فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۳، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۲۷۷-۲۶۹ (۱۳۸٦)

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

محمدهادی فکور[۱]، عبدالامیر علامه[۲]، ایرج رسولی[۳] و منصوره مظاهری[٤]

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

٤- کارشناس مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، کرج

چکیده

اثر ضد قارچی اسانسهای آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و آویشن کرکی (*Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas) از طریق مهار رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس NRRL 2999 مولد آفلاتوکسین بررسی شد. کمترین غلظت مهاری (MIC) و کمترین غلظت قارچ‌کشی (MFC) و سنیتیک مرگ میکروارگانیسم نسبت به اسانسهای فوق اندازه‌گیری 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 شده‌اند. این دو اسانس از نظر دارا بودن هشت ترکیب آلفا-پینن، آلفا-توژن، تیمول، سیس سابینن هیدرات، پارا-سیمن، ۱،۸-سینئول، میرسن و سابینن یکسان بودند. نتایج حاصل، حاکی از قدرت فوق‌العاده اسانسهای فوق به عنوان ترکیب قارچ‌کش قارچ مولد آفلاتوکسین و نگهدارنده ایمن مواد غذایی بود.

واژه‌های کلیدی: *Zataria multiflora* Boiss.، *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas، اسانس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آفلاتوکسین.

مقدمه

گیاه آویشن از تیره نعناعیان می‌باشد و دارای خاصیت دارویی فراوان بوده و نوع بومی آن در ایران هم یافت می‌شود. آویشن شیرازی، بومی نواحی مرکزی و جنوبی ایران است. آویشن کرکی، بومی کوهستانهای آذربایجان غربی می‌باشد. در طب سنتی این گیاه به عنوان ضد عفونی کننده، ضد انگل، ضد نفخ و ضد درد مورد استفاده قرار می‌گرفته است (زرگری، ۱۳۷۵؛ قهرمان، ۱۳۷۲؛ صمصام شریعت، ۱۳۷۰). خواص ضد میکروبی آویشن به اثبات رسیده است (Juliano *et al.*, 2004; Nguefack *et al.*, 2004; Karaman *et al.*, 2001). گونه‌های مختلف آویشن با خاصیت قارچ‌کشی گزارش شده است (Pina-vaz *et al.*, 2004). آفلاتوکسین متابولیت ثانویه تولید شده توسط قارچهای توکسوژنیک آسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس می‌باشد. این قارچها توانایی آلوده کردن مواد غذایی انسان و حیوانات را دارند. رشد چنین قارچهایی بر روی مواد غذایی حیوانات

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

میکروارگانیسم و محیط کشت

در این مطالعه از سویه استاندارد آسپرژیلوس پارازیتیکوس NRRL 2999 استفاده شد. قارچ مورد نظر را بر روی اسلنتهای سابورودکستروز آگار SDA کشت داده شد. مدت ۵ تا ۷ روز در گرمخانه ۲±۲۸ سانتیگراد نگهداری شد تا قارچ رشد کرده و اسپور تولید کند. آنگاه سوسپانسیون اسپور توسط آب مقطر استریل تهیه و به روش هموسایتومتری 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 کرکی، باغ گیاه‌شناسی ملی ایران و فصل جمع‌آوری آن پاییز (آبان ماه) ۱۳۸٤ 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 (C_7–C_{25}) 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–۳٤۰۰ متصل به طیف سنج جرمی Saturn II با سیستم تله یونی و با انرژی

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 ٤۰ درجه سانتیگراد تا دمای نهایی آن برابر با ۲۵۰ درجه سانتیگراد که در هر دقیقه ٤ درجه سانتیگراد به آن افزوده می‌شود. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب در ۲۵۰ و ۲٦۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد. ستون مورد استفاده در GC/MS همانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC بود. درجه حرارت ٦۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد که در هر دقیقه ۳ درجه سانتیگراد به آن افزوده می‌شود. درجه حرارت محفظه تزریق ۲٦۰°C و دمای ترانسفرلاین ۲۷۰°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، ۱/٤، ۱/۸ و ۱/۱٦ با حلال رقیق شدند و خاصیت ضد قارچی آنها بررسی شد.

