعیت۱	۴۸±۲/۶۵	۲۴/۳±۲/۳۱	۱۴± ۱
	Satureja rechingeri جمعیت۲	۴۷ ±۲/۶۵	۲۰±۱/۷۳	۱۰/۷± ۰/۵۸
C. albicans	*Satureja spicigera* جمعیت۱	۴۹/۷±۴/۰۴	۲۴/۳±۳/۵۱	۱۳/۷±۰/۵۸
	Satureja spicigera جمعیت۲	۴۰/۳±۲/۰۸	۱۹/۳±۳/۰۵	۱۳ /۷±۱/۱۵

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- تعیین مقدار MIC و MBC در سه گونه مرزه مورد تحقیق علیه میکروارگانیسم‌ها برحسب µg/ml

میکروارگانیسم		MIC اکسشن۱	MBC اکسشن۱	MIC اکسشن۲	MBC اکسشن۲
E. coli	*S. macrantha*	۸	۱۶	۱۶	۱۶
	S. rechingeri	۱۶	۱۶	۱۶	۳۲
	S. spicigera	۱۶	۱۶	۳۲	۳۲
S. aureus	*S. macrantha*	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
	S. rechingeri	۱۶	۱۶	۳۲	۳۲
	S. spicigera	۳۲	۳۲	۳۲	۶۴
P. aeruginosa	*S. macrantha*	۱۲۸	۱۲۸	۲۵۶<	۲۵۶<
	S. rechingeri	۱۲۸	۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶<
	S. spicigera	۱۲۸	۲۵۶	۲۵۶<	۲۵۶<
B. subtilis	*S. macrantha*	>۸	>۸	۸	۱۶
	S. rechingeri	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
	S. spicigera	۱۶	۱۶	۱۶	۳۲
C. albicans	*S. macrantha*	۸	۸	۱۶	۱۶
	S. rechingeri	۸	۸	۱۶	۱۶
	S. spicigera	۸	۱۶	۱۶	۱۶

بحث

آنتی بیوتیکها داروهای ارزشمندی برای درمان بسیاری از بیماریهای انسانی می باشند، با این حال استفاده بیش از حد این داروها مقاومتهای میکروبی را در پی خواهد داشت. بنابراین دانشمندان تحقیقات بر روی قسمتهای مختلف گیاهان دارویی، برای کشف داروهای جدید با منشأ گیاهی را در اولویت قرار داده اند (۲ و ۱۱). با شناسایی ترکیبات موجود در هر اسانس می‌توان به این نکته پی برد که بین ترکیبات موجود در هر اسانس و خواص ضد میکروبی آن رابطه مستقیمی وجود دارد. برخی از محققان ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزای غالب موجود در اسانسها را با فعالیت ضدباکتریایی آنها گزارش کرده‌اند. اسانسها دارای ترکیبهای فنولی مانند تیمول، کارواکرول، گاماترپینن و پاراسیمن هستند که خاصیت ضدباکتریایی شدید آنها گزارش شده است (۱۳).

همچنین Ulte و همکاران در سال ۲۰۰۲ اظهار نمودند که گروه هیدروکسیل موجود در مولکول اجزای اسانس مانند کارواکرول، تیمول، پاراسیمن و منتول برای بروز خاصیت ضدباکتریایی آنها بسیار مهم است (۴۰).

علاوه برترکیبات فوق، در تحقیقات انجام شده از سوی سایر محققان ترکیباتی مانند آلفاپینن، لیمونن، ترپینن ۴ ال، اسپاتولنول، جرماکرنB، دلتاکادینن، کامفور، آلفاترپینئول، ژرانیل استات و ژرانیول هم اثرضد میکروبی‌شان اثبات شده و ۱و۸ سینئول نیز روی قارچها اثرضدمیکروبی دارد.

طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، ترکیبات جداسازی شده از اسانس *Satureja macrantha* ،شامل تیمول (۳۹/۱ درصد)، پاراسیمن (۲۵/۱ درصد)، گاماترپینن (۲۱/۰ درصد)، کارواکرول (۳/۵)، آلفاپینن (۱/۳)، لیمونن (۰/۵)، ترپینن ۴ ال (۰/۵) و اسپاتولنول (۰/۶) بود. در اسانس *Satureja rechingeri*، ترکیبات کارواکرول (۸۵/۲ درصد)، پاراسیمن (۳/۱ درصد)، گاماترپینن (۱/۷ درصد)، تیمول (۱/۳)، آلفاپینن (۰/۳)، ۱و۸ سینئول (۰/۴) وترپینن ۴ ال (۰/۴) یافت شد. همچنین ترکیبات جداسازی شده از اسانس *specigeraSatureja*، شامل تیمول (۴۶/۷ درصد)،

Archive of SID

www.SID.ir

پاراسیمن (۱۸/۸ درصد)، گاماترپینن (۱۲/۹ درصد)، کارواکرول (۷/۹)،آلفاپینن (۰/۵)، ۱و۸ سینئول (۰/۷)،ترپینن۴ ال (۰/۳) واسپاتولنول (۰/۴) بود. بنابراین اسانس *Satureja macrantha* با در نظرگرفتن مجموع اثر ترکیباتش دارای اثر ضدمیکروبی بیشتری نسبت به اسانس *Satureja rechingeri* و *Satureja specigera* است وطبق دو آزمون میکروبی انجام شده نیز اثر ضدمیکروبی بیشتری دارد. برهمین اساس *Satureja rechingeri* هم نسبت به *Satureja specigera* اثر ضدمیکروبی بیشتری دارد.

در تحقیقات سفیدکن وهمکاران (۲۰۰۴)، سرشاخه گلدار گونه *S. Specigera* ازاستان گیلان جمع آوری و به روش تقطیر با آب اسانس گیری شد. بازده اسانس ۳/۸۲ درصد واجزای اسانس شامل تیمول (۳۵/۱ درصد)،پاراسیمن (۲۲/۱ درصد)،گاماترپینن(۱۳/۷ درصد) وکارواکرول (۴/۰ درصد) بوده است. در نتایج بدست آمده از تحقیق انجام شده در گونه *S. specigera* بازده اسانس ۱/۷۴ درصد و ترکیبات اسانس شامل تیمول (۴۶/۷ درصد)، پاراسیمن (۱۸/۸ درصد)، گاماترپینن (۱۲/۹ درصد) و کارواکرول (۷/۹ درصد) بوده است (۳۳).

در تحقیقات سفیدکن و همکاران (۲۰۰۷)، بازده اسانس سرشاخه گلدار گونه *S. rechingeri* از استان ایلام، ۴/۷۲-۲/۶ درصد و ترکیب اصلی آن کارواکرول (۸۹-۸۳ درصد) بود. ترکیبات اصلی بسیاری ازگونه های مرزه، تیمول، کارواکرول، پاراسیمن و گاماترپینن گزارش شده است. در این تحقیق نیز بازده اسانس *S. rechingeri* (۳/۱۳ درصد) و ترکیب اصلی آن کارواکرول (۸۵/۲ درصد) و سایر ترکیبات اصلی تیمول، پاراسیمن و گاماترپینن بود (۳۱).

در تحقیقات سفیدکن و جمزاد (۲۰۰۵)، بررسی ترکیبهای موجود در اسانس سه گونه مرزه به نام های*S.mutica*، *S. intermedia* و *S. macrantha* نشان داده که اسانس *S. mutica* به طور عمده دارای کارواکرول (۳۰/۹ درصد) و تیمول (۲۶/۵ درصد) و اسانس *S. macrantha* دارای پاراسیمن (۲۵/۸) و لیمونن (۱۶/۳ درصد) و اسانس *S. intermedia* دارای تیمول (۳۲/۳ درصد) و گاماترپینن (۲۹/۳٪) می باشد. در تحقیق ما نیز اسانس *S. Macrantha* دارای تیمول (۳۹/۱ درصد)، پاراسیمن (۲۵/۱ درصد) و گاماترپینن(۲۱/۰ درصد) بوده است (۳۲).

