



شناسایی ترکیبات سازنده اسانس گیاه مرزه تابستانی (*Satureja hortensis L.*) و تعیین خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن

زهرا ایزدی: استادیار زراعت گیاهان دارویی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه نهاوند، ایران (* نویسنده مسئول) z.izadi@nahgu.ac.ir

مجید آقاعلیخانی: استاد اکوفیزیولوژی گیاهان دارویی، گروه اکروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

ناصر میرازی: استاد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

مرزه تابستانی، اسانس، کارواکرول، فعالیت ضد میکروبی، فعالیت آنتی اکسیدانی

زمینه و هدف: مرزه تابستانی (*Satureja hortensis L.*) گیاهی معطر از خانواده نعناعیان است که اسانس آن به فراوانی در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود. برای اسانس مرزه اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد درد معرفی شده است. هدف اصلی تحقیق حاضر شناسایی اجزای اسانس سرشاخه‌های گلدار مرزه تابستانی و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن روی تعدادی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت، قارچ‌های رشته‌ای و مخمر بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، استخراج اسانس از سرشاخه‌های گلدار مرزه تابستانی رشد یافته در مزرعه آموزشی-پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا با استفاده از کلونجر به روش تقطیر با آب انجام شد. جداسازی و شناسایی ترکیب‌های متشکله اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی صورت گرفت. فعالیت آنتی-اکسیدانی این اسانس با آزمون مهار رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) مقایسه شد. خواص ضد میکروبی این اسانس نیز به روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و رقیق سازی در چاهک (میکروبراث دایلوژن) بررسی شد.

یافته‌ها: مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس مرزه تابستانی کارواکرول (۴۲/۱۰٪)، تیمول (۱۹/۷۴٪) و پارا-سیمن (۸/۱۹٪) بودند. میزان IC₅₀ اسانس این گیاه ۱۰/۶۳±۰/۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد، در حالی که این پارامتر برای BHT ۹/۴۵±۰/۰۹ میکروگرم بر میلی لیتر بود. زی‌سنجی اسانس مرزه تابستانی نشان داد که این گیاه دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی می‌باشد و اثر ضد قارچی آن به مراتب قوی‌تر از اثر ضدباکتریایی آن بود. متوسط قطر هاله عدم رشد در روش انتشار در آگار برای باکتری‌های گرم مثبت در غلظت ۱۵ میکرولیتر ۳۱/۰۵±۰/۵۷ میلی متر، باکتری‌های گرم منفی ۲۱/۶۸±۰/۴۰ میلی متر و برای مخمر و قارچ‌ها ۴۲/۷۶±۰/۳۳ میلی متر حاصل شد. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس مرزه تابستانی برای کلیه میکروارگانیسم‌ها در محدوده ۰/۵ تا ۱۶ میکرولیتر بر میلی لیتر بود.

نتیجه گیری: بر اساس یافته‌های این تحقیق اثر ضد میکروبی اسانس مرزه تابستانی بر مخمر و قارچ‌ها، باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس) و باکتری‌های گرم منفی (شیگلا فلکسنری، سراسیا مارسنس، اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه) در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های آمفوتریسین B، وانکومیسین و جنتامایسین بیشتر بود. به این ترتیب اسانس مرزه تابستانی به عنوان یک عامل ضد میکروب طبیعی و جدید قابل توجه می‌باشد و می‌توان انتظار داشت با انجام پژوهش‌های بیشتر، از آن برای استفاده در صنایع داروسازی و غذایی بهره برد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Izadi Z, AghaAlikhani M, Mirazi N. Identification of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of summer savory (*Satureja hortensis L.*) essential oil. Razi J Med Sci. 2020;27(2):35-48.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

Identification of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil

- ① **Zahra Izadi**, PhD, Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Nahavand, Iran (*Corresponding author). armaghan_iza_2004@yahoo.com, z.izadi@nahgu.ac.ir
Majid AghaAlikhani, PhD, Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Naser Mirazi, PhD, Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Abstract

Background: Summer savory (*Satureja hortensis* L.) is an aromatic plant, belonging to Lamiaceae family. The essential oil of this plant is used in medicinal and food industries. The essential oil of summer savory has antioxidant, anti-inflammatory and analgesic properties. The main objective of this study was to identify the chemical composition of aerial parts and evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of summer savory essential oil against a few microorganisms including gram positive, gram negative bacteria, filamentous fungi and yeast.

Methods: In this experimental study, shoot essential oil was extracted by hydro-distillation technique using clevenger apparatus. The oil was analyzed by capillary GC and GC/MS. Antioxidant activity of essential oil was assessed by diphenyl picrylhydrazyl radical-scavenging activity and compared with synthetic antioxidant Butylated Hydroxyl Toluene (BHT). Antimicrobial properties of the plant essential oil were determined using micro broth dilution and well disk diffusion methods.

Results: The major components of essential oil were carvacrol (42.10%), thymol (19.74%) and P-cymene (8.19%), respectively. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of summer savory essential oil was 10.63±0.15 µg/ml, while this parameter for BHT 9.45±0.09 µg/ml. Bioassay of essential oil showed that summer savory had strong antimicrobial effects. So that, aerial part essential oil showed the best antifungal activity and this effect is more than the antibacterial activity. The mean diameter of inhibitory growth zone in well disk diffusion method at 15 µl concentration was equal to 31.05±0.57 mm in the case of gram positive bacteria, 21.68±0.40 mm for gram negative ones and 42.76±0.33 mm in the case of filamentous fungi and yeast. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of summer savory essential oil ranged from 0.5 to 16 µl/ml in the case of all microorganisms.

Conclusion: It can be stated that summer savory essential oil on all of yeast and filamentous fungi, gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*) and gram negative bacteria (*Shigella flexneri*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*) showed more antimicrobial activity than amphotericin B, vancomycin and gentamicin, respectively. Although more research is needed in this field, summer savory essential oil can be used as a new antimicrobial agent in the pharmaceutical and food industries.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Keywords

Summer savory,
Essential oil,
Carvacrol,
Antimicrobial activity,
Antioxidant activity

Received: 30/08/2019

Accepted: 03/02/2020

Cite this article as:

Izadi Z, AghaAlikhani M, Mirazi N. Identification of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil. Razi J Med Sci. 2020;27(2):35-48.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.