بررسی اثر ضد قارچی اسانسها

به روش پورپلیت مقدار ml /اسپور 10^6 محیط کشت سابورودکستروز آگار درون پتری پلیت‌های ۹۰mm استریل اضافه شد و با استفاده از دیسکهای بلنک استریل ٦ mm واتمن نمره ۱ ، به روش بررسی هاله عدم رشد، حساسیت اسپور قارچ به اسانس دو گونه آویشن با تلقیح ۲۰ µl بر روی دیسکها بررسی شد. پلیتها به همراه یک شاهد کنترل درون گرمخانه ۲۸±۲°C برای مدت زمان ٤۸ 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 براث با ٦ pH بود. ۱۰ لوله حاوی YES ۵ ml براث به همراه لوله شاهد تهیه و به هر کدام غلظت‌های مختلف اسانس اضافه گردید. پس از ورتکس لوله‌ها به مدت ٦۰ ثانیه تعداد 5×10^6 اسپور در هر لوله به محیط کشت‌ها اضافه و در گرمخانه با دمای ۲۸±۲ درجه سانتیگراد به مدت ٤۸ 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 ۱۰۰µl 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 ۱۰۰µl سوسپانسیون‌های مذکور به محیط کشت جامد سابورودکستروز آگار منتقل و در گرمخانه ۲۸±۲ درجه سانتیگراد به مدت ٤۸ 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; Wistriech, 1991).

سینتیک مرگ اسپورها توسط اسانسها

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

بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=۷ اضافه کرده و پس از ٦۰ ثانیه ورتکس، مقدار $۱۰^{٦}$ 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، ٤۰، ٤۵، ۵۰، ۵۵ و ٦۰ دقیقه با رقت ۱/۲۰۰۰۰ اسپور بر روی محیط کشت سابورودکستروز آگار کشت داده و پس از گرمادهی ۲±۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ٤۸ 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 آسپرژیلوس 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 ۱/٤ و ۱/۸ به ترتیب آویشن کرکی و آویشن شیرازی به ترتیب (۲۲ و ۱۷ میلیمتر)، (۱۳ و ۱۱ میلیمتر) بدست آمد. رقت ۱/۱٦ برای هر دو اسانس فاقد ارزش بود (جدول ۱).

غلظت‌های مختلفی از دو اسانس آویشن کرکی و آویشن شیرازی بر روی محیط کشت مایع YES براث 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 ٦۰۰ppm و برای آویشن شیراز ۷۵۰ppm بدست آمد. مطالعه سنتیک مرگ اسپورها در مجاورت هر دو اسانس حاکی از مرگ حدود ٦۰٪ 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 آسپرژیلوس 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-توژن، تیمول، سیس-سابینن هیدرات، پارا-سیمن، ۱،۸-سینئول، میرسن و سابینن مشترک بودند (جدول ۲). بازده اسانسهای آویشن شیراز و آویشن ارومیه به ترتیب ۳/۳ ٪ و ۲/۹۲٪ بود.

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

	Zataria multiflora Boiss.					*Thymus eriocalyx*				
رقت اسانس	۱	۱/۲	۱/٤	۱/۸	۱/۱٦	۱	۱/۲	۱/٤	۱/۸	۱/۱٦
غلظت اسانس (ppm)	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
هاله عدم رشد (mm)	+	+	۱۷	۱۱	-	+	+	۲۲	۱۳	-

+ = هاله عدم رشد بیشتر از سایز پلیت ۹۰ میلیمتر

- = هاله فاقد ارزش (عدم هاله)