تحقیقی توسط حیدری و همکاران (۱۳۹۰) به منظور بررسی اثر رژیم غذایی و سطوح مصرف اسانس *S. hortensis* بر جمعیت میکروبی ایلئوم و بستر جوجه های گوشتی، مقاومت آنتی بیوتیکی و تأثیر ضدمیکروبی اسانس در مقابل جدایه های *E.coli* انجام شد. در ارزیابی تأثیر ضدمیکروبی این اسانس، نتایج حاصل از اندازه گیری قطر هاله عدم رشد غلظتهای مختلف اسانس نشان داد که اثر بازدارندگی غلظتهای بالاتر، قوی‌تر می‌باشد. در این بررسی، آزمون ضدمیکروبی اسانس نشان داد که این گونه از نظر مهارکنندگی رشد (MIC) و کشندگی باکتریهای مورد نظر (MBC) بسیار قوی بوده که به دلیل وجود کارواکرول موجود در این اسانس می‌باشد. طبق نتایج تحقیق حاضر نیز، هاله عدم رشد *E.coli* ۵۱/۷-۳۵/۳ میلیمتر و (MIC) و (MBC)،۳۲-۸ µg/ml بود که نشان از قدرت ضدمیکروبی اسانس مرزه روی این باکتری دارد (۴).

در تحقیقی دیگر توسط سفیدکن و همکاران (۱۳۸۸)، اثر اسانس سه گونه مرزه *S. mutica* ,*S. bachtiarica* و *S.edmondi* علیه *Salmonella paratyphi A* , *B* مورد مطالعه قرارگرفت. نتایج حاصل نشان از قدرت مهارکنندگی و میکروب‌کشی بالای اسانسهای فوق داشت. بنابراین به نظر می‌رسد حضور تیمول، کارواکرول، پاراسیمن و گاماترپینن در اسانسهای مورد مطالعه می‌تواند باعث وجود خواص ضدمیکروبی در آنها باشد. در تحقیق حاضر نیز این‌چهار ترکیب، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (۵).

Archive of SID

www.SID.ir

همان گونه که ملاحظه می‌شود شباهتها و تفاوتهایی بین نتایج این تحقیق با تحقیقات قبلی وجود دارد که ناشی از تفاوت گونه ها و محل جمع آوری نمونه های گیاهی و تأثیر شرایط اقلیمی می باشد.

از طرف دیگر بررسی نتایج نشان می‌دهد که باکتریهای گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی حساسیت بیشتری به هر دو نوع اسانس نشان می‌دهند که این موضوع با یافته های دیگران مبنی بر حساسیت بیشتر باکتریهای گرم مثبت از جمله Ouattara(۱۹۹۷)، Shelef(۱۹۸۰) و نیز Agaogolu (۲۰۰۷) مطابقت دارد (۱۰، ۲۸ و ۳۵).

اختلاف در حساسیت بین باکتریهای گرم مثبت و منفی را می‌توان با تفاوت در ترکیبات دیواره سلولی و نیز ژنهای احتمالی موجود بر روی پلاسمید که عامل مقاومت به عوامل ضدمیکروبی هستند، توضیح داد. باکتریهای گرم منفی به علت داشتن دیواره لیپوپلی ساکاریدی خارجی به عنوان یک سد در برابر ذرات سمی عمل می‌کند (۱۷).

Kalemba و Kunicka (۲۰۰۳) گزارش کردند که به ترتیب فنولها، آلدئیدها، کتونها، الکل‌ها، استرها و هیدروکربنها دارای فعالیت ضدمیکروبی قوی‌تر و بیشتری می‌باشند و همچنین عنوان کردند که حالت لیپوفیلیک اسکلت هیدروکربنی و حالت هیدروفیلیک گروههای عملکردی آنها اهمیت اصلی را در فعالیت ضدمیکروبی ذرات اسانس دارا می‌باشند (۲۲).

ذرات با حلقه های سیکلوهگزان ایزوپروپیل- متیل یا حلقه سیکلوهگزان اشباع نشده فعالیت ضدباکتریایی را افزایش می‌دهد (۱۹).

تحقیقات روی هیدروکربنهای منوترپن مثل سابینن و لیمونن انجام شده و همه این تحقیقات فعالیت ضدمیکروبی متوسط تا قوی را در برابر باکتریهای گرم مثبت و قارچهای بیماریزا نشان دادند (۱۱، ۱۴، ۲۱، ۳۶، ۳۷ و ۳۸).

Haznedaroglu و همکاران (۲۰۰۱) وTepe و همکاران (۲۰۰۵) اثر این هیدروکربنهای منوترپن را در برابر باکتریهای گرم منفی سنجیدند و مشاهده کردند که فعالیت ضدمیکروبی ضعیفی را در برابر باکتریهای گرم منفی از خود نشان دادند (۱۸ و ۳۹).