اکسیدان‌های سنتزی (بوتیل هیدروکسی آنیزول، بوتیل هیدروکسی تولوئن، تری بوتیل هیدروکینون و پروپیل گالات) در صنایع داروسازی، پزشکی و غذایی بسیار رواج یافته است (۵-۷). اما اثرات نامطلوب تغذیه‌ای و سمیت این آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است. به همین دلیل یافتن ترکیبات دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی با منشا طبیعی (اسانس و عصاره گیاهی) شدیداً مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (۸ و ۹). خواص ضد میکروبی گیاهان از دیرباز مورد توجه بوده و استفاده از آن‌ها به منظور درمان با تاریخ زندگی انسان هم زمان بوده است. از سوی دیگر، ایران به لحاظ موقعیت جغرافیایی و تنوع آب و هوایی یکی از بهترین مناطق جهان در زمینه رشد انواع مختلف گیاهان دارویی محسوب می‌شود و در گذشته نیز منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است. خواص دارویی و درمانی گیاهان به نوع و میزان ترکیبات موثره آن‌ها بستگی دارد. مواد موثره موجود در گیاهان به طور اساسی با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند اما عوامل محیطی مانند شرایط آب و هوایی و همچنین سن و مراحل رشد گیاه، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس نیز باعث تغییرات کمی و کیفی در مواد موثره می‌شود (۱۰ و ۱۱). بهره‌گیری از روش‌های نوین، امکان شناسایی مواد موثره درمانگر موجود در گیاهان را فراهم کرده است. لذا، در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی فرآورده‌هایی با منشاء گیاهی از جمله اسانس‌ها و ادویه‌ها صورت گرفته و نتایج بیانگر قدرت توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد می‌باشد (۱۲).

مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) گیاهی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که به عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و همچنین به عنوان سبزی تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد. مرزه دارای ساقه‌ای منشعب با ارتفاع ۳۰-۱۰ سانتی‌متر به رنگ سبز متمایل به

در سال‌های اخیر رویکرد مردم اکثر کشورهای جهان به مصرف داروهای گیاهی افزایش یافته است. به نظر می‌رسد عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای شیمیایی، دلیل اصلی این تغییر الگوی مصرف به نفع داروهای گیاهی باشد. داروهایی که امروزه در دنیا به طور وسیعی برای درمان انواع بیماری‌ها اعم از عفونت‌های باکتریایی، ویروسی و قارچی تا انواع بیماری‌های متابولیک به کار می‌روند، منشاء طبیعی دارند. این ترکیبات نه تنها در درمان بیماری‌های ناشی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نقش دارند، بلکه به طور همزمان می‌توانند اثرات جانبی که اغلب با مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتزی همراه هستند، را نیز کاهش دهند (۱ و ۲). علاوه بر این فساد و مسمومیت‌های مواد غذایی ناشی از میکروارگانیسم‌ها نیز همچنان مهم‌ترین چالش در صنایع غذایی حتی در کشورهای توسعه یافته است (۳ و ۴). این در حالی است که استفاده از افزودنی‌های (نگهدارنده‌های) سنتزی و مصنوعی با فعالیت ضد میکروبی برای مصرف کنندگان عوارضی را در پی دارد. هر چند در سال‌های اخیر به دلیل بالا رفتن سطح آگاهی، مصرف کنندگان تمایل به مصرف مواد غذایی بدون مواد نگهدارنده دارند اما از سویی تولید کنندگان مواد غذایی با توجه به امکان زنده ماندن و تکثیر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مواد غذایی معتقدند استفاده از ترکیبات نگهدارنده ضد میکروبی، همراه با عملیات اجرایی مناسب، می‌تواند نقش مفیدی در تامین ایمنی مواد غذایی را دارا باشد (۵ و ۶).

اکسیداسیون لیپیدها در حین نگهداری و فرآوری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی غذا می‌شود، بلکه محصولات اکسید شده‌ای مانند رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند. استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به دلیل کنترل رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از عمل اکسیداسیون (فساد شیمیایی) نقش به‌سزایی در افزایش پایداری و عمر ماندگاری محصولات غذایی دارد. از سویی دیگر استفاده از آنتی

اثر هم افزایی بر یکدیگر داشته و سبب ممانعت از رشد میکروب‌ها می‌شوند (۲۲).

طبق بررسی‌ها و داده‌های جمع‌آوری شده، تاکنون در مورد ترکیبات متشکله از اسانس مرزه تابستانی در رویشگاه همدان اطلاعاتی وجود ندارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی دقیق شناسایی نوع و میزان ترکیبات موجود در اسانس گیاه مرزه تابستانی رشد یافته در رویشگاه عباس آباد همدان و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن بر علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از گروه باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمر در شرایط آزمایشگاه بود.

روش کار

در این مطالعه تجربی، سرشاخه‌های گلدار گیاه مرزه تابستانی در مرحله گلدهی کامل در شهریور ماه ۱۳۹۸ از مزرعه آموزشی-پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا واقع در عباس آباد همدان (با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۲ دقیقه طول شرقی و ۳۴ درجه و ۵۲ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۷۴۱/۵ متر از سطح دریا) برداشت شد. میانگین بارندگی سالانه این منطقه ۲۸۰ میلی‌متر است که عمده پراکنش آن در فصول پاییز و زمستان می‌باشد. روند تغییرات میانگین ماهانه دما و بارندگی از زمان کاشت مرزه تابستانی تا زمان برداشت آن با اقتباس از داده‌های ثبت شده ایستگاه مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی همدان در جدول ۱ نشان داده شده است. نمونه‌های گیاهی در سایه و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳۲ درصد طی ۷ روز خشک شدند. به منظور اسانس‌گیری مقدار ۱۰۰ گرم از ماده گیاهی خشک ابتدا با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی (با قدرت ۲۸۰۰ وات و سرعت موتور معادل ۲۵۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت یک دقیقه آسیاب شده و سپس به مدت ۳ ساعت در دستگاه

