اثر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) بر روی احتمال رشد استافیلوکوک طلایی در محیط آبگوشت قلب و مغز

افشین آخوندزاده‌بستی[۱]، ودود رضویلر[۲]، علی میثاقی[۳]، بهراد رادمهر[٤]، رضا عباسی‌فر[٥]، داراب یزدانی[٦]، شاهین آخوندزاده[۷*]

۱- استادیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی تهران

۲- استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی تهران

۳- استادیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی تهران

٤- دستیار دکترای بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی تهران

٥- دستیار دکترای بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی تهران

٦- مربی پژوهش، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، تهران

۷- دانشیار گروه روانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (مرکز تحقیقات روانپزشکی) و محقق پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، خیابان قدس، خیابان بزرگمهرغربی، شماره ۹۷

صندوق‌پستی: ١٤٤٦- ١٣١٤٥، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی

پست الکترونیک: s.akhond@neda.net

چکیده

توجه و علاقه فزاینده به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی (ضدمیکربی و ضداکسیداسیون) با انواع طبیعی، موجب مطالعات زیادی در مورد منابع گیاهی و جستجوی انواع عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی شده است، تا بتوان جایگزینی مناسب و طبیعی برای نگهدارنده‌های شیمیایی پیدا نمود. در این مطالعه، لگاریتم درصد احتمال رشد استافیلوکوک طلایی در محیط آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۲ روز نگهداری در سه درجه حرارت (۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. لگاریتم درصد احتمال رشد استافیلوکوک طلایی به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$، آنالیز واریانس) تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس قرار گرفت. به‌طوری‌که در غلظت صفر درصد اسانس در درجات حرارت ۱۵، ۲۵ و۳۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱/۵۵، ۱/۲۴ و ۰/۸۹ بود. در حالی‌که در غلظت ۰/۰۳ درصد به ترتیب ۴/۲۱-، ۰/۲۴ و ۰/۴۵- و در غلظت ۰/۰۶ درصد به ترتیب ۴/۴۵-، ۰/۴۵- و ۰/۴۵- بود. بر طبق نتایج به‌دست آمده، لگاریتم درصد احتمال رشد استافیلوکوک طلایی با افزایش غلظت اسانس کاهش پیدا کرد.

گل‌واژگان: اسانس آویشن شیرازی، استافیلوکوک طلایی، لگاریتم درصد احتمال رشد

مقدمه

خانواده *Lamiaceae* به‌خاطر داشتن اثرات و فعالیت‌های فارماکولوژیکی مختلف از قبیل ضدآماس، آنتی‌اکسیدان، ضد باکتریایی و غیره شناخته شده می‌باشند [۵]. در این خانواده آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) از نظر جغرافیایی تنها در کشورهای ایران، پاکستان و افغانستان می‌روید. این گیاه بوته‌ای، دارای ساقه‌های متعدد، نازک، سخت و بسیار منشعب، به ارتفاع ٤٠ تا ٨٠ سانتی‌متر، گر دینه پوش، سبز متمایل به سفید و معطر است. برگ آن کوتاه، دارای دمبرگ کوتاه، مدور یا بیضی شکل با طول و عرض ۷-۵ میلی‌متر، در قاعده مقطع تقریباً قلبی شکل و در انتها مدور و نوکچه‌دار است. گل‌های آن سفید و کوچک گویچه‌ای بسیار متراکم و واقع در گل آذین‌های باریک تسبیح مانند، ساده و براکته‌های پهن دراز است. کاسه گل غشایی کوتاه به طول ۲ میلی‌متر، پنج پهلو و در زاویه‌ها مژکدار، دارای دندانه‌های مثلثی کوتاه می‌باشد. پرچم‌ها چهار عدد و دو به دو مساوی است. جام گل سفید و اندکی طویل‌تر از کاسه گل می‌باشد [۱۸]. از این گیاه در طب سنتی به‌عنوان آنتی‌سپتیک یاد شده است و به‌عنوان طعم‌دهنده مواد غذایی استفاده می‌شود [۵]. در سال‌های اخیر، تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی (از جمله گیاهی) به‌جای شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. این امر از یک‌طرف به‌علت تمایل زیاد مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد غذایی فرآوری شده بدون نگهدارنده و یا حدالمقدور با نگهدارنده‌های طبیعی واز طرف دیگر توجه هرچه بیشتر مسؤولان و متولیان بهداشتی به این موضوع می‌باشد [۱۷، ۱٦، ۱۵، ٤]. اسانس‌های به‌دست آمده از گونه‌های گیاهان معطر دارای مصارف زیادی در صنایع صابون‌سازی، عطرسازی، صنایع غذایی و غیره می‌باشند [۳]. تحقیقات زیادی در مورد اثرات ضدباکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی از جمله اسانس‌های به‌دست آمده از گیاهان خانواده *Lamiaceae* انجام شده است [۱۷، ۱٦، ۱۵، ۱۳، ۱۱، ٦]. در این مطالعه، لگاریتم درصد احتمال رشد (Log Probability Percentage,) استافیلوکوک طلایی (*Staphylococcus aureus*) (یکی از باکتری‌های موثر در مسمومیت‌های مواد غذایی) در یک محیط آبگوشت قلب و مغز (Brain Heart Infusion Broth, BHI) متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر،۰/۰۳ و ۰/۰٦ درصد) اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۲ روز نگهداری در درجات حرارت ۱۵، ۲۵ و۳۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

