جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی ترکیب و خواص ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)

• **لیلا صادق‌زاده**، برگزیده پنجمین دوره جشنواره جوان خوارزمی
• **فاطمه سفیدکن**، دانشیار شیمی‌گیاهی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
• **پرویز اولیاء**، دانشیار میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه شاهد، تهران

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۸۳ **تاریخ پذیرش:** اردیبهشت ماه ۱۳۸۴

Email: frsef@rifr-ac.ir

چکیده

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss. یک گونه گیاه درختچه‌ای معطر است که در مناطق جنوبی ایران می‌روید. در این تحقیق اثر ضد میکروبی و همچنین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس این گیاه مورد بررسی قرار گرفته است.
ابتدا سرشاخه گلدار آویشن شیرازی، در زمان گلدهی کامل از اطراف شیراز (استان فارس) جمع‌آوری شده و سپس اسانس به روش تقطیر با آب (Hydro-distillation) استخراج گردید. تجزیه و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس حاصل توسط دستگاه‌های GC/MS و GC صورت گرفت که نتایج آن وجود درصد بالائی از ترکیب‌های ضد میکروبی را در اسانس این گیاه نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد حضور ۵۲/۴ ٪ تیمول و۶/۱ ٪ کارواکرول در اسانس آویشن شیرازی باعث وجود خواص ضد میکروبی آن می‌شود. برای بررسی اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی، با استفاده از DMSO غلظت‌های ۱٪، ۲/۵٪ و ۵٪ از اسانس تهیه شده و به روش دیسک دیفیوژن اثر این غلظت‌ها بر روی رشد دو نوع میکروب (*Salmonella paratyphi*) با اندازه‌گیری قطر عدم هاله رشد، بدست آمد. میکروب‌های مورد مطالعه عبارت بودند از *S. Paratyphi* A و B نتایج حاصل از این مرحله نشان داد که غلظت‌های ۱٪، ۲/۵٪ و ۵٪ اسانس آویشن شیرازی باعث ایجاد هاله عدم رشد به ترتیب به مقادیر صفر، ۹/۳ میلی‌متر و ۱۵/۶ میلی متر برای *S. Paratyphi* A و ۸ میلی متر، ۸/۶ میلی متر و ۲۱/۶ میلی متر برای *S. Paratyphi* B می‌شود. نتایج حاصل نشان از قدرت مهار کنندگی و میکروب‌کشی بالای اسانس *Zataria multiflora* داشت.

کلمات کلیدی: *Zataria multiflora* Boiss اسانس، اثرات ضد میکروبی، تیمول، سالمونلا پاراتیفی.

Pajouhesh & Sazandegi No: 71 pp: 52-56

Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Zataria multiflora*

By: L. Sadeghzadeh, Selected in 5th Kharizmi Festival F. Sefidkon, Research Institute of Forests and Rangelands and P. Owlia,Faculty of Medical science, Shahaed University, Tehran.

Zataria multiflora Boiss. with the persian name of Shirazi Avishan is an aromatic plant that grows wild in southern regions of Iran. In this research anti-microbial effect and chemical composition of the essential oil of this plant was investigated.The aerial parts of *Zataria multiflora* were collected in full flowering stage from Shiraz in Fars province.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

The essential oil was extracted by hydro-distillation and analyzed by a combination of GC and GC/MS. The results showed the high percentage of anti-microbial components like thymol (52.4%) and carvacrol (6.1%). For study of anti-microbial effect of *Z. multiflora*, the oil was diluted by DMSO at 1%, 2.5% and 5% and tested against two kinds of *Salmonella paratyphi* (A and B) by disk diffusion method. The results showed, the oil by concentration of 1%, 2.5% and 5% inhibited the growth of *Salmonella paratyphi* A at 0, 9.3 and 15.6 mm, respectively. The growth of *Salmonella paratyphi* B was inhibited by the 1%. 2.5% and 5% of the oil, at 8, 8.6 and 21.6 mm, respectively.The results showed the high anti-microbial of *Z. multiflora* oil.

Key Words: *Zataria multiflora* Boiss., Essential oil, Anti-microbial effect, Thymol, Carvacrol, *Salmonella paratyphi*.