خاکستری، برگ‌های نرم و تقریباً بدون دمبرگ، باریک، نوک تیز، پوشیده از کرک و دارای تارهای غده‌ای اسانس‌دار است (۱۳ و ۱۴). در رویشگاه‌های مختلف ایران در فاصله ماه‌های تیر تا شهریور به گل می‌نشیند. به طور کلی خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد اسپاسم، ضد درد، ضد التهاب، ضد تهوع، ضد اسهال، خلط آور و تقویت کننده معده برای این گیاه گزارش شده است (۱۱ و ۱۵). همچنین بخش‌های هوایی مرزه در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوانی دارد و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی توجه محققان را به خود معطوف نموده است به طوری که گزارش‌ها نشان می‌دهد با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه، مصرف آن به عنوان افزودنی‌های طبیعی افزایش یافته است (۱۶). این گیاه دارای تانن، مواد چرب، قندهای مختلف، ترکیبات فنولی و ترکیب‌های معطر (اسانس) است. مطابق پژوهش‌های انجام شده عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مرزه را تیمول، کارواکرول، آلفا و بتا پینن و پاراسیمن تشکیل می‌دهند (۱۷ و ۱۸). هر چند ممکن است تحت تاثیر شرایط خاک و آب و هوای رویشگاه در مناطق مختلف مقدار اسانس و اجزای تشکیل دهنده آن تغییر نمایند. در تحقیقی که روی اسانس مرزه جمع‌آوری شده از رویشگاه کرج انجام شد، مشخص گردید که عمده‌ترین ترکیبات اسانس حاصل از این گیاه گاما ترپینن و کارواکرول است (۱۹). در حالی که در تحقیق دیگری تیمول، لینالول و کارواکرول ترکیبات اصلی اسانس این گیاه گزارش شده است (۲۰). ترکیبات مؤثره اسانس مرزه خواص ضد میکروبی خود را احتمالاً از طریق تغییر در نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی باکتری به یون هیدروژن (H^+) و پتاسیم (K^+) ایجاد می‌کنند (۲۱). گوپی و همکاران (۲۰۱۴) دریافتند که کارواکرول، تیمول و پاراسیمن موجود در اسانس مرزه

جدول ۱- میانگین دما و بارندگی ماهانه رویشگاه عباس آباد همدان طی فصل رشد گیاه مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.)

ماه	دما (درجه سانتی‌گراد)	بارندگی (میلی‌متر)
اردیبهشت	۱۴/۱	۳۸/۴
خرداد	۱۹	۶/۶
تیر	۲۳/۶	۳/۹
مرداد	۲۴/۲	۰/۹
شهریور	۲۰/۴	۲/۳

شد. ستون مشابه با ستون مورد استفاده در دستگاه GC بود. دتکتور Ion Trap گاز حامل هلیوم، سرعت جریان گاز حامل ۵۰ میلی‌لیتر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی ستون از ۴۰ تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه تنظیم شد. دمای محفظه تزریق ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد بود.

مقدار فنول کل اسانس مرزه تابستانی طبق روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. در این آزمون ۲۰ میکرولیتر از اسانس این گیاه با ۱۰۰ میکرولیتر از واکنشگر فولین سیوکالتو مخلوط گردید و به مدت پنج دقیقه به هم‌زده شد. سپس ۳۰۰ میکرولیتر از محلول کربنات سدیم به آن اضافه گردید و محلول به مدت دو ساعت در دمای اتاق تکان داده شد. در نهایت جذب محلول در ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش در مقابل بلانک (متانول) اندازه‌گیری شد. مقدار فنول کل اسانس مرزه تابستانی با استفاده از منحنی کالیبراسیون گالیک اسید اندازه‌گیری و گزارش شد (۲۶).

برای بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از روش به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) بر مبنای توانایی هیدروژن‌دهی استفاده شد. ارزیابی توانایی هیدروژن‌دهندگی عصاره‌ها و اسانس‌ها، به واسطه بی‌رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ DPPH اندازه‌گیری می‌شود (۲۷). در این ارزیابی طیف‌سنجی، از رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل به عنوان عامل واکنش دهنده استفاده شد. روش کار بدین صورت بود که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس (از ۵ تا ۴۰ پی‌پی‌ام) به پنج میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۴ درصد DPPH افزوده شد و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با شاهد قرائت شد. بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH بر اساس درصد (I) از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$I = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}} \times 100$$

که A_{blank} جذب محلول شاهد (حاوی همه مواد واکنشگر به جز اسانس) و A_{sample} جذب محلول حاوی غلظت‌های مختلف اسانس است. آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌ات هیدروکسی تولوئن (Butylated Hydroxyl)

کلونجر قرار گرفت و به روش تقطیر با آب، اسانس آن استخراج و بوسیله سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد (۲۳).

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس به ترتیب از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (Gas Chromatography) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (Gas chromatography–Mass Spectrometry) استفاده شد. پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، برای دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس‌های حاصل با دی‌کلرومتان رقیق شده و به دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج جرمی تزریق شد و طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوطه بدست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم افزار SATURN ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از نظر کمی و کیفی شناسایی شد (۲۴). برای محاسبه اندیس‌های بازداری از تزریق هیدروکربن‌های نرمال ۹ تا ۲۳ کربنه در شرایط برنامه‌ریزی حرارتی (مشابه با تزریق نمونه) استفاده شد. محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده‌پرداز R_3A -Chromatepac به روش نرمال کردن سطح (Area normalization methods) و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factors) مربوط به طیف‌ها انجام شد (۲۵).

دستگاه گاز کروماتوگراف مورد استفاده در این تحقیق، شیمادزو مدل 9A مجهز به دتکتور FID (یونیزاسیون شعاع هیدروژن) و داده‌پرداز Chromatepac استفاده شد. ستون دستگاه DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. سرعت جریان گاز حامل هلیوم ۲۲/۷ سانتی‌متر بر ثانیه بود. دمای محفظه تزریق ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد، برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد که هر دقیقه ۴ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده شد. دمای دتکتور ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع واریان مدل ۳۴۰۰ استفاده

جدول ۲- میکروارگانسیم‌های مورد بررسی در زی سنجی اثر ضد میکروبی اسانس مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.)

نام میکروارگانسیم	کد اختصاری	نوع میکروارگانسیم
استافیلوکوکوس اورئوس	(ATCC 25923)	کوکوس گرم مثبت
استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس	(ATCC 14990)	کوکوس گرم مثبت
باسیلوس سرئوس	(ATCC 1247)	باسیل گرم مثبت
لیستریا اینوکوا	(ATCC 33090)	باسیل گرم مثبت
اشرشیاکلی	(ATCC 25923)	باسیل گرم منفی
کلبسیلا پنومونیه	(ATCC 10031)	باسیل گرم منفی
شیگلا فلکسنری	(ATCC 1234)	باسیل گرم منفی
سراثسیا مارسنس	(ATCC 1111)	باسیل گرم منفی
سالمونلا تیفی موربوم	(ATCC 19430)	باسیل گرم منفی
کاندیدا آلبیکانس	(ATCC 5027)	قارچ
آسپرژیلوس نایجر	(ATCC 16404)	قارچ
کاندیدا کروزی	ایزوله بالینی	مخمر

$10^5 \times 1$). با استفاده از سوآب استریل، از سوسپانسیون های میکروبی تهیه شده در بالا، روی محیط مولر هینتون آگار (باکتری‌های کم نیاز) و Todd Agar Hewitt غنی شده با ۰/۵٪ عصاره مخمر و ۰/۱۰۰۰٪ توئین ۲۰ (THA غنی شده) (استرپتوکوکوس‌ها) و سوسپانسیون‌های قارچی و مخمر روی سابورو دکستروز آگار کشت گردید. دیسک‌های استریل با ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۵ میکرولیتر اسانس رقیق شده در ۱۰ میکرولیتر دی-متیل سولفوکساید روی محیط‌های کشت شده قرار گرفتند. دیسک‌های استریل از شرکت پادتن طب تهران تهیه گردید. از دیسک آنتی‌بیوتیک و دیسک حاوی دی-متیل سولفوکساید به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد. کشت‌های باکتریایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و کشت‌های قارچی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۲۹). دیسک‌های جنتامایسین، وانکومایسین و آمفوتریسین B به ترتیب با دوز $10 \mu\text{g}/\text{disc}$ ، $30 \mu\text{g}$ و $100 \text{U}/\text{Disk}$ استفاده شد.