طرح آزمایش

بررسی اثرات اسانس آویشن شیرازی بر روی یکی از فاکتورهای رشدی یعنی Log P% استافیلوکوک طلایی در محیط BHI متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر،۰/۰۳ و ۰/۰٦ درصد) اسانس، در طی ۲۱ روز نگهداری در درجات حرارت ۱۵، ۲۵ و۳۵ درجه سانتی‌گراد.

تهیه اسانس و آنالیز آن

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع‌آوری شد و توسط گیاه‌شناس پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی نام علمی آن تایید گردید. پس از تهیه اسانس گیاه به روش Steam distillation از سرشاخه‌های هوایی گیاه، آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد. دستگاه GC/MS از نوع Thermoquest GC/MS Finnigan با ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵

میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حاصل، هلیم با سرعت ۱/۵ میلی متر در دقیقه بود. شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

ارگانیسم مورد مطالعه

کشت لیوفلیزه استافیلوکوک طلایی ATCC 25923 اهدایی توسط دکتر خاشابی از انستیتو تحقیقات میکروبیولوژی اتریش، جهت این بررسی مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت، دو مرتبه به‌طور متوالی تجدید کشت داده شد. سپس کشت دوم به میزان پنج به یک با گلیسرین استریل مخلوط گردید و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندرف استریل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه میزان تلقیح باکتریایی

تهیه میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندرف به محیط آبگوشت BHI و نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. مجدداً کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اول، در آبگوشت BHI دیگر (به مدت ۱۸ ساعت، ۳۷ درجه سانتی‌گراد) تهیه شد. سپس لوله‌های cuvett حاوی ۵ میلی‌لیتر آبگوشت BHI استریل تهیه شد. آنگاه مقادیر مختلفی از کشت آبگوشت BHI ۱۸ ساعته دوم بر روی لوله‌های cuvett مختلف مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy company, USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. از محتویات این لوله‌های cuvett، شمارش باکتریایی به روش pour plate انجام گشت و در آخر، لوله cuvett حاوی تقریبا 1×10^{7} باکتری در هر میلی‌لیتر مشخص شد. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش (تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد)، با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریباً 1×10^{7} باکتری در هر میلی‌لیتر بود (که بعد با کشت pour plate نیز تایید می‌شد)، لوله cuvett حاوی تقریباً 1×10^{7} باکتری در هر میلی‌لیتر مشخص می‌شد. سپس از این لوله، سریال‌های رقت ۱۰ تایی از 10^{5} تا 10^{-2} (۸ رقت) با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی‌لیتر آبگوشت BHI حاوی غلظت‌های مورد نظر (صفر،۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس که نحوه تهیه آن در ذیل آمده، تهیه می‌شد [۲].