مقدمه

در نقل قدما آمده است که خداوند هیچ قوم و ملتی را نیافرید مگر اینکه درمان دردهای آنها را در رستنی‌ها و گیاهان اطراف آنها خلق کرده باشد. کشور ایران سرزمینی است که به لحاظ وجود گیاهان مختلف رشد یافته درآن به عنوان جهانی در یک مرز یاد می‌شود.

گیاهان دارویی و مشتقات آن امروزه ۲۰٪ تجویزات دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و ۸۰٪ در کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص می‌دهد.

از آنجایی که گیاهان مفید دارویی در کشور ما فراوان می‌روید؛ بررسی ترکیب‌های مؤثره این گیاهان و اثرات دارویی آنها می‌توانند گامی‌مثبت در شناسایی و استفاده بهینه از این ثروت ملی با ارزش باشد. عفونت‌های میکروبی تهدید جدی برای سلامتی انسان‌ها بوده و در طول تاریخ همواره باعث به مخاطره افتادن جان افراد شده است. لذا انسان همواره به دنبال مواد و داروهایی بوده که باعث بهبود بیماری و کاهش اثرات آن می‌شود. در همین راستا استفاده از داروهای گیاهی از دیرباز مورد توجه بوده و به‌طور سنتی در بین اقوام و ملل مختلف دیده می‌شود.

شناخت و مطالعه علمی‌بر روی گیاهان موجود در کشور و بررسی چگونگی تاثیر این مواد بر روی میکروب‌ها و باکتری‌ها می‌توانند کمک شایانی به استفاده صحیح از این ترکیب‌ها و مصرف درست و بجای آنها برای درمان امراض و بیماری‌ها باشد. در این مقاله به مطالعه اسانس آویشن شیرازی و اثر ضد میکروبی آن پرداخته شده است.

مشخصات گیاه‌شناسی

گیاه آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss گیاهی است پایا با بوته‌هائی در پایه چوبی به ارتفاع ۸۰-۴۰سانتی متر؛ پر ساقه؛ گردینه پوش؛ سبز متمایل به سفید؛ به‌شکل تیموس‌ها و معطر.

ساقه آن متعدد؛ محکم و مقاوم؛ در پایه چوبی؛ با پوست خاکستری متمایل به سفید؛ یا کمی‌متمایل به قهوه‌ای؛ گردینه پوش؛ بسیار منشعب؛ با شاخه‌های باریک متمایل به سفید می‌باشد (۴).

برگ آویشن شیرازی کوچک .دارای دمبرگ کوتاه؛ مدور با طول ۷ الی ۱۳ و عرض ۳ تا ۵ میلیمتر؛ یا بیضی؛ در قاعده مقطع و در انتها مدور یا به‌ندرت مدور و نو کچه‌دار؛جوانه‌ها سفید و گردینه پوش و سپس تقریباً فاقد پوشش کرک می‌باشد. گل‌های آویشن شیرازی سفید؛ ریز و کوچک؛ مجتمع در گرزن‌های کوچک یا چرخه‌های بدون دمگل، بسیار متراکم؛ کاسه غشایی؛ کوتاه به طول ۲ میلیمتر ؛۵ پهلو و در زاویه‌های مژک‌دار: دارای دندانه‌های مثلثی کوتاه با انتهای کند؛ در بخش گلو یا دهانه کرکدار؛ جام کوچک ؛تقریباً مانده در کاسه؛ دو لبه؛ لب بالایی آن کوتاه و منتهی به دو بخش کم عمق؛ لب پایینی سه بخشی است. پرچم‌ها ۴ عدد و دو بدو مساوی؛ مانده در جام؛ بساک‌ها متعابد؛ فندقه تخم مرغی و دارای سطح صاف. موسم گل این گیاه از اسفند تا فروردین می‌باشد (۴).

انتشار جغرافیایی: این گیاه انتشار به نسبت وسیعی در ایران دارد. و در بخش های مرکزی، جنوب و جنوب شرقی ایران دیده می‌شود(۴).