در روش رقیق‌سازی در چاهک، حداقل غلظت مهارکننده رشد (Minimum inhibitory concentration- MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (Minimum Bactericidal Concentration- MBC) اسانس بر میکروارگانسیم‌های مختلف تعیین شد. همچنین اسانس در دی متیل سولفوکساید ۰/۱۰٪ رقیق شد (۳۰)، به نحوی که غلظت اسانس $8 \mu\text{l}/\text{ml}$

(Toluene) نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده و آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و میانگین آن‌ها به عنوان مقدار مورد نظر اعلام شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به صورت مقدار IC_{50} (The half maximal inhibitory concentration) که نشان دهنده غلظتی از اسانس است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد بیان گردید (۲۷).

میکروارگانسیم‌های مورد مطالعه در بررسی زی سنجی اثر ضد میکروبی اسانس مرزه تابستانی (جدول ۲) شامل کوکوس‌های گرم مثبت، باسیل‌های گرم مثبت و گرم منفی، قارچ‌ها و مخمر بودند. سوبه‌های باکتریایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب روی محیط کشت مناسب (نوترینت آگار، بلاد آگار) کشت شدند. قارچ‌ها و مخمر روی سابورو دکستروز آگار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تلقیح شدند. اثر ضد میکروبی اسانس مرزه تابستانی با استفاده از روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و رقیق‌سازی در چاهک (میکروبراث دایلوژن) بررسی شد (۲۸). در روش انتشار در آگار، دو تا سه کلنی از کشت باکتری در سرم فیزیولوژی استریل تلقیح شد. قارچ‌ها و مخمر مورد بررسی از کشت ۲۴ و ۷۲ ساعته روی محیط سابورو دکستروز آگار در محیط RPMI 1640 (سیگما) که با مورفولین پروپان سولفونیلک اسید $0/165$ مولار بافری شده، معلق شده و کدورت هر سوسپانسیون، با استاندارد نیم مک فارلند تنظیم شد (تعداد تقریبی باکتری‌ها $10^6 \text{CFU}/\text{ml}$ ، مخمر و قارچ $10^6 \text{CFU}/\text{ml}$).

منفی، قارچ‌ها و مخمر مؤثر است اما میزان اثربخشی آن بسته به نوع ارگانیسم متفاوت است (جدول ۴). در تمامی میکروارگانیسم‌ها با افزایش غلظت اسانس این گیاه، قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. متوسط قطر هاله عدم رشد (means±SD) اسانس در غلظت ۱۵ میکرولیتر بر باکتری‌های گرم مثبت $31/05 \pm 0/57$ و وانکومایسین $25/17 \pm 0/57$ میلی‌متر، باکتری‌های گرم منفی $21/68 \pm 0/40$ و جنتامایسین $20/94 \pm 0/64$ میلی‌متر و قارچ‌ها و مخمر $42/76 \pm 0/33$ و آمفوتریسین B $14/80 \pm 0/40$ میلی‌متر است (جدول ۴). قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت استتافیلوکوکوس اورئوس و استتافیلوکوکوس اپیدرمایدیس در غلظت ۵ میکرولیتر به ترتیب $37/3$ و $26/0$ میلی‌متر مشاهده شد و اثر این غلظت از اسانس گیاه در این دو نوع باکتری از وانکومایسین بیشتر بود، این در حالی است که در باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سرئوس و لیستریا اینوکوا حتی در بالاترین غلظت اسانس قطر هاله عدم رشد کمتر از وانکومایسین حاصل شد (جدول ۴). باکتری‌های گرم مثبت استتافیلوکوکوس اورئوس و استتافیلوکوکوس اپیدرمایدیس نسبت به اسانس مرزه تابستانی حساس و در مقابل باسیلوس سرئوس و لیستریا اینوکوا مقاوم می‌باشند. قطر هاله عدم رشد اسانس در باکتری‌های گرم منفی شیگلا فلکسنری و سراسیا مارسنس در غلظت $7/5$ میکرولیتر به ترتیب $22/1$ و $22/0$ میلی‌متر و در باکتری‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در غلظت ۱۵ میکرولیتر به ترتیب $24/9$ و $26/4$ میلی‌متر از جنتامایسین بیشتر بود (جدول ۴). کمترین هاله عدم رشد مربوط به باکتری سالمونلا تیفی‌موریوم (قطر $11/2$ میلی‌متر در غلظت ۱۵ میکرولیتر) بود و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، قطر هاله عدم رشد بزرگتری نسبت به اسانس این گیاه داشت. متوسط میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس این گیاه بر باکتری‌های گرم منفی از باکتری‌های گرم مثبت ($21/68 \pm 0/40$) در مقابل $31/05 \pm 0/57$ میلی‌متر در غلظت ۱۵ میکرولیتر) کمتر بود. بر اساس نتایج قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت‌های رشد باکتری‌های گرم منفی از باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس مقاوم‌ترند. میانگین قطر هاله عدم رشد در کاندیدا آلبیکانس و اسپیرژیلاس نایجر در

۱۲۵/۰ باشد. از RPMI 1640 (قارچ‌ها و مخمر)، مولر هینتون برات (باکتری‌های کم نیاز) و THB غنی شده (استرپتوکوک‌ها) به عنوان محیط برات استفاده شد (۳۱). ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقیق به هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی افزوده شد. غلظت سوسپانسیون میکروبی رقیق شده به نحوی است که تعداد باکتری‌ها به 10^4 - 10^6 CFU/ml و تعداد قارچ‌ها و مخمر به 10^4 - 10^5 برسد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر ارگانیسم به هر سری رقیق افزوده شده و پلیت‌های باکتریایی و مخمری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و پلیت‌های قارچی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی باکتری تعیین شد.