طبق آزمایشهای انجام شده توسط Lis Balchin و همکاران (۱۹۹۹) لیمونن فعالیت قوی در برابر باکتریها و قارچها نشان داد (۲۳).

فعالیت ضدمیکروبی آلفاپینن در برابر استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس وپروپیونی باکتریوم توسط Raman و همکاران (۱۹۹۵) مشخص شد (۲۹).

Dorman و Deans(۲۰۰۰) گزارش کردند که حضور بخشی از استات در ترکیبات اسانس فعالیت ذرات اصلی را افزایش می‌دهد. ژرانیل استات و ژرانیول افزایش فعالیت ضدمیکروبی را در برابر میکروارگانیسم‌ها نشان داده‌اند. طبق آزمایشهای آنان بورنیل استات و بورنئول قدرت یکسانی دارند ولی بورنئول از بورنیل استات فعالیت کمتری نشان داد و فقط بورنیل استات است که روی میکروکوکوس لوتئوس اثر می‌گذارد. همچنین نتایج آنان نشان داد که آلفاپینن روی سراشیا مارسسنس، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس و انتروباکترآئروژنز اثرممانعت کنندگی رشد ندارد و دربقیه باکتریهای موردآزمایش اثرکمی (هاله عدم رشدکوچک) را نشان داد. دلتا-۳-کارن فقط در برابر سیتروباکترفروندی اثر ممانعت کنندگی نداشت و روی بقیه باکتریها اثرضدمیکروبی متوسطی را نشان داد. اثرات ضدمیکروبی دلتا-۳-کارن در این آزمایش بیشتر از آلفاپینن گزارش شد. این نتایج همچنین نشان داد که آلفاپینن اثر ضدقارچی و نیز اثر ضدباکتریایی روی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس دارد (۱۵).

معمولا ترکیبات اصلی مسئول اثرات ضدمیکروبی در بیشتر اسانسها هستند، هرچند تحقیقاتی انجام شده که نشان‌دهنده

Archive of SID

www.SID.ir

فعالیت سینرژیکی ترکیبات مختلف اسانسها با غلظت کم و زیاد بر روی باکتریها می‌باشد(۱۳، ۱۶، ۲۵ و ۲۸).

تحقیقات Onawunmi وهمکاران (۱۹۸۴) مشخص کرد که میرسن با فعالیت سینرژیکی که با ذرات دیگر اسانس دارد در مقابل باکتریهای*Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، *Pseudomonas aeruginosa* وگونه های خاصی از *Ecoli* در اثر ضدمیکروبی اسانس همکاری می‌کند (۲۷).

طبق یافته‌های این تحقیق، اسانس *Satureja macrantha* بیشترین اثر ضدمیکروبی و اسانس *Satureja spicigera* کمترین اثر ضدمیکروبی را از خود نشان داد.

منابع

۱- امید بیگی، ر.۱۳۷۹. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد۲، چاپ ۲، انتشارات طراحان نشر.

۲- بکائیان، م. فرازمند، ر. کی قبادی، س. سعیدی، س.، ۱۳۹۴.بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی سیر (alliumsativum) بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک‌های مختلف، ۲۸(۱): ۳۴-۴۱.

۳- جم زاد، ز.، ۱۳۸۸. آویشن ها و مرزه های ایران، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور،۱۷۱ صفحه.

۴- حیدری،ا. دخیلی رنجو،م.ذوالفقاری،م.، بهار۱۳۹۰. بررسی تاثیر ضدمیکروبی اسانس گیاه مرزه (*Saturejahortensis L.*) بر جدایه های *E.coli* روده جوجه های گوشتی، پژوهش های علوم گیاهی، ۶ (۱ (پیاپی ۲۱)): ۲۵-۳۵.

۵- سفیدکن، ف. عسکری، ف. صادق زاده، ل و اولیا، پ.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیر اسانس سه گونه مرزه (*Satureja mutica*، *S. edmondi* و *S. bachtiarica*) بر سالمونلا پاراتیفی، زیست شناسی ایران، ۲۲(۲): ۲۴۹-۲۵۸.

۶- سفیدکن، ف. صادق زاده، ل. تیموری، م. عسگری، ف و احمدی، ش (۱۳۸۶)، بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس دو گونه مرزه *Satureja bachtiarica Bunge* و *Satureja khuzistanica Jamzad* در دو مرحله برداشت، فصلنامهٔ علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳ (۲): ۱۸-۲۶.