بخش مرکزی نجف آباد اصفهان؛ کلاه گزی؛ شاه‌کوه شهبازان؛ شاه ملک بطرف چوپانان؛ یزد؛ خورمیز در ۱۵ کیلومتری مهریز؛ دزفول در خوزستان؛

جنوب: فارس؛ فیروز آباد؛کوه سیواند؛ چنار راهدار؛کوه خور موج نزدیک بوشهر؛ اهرام جنگل

جنوب شرقی: بین کرمان و زرند؛ علی آباد به‌طرف گاو کشی؛ حاجی آباد نزدیک بندر عباس؛ گهر؛ ارتفاعات گنو؛ اب گرم گنو؛ تاروم؛ بلوچستان؛

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

خاش به طرف ایران‌شهر؛ بزمان؛ تنگه؛ سرخ؛ قصر قند.

سابقه تحقیق

در مورد ترکیب اسانس آویشن شیرازی و اثرات بیولوژیک آن تحقیقاتی قبلاً در کشور انجام شده که به طور اختصار نتایج آنها در زیر آورده می‌شود.

اسانس آویشن شیرازی به روش تقطیر با آب و بخار آب موررد اسانس‌گیری قرار گرفته است. بازده اسانس ۳/۳٪ گزارش شده و مهمترین ترکیب‌های موجود در اسانس کارواکرول و پاراسیمن گزارش شده است (۳).

دو روش استخراج تقطیر و سیال فوق بحرانی برای اسانس‌گیری از آویشن شیرازی استفاده شده و اسانس حاصله مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته است. نتایج نشان داده که تحت شرایط بهینه استخراج با سیال فوق بحرانی (فشار ۳۰/۴ پاسکال، دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و زمان ۲۰ دقیقه) استخراج اسانس بهتر صورت گرفته است. میزان ترکیب‌های موجود در اسانس تحت شرایط مختلف متفاوت بوده و میزان تیمول از ۱۴/۲٪ تا ۶۷/۶٪ متغیر بوده است. اسانس حاصل از تقطیر ۴۴/۶٪ تیمول داشته است (۷).

اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بر روی *Staphylococcus aureus* مورد مطالعه قرار گرفته و مشخص شده که این اسانس بر روی این میکروب اثری قوی دارد (۸).

اثر آویشن شیرازی بر روی احتمال رشد *S. typhimorium* در محیط آبگوشت قلب و مغز بررسی شده است (۱) نتایج نشان داده که درصد احتمال رشد همچنین اثر روغن فرار آویشن شیرازی بر زمان رشد تأخیری استافیلوکوک طلائی مورد مطالعه قرار گرفته است که طبق نتایج بدست آمده زمان رشد تأخیری استافیلوکوک طلائی با افزایش غلظت اسانس به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد (۲). در این تحقیق برای اولین بار اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بر روی *S. paratyphi* A و B مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و اسانس‌گیری

اندام‌های هوایی گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در اردیبهشت ماه ۸۳ از اطراف شیراز در استان فارس، در مرحله گلدهی کامل جمع آوری و پس از خشک شدن در سایه اسانس به روش تقطیر با آب (Hydro-distillation) ؛ به مدت ۳ ساعت تهیه شد که بازده اسانس نسبت به وزن خشک (یعنی میانگین ۳ بار اسانس گیری) ۱/۸۴٪ بدست آمد.

اسانس پس از رطوبت زدایی با سولفات سدیم در دمای پایین در ۴ درجه سانتیگراد تا زمان تزریق به دستگاه های GC و MS/GC نگهداری شد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها

اسانس‌های بدست آمده ابتدا به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) تزریق شد و مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس بدست آمد. همچنین در صد ترکیب‌های تشکیل دهنده هر اسانس و شاخص بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. سپس اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی(MS/GC) نیز تزریق شده و طیف جرمی‌ترکیب‌های بدست آمد. شناسایی ترکیب‌های با استفاده از اندیس باز داری کواتس و بررسی طیف‌های جرمی پیشنهادی کتابخانه‌های کامپیوتر دستگاه (GC/MS) و مقایسه طیف‌های جرمی و اندیس‌های بازداری با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از منابع صورت گرفت(۵). در صد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از (GC) با روش نرمال کردن سطح زیر منحنی‌ها (Area Normlization) و بدون محاسبه ضریب تصحیح (Correction factor) صورت گرفت.

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه GC - گاز کروماتوگراف شیمادزو (SHIMADZU) مدل- A ۹ ؛ستون DB-۱ به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر که ضخامت لایه فاز ساکن آن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است. برنامه ریزی حرارتی ستون ۲۸۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۴ درجه در دقیقه بوده است.