تهیه محیط آبگوشت BHI با غلظت‌های مورد نظر اسانس

۳/۷ گرم پودر محیط کشت BHI را در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک ارلن با حرارت ملایم حل نمودیم و سپس غلظت‌های مورد نظر (صفر،۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس، ۵ درصد DMSO (به‌عنوان امولسیون‌کننده برای تمام حالت‌ها) و ۰/۰۵ درصد آگار آگار (به‌عنوان تثبیت‌کننده برای تمام حالت‌ها) اضافه کردیم [۱۰، ٤]. در نهایت با استفاده از آب مقطر به حجم مورد نظر (۱۰۰ میلی‌لیتر) رسیدیم. سپس محتویات تهیه شده در ارلن را در لوله‌های (رقت) درپیچ‌دار (هریک به میزان ۹ میلی‌لیتر) پخش کردیم و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد ۱۵ دقیقه) استریل نمودیم. قابل توضیح است از آنجایی‌که سه غلظت اسانس برای ۳ درجه حرارت در این آزمایش در نظر گرفته شد، بنابراین در مجموع نه

حالت داشتیم. برای هر حالت نیز، دقیقاً ۷۲ میلی‌لیتر آبگوشت (با غلظت مورد نظر اسانس) برای تهیه ۸ رقت هرکدام ۹ میلی‌لیتری، مورد نیاز بود [۲].

تلقیح آبگوشت BHI و گرمخانه گذاری

همان‌گونه که گفته شد از لوله cuvett با جذب نوری که مشخص‌کننده ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی‌لیتر بود، سریال‌های رقت ۱۰ تایی از $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{-۲}$ (۸ رقت) با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی‌لیتر آبگوشت BHI حاوی غلظت‌های مورد نظر (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس تهیه شد. از آنجایی‌که از روش ۲٤ لوله‌ای شمارش بیشترین تعداد احتمالی (Most Probable Number, MPN) برای تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری استفاده شد، لذا محتویات (۹ میلی‌لیتری) هر یک از لوله‌های در پیچ‌دار، به‌طور استریل در قسمت‌های مساوی ۳ میلی‌لیتری در داخل ۳ لوله سرپوش‌دار (Becton Dickson ۱٦×۱۰۰ mm) استریل ریخته و بدین ترتیب مجموع ۲٤ = ۸×۳ لوله برای هر حالت به‌دست آمد [۲]. هر مجموعه ۲٤ لوله‌ای در هر یک از حرارت‌های مورد نظر در مطالعه یعنی ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۲ روز نگهداری شدند. در طی این مدت ۱۲ دفعه (روزهای ۱، ۲، ۳، ٤، ۵، ٦، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱٦، ۱۹ و۲۲) تمام لوله‌ها جهت مشاهده کدورت رشدی قابل رؤیت مورد بررسی قرار گرفتند [۲].

محاسبه لگاریتم درصد احتمال رشد (Log Probability Percentage, Log P%)

Log P% از روی تعداد لوله‌های مثبت (کدورت قابل رؤیت حاصل از رشد باکتری) در طی ۲۲ روز نگهداری، با استفاده از فرمول Log P% = 2-(log I/3- log MPN/3) محاسبه شد [۲، ۱٤].

log I/3 = لگاریتم میزان دوز تلقیح در یک میلی‌لیتر

log MPN/3 = لگاریتم تعداد احتمالی باکتری‌ها در یک میلی‌لیتر

آنالیز آماری

اثرغلظت‌های مختلف اسانس بر روی Log P% با استفاده از آنالیز واریانس و با کمک نرم‌افزار (SPSS 10.0 for Windows, SPSS Inc.) ارزیابی شد.

نتایج

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از GC-MS در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که در جدول آمده، بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس، کارواکرول (carvacrol) به میزان ۷۱/۱۲ درصد است.