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

ردیف	نام ترکیب	اندیس بازداری	*Zataria multiflora*(٪)	*Thymus eriocalyx* (٪)
۱	tricyclene	۹۰۹	–	۰/۷
۲	α-thujene	۹۱٦	۰/۹	۰/۵۷
۳	α-pinene	۹۲٦	۵	۰/۳
٤	camphene	۹٦۱	۰/۳	–
۵	β-pinene	۹٦۷	–	۱/۳۱
٦	sabinene	۹۷۰	۰/٦	۰/۲٤
۷	myrcene	۹۸۲	۱/٦	۰/۲۷
۸	decane	۹۹۰	۳/۹	–
۹	α-phellandrene	۹۹۵	–	۱/۲
۱۰	β-phellandrene	۱۰۰۵	–	۱۳/۳
۱۱	1,8-cineole	۱۰۰۹	۰/۷	۱/۸۹
۱۲	p-cymene	۱۰۱۳	۱۵	۰/۷۸
۱۳	α-terpinene	۱۰۱۹	۱/٤	–
۱٤	limonene	۱۰۲۵	۰/۸	–
۱۵	cis Sabinene hydroxide	۱۰۳٦	–	۸/۱
۱٦	n-octanol	۱۰۳۹	–	۰/۹
۱۷	γ-terpinene	۱۰۵۱	٦/۵	–
۱۸	terpinolene	۱۰۸٤	۰/۲	–
۱۹	cis Sabinene hydrate	۱۰۹٦	۰/۳	۰/۳
۲۰	undecane	۱۱۰۰	۳/۸	–
۲۱	trans thujone	۱۱۱۰	–	۰/۳
۲۲	(Z)-tagetone	۱۱۳٤	–	۰/۸
۲۳	dodecane	۱۱۵۲	۸/۹	–
۲٤	cis sabinene hydrate acetate	۱۲۱٤	–	۰/۵٦
۲۵	thymol (methyl ether)	۱۲۳٦	۰/۵	–
۲٦	carvacrol (methyl ether)	۱۲٤۳	۵/۲	–
۲۷	thymol	۱۲٦۷	۳/۳	٦۳/۸
۲۸	carvacrol	۱۲۹۹	۳۷	–
۲۹	thymyl acetate	۱۳۱٦	۰/۲	–
۳۰	tetradecane	۱۳۸٦	۱/۹	–
۳۱	β-caryophyllene	۱٤۱۹	۱/۹	–
۳۲	germacrene D	۱٤۷۲	–	۱/۲

شکل ۱– سنیتیک مرگ اسپورهای آسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط اسانسهای آویشن شیرازی با کمترین غلظت قارچ‌کشی ppm ۷۵۰ و آویشن کرکی با کمترین غلظت قارچ‌کشی ppm ٦۰۰ و تلقیح $۱۰^{٦}$ اسپور در هر ml بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH ۷

بحث

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 Badeaa (۲۰۰۲) غلظت مورد استفاده برای هر اسانس را در مهار رشد قارچهای آسپرژیلوس پارازیتیکوس، فلاووس و اخراسئوس توسط اسانسهای آویشن (*Thymus*)، دارچین (*Cinamon*) (<۵۰۰ppm)، گل جعفری (Marigold) (<۲۰۰۰ppm) پونه (*Menta spearmint*) و ریحان (۳۰۰۰ppm) گزارش کردند. پیش از این نیز مهار کامل آسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط عصاره‌های آویشن وحشی (wild) *Thymus* و آویشن سیاه (black) *Thymus* و پونه کوهی بر روی محیط کشت چاپکس آگار شناسایی شده بود (Ozcan, 1998). همچنین مهار کامل آسپرژیلوس فلاووس توسط *Thmus vulgaris* در مقدار ۱۰۰۰ppm گزارش شده بود (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 ۲۵۰ppm برای هر دو گونه آویشن بومی ایران بود. قدرت قارچ‌کشی آویشن ارومیه ٦۰۰ppm و آویشن شیراز ۷۵۰ppm بود. این مطلب ثابت می‌کند که محیط غذایی غنی‌تر نمی‌تواند قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس را در برابر اسانسهای فوق محافظت کند. مطالعه سینتیک مرگ اسپورها در مجاورت هر دو اسانس حاکی از مرگ حدود ٦۰٪ 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

باشد (Soliman & badeaa, 2002). Mahmoud (۱۹۹٤) 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 سینامالدئید و الکلهای ترپنی همچون ژرانیول و نرول را با غلظت ppm ۱۰۰۰ بر مهار کامل رشد و سنتز آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس 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-ترپینن (٦/٥٪)، آلفا-پینن (٥٪)، دکان (٤٪) و تیمول (۳/۳٪) است. ترکیبهای عمده آویشن کرکی عبارتند از: تیمول (٦٤/۳٪)، بتا-فلاندرن (۱۳/۲٪)، سیس-سابینن هیدروکسید (۸/٤٪) 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 آسپرژیلوس 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 آویشن کرکی با آویشن شیرازی در رقت‌های ۱/٤ 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، ۹٤۸ صفحه.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۲. کروموفیتهای ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد سوم، مرکز نشر دانشگاهی، تهران، ۷٦۸ 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., Fiqueiredo, C.A., Barroso, G.J. and Ruberto, G., 1998. Antimicribial 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 wold 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

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.
-Wistriech, 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 antiaflatoxigenic 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. Inhibitoy 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. Fakoor[1], A. Allameh[2] , I. Rasooli[3] 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- Institiute 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.