در تمامی روش‌های ذکر شده، جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ استفاده و با آزمون آماری چند دامنه‌ای دانکن میانگین تیمارها مقایسه شدند.

یافته‌ها

اسانس حاصل از گیاه مرزه تابستانی در این آزمایش دارای ۳۴ ترکیب بود که در مجموع ۹۷/۲۲ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در میان ترکیبات شناسایی شده کارواکرول (۰/۴۲/۱۰) و تیمول (۰/۱۹/۷۴) به ترتیب از اجزای اصلی اسانس می‌باشند. سه ترکیب پارا-سیمن، گاما-ترپینن و منتون نیز به ترتیب با مقادیر ۸/۱۹، ۶/۲۳ و ۴/۴۲ درصد در مقایسه با سایر ترکیبات از مقادیر قابل توجهی برخوردار بودند (جدول ۳).

محتوی فنول اندازه‌گیری شده اسانس با استفاده از روش فولین سیوکالتو $43/36 \pm 0/74$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم اسانس بود. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس برای اسانس روش DPPH انجام شد و IC_{50} برای اسانس مورد نظر برابر با $10/63 \pm 0/15$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که در مقایسه با BHT ($9/45 \pm 0/09$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ضعیف‌تر است. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس مهار رادیکال‌های آزاد با قدرت بیشتری صورت گرفت. اثر اسانس بر میکروارگانیسم‌های مختلف نشان داد که اسانس مرزه تابستانی بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم

جدول ۴- بررسی اثر ضد میکروبی اسانس مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.)

حداقل غلظت رشد ($\mu\text{l/ml}$)		قطر هاله عدم رشد (میلی متر)								نوع میکروارگانیسم
اسانس مرزه MBC	MIC	آمفوتریسین B U/Disk $\times 100$	جنتامایسین g/disc $\times 100$	وانکومایسین g $\times 30$	۱۵	۷/۵	۵	۲/۵		
۱	۰/۵	-	-	۳۱/۴ \pm ۱/۲	۴۴/۷ \pm ۰/۷	۴۱/۸ \pm ۰/۰	۳۷/۳ \pm ۰/۴	۲۱/۵ \pm ۱/۲	استافیلوکوکوس اورئوس	
۲	۱	-	-	۲۱/۸ \pm ۰/۰	۳۴/۵ \pm ۱/۰	۳۱/۲ \pm ۰/۷	۲۶/۰ \pm ۱/۴	۱۳/۲ \pm ۰/۴	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس	
۲	۲	-	-	۲۳/۰ \pm ۰/۴	۲۱/۸ \pm ۰/۶	۱۸/۲ \pm ۱/۰	۱۳/۷ \pm ۰/۷	۹/۵ \pm ۰/۰	باسیلوس سرئوس	
۴	۲	-	-	۲۴/۵ \pm ۰/۷	۲۳/۲ \pm ۰/۰	۱۸/۰ \pm ۰/۴	۱۵/۵ \pm ۱/۲	۱۰/۰ \pm ۰/۰	لیستریا اینوکوا	
				۲۵/۱۷ \pm ۰/۵۷	۳۱/۰۵ \pm ۰/۵۷	۲۷/۳۰ \pm ۰/۵۲	۲۳/۱۲ \pm ۰/۹۲	۱۳/۵۵ \pm ۰/۴۰	<i>Means</i> \pm <i>SD</i>	
۲	۲	-	۲۱/۵ \pm ۱/۰	-	۲۴/۹ \pm ۰/۰	۱۸/۳ \pm ۰/۶	۱۷/۰ \pm ۰/۰	۱۵/۲ \pm ۱/۱	اشرشیاکلی	
۲	۲	-	۲۲/۴ \pm ۰/۰	-	۲۶/۸ \pm ۱/۰	۱۸/۵ \pm ۰/۰	۱۷/۲ \pm ۰/۷	۱۶/۱ \pm ۰/۰	کلبسیلا پنومونیه	
۲	۱	-	۲۰/۰ \pm ۱/۰	-	۲۲/۸ \pm ۰/۶	۲۲/۱ \pm ۱/۲	۱۸/۱ \pm ۰/۰	۱۵/۹ \pm ۰/۲	شیکلا فلکسنری	
۲	۱	-	۲۱/۳ \pm ۱/۰	-	۲۳/۱ \pm ۰/۰	۲۲/۰ \pm ۰/۷	۱۹/۱ \pm ۰/۰	۱۷/۱ \pm ۰/۷	سراشیا مارسنس	
۱۶	۱۶	-	۱۹/۵ \pm ۰/۲	-	۱۱/۲ \pm ۰/۴	۸/۵ \pm ۰/۰	۸/۲ \pm ۰/۰	۷/۱ \pm ۰/۶	سالمونلا تیفی موربوم	
			۲۰/۹۴ \pm ۰/۶۴	-	۲۱/۶۸ \pm ۰/۴۰	۱۷/۸۸ \pm ۰/۵۰	۱۵/۹۲ \pm ۰/۱۴	۱۴/۲۸ \pm ۰/۵۲	<i>Means</i> \pm <i>SD</i>	
۲	۱	۱۳/۲ \pm ۰/۲	-	-	۳۲/۸ \pm ۰/۶	۲۱/۴ \pm ۱/۰	۱۴/۳ \pm ۰/۰	۱۲/۱ \pm ۰/۴	کاندیدا آلبیکانس	
۲	۰/۵	۱۲/۹ \pm ۰/۰	-	-	۴۶/۱ \pm ۰/۰	۳۸/۵ \pm ۰/۶	۳۳/۰ \pm ۱/۲	۱۵/۳ \pm ۰/۰	آسپرژیلوس نایجر	
۰/۵	۰/۵	۱۸/۳ \pm ۱/۰	-	-	۴۹/۴ \pm ۰/۴	۴۳/۷ \pm ۱/۰	۳۶/۹ \pm ۰/۰	۲۸/۵ \pm ۰/۷	کاندیدا کروزی	
		۱۴/۸۰ \pm ۰/۴۰	-	-	۴۲/۷۶ \pm ۰/۳۳	۳۴/۵۳ \pm ۰/۱۸۶	۲۴/۷۳ \pm ۰/۴۰	۱۸/۶۳ \pm ۰/۳۶	<i>Means</i> \pm <i>SD</i>	

۱/۷۹	۱۲۷۴	<i>trans</i> -sabinene hydrate	۲۲
۰/۰۲	۱۲۷۹	terpinene-4-ol	۲۳
۰/۹۸	۱۲۹۶	thymol acetate	۲۴
۰/۲۱	۱۳۱۵	myrtenal	۲۵
۱۹/۷۴	۱۳۴۱	thymol	۲۶
۴۲/۱۰	۱۳۷۶	carvacrol	۲۷
۰/۰۴	۱۳۹۷	carvacrol acetate	۲۸
۰/۱۷	۱۴۱۶	-caryophyllene β	۲۹
۰/۳۰	۱۴۳۴	tetradecane	۳۰
۱/۱۹	۱۴۶۶	germacrene D	۳۱
۰/۶۲	۱۴۹۷	caryophyllen oxide	۳۲
۰/۱۰	۱۵۱۷	-cadinene γ	۳۳
۰/۱۷	۱۵۹۳	spathulenol	۳۴

باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سرئوس، در بین باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه و در بین مخمر و قارچ‌ها کاندیدا کروزی حداقل غلظت مهار کنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی رشد برابر است (جدول ۴).

