

فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۳، شماره ۲، صفحه ۲۷۷-۲۶۹ (۱۳۸۶)

اثر ضد قارچی اسانسهای *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas و *Zataria multiflora* Boiss. بر قارچ مولد آفلاتوکسین اسپرژیلوس پارازیتیکوس

محمدهادی فکور^۱، عبدالامیر علامه^۲، ایرج رسولی^۳ و منصوره مظاهری^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، پست الکترونیک: hadi.fakoor@gmail.com

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیک: allameha@modares.ac.ir

۳- عضو هیئت علمی دانشگاه شاهد، پست الکترونیک: rasooli@shahed.ac.ir

۴- کارشناس مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، کرج

چکیده

اثر ضد قارچی اسانسهای آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و آویشن کرکی (*Thymus eriocalyx* (Ronniger)) از طریق مهار رشد قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس NRRL 2999 مولد آفلاتوکسین بررسی شد. کمترین غلظت مهاری (MIC) و کمترین غلظت قارچ کشی (MFC) و سنیتیک مرگ میکروارگانسیم نسبت به اسانسهای فوق اندازه گیری شد. اسانسهای فوق توسط گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) آنالیز شدند تا ترکیبهای اسانسهای مؤثر بر مهار کامل رشد قارچ فوق بدست آید. اطلاعات گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی نشان داد که اسانس *Thymus eriocalyx* از ۱۸ ترکیب و اسانس *Zataria multiflora* از ۲۲ ترکیب تشکیل شده اند. این دو اسانس از نظر دارا بودن هشت ترکیب آلفا-پینن، آلفا-توزن، تیمول، سیس ساینن هیدرات، پارا-سیمن، ۱،۸-سینئول، میرسن و ساینن یکسان بودند. نتایج حاصل، حاکی از قدرت فوق العاده اسانسهای فوق به عنوان ترکیب قارچ کش مولد آفلاتوکسین و نگهدارنده ایمن مواد غذایی بود.

واژه های کلیدی: *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas، *Zataria multiflora* Boiss.، اسپرژیلوس پارازیتیکوس، آفلاتوکسین.

مقدمه

(۱۳۷۰). خواص ضد میکروبی آویشن به اثبات رسیده است (Juliano et al., 2004; Nguetack et al., 2004; Karaman et al., 2001). گونه های مختلف آویشن با خاصیت قارچ کشی گزارش شده است (Pina-vaz et al., 2004). آفلاتوکسین متابولیت ثانویه تولید شده توسط قارچهای توکسوژنیک اسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس می باشد. این قارچها توانایی آلوده کردن مواد غذایی انسان و حیوانات را دارند. رشد چنین قارچهایی بر روی مواد غذایی حیوانات

گیاه آویشن از تیره نعنائیان می باشد و دارای خاصیت دارویی فراوان بوده و نوع بومی آن در ایران هم یافت می شود. آویشن شیرازی، بومی نواحی مرکزی و جنوبی ایران است. آویشن کرکی، بومی کوهستانهای آذربایجان غربی می باشد. در طب سنتی این گیاه به عنوان ضد عفونی کننده، ضد انگل، ضد نفخ و ضد درد مورد استفاده قرار می گرفته است (زرگری، ۱۳۷۵؛ قهرمان، ۱۳۷۲؛ صمصام شریعت،

کرکی، باغ گیاه‌شناسی ملی ایران و فصل جمع‌آوری آن پاییز (آبان ماه) ۱۳۸۴ بود. اندام مورد استفاده در هر دو گیاه قسمتهای هوایی گیاه (برگ گیاه) و روش اسانس‌گیری تقطیر با آب و بخار انجام شد. بازده اسانس برای آویشن شیرازی ۳/۳٪ نسبت به وزن خشک گیاه و ۲/۹۲٪ برای آویشن کرکی بود.