نوع دتکتور:FID با دمای ۲۹۰ درجه سانتیگراد؛ گاز حامل: هلیوم با فشار ۳ کیلو گرم بر سانتی متر مربع.

دستگاهGC/MS- گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی‌از نوع (SATURN) مدل ۳۴۰۰؛ ستون BD-۱ به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلیمتر ؛ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر ؛ برنامه ریزی حرارتی ستون ۲۵۰-۵۰ سانتی گراد با افزایش دمای ۴ درجه دردقیقه دمای محفظه تزریق : ۲۶۰ درجه سانتیگراد انرژی یونیز اسیون : ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل : هلیوم.

بررسی اثرات ضد میکروبی

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی، از روش انتشار در آگار به صورت دیسک دیفیوژن استفاده شد (۴). برای این منظور با استفاده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان حلال غلظت‌های ۱٪، ۲/۵٪ و ۵٪ اسانس تهیه گردید. سپس با استفاده از سواب استریل از سوسپانسیون کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های مورد نظر، بر روی محیط مولر-هنیتون آگار تلقیح کرده و سپس دیسک‌های بلانک با قطر ۶ میلی متر و حاوی ۳۰ میکرو لیتر از اسانس با غلظت‌های مذکور بر روی پلیت قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی لیتر اندازه‌گیری شد. هر یک از این غلظت‌ها برای هر یک از باکتریها ۳ بار تکرار شد و متوسط ۳ بار تکرار بدست آمد. از دیسک بلانک حاوی ۳۰ میکرو لیتر DMSO به عنوان شاهد منفی استفاده گردید

باکتری‌های مورد مطالعه

در این مطالعه از دو سویه استاندارد *S. paratyphi* A (PTCc ۱۲۳۰) و *S. paratyphi* B (PTCC ۱۲۳۱) استفاده شد. این دو سویه به شکل آمپول‌های بیوفیلیزه از انستیتو پاستور تهیه گردید و همواره از کشت ۲۴ ساعته آن برای بررسی های میکروبی استفاده می‌شد.

نتایج و بحث

الف: بازده اسانس و شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس

بازده اسانس *Z. multiflora* نسبت به وزن خشک گیاه ۱/۸۴٪ بدست آمد. با بررسی طیف‌های GC و GC/MS و محاسبه اندیس‌های باز داری و مقایسه طیف‌های جرمی‌ترکیب‌ها با ترکیب‌های استاندارد، ۱۳ ترکیب مختلف در اسانس شناسایی شد. ترکیب‌های عمده اسانس تیمول(۵۲/۴٪)؛ گاماترپینن (۱۷/۱٪) ؛ پاراسیمن (۱۳/۲٪) و کارواکرول(۶/۱٪) بودند.

کلیه ترکیب‌های موجود در اسانس آویشن شیرازی همراه با اندیس باز داری (RI) و در صد آنها در جدول شماره ۱ آورده شده اند.

مقایسه ترکیب‌های اصلی اسانس مورد آزمایش با تحقیقات قبلی (۳، ۷، ۸) نشان می‌دهد در حالی که ترکیب عمده اسانس آویشن شیرازی در این تحقیق (مشابه با منبع ۷) تیمول شناسایی شده است در منابع ۱ و ۵ ترکیب عمده اسانس کارواکرول گزارش شده است. این تفاوت می‌تواند مربوط به اختلاف شرایط رویشگاهی محل جمع آوری نمونه باشد یا احتمال وجود کموتایپ را در این گونه گیاهی نشان دهد. قابل ذکر است که برای گونه *Thymus eriocalyx* و *T. vulgaris* نیز که از نظر ترکیب‌های عمده اسانس مشابه با آویشن شیرازی است چند نوع کموتایپ گزارش شده است (۹، ۱۰).

به هر حال برای هر دو ترکیب تیمول و کارواکرول اثرات قوی ضد میکروبی گزارش شده است (۶).