۷- سفیدکن، ف.، جمزاد، ز. و برازنده، م.، ۱۳۸۳. اسانس *Satureja bachtiarica Bunge* به عنوان منبعی غنی از کارواکرول. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰(۴) : ۴۲۵-۴۴۰.

۸- فاکر باهر، ز.، رضایی، م.ب.، میرزا، م. و عباس زاده، ب .، ۱۳۸۰. بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس مرزه(*S. hortensis* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۱ : ۳۷-۵۱.

۹- میرزا، م. سفیدکن، ف و احمدی، ل.، ۱۳۷۵. اسانسهای طبیعی، استخراج، شناسایی کمی و کیفی، کاربرد، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۲۰۵ صفحه.

10- Agaogolu, S., Dostbil, N and Almedar, S. 2007, Antimicrobial activity of some spices used in meat industry *Bull Vet Inst Pulawy* 51, 53-57.

11- Al-Burtamani, S.K.S., Fatope, M.O., Marwah, R.G., Onifade, A.K and Al-Saidi, SH. 2005, Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of Haplophyllum tuberculatum from Oman. *J Ethnopharmacol* 96:107-112.

12- Baser, K.H.C., Ozek, T., Kirimer, N.and Tumen, G., 2004. A comparative study of the essential oils of wild and cultivated Satureja hortensis L. Jornal of Essential Oil Research, 16(5): 422-424.

این نتایج پیشنهاد می کند که اسانس *Satureja macrantha* با خاصیت ضدباکتریایی قوی ای که دارد می تواند بعنوان عامل ضدباکتریایی در داروهای جدید برای درمان بیماریهای عفونی استفاده شود.

سپاسگزاری

با تشکر از کلیه همکارانی که ما را در اجرای این طرح یاری کردند، به ویژه از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و از جناب آقای دکتر مهدی میرزا برای تهیه طیف ها و آنالیز GC/MS و همچنین سرکار خانم دکتر مریم تیموری و سرکار خانم مهندس فاطمه عسکری صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.

Archive of SID

www.SID.ir

13- Burt, S.2004, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review.*Int J Food Microbiol.*94:223-253.

14- Delaquis, PJ., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G. 2002, Antimicrobial activity of individual mixed fractions of dill, Cilantrol, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol* 74:101-109.

15- Dorman, HJD., Deans, SG.2000, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* 88:308-316.

16- Filipowicz, N., Kaminski, M., Kurlenda, J., Asztemborska, M and Ochocka, R.2003, Antibacterial and Antifungal Activity of Juniper Berry Oil and its Selected Components. *Phytother. Res.*17, 227–231.

17- Glisic, S.B., Milojevic, S.Z., Dimitrijevic, S.I., Orlovic, A.M. and Skala, D.U.2007, Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus Communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics. *J.Serb.Chem.Soc*.72:311-320.

18- Haznedaroglu, MZ., Karabay, U., Zeybek, U.2001, Antibacterial Activity of Salvia tomentosa Essential Oil, *Fitoterapia* 72:829-831.

19- Hinou, J.B., Harvala, C.E., Hinou, E.B.1989, Antimicrobial activity screening of 32 common constituents of Essential Oils. *Die Pharmazie* 44, 4, p.302-303.

20- Jamzad, Z.1994: A new species of the genus Satureja (Labiatae) from Iran. Iran .J. Bot. 6, 2 : 215-218

21- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, AS., Georgiev, EV., Damianova, ST.2003, Composition, quality control, and antimicrobial activity of the essential oil of long-time stored dill (Anethum graveolens L.) seeds from Bulgaria.*J Agric Food Chem.*51:3854-3857.

22- Kalemba, D., Kunicka, A.2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*.10:813-829.

23- Lis-Balchin, M., Ochocka, JR., Deans, S.1999, Differences in Bioactivity between the Enantiomers of "-Pinene.*J Essent Oil Res* 11: 393–397.

24- Mahboubi, M., Kazempour, N., December 2011.Chemical composition and antmicrobial activity of Satureja hortensis and Trachyspermum copticum essential oil.Iranian journal of microbiology, Volume 3 Number 4 194-200.

25- Mastelic, J., Politeo, O., Jerkovic, I., Radosevic, N.2005, Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions.*Chem Nat Comp* 41:35-40.