آنالیز اسانسها

برای شناسایی ترکیبهای اسانسها از دستگاههای گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. شناسایی طیفها به کمک شاخصهای بازداری آنها که با تزریق هیدروکربنهای نرمال (C₇-C₂₅) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانسها و توسط برنامه رایانه‌ای نوشته شده (زبان بیسیک) محاسبه شدند. در ضمن مقایسه مقادیر با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده، صورت پذیرفت و نیز با استفاده از طیفهای جرمی ترکیبهای استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوییدها در رایانه دستگاه GC/MS تأیید شدند. محاسبه‌های تعیین درصد هر ترکیب به کمک داده‌پرداز Euro Chrom 2000 به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ مربوط به طیفها انجام شده است.

مشخصات دستگاههای مورد استفاده

دستگاههای مورد استفاده گاز کروماتوگراف (GC) مدل شیمادزو، سری ۹A مجهز به دتکتور FID (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و داده‌پرداز Euro Chrom 2000 از شرکت Knauer آلمان بود گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مدل Varian-۳۴۰۰ متصل به طیف سنج جرمی Saturn II با سیستم تله یونی و با انرژی

و انسان باعث ایجاد ضایعات و کاهش ارزش کیفی مواد غذایی می‌شود. استفاده از ترکیبهای ضد میکروبی طبیعی برای حفظ مواد غذایی و کنترل بیماریهای میکروبی در انسان و حیوانات مهم می‌باشد (Baratta et al., 1998). آفلاتوکسین تولید شده توسط قارچهای فوق، به شدت هپاتوکارسینوژن است و می‌تواند سلامت حیوانات و انسان را به خطر بیندازد. بنابراین مبارزه با عامل مولد این سم ضروری به نظر می‌آید (Eaton & Groopman, 1994).

در این تحقیق، تأثیر اسانس دو نوع آویشن فوق بر تولید آفلاتوکسین و مبارزه با رشد قارچ مولد آفلاتوکسین و مبارزه با رشد و تکثیر قارچ مولد آن (*Aspergillus parasiticus* NRRL 2999) مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

میکروارگانسیم و محیط کشت

در این مطالعه از سویه استاندارد اسپرژیلوس پارازیتیکوس NRRL 2999 استفاده شد. قارچ مورد نظر را بر روی اسلتهای سابورودکستروز آگار SDA کشت داده شد. مدت ۵ تا ۷ روز در گرمخانه ۲۸±۲ سانتیگراد نگهداری شد تا قارچ رشد کرده و اسپور تولید کند. آنگاه سوسپانسیون اسپور توسط آب مقطر استریل تهیه و به روش هموسایتمتری شمارش شد. برای سنجش کمترین غلظت مهاری (MIC) و کمترین غلظت قارچ‌کشی (MFC) از محیط کشت غنی YES مدیوم استفاده شد. تمام ترکیبهای مربوط به محیط کشت، مربوط به شرکت E.Merck بود (Rasooli & Mirmostafa, 2003).

اسانس‌گیری

محل جمع‌آوری آویشن شیرازی، استان فارس و فصل جمع‌آوری آن خرداد ماه ۱۳۸۵ بود. محل جمع‌آوری آویشن

۲۰ μl بر روی دیسکها بررسی شد. پلیتها به همراه یک شاهد کنترل درون گرمخانه $28 \pm 2^\circ\text{C}$ برای مدت زمان ۴۸ ساعت نگهداری شد تا هاله عدم رشد قارچ بررسی شود. حداقل غلظت مهاری (MIC) به روش تعیین رقت در لوله انجام شد. محیط کشت استفاده شده YES برات با ۶ pH بود. ۱۰ لوله حاوی ۵ ml YES برات به همراه لوله شاهد تهیه و به هر کدام غلظت‌های مختلف اسانس اضافه گردید. پس از ورتکس لوله‌ها به مدت ۶۰ ثانیه تعداد $10^6 \times 5$ اسپور در هر لوله به محیط کشت‌ها اضافه و در گرمخانه با دمای $28 \pm 2^\circ\text{C}$ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. پس از این مدت، رشد میکروارگانیسم با شاهد فاقد اسانس مقایسه گردید.