نتایج حداکثر Log P% استافیلوکوک طلایی مورد مطالعه در آبگوشت BHI متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰٦ درصد) اسانس مذکوردر طی ۲۲ روز نگهداری در درجات حرارت ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. در این جدول، D، روز رسیدن به حداکثر Log P% می‌باشد.

تاثیر معنی دار ($p < ۰/۰۵$) غلظت‌های مختلف اسانس بر روی Log P% با استفاده از آنالیز واریانس نشان داده شد.

بحث

اسانس‌های گیاهی یکی از منابع بالقوه واجد ترکیبات ضدباکتریایی می‌باشند و برای این منظور بسیار موثر و مفید هستند [۱]. مقایسه نتایج گزارش شده در مورد خواص ضدباکتریایی اسانس‌های مختلف بسیار مشکل می‌باشد. از دلایل آن می‌توان به تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص ضدباکتریایی اسانس‌ها، منابع تهیه آنها و سویه‌های باکتریایی به‌کار برده شده نام برد [۱، ۱۱، ۱۳، ۱۵].

جدول شماره ۱- نتایج آنالیز اسانس آویشن شیرازی مورد مطالعه با استفاده از GC-MS

نام ترکیب	اندیس بازداری	درصد
Thujene	۹۳۰	۰/۱۹
α-Pinene	۹۳۷	٤/۲٦
β-Pinene	۹۷٦	۰/٤۳
β -myrcene	۹۸۵	۰/۸۵
Eucaliptol	۱۰۲٤	۳/۳۷
γ-Terpinene	۱۰۵۵	۷/۳٤
Linalool	۱۰۹۰	۰/٦۸
Thymol methyl ether	۱۲۳٦	۰/٤۷
Carvacrol methyl ether	۱۲٤۳	۰/٤٦
Carvacrol	۱۲۹۹	۷۱/۱۲
Trans-Caryophyllene	۱٤۱۸	۰/٤۱
Globulol	۱۵۸۲	۲/۳۲
جمع		۹۱/۹۰

جدول شماره ۲- حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد (Log P%) استافیلوکوک طلایی در آبگوشت BHI متأثر از غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۲ روز نگهداری در درجات حرارت مختلف و روز رسیدن به حداکثر Log P% (D)

درجه حرارت بر حسب سانتی‌گراد	غلظت اسانس آویشن شیرازی (درصد)	حداکثر Log P%	D
۳۵	۰	۰/۸۹	۰
	۰/۰۳	-۰/٤۵	۵
	۰/۰٦	-۰/٤۵	٤
۲۵	۰	۱/۲٤	۱
	۰/۰۳	۰/۲٤	۹
	۰/۰٦	-۰/٤۵	۱۲
۱۵	۰	۱/۵۵	۹
	۰/۰۳	-٤/۲۱	۱۸
	۰/۰٦	-٤/٤۵	>۲۲

به‌طور کلی، ترکیبات اسانس‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش این گیاهان، واریته گیاهی، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، روش خشک کردن و استخراج اسانس متفاوت می‌باشد [۱]. مدل‌های مختلفی در مطالعات مختلف به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش‌ها از مدل‌های آزمایشگاهی مثل محیط کشت و در برخی دیگر از مدل‌های غذایی برای بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها استفاده شده است [۱۷، ۱٦، ۱۲، ۹، ۸]. بنابراین با توجه به مطالب گفته شده نتایج به‌دست آمده در مطالعات مختلف بعضاً متفاوت می‌باشد.