26- Murray, P.R., Jo Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M.A., Landry, M.L.2007, Manual of Clin- ical Microbiology, ASM press.

27- Onawunmi, G.O., Yisak, W.A and Ogunlana, E.O. 1984, Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.*J Ethnopharmacol* 12(3):279-86.

28- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., Begin, A.1997, Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms.*Int J Food Microbiol* 37, 155-162.

29- Raman, A., Weir, U and Bloomfield, S.F. 1995, Antimicrobial effects of tea-tree oil andits major components on *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis* and Propionibacterium acnes.*Lett Appl Microbiol* 21(4):242-5.

30- Sahin, F., Karaman, I., Güllüce, M., Oğütçü, H., Sengül, M., Adigüzel, A., Oztürk, S., Kotan, R.2003 Jul.Evaluation of antimicrobial activities of Satureja hortensis L.J Ethnopharmacol. ;87(1):61-5.

31- Sefidkon, F., Abbasi, Kh., Jamzad, Z.and Ahmadi, Sh., 2007. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of Satureja rechingeri Jamzad. FoodChemistry, 100: 1054-1058.

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

33- Sefidkon, F.Jamzad, Z. and Mirza, M.(2004).Chemical Variation in the Essential Oil of Satureja sahendicaa from Iran.Food Chemistry, 88: 325–328.

34- Serrentino, J.1991, How Natural Remedies Work.Point Robert, W.A.: Harley and Marks Publishers : 20 -22.

35- Shelef, L.A., Naglik, O.A., Bogen, D.W.1980, Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and all spice.*J Food Sci* 45, 1042-1044.

36- Skocibusic, M. and Bezic, N., 2004.Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of two *Satureja* species

Archive of SID

www.SID.ir

essential oils. Phytother. Research, 18(12): 964-970.

37- Sokovic, MD., Ristic, M., Grubisic, D.2004, Chemical composition andantifungal acti- vity of the essential oil from Juniperus excelsa berries. *Pharm Biol* 42:328-331.

38- Staniszewska, M., Kula, J., Wieczorkiewicz, M., Kusewicz, D.2005, Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots – the Chemical Composition and Antimicrobial Activity.*J Essent Oil Res*. 17:579-583.

39- Tepe, B., Sokmen, M., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M.2005, Antimicrobial and anti-oxidant activities of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. and Scheng.*J Food Eng*.69:335-342.

40- Ulte, A., Bennik, M.H.J.and Moezelaar, R., 2002.The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology, 68: 1561-1568.

Evaluation of three *Satureja* species essential oil (*S. macrantha, S. rechingeri, S. spicigera)*against bacteria that cause hospital infections and *Candida albicans*

Elmira Ehsani[1], Fatemeh sefidkon[2] and Farzaneh Hoseyni[3]

[1] Mazandaran Agricultural and Natural Resources Researches and Education Center, Sari, I.R. of Iran

[2] Research Institute of Forest and Rangeland, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. of Iran

[3] Faculty of Biological Science, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

In order to evaluation of three *Satureja* species essential oils (*S. macrantha, S. rechingeri, S. spicigera*) against the bacteria that cause hospital infections and *Candida albicans*, in the first twoaccessions ofevery threespeciescollected in 1391 from The Botanical Garden of Research Institute of Forests and Rangelands, the essential oil was isolated by water distillation . analyzed constituents of essential oils by GC/MS and the results show the essence of *Satureja macrantha* and *Satureja spicigera*, 16 components and essence of the *Satureja rechingeri*, 15 components were identified. The major compounds in the essential oils were Thymol, Carvacrol, p-cymene and γ-terpinene. In this experiment , essence dilution was in three levels including one-fifth, one twenty-fifth and one fiftieth, and compare them with antibiotics (Ciprofloxacin and Ceftizoxime) and micro organisms at 5 levels , including *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The antibacterial activity was determined by disk diffusion method and estimate against five species. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the essential oils were determined with microdilution. *Pseudomonas aeruginosa* was the most resistant bacteria and *Candida albicans*Wasmore sensitivethan bacteria. *Satureja macrantha*Showed the highest antimicrobial activity and *Satureja spicigera* showed the lowest antimicrobial activity.

Key words :*S. spicigera*, *S. rechingeri*, *S. macrantha*, essential oil, Antibacterial activity and GC/MS

Archive of SID

www.SID.ir