ب: بررسی اثرات ضد میکروبی

نتایج اثر غلظت های ۱٪، ۲/۵٪ و ۵٪ اسانس آویشن شیرازی بر *S. paratyphi* A و *S. paratyphi* B در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول شماره ۱ - ترکیب‌های موجود در اسانس *Zataria multi*

ردیف	نام ترکیب	اندیس بازداری (RI)	درصد (٪)
۱	α-thujene	۹۳۳	۱/۵
۲	α-pinene	۹۶۶	۰/۵
۳	Myrcene	۹۸۱	۱/۲
۴	α-terpinene	۱۰۰۹	۱/۹
۵	*P*-cymene	۱۰۱۳	۱۳/۲
۶	γ-terpinene	۱۰۵۱	۱۷/۶
۷	Trans-sabinene hydrate	۱۰۵۴	۱/۵
۸	Linalool	۱۰۸۳	۰/۹
۹	Borneol	۱۱۶۱	۰/۶
۱۰	Thymol	۱۲۷۴	۵۲/۴
۱۱	Carvacrol	۱۲۸۰	۶/۱
۱۲	α-terpinenyl acetate	۱۳۳۲	۵/۴
۱۳	β-caryophyllene	۱۴۱۷	۲/۷

همانگونه که مشاهده می‌شود اسانس آویشن شیرازی بر روی B و *S. paratyphi* اثر بازدارندگی قویتری دارد. به طوریکه با غلظت ۱٪ باعث عدم رشد *S. paratyphi* A پاراتیفی نمی‌شود اما قطر هاله عدم رشد آن بر روی نوع B، ۸ میلی متر می‌باشد. همچنین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲/۵٪ اسانس بر روی هر دو نوع میکروی تقریباً یکسان است اما در غلظت ۵٪ نیز اثر بازدارندگی بر روی نوع B قوی‌تر است.

منابع مورد استفاده

۱ - آخوند زاده بستی الف، رضویلر د، میثاقی ع، عباسی فر ر، رادمهر ب، و خلیقی سیگارودی ف، ۱۳۸۲؛ اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی احتمال رشد *S. typhimorium* در محیط آبگوشت قلب و مغز، فصل‌نامه گیاهان دارویی، شماره ۹، صفحه ۸۵.

۲ - آخوند زاده بستی الف، میثاقی ع، ابراهیم زاده موسوی ح، عباسی فر ر،

جدول شماره ۲- متوسط قطر هاله عدم رشد *S. typhimorium* در اثر غلظت‌های مختلف اسانس

غلظت اسانس (٪)	متوسط قطر هاله عدم رشد (mm)	
	S. typhimorium A	*S. typhimorium* B
صفر (شاهد منفی)	-	-
۱	-	۸
۲/۵	۹/۳	۸/۶
۵	۱۵/۶	۲۱/۶

- = بدون هاله عدم رشد

رادمهر ب، رضازاده ش و آخوند زاده ش. ۱۳۸۳. اثر روغن فرار آویشن شیرازی بـر روی زمان رشـد تأخیری اسـتافیلوکوک طلائی. فصلنامـه گیاهان دارویی، شـماره ۱۱، صفحه ۴۲.

۳ - باباخانلـو، پ، میرزا، م، سـفیدکن، ف، احمدی، ل، برازنده، م و عسـگری، ف. ۱۳۷۷؛ تحقیقـات گیاهان دارویی و معطر، جلد ۲. انتشـارات موسسـه تحقیقات جنگلها و مراتع، صفحه ۹۲، ۱۴۱ صفحه.

۴ - قهرمان، احمد، ۱۳۶۷؛ فلور رنگی ایران، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع و دانشگاه تهران، جلد ۱۱، شماره ۱۳۷۵.

5– Adams, P., 1995; Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy, Allured Publishing Corp., Carol Stream, USA.

6- Baron EJ and Finegold SM., 1990; Diagnostic microbiology. 8th ed. Mosby Company. USA.

7- Ebrahimzadeh H, Yamini Y, Sefidkon F, Chaloosi M and Pourmortazavi SM., 2003; Chemical composition of the essential oil and supercritical CO2 extracts of *Zataria multiflora* Boiss. Food Chemistry, 83: 357-361.

8- Rasooli I, rezaei MB, 2002. Bioactivity and chemical properties of essential oils from *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia*, J. Essent. Oil Res., 14: 141-146.

9- Sefidkon F, Kalvandi R, Atri M and Barazandeh M. M., 2004; Essential oil variability of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas, Flavour and Fragrance J., In press.

10- Stahl-Biskup E., and Saez, F., 2002; Thym-the genus of Thymus, Taylor and Francis, London.