بحث و نتیجه گیری

بررسی همه جانبه نتایج نشان می‌دهد که کمیت و

غلظت ۲/۵ میکرولیتر به ترتیب ۱۲/۱ و ۱۵/۳ از آمفوتریسین B بیشتر بود. مخمر کاندیدا کروزی با قطر هاله عدم رشدی ۲۸/۵ میلی‌متر، نظیر قارچ‌ها نسبت به این اسانس حساسیت نشان داد. با توجه به میانگین اثر اسانس مرزه تابستانی بر میکروارگانیسم‌های مختلف، قارچ‌های رشته‌ای و مخمر کاندیدا کروزی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت حساس‌تر می‌باشند (جدول ۴). حداقل غلظت کشندگی رشد آسپرژیلوس نایجر چند برابر غلظت مهار کنندگی رشد آن است. در بین

جمع‌آوری گیاه می‌تواند متفاوت باشد و در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی و نیز ژنتیکی متفاوت بیوسنتز می‌شود (۳۸).

میزان فنول کل مرزه تابستانی برابر با $43/36 \pm 0/74$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم اسانس بود. میزان IC_{50} اسانس این گیاه نیز $10/63 \pm 0/15$ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. در گزارشی از رویشگاه جوزانیکا بانژا صربستان میزان ترکیبات فنولی و IC_{50} اسانس مرزه زمستانی (*Satureja montana* L.) به ترتیب برابر با $34/41$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم اسانس و $17/29$ میکروگرم بر میلی‌لیتر اعلام شده است (۳۹). در حالی که در گزارش اخیر بوزاری میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرزه تابستانی رشد یافته در رویشگاه بینگول ترکیه به ترتیب $21/25 \pm 1/58$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم اسانس و $12/46 \pm 0/34$ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است (۴۰). بدیهی است این تفاوت‌ها تا اندازه‌ای به ویژگی‌های خاک و آب و هوای محل رویش و تنوع ژنتیکی مرزه بستگی دارد، هر چند بین میزان فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین بین غلظت اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز رابطه مستقیمی وجود دارد (۴۱ و ۴۲)، رابطه مثبت و معنی‌دار بین غلظت اسانس و ترکیبات فنولی گیاهانی چون بابونه (*Matricaria chamomilla* L.)، آویشن (*Achillea millefolium* L.) و افزایش غلظت اسانس، غلظت ترکیبات فنولی به طور معنی‌داری افزایش یافته و به دنبال آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی هم افزایش می‌یابد (۴۳ و ۴۴).

یالدیز و کاملیکا اثرات آنتی‌اکسیدانی مرزه تابستانی در رویشگاه آرتوین ترکیه را وابسته به غلظت و اندکی کمتر از اسید اسکوربیک یا BHT گزارش کرده و این اثر را به غلظت بالای ترکیبات فنولی از قبیل کارواکرول و تیمول در اسانس گیاه نسبت دادند (۴۵). چنان که فیزیولوژی و تورنوک اظهار داشته‌اند، مرزه تابستانی رشد یافته در رویشگاه استانبول ترکیه نیز از غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده است (۴۶). در تحقیق حاضر نیز بالا بودن سهم کارواکرول و تیمول در ترکیبات اسانس را می‌توان دلیلی بر بالا بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی مرزه تابستانی دانست.

کیفیت مواد تشکیل دهنده اسانس مرزه تابستانی در رویشگاه عباس آباد همدان با موارد گزارش شده از رویشگاه‌های دیگر تفاوت دارد، به طوری که در رویشگاه مشهد اردهال کاشان (با ارتفاع ۱۳۰۰ متر از سطح دریا) ترکیب ایزوپروپیل میریستات و در رویشگاه چیتگر تهران (با ارتفاع ۱۲۵۰ متر از سطح دریا) ترکیب تیمول به عنوان اصلی‌ترین ترکیب به ترتیب با مقادیر $45/9$ و $59/1$ درصد گزارش شده است (۳۲ و ۳۳). همچنین در رویشگاه مشهد اردهال کاشان کارواکرول و ایزوپروپیل دودکانوات به ترتیب با مقادیر $37/8$ و 1 درصد و در رویشگاه چیتگر تهران گاما ترپینن و کارواکرول به ترتیب با مقادیر $16/7$ و $12/8$ درصد به عنوان دومین و سومین ترکیب‌های عمده شناخته شدند و ترکیب منتون در اسانس هر دو منطقه یافت نشد (۳۲ و ۳۳). همچنین تحقیق انجام شده توسط حضرتی و همکاران (۲۰۱۷) در رویشگاه باجگاه شیراز (حدود ۱۵۰۰ متر از سطح دریا) و زارع زاده و همکاران (۲۰۱۷) در رویشگاه کنجکوه منطقه یزد (حدود ۱۲۰۰ متر از سطح دریا) تا حدودی شباهت‌هایی از لحاظ نوع ترکیب‌های اصلی تشکیل دهنده این گیاه و تفاوت‌هایی از لحاظ درصد این ترکیب‌ها نشان داد (۳۴ و ۳۵). به نظر می‌رسد تفاوت ارتفاع رویشگاه عباس آباد همدان نسبت به رویشگاه‌های دیگر که بر میزان تشعشع خورشیدی و دمای منطقه تاثیرگذار است می‌تواند تفاوت نوع و مقدار ترکیبات سازنده اسانس مرزه تابستانی در تحقیق حاضر یا سایر پژوهش‌ها را توجیه نماید.