حداقل غلظت مهاری عبارت بود از حداقل غلظتی از اسانس که در آن قارچ نسبت به شاهد رشد نکرده ولی پس از انتقال و کشت $10^6 \mu\text{l}$ از سوسپانسیون به پلیت سابورودکستروز آگار رشد قارچ به حالت عادی بود.

برای تعیین حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) از لوله‌هایی که نسبت به شاهد، فاقد رشد بودند استفاده گردید. مقدار $10^6 \mu\text{l}$ سوسپانسیون‌های مذکور به محیط کشت جامد سابورودکستروز آگار منتقل و در گرمخانه $28 \pm 2^\circ\text{C}$ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. حداقل غلظت قارچ‌کشی عبارت است از، حداقل غلظتی از اسانسها که در آن قارچ تیمار شده پس از انتقال به پلیت هیچ گونه رشدی از خود نشان ندهد (Rasooli & Mirmostafa, 2003; Wistrieck, 1991).

سینتیک مرگ اسپورها توسط اسانسها

پس از محاسبه حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) اسانسها، اسانس مورد نظر با غلظت مشابه را به محلول

یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت می‌باشد. ستون استفاده شده برای GC ستون نیمه قطبی DB-5 ساخت Scientific J & W Inc., Rancho Cordova, CA, USA به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون، از دمای اولیه ۴۰ درجه سانتیگراد تا دمای نهایی آن برابر با ۲۵۰ درجه سانتیگراد که در هر دقیقه ۴ درجه سانتیگراد به آن افزوده می‌شود. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب در ۲۵۰ و ۲۶۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد. ستون مورد استفاده در GC/MS همانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC بود. درجه حرارت ۶۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد که در هر دقیقه ۳ درجه سانتیگراد به آن افزوده می‌شود. درجه حرارت محفظه تزریق 260°C و دمای ترانسفرلاین 270°C تنظیم شده است. (Adams, 1989; Davies, 1998).

رقیق سازی اسانسها توسط حلال

برای رقیق سازی اسانسها از حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) که بر قارچ مورد مطالعه هیچ اثری ندارد، استفاده شد. اسانسها با رقت ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸ و ۱/۱۶ با حلال رقیق شدند و خاصیت ضد قارچی آنها بررسی شد.

بررسی اثر ضد قارچی اسانسها

به روش پورپلیت مقدار 10^6 ml اسپور محیط کشت سابورودکستروز آگار درون پتری پلیت‌های ۹۰ mm استریل اضافه شد و با استفاده از دیسکهای بلنک استریل ۶ mm واتمن نمره ۱، به روش بررسی هاله عدم رشد، حساسیت اسپور قارچ به اسانس دو گونه آویشن با تلقیح

غلظت‌های مختلفی از دو اسانس آویشن کرکی و آویشن شیرازی بر روی محیط کشت مایع YES برات و جامد سابورودکستروز آگار آزمایش شد. خاصیت ضد قارچی در دو اسانس بسیار بالا بود. حداقل غلظت مهاری برای هر دو گونه اسانس آویشن ۲۵۰ppm گزارش شد و حداقل غلظت فعالیت قارچ‌کشی برای اسانس آویشن ارومیه ۶۰۰ppm و برای آویشن شیراز ۷۵۰ppm بدست آمد. مطالعه سنتیک مرگ اسپورها در مجاورت هر دو اسانس حاکی از مرگ حدود ۶۰٪ اسپورها در ۱۵ دقیقه مجاورت اولیه اسانس با اسپور بود. آویشن شیراز در زمان ۵۰ دقیقه و آویشن کرکی در زمان ۳۰ دقیقه مرگ اسپورها را به صفر رساندند (شکل ۱). در مطالعات فوق وابستگی غلظت اسانسها و زمان مجاورت آنها، با مرگ اسپورهای قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس به اثبات رسید. آنالیز شیمیایی اسانسها نشان داد که آویشن شیراز از ۲۲ ترکیب و آویشن کرکی از ۱۸ ترکیب تشکیل شده است. این دو اسانس در ۸ ترکیب آلفا-پینن، آلفا-تورن، تیمول، سیس-سایین هیدرات، پارا-سیمن، ۱-۸-سینئول، میرسن و سایین مشترک بودند (جدول ۲). بازده اسانسهای آویشن شیراز و آویشن ارومیه به ترتیب ۳۳٪ و ۲۰۹۲٪ بود.

بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=۷ اضافه کرده و پس از ۶۰ ثانیه ورتکس، مقدار ۱۰^۶ اسپور در هر ml به محلول بافر فسفات اضافه کرده و پس از قرار دادن در گرمخانه شیکردار در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد، در زمانهای ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵ و ۶۰ دقیقه با رقت ۱/۲۰۰۰۰ اسپور بر روی محیط کشت سابورودکستروز آگار کشت داده و پس از گرمادهی ۲۸±۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت، کلنی‌های قارچ شمارش شدند. تمام موارد فوق با یک شاهد فاقد اسانس کنترل گردید. همچنین نتایج میکروبی ماحصل سه بار تکرار آزمون است.

نتایج

آزمایش اولیه برای بررسی اسپرژیلوس پارازیتیکوس به اسانسهای آویشن کرکی و آویشن شیرازی مثبت گزارش شد. قطر هاله عدم رشد به روش بررسی هاله عدم رشد با دیسک انتشار حاکی از نتایج زیر بود:

اسانسهای بدون رقت و با رقت ۱/۲ برای هر دو اسانس، هاله عدم رشد بیشتر از قطر پلیت بود ولی در رقت‌های ۱/۴ و ۱/۸ به ترتیب آویشن کرکی و آویشن شیرازی به ترتیب (۲۲ و ۱۷ میلی‌متر)، (۱۳ و ۱۱ میلی‌متر) بدست آمد. رقت ۱/۱۶ برای هر دو اسانس فاقد ارزش بود (جدول ۱).

جدول ۱- بررسی اولیه اثر ضد قارچی دو گونه آویشن بومی ایران با غلظت‌های متفاوت

بر اساس مهار رشد، با اندازه‌گیری هاله عدم رشد به وسیله دیسک انتشار

<i>Thymus eriocalyx</i>					<i>Zataria multiflora</i> Boiss.					
۱/۱۶	۱/۸	۱/۴	۱/۲	۱	۱/۱۶	۱/۸	۱/۴	۱/۲	۱	رقت اسانس
۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	غلظت اسانس (ppm)
-	۱۳	۲۲	+	+	-	۱۱	۱۷	+	+	هاله عدم رشد (mm)

+ = هاله عدم رشد بیشتر از سایز پلیت ۹۰ میلی‌متر

- = هاله فاقد ارزش (عدم هاله)