در مطالعه حاضر، از روش ۲٤ لوله‌ای شمارش MPN، بر اساس شمارش لوله‌ها با کدورت قابل رؤیت (به علت رشد باکتری استافیلوکوک طلایی تلقیح شده در محیط BHI با غلظت‌های مختلف اسانس در طی ۲۲ روز نگهداری در درجات حرارت ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد) برای تعیین یکی از فاکتورهای رشدی باکتریایی یعنی Log P% استفاده شد [۱٤، ۲]. در این بررسی همان‌گونه که گفته شد، به منظور ایجاد و حفظ (تثبیت) حالت امولسیون اسانس مذکور در محیط BHI در طی مطالعه به ترتیب از DMSO و آگار آگار استفاده شد [۱۰، ٤]. در ضمن برای در نظر گرفتن اثرات احتمالی (حتی ناچیز) ضدباکتریایی این دو ترکیب، کلیه محیط‌های BHI تهیه شده، حتی محیط‌های (حالت‌های) بدون اسانس نیز حاوی مقادیر در نظر گرفته شده DMSO و آگار آگار بودند. بر طبق نتایج به‌دست آمده، اسانس آویشن شیرازی مورد مطالعه، اثر معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) را در غلظت‌های مورد استفاده (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰٦ درصد)، بر روی Log P% استافیلوکوک طلایی در طی ۲۲ روز نگهداری در درجات حرارتی مختلف مورد مطالعه نشان داد. به‌طوری‌که در ۳۵ درجه سانتی‌گراد در طی ۲۲ روز نگهداری، حداکثر Log P% باکتری در غلظت صفر درصد اسانس ۰/۸۹ بود. در حالی‌که این میزان در غلظت ۰/۰۳ درصد ۰/٤۵- و در غلظت ۰/۰٦ درصد هم ۰/٤۵- بود که به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرد. در ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طی ۲۲ روز نگهداری، حداکثر Log P% در حضور صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰٦ درصد اسانس به ترتیب ۱/۲٤، ۰/۲٤ و ۰/٤۵- و در ۱۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱/۵۵، ٤/۲۱- و ٤/٤۵- بود، که به میزان قابل توجهی نیز کاهش پیدا کرد.

مطالعات مختلفی در مورد اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی خانواده *Lamiaceae* (که گیاه آویشن شیرازی مورد مطالعه ما هم در این خانواده قرار دارد) و برخی از ترکیبات شناخته شده مهم در اسانس‌های این خانواده از جمله کارواکرول و تیمول (thymol) وجود دارد. در مطالعه انجام شده توسط Kim و همکاران در سال ۱۹۹۵، اثرات ضدباکتریایی و محاسبه Minimum Inhibitory Concentration (MIC) و Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC)، کارواکرول بر روی سالمونلا تیفی موریم و سویه مقام به ریفامپیسین آن در محیط Triptic Soy agar (با استفاده از دیسک‌های کاغذی آغشته به غلظت‌های مورد نظر کارواکرول و تعیین منطقه جلوگیری از رشد) و در محیط Triptic Soy broth (از روی اندازه‌گیری کدورت رشد با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٥٤۰ نانومتر) و سپس کشت بر روی (Triptic Soy agar) مورد بررسی قرار گرفت. آنها نشان دادند که کارواکرول اثرات ضدباکتری قوی بر هر دو سویه مورد مطالعه با

MIC ۲۵۰ ماکروگرم در میلی‌لیتر داشت. در همین تحقیق، کارواکرول با غلظت ۳ درصد در Tween 20 یک درصد، اثر کشندگی قوی را بر سویه‌های مقاوم به ریفامپیسین در یک نمونه غذای ماهی (fish cube) نشان داد [۷].

در مطالعه دیگری، Karaman و همکاران ، اثرات باکتریواستاتی قوی اسانس *Thymus revolatus* را بر روی باکتری‌های گرم مثبت از قبیل استافیلوکوک طلایی و گرم منفی از قبیل اشرشیا کلی (Escherichia coli) نشان دادند. آنها علت احتمالی این اثرات را میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس بیان نمودند. مطالعه مشابه، توسط رسولی و همکاران در سال ۲۰۰۲ بر روی اثرات باکتریوسیدی اسانس *Thymus pubescus* (با میزان بالای کارواکرول) بر روی باکتری‌های گرم مثبت، استافیلوکوک طلایی وگرم منفی، اشرشیا کلی (با استفاده از روش disk diffusion) انجام شد و همانند مطالعه قبلی، احتمال اثر باکتریوسیدی قوی اسانس مورد مطالعه، میزان بالای کارواکرول موجود دراسانس بیان شد [٦]. نتایج مشابه دیگری توسط Baganboula و همکاران در سال ۲۰۰٤ بر روی اثرات اسانس Thyme و ترکیبات کارواکرول و تیمول بر روی باکتری شیگلا سونئی (*Shigella sonnei*) و شیگلا فلکسنری(*Shigella flexneri*) به‌دست آمد [۱].