بر اساس نتایج رضایی و همکاران نور و درجه حرارت مهم‌ترین عوامل محیطی موثر بر رویش گیاهان دارویی هستند که تاثیر عمده‌ای بر کمیت و کیفیت مواد موثره آن‌ها می‌گذارند (۳۶). فعالیت گیاهان در سنتز متابولیت‌های دارویی، تحت تاثیر وضعیت‌های مختلف نوری تغییر می‌کند، به طوری که در بسیاری از گیاهان افزایش زمان دریافت تابش خورشیدی باعث افزایش ترکیبات و تغییر در ساختار اسانس می‌شود (۳۷). همان‌طور که تحقیقات نیز نشان داده‌اند ترکیبات شیمیایی اسانس مرزه تابستانی بر حسب نوع واریته، موقعیت جغرافیایی، محل رشد گیاه (نوع خاک، آب و هوا، ارتفاع از سطح دریا و میزان آب موجود) یا زمان

نداشت (۵۲). بر اساس یافته‌های سانتوس و همکاران اثر ضد میکروبی مرزه زمستانی برداشت شده از رویشگاه سرادو مونتورو پرتغال را بر باکتری‌های گرم مثبت به مراتب بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (۵۳). در تحقیق حاضر به طور کلی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نسبت به اسانس مرزه تابستانی از خود نشان دادند. به طوری که رشد باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی در غلظت کمتری از اسانس متوقف شد. این تفاوت را می‌توان به تفاوت ترکیبات، ساختار و ضخامت دیوار سلولی باکتری‌های گرم مثبت در مقابل باکتری‌های گرم منفی نسبت داد (۵۴). باکتری‌های گرم مثبت در دیواره‌ی سلولی خود دارای ترکیب موکوپتید بوده، در حالی که قسمت اعظم ساختمان دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی از لیپوپروتئین و لیپو پلی ساکارید است که مانند سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آبگریز (مانند اکثر ترکیبات موثر در عصاره‌ها و اسانس‌ها) ممانعت می‌کنند (۵۵). اگرچه مکانیسم مشابهی برای توجیه فعالیت ضد میکروبی انواع اسانس‌های گیاهی شناخته نشده، با این وجود در اغلب موارد تاثیر اسانس‌های گیاهی بر ساختار دیواره سلولی تایید شده است (۵۴). از دیگر ساز و کارهای عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی می‌توان به تداخل در عملکرد پروتئین‌های غشای سیتوپلاسم، محدود کردن دسترسی آزاد به یون‌های فلزی مورد نیاز باکتری‌ها و کاهش شدید ATP داخل سلول اشاره کرد (۵۶).

در این پژوهش مشخص شد با افزایش غلظت اسانس مرزه تابستانی، قطر هاله عدم رشد در تمامی میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت. اثر بازدارندگی اسانس مرزه تابستانی بر مخمر، قارچ‌ها و باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی بیشتر بود. اسانس این گیاه به خوبی می‌تواند رادیکال‌های آزاد را مهار نماید. برای کنترل رشد باکتری‌های گرم منفی تیمار تلفیقی (اسانس مرزه تابستانی + آنتی‌بیوتیک) پیشنهاد می‌شود.

تغییر طعم و بوی داروها و فرآورده‌های خوراکی در اثر بکارگیری مقدار زیاد اسانس‌های گیاهی سبب محدودیت استفاده از آن‌ها به عنوان نگهدارنده می‌گردد. در نتیجه برای حفظ امنیت خوراکی و حفظ طعم

با توجه به این که حدود ۷۰ درصد اسانس گیاه مرزه تابستانی را سه ترکیب کارواکرول، تیمول و پاراسیمن تشکیل می‌دهند، بنابراین به نظر می‌رسد اثر ضد میکروبی اسانس گیاه مورد مطالعه بر میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش بیشتر مربوط به این ترکیبات باشد. در عین حال نباید از اثر سینرژیستی سایر ترکیب‌های اسانس در بروز خواص ضد میکروبی آن غافل بود (۴۷). شایان ذکر است ترپن‌ها که بخش عمده ماده موثره مرزه تابستانی را تشکیل می‌دهند از جمله ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که در مواجهه با میکروب‌ها در ساختار لیپید دیواره سلولی آن‌ها نفوذ کرده و با دناتور کردن پروتئین‌ها و تراوش سیتوپلاسم مرگ سلولی میکروارگانیسم‌ها را رقم می‌زنند (۴۸). بررسی اثر ضد میکروبی اسانس مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* L.) رشد یافته در رویشگاه شهرکرد، اثر بازدارندگی آن بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیتوژنز و باکتری‌های گرم منفی پروتئوس ولگاریس و سالمونلا تیفی موریوم را تایید نموده است (۴۹). بنا به گزارش ولی زاده و همکاران کاندیدا آلبیکانس حساس‌ترین و سالمونلا تیفی موریوم مقاوم‌ترین میکروارگانیسم در برابر اثر ضد میکروبی اسانس مرزه تابستانی (رشد یافته در رویشگاه اردبیل) بودند (۵۰). این در حالی است که باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها نسبت به اسانس مرزه زمستانی رشد یافته در رویشگاه رم ایتالیا بودند (۵۱). در جدیدترین گزارش ابوبکر و همکاران نیز اثر ضد میکروبی اسانس مرزه تابستانی رشد یافته در رویشگاه گیزا مصر بر اشرشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس تایید و بیشترین اثر مهارکنندگی بر اشرشیاکلی مشاهده شد (۴۷). نتایج مطالعه دیگری که به ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس گونه‌ای مرزه (*Satureja calamintha* L.) رشد یافته در رویشگاه طنجه مراکش پرداخته است نشان داد، اسانس این گیاه در مقابل باکتری‌های گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و باسیلوس سوبتیلیس دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشد، اما روی باکتری‌های گرم منفی مانند اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم اثری

بوی فرآورده استفاده همزمان از چند نگهدارنده به میزان کم بهتر از به کارگیری مقدار زیاد هر یک از آن‌ها به تنهایی است. چه بسا بسیاری از داروهای گیاهی اثر سودمند خود را به صورت هم‌افزایی بر یک یا چند محل هدف نشان می‌دهند (۵۷). از آنجا که اثرات ضد میکروبی گیاهان آویشن، رزماری و نعناع در تحقیقات مختلفی ثابت شده (۵۸ و ۵۹) و این گیاهان هم خانواده مرزه تابستانی هستند و همچنین از نظر طعم مورد پسند مصرف کنندگان واقع می‌شوند، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی تیمارهای تلفیقی اسانس مرزه تابستانی با اسانس این گیاهان در غلظت‌های متفاوت بررسی شوند.