جدول ۲- ترکیبهای شیمیایی *Thymus eriocalyx* و *Zataria multiflora*

(%) <i>Thymus eriocalyx</i>	(%) <i>Zataria multiflora</i>	اندیس بازداری	نام ترکیب	ردیف
۰/۷	-	۹۰۹	tricyclene	۱
۰/۵۷	۰/۹	۹۱۶	α -thujene	۲
۰/۳	۵	۹۲۶	α -pinene	۳
-	۰/۳	۹۶۱	camphene	۴
۱/۳۱	-	۹۶۷	β -pinene	۵
۰/۲۴	۰/۶	۹۷۰	sabinene	۶
۰/۲۷	۱/۶	۹۸۲	myrcene	۷
-	۳/۹	۹۹۰	decane	۸
۱/۲	-	۹۹۵	α -phellandrene	۹
۱۳/۳	-	۱۰۰۵	β -phellandrene	۱۰
۱/۸۹	۰/۷	۱۰۰۹	1,8-cineole	۱۱
۰/۷۸	۱۵	۱۰۱۳	p-cymene	۱۲
-	۱/۴	۱۰۱۹	α -terpinene	۱۳
-	۰/۸	۱۰۲۵	limonene	۱۴
۸/۱	-	۱۰۳۶	cis Sabinene hydroxide	۱۵
۰/۹	-	۱۰۳۹	n-octanol	۱۶
-	۶/۵	۱۰۵۱	γ -terpinene	۱۷
-	۰/۲	۱۰۸۴	terpinolene	۱۸
۰/۳	۰/۳	۱۰۹۶	cis Sabinene hydrate	۱۹
-	۳/۸	۱۱۰۰	undecane	۲۰
۰/۳	-	۱۱۱۰	trans thujone	۲۱
۰/۸	-	۱۱۳۴	(Z)-tagetone	۲۲
-	۸/۹	۱۱۵۲	dodecane	۲۳
۰/۵۶	-	۱۲۱۴	cis sabinene hydrate acetate	۲۴
-	۰/۵	۱۲۳۶	thymol (methyl ether)	۲۵
-	۵/۲	۱۲۴۳	carvacrol (methyl ether)	۲۶
۶۳/۸	۳/۳	۱۲۶۷	thymol	۲۷
-	۳۷	۱۲۹۹	carvacrol	۲۸
-	۰/۲	۱۳۱۶	thymyl acetate	۲۹
-	۱/۹	۱۳۸۶	tetradecane	۳۰
-	۱/۹	۱۴۱۹	β -caryophyllene	۳۱
۱/۲	-	۱۴۷۲	germacrene D	۳۲



شکل ۱- سنیتیک مرگ اسپوره‌های اسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط اسانسهای آویشن شیرازی با کمترین غلظت قارچ کشی ppm ۷۵۰ و آویشن کرکی با کمترین غلظت قارچ کشی ppm ۶۰۰ و تلقیح ۱۰^۶ اسپور در هر ml بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH ۷

بحث

(Nguefack *et al.*, 2004). نتایج در محیط کشت YES براث که غنی شده‌تر از محیط کشت چاپکس آگار است حاکی از مهار رشد میسیلیوم قارچ در غلظت ۲۵۰ ppm برای هر دو گونه آویشن بومی ایران بود. قدرت قارچ‌کشی آویشن ارومیه ppm ۶۰۰ و آویشن شیراز ppm ۷۵۰ بود. این مطلب ثابت می‌کند که محیط غذایی غنی‌تر نمی‌تواند قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس را در برابر اسانسهای فوق محافظت کند. مطالعه سنیتیک مرگ اسپورها در مجاورت هر دو اسانس حاکی از مرگ حدود ۶۰٪ اسپورها در ۱۵ دقیقه مجاورت اولیه اسانسها با اسپور بود؛ در حالی که آویشن شیرازی در زمان ۵۰ دقیقه‌ای مرگ اسپورها را به صفر می‌رساند؛ آویشن کرکی همین کار را در زمان ۳۰ دقیقه‌ای انجام می‌دهد. به نظر می‌رسد یک توقف در مرگ اسپورها در زمان ۲۰ تا ۳۰ دقیقه مجاورت اسپورها با آویشن شیرازی علت طولانی شدن این زمان باشد (شکل ۱). اثر مهاری و قارچ‌کشی اسانسهای فوق می‌تواند مربوط به ترکیبهای متنوع آنها