از آنجایی‌که کارواکرول در اسانس استخراج شده از آویشن شیرازی مورد مطالعه ما، ترکیب اصلی و بیشترین جزء تشکیل‌دهنده (۷۱/۱۲ درصد) می‌باشد، چنین بیان می‌شود که احتمال اثر جلوگیری از رشد اسانس مذکور در غلظت‌های مورد مطالعه ما نیز همین میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس باشد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در تحقیق، اسانس مورد نظر در غلظت‌های اندک (۰/۰۳ و ۰/۰٦ درصد)، دارای اثر جلوگیری از رشد معنی داری ($p < ۰/۰۵$) بود. لذا چنین نتیجه‌گیری می‌شود که این اسانس احتمالاً می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارنده و ضدباکتری مناسب لااقل علیه برخی از باکتری‌های گرم مثبت از جمله باکتری مورد مطالعه، در برخی از مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

محققین این مطالعه از معاونت پژوهشی محترم دانشگاه تهران و معاونت پژوهشی محترم دانشکده دامپزشکی تهران به منظور تامین هزینه انجام این تحقیق و خانم دکتر سیگارودی و آقای دکتر رضازاده در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Bagamboula CF, Uyttendaele M and Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol*. 2004; 21: 33-42.

2. Basti AA and Razavilar V. Growth response and modeling of the effects of selected factors on the time-to-detection and probability of growth initiation of *Salmonella typhimurium*. *Food Microbiol*. 2004; 21: 431-438.

3. Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, Totte J, Pieters L and Vlietinck AJ. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants

growing in Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 79: 213-220.

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

5. Hosseinzadeh H, Ramezani M and Salmani G-a. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J. Ethnopharmacol*. 2000; 73: 379-385.

6. Karaman S, Digrak M, Ravid U and Ilcim A. Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76: 183-186.

7. Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston III JF and Wel CI. Antibacterial activity of carvacrol, citral and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cube. *J. Food Sci.* 1995; 60: 1364-1368.

8. Koutsoumanis K, Lambropoulou K and Nyhas G-JE. A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella entritidis* in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. Int. *J. Food Microbiol.* 1999; 49: 63-74.

9. Lemay M-J, Choquette J, Delaquis PJ, Gariepy C, Rodrigue N and Saucier L. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *Int. J. Food Microbiol*. 2002; 78: 217-226.

10. Mann CM and Marham. A new method for determining inhibitory concentration of essential oils. *J. Applied Microbiol.* 1998; 84: 538-544.

11. Marilena M, Bersani C and Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Composita*. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 67: 187-195.

12. Palmer AS, Steward J and Fyfe. The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. *Food Microbiol.* 2001; 18: 463-470.

13. Rasooli I and Mirmostafa SA. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *thymus sepyllum* essential oils. *Fitoterapia*. 2002; 73: 244-250.

14. Razavilar V and Genigeorgis C. Prediction of *Listeria* spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in model broth. *Int. J. Food Microbiol.* 1998; 40: 149-157.

15. Tassou C, Koutsoumanis K and Nychas G-JE. Inhibition of *Salmmonella entritidis* and *Staphylococcus aureus* in nurient broth by mint essential oil. *Food Research. Int.* 2000; 33: 273-280.

16. Tassou C and Nychas G-JE. Antimicrobial activity of essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on gram positive and gram negative bacteria in broth and in model food system. *Int. Biodeterioration and Biodegradation.* 1995; 411-420.

17. Valero M and Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 85: 73-81.

۱۸. کمیته تدوین فارماکوپه گیاهی ایران. فارماکوپه ایران. چاپ اول. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی (معاونت غذا و دارو). ۱۳۸۱، جلد اول، صفحه ۵۱.