نتایج اولیه حاکی از فعالیت ضد قارچی آویشن کرکی و آویشن شیرازی بود (جدول ۱). هر دو گونه اسانس آویشن موفق به مهار رشد قارچ در ppm ۲۵۰ شدند. حوضه مهار رشد قارچ بستگی به غلظت اسانسها داشت. Soleiman و Badaea (۲۰۰۲) غلظت مورد استفاده برای هر اسانس را در مهار رشد قارچهای اسپرژیلوس پارازیتیکوس، فلاووس و اخراسئوس توسط اسانسهای آویشن (*Thymus*)، دارچین (*Cinamon*) (< ۵۰۰ ppm)، گل جعفری (*Marigold*) (< ۲۰۰۰ ppm) پونه (*Menta* *spearment*) و ریحان (۳۰۰۰ ppm) گزارش کردند. پیش از این نیز مهار کامل اسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط عصاره‌های آویشن وحشی (*Thymus* (wild) و آویشن سیاه (*Thymus* (black) و پونه کوهی بر روی محیط کشت چاپکس آگار شناسایی شده بود (Ozcan, 1998). همچنین مهار کامل اسپرژیلوس فلاووس توسط *Thmus vulgaris* در مقدار ppm ۱۰۰۰ گزارش شده بود

آویشن کرکی با آویشن شیرازی در رقت‌های ۱/۴ و ۱/۸ در روز دوم گرمادهی نیز همین امر را ثابت کرد (جدول ۱).

سپاسگزاری

بدین وسیله از استادان ارجمند، جناب آقای دکتر محمدباقر رضایی، دکتر کامکار جایمند و سرکار خانم دکتر فاطمه سفیدکن که نهایت همکاری و مشاوره را در به انجام رسیدن موفق این پروژه مبذول نمودند، سپاسگزاریم.

منابع مورد استفاده

- زرگری، ع.، ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. جلد اول، چاپ ششم، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۹۴۸ صفحه.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۲. کروموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد سوم، مرکز نشر دانشگاهی، تهران، ۷۶۸ صفحه.
- صمصام شریعت، س.ه. و معطر، ف.، ۱۳۷۰. گیاهان و داروهای طبیعی. جلد دوم، انتشارات روزبهان، تهران، ۲۸۸ صفحه.
- Adams, R.P., 1989. Identification of essential oils by Ion trap Mass Spectroscopy. Academic Press, San Diego, USA. 698 p.
- Baratta, T.M., Dorman, D.J.H., Deans, G.S., Figueiredo, C.A., Barroso, G.J. and Ruberto, G., 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13: 235-244.
- Davies, N.W., 1998. Gas Chromatographic Retention Index of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl silicone and Carbowax 20 M phases. *Journal of Chromatography*, 503: 1-24.
- Eaton, D.J. and Groopman, J.D., 1994. The toxicology of aflatoxins; Human Health, Veterinary and Agricultural Significance. Academic Press, New York, 564 p.
- Juliano, C., Mattana, A. and Usai, M., 2000. Composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* loisel growing wild in Sardinia. *Journal of Essential oil Research*, 12: 516-522.
- Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U. and Ilcim, A., 2001. Antibacterial and antifungal activity of the

باشد (Mahmoud (Soliman & badeaa, 2002). (۱۹۹۴) از کشور مصر، با مطالعه بر روی اسانسها و ترکیبهای آنها، نقش ضد قارچی برخی از ترکیبهای اسانسها از جمله ترکیبهای فنولی نظیر تیمول، ترکیبهای آلدئیدی نظیر سینمالدئید و الکل‌های ترپنی همچون ژرانیول و نرول را با غلظت ۱۰۰۰ ppm بر مهار کامل رشد و سنتز آفلاتوکسین توسط اسپرژیلوس فلاووس را گزارش کرده بود.

هر دو اسانس از ترکیبهای متنوعی تشکیل شده‌اند که در ۸ ترکیب آلفا-پینن، آلفا-توژن، تیمول، سیس-سابینن هیدرات، پارا-سیمن، ۱،۸-سینئول، میرسن و سابینن مشترک بودند. هر چند که مقادیر این ترکیبها در هر دو اسانس متفاوت است؛ ولی به نظر می‌رسد که مشترک بودن این ترکیبها در هر دو اسانس می‌تواند در یکسان بودن حداقل اثر مهاری و نزدیک به هم بودن قدرت قارچ‌کشی هر دو اسانس مؤثر باشد. از طرفی دیگر ترکیبهای عمده آویشن شیرازی به ترتیب کارواکرول (۳۷٪)، پارا-سیمن (۱۵٪)، دودکان (۹٪)، گاما-ترینن (۶/۵٪)، آلفا-پینن (۵٪)، دکان (۴٪) و تیمول (۳/۳٪) است. ترکیبهای عمده آویشن کرکی عبارتند از: تیمول (۶۴/۳٪)، بتا-فلاندرن (۱۳/۲٪)، سیس-سابینن هیدروکسید (۸/۴٪) است (جدول ۲). به نظر می‌رسد، حضور ترکیبهای فنولی نظیر تیمول و کارواکرول به عنوان ترکیبهای عمده اسانسها، می‌تواند در بدست آمدن نتایج ضد قارچی بر ضد اسپرژیلوس پارازیتیکوس مؤثر باشد. انجام آزمایشهای هاله عدم رشد و بررسی حداقل غلظت قارچ‌کشی نشان داد که با توجه به شرایط یکسان برای هر دو اسانس، قدرت قارچ‌کشی آویشن کرکی بیشتر از آویشن شیرازی است. مقایسه هاله عدم رشد

- Cavaleiro, M.J. and Martinezde-Oliveira, J., 2004. Antifungal activity of *Thymus* oils and Their major compounds (JEADV). Journal of European Academy of Dermatology and Venereology, 18: 73-78.
- Rasooli, I. and Mirmostafa, S.A., 2003. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 518: 2200-2205.
 - Soliman, K.M. and Badeaa, R.I, 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and Chemical Toxicology, 40: 1669-1675.
 - Wistreich, G.A., 1997. Microbiology laboratory. Prentice Hall, 676 p.
 - essential oils of *Thymus revolutus* celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 762: 183-186.
 - Mahmoud, A.L., 1994. Antifungal action and antiaflatoxic properties of some essential oil constituents. Letters in Applied Microbiology, 2: 110-113.
 - Nguefack, J., Leth, V., Amvam Zollo, P.H. and Mothur, S.B., 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. International Journal of Food Microbiology, 94: 329-334.
 - Ozcan, M., 1998. Inhibitory effects of spice extracts on the growth of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 strain. Z Naturforsch A, 207: 253-255.
 - Pina-Vaz, C., Gone, A., Rodrigues, A., Pinto, E., Costa-de-oliveira, S., Tavares, C., Salgueiro, L.,

Antifungal effects of *Zataria multiflora* Boiss. and *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas essential oils on aflatoxin producing *Aspergillus parasiticus*.

M.H. Fakoor¹, A. Allameh², I. Rasooli³ and M. mazaheri⁴

1-M.Sc student of Islamic Azad University, E-mail: hadi.fakoor@gmail.com

2-Tarbiat Modaress University, E-mail: allameha@modares.ac.ir

3-Shahed University, E-mail: rasooli@shahed.ac.ir

4- Institute of standards and Industrial Research of Iran, Karaj.

Abstract

The antifungal properties of *Zataria multiflora* Boiss. and *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas essential oils were studied on growth inhibition of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. Minimal inhibitory (MIC) and fungicidal (MFC) and kinetics of fungal spore death as a result of exposure to the oils were studied. The oils were analyzed by GC and GC/MS and their chemical components were identified. 22 and 19 compounds were identified in *Zataria multiflora* Boiss. and *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas essential oils respectively. Eight compounds viz; α -thujene, α -pinene, sabinene, myrcene, *p*-cymene, 1,8-cineole, *cis* sabinene hydrate and thymol were common in both oils but in different concentrations. The results indicated powerful antifungal properties of both oils inhibiting growth and aflatoxin production that could be applied to food as preservatives.

Key words: *Zataria multiflora* Boiss., *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas, essential oil, *Aspergillus parasiticus*, aflatoxin.