در خاتمه به عنوان مهم‌ترین عوامل محدود کننده این تحقیق می‌توان به کمبود دستگاه‌ها و امکانات آنالیز فیتوشیمیایی و همچنین محدودیت اعتباری برای استفاده از سایر روش‌های تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اشاره کرد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از خانم مهندس مریم روحی کارشناس آزمایشگاه دانشگاه بوعلی سینا و خانم مهندس معصومه زمانیان کارشناس آزمایشگاه دانشگاه نهاوند که در فراهم نمودن مواد لازم و انجام آزمایش‌ها ما را یاری کردند قدردانی می‌شود.

References

1. Fathi A, Sahari MA, Zangiabadi M, Barzegar M. Application of *Satureja hortensis* L. and *Zataria multiflora* Boiss. essential oils as two natural antioxidants in soybean oil during microwave heating. *J Med Plants*. 2011;10 (39):12–21.
2. Shojaee-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar MA, Mohammadi A, Ghasemlou M, Ojagh SM, et al. Characterization of antioxidant-antimicrobial K-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *Int J Biol Macromol*. 2013;52:116–24.
3. Prakash B, Kedia A, Mishra PK, Dubey N. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities—Potentials and challenges. *Food Control*. 2015;47:381–91.
4. Gormezi A, Bozari S, Yanmis D, Gulluce M, Sahin F, Agar G. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of two species

Microbiol. 2015;64(2):121-7.

5. Afshar P, Sedaghat S. Bio-synthesis of silver nanoparticles using water extract of *Satureja hortensis* L and evaluation of the antibacterial properties. *Curr Nanosci.* 2016;12(1):90-3.

6. Hadian J, Akramian M, Heydari H, Mumivand H, Asghari B. Composition and in vitro antibacterial activity of essential oils from four *Satureja* species growing in Iran. *Nat Prod Res.* 2012;26(2):98-108.

7. Moradi M, Hassani A, Sefidkon F, Maroofi H. Chemical composition of leaves and flowers essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* growing wild in Iran. *J Essent Oil Bear Plants.* 2015;18(1):242-7.

8. Golubovic, T, Palic R, Kitic D, Zlatkovic B, Ristic M, Lazarevic J. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Acinos graveolens*. *Chem Nat Compd.* 2010;46(4):645-8.

9. Javidnia K, Miri R, Soltani M, Khosravi A.R. Essential oil composition of *Acinos graveolens* from Iran. *Chem Nat Compd.* 2010;46(1):130-1.

10. Ayoughi F, Marzegar M, Sahari M, Naghdibadi H. Chemical compositions of essential oils of *Artemisia dracunculus* L. and endemic *Matricaria chamomilla* L. and an evaluation of their antioxidative effects. *J Agri Sci Technol.* 2010;13:79-88.

11. Sefidkon F, Sadeghzadeh L, Teimouri M, Asgari F, Ahmadi SH. Essential oils of two *Satureja* species (*S. Khuzistanica* Jamzad and *S. bachtiarica* Bunge) in two harvesting time. *Iran J Med Microbiol.* 2007;23:174-82.

12. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M, Zanganeh H. Investigation of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the aqueous and ethanolic *Avicennia marina* extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Sadra Med Sci J.* 2014;2(2):123-34.

13. MihaJilov-KrsteV T, Radnović D, Kitić D, Stojanović-Radić Z, Zlatković B. Antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains. *Arch Biol Sci Belgrade.* 2010;62(1):159-66.

14. Hajhashemi V, Zolfaghari B, Yousefi A. Antinociceptive and antiinflammatory activities of *Satureja hortensis* seed essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. *Med Prin Pract.* 2012;21(2):178-82.

15. Mahboubi M, Kazempour N. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* and *Trachyspermum copticum* essential oil. *Iran J Microbiol.* 2011;3(4):194-200.

16. Vahidyan H, Sahari MA, Barzegar M, Naghdi Badi H. Application of *Zataria multiflora* Boiss. and *Satureja hortensis* L. essential oils as two natural antioxidants in Mayonnaise formulated with linseed oil. *J Med Plants.* 2012;11(43):69-79.

17. Momtaz S, Abdollahi M. An update on

pharmacology of *satureja* species: from antioxidant, antimicrobial, anti diabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation. *Int J Pharmacol.* 2010;6:454-61.

18. Nabigol A. Chemical composition and anti-fungal activities of three essential oils from *Satureja* spp. on four post-harvest pathogens of strawberry fruit. *J Hort Sci Biotechnol.* 2011;86(4):371-6.

19. Rezvanpanah S, Rezaei K, Golmakani MT, Razavi SH. Antibacterial properties and chemical characterization of the essential oils from summer savory extracted by microwave assisted hydro distillation. *Braz J Microbiol.* 2011;42:1453-62.

20. Nikolić M, Jovanović KK, Marković T, Marković D, Gligorijević N, Radulović S, et al. Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. *Ind Crops Prod.* 2014;61:225-32.

21. Ghalamkari GH, Toghyani M, Tavalaeian E, Landy N, Ghalamkari Z, Radnezhad H. Efficiency of different levels of *Satureja hortensis* L. (Savory) incomparision with an antibiotic growth promoter on performance, carcass traits, immune responses and serum biochemical parameters in broiler chickens. *Afr J Biotechnol.* 2011;10(61):13318-23.

22. Gopi M, Karthik K, Manjunathachar HV, Tamilmahan P, Kesavan M, Dashprakash M, Balaraju BL, Purushothaman MR. Essential oils as a feed additive in poultry nutrition. *Adv Anim Vet Sci.* 2014;2(1):1-7.

23. Maral H, Türk M, Çalışkan T, Kafkas E, Kırıcı S. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of six Lamiaceae plants growing in Southern Turkey. *Nat Volatiles Essent Oils.* 2017;4(4):62-8.

24. Trifan A, Aprotosoia AC, Bebu M, Cioanca O, Gille E, Hancianu M, et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from Romanian *Satureja montana* L. *Farmacia.* 2015;63(3):413-6.

25. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois. 2007.

26. Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi SA, Mohebbi M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. *J Food Meas Charact.* 2017;11:847-63.

27. Kartal N, Sokmen M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem.* 2007;100(2):584-9.

28. Rashid SL, Rather MA, Shah WA, Bhat BA. Chemical composition, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia*

indica Willd. Food Chem. 2013;138:693–700.

29. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian MM, Vasiee A. Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and in toxication microorganisms "invitro". J Param Sci. 2013;4(3):89-99.

30. khalaji N, Neyestani T. The inhibitory effects black and green teas (*camellia sinensis*) on growth of pathogenic *Escherichia coli* invitro. Iran J Nutr Sci Food Technol. 2007;1(3):33-8.

31. Bajera T, Silha D, Ventura K, Bajerov P. Composition and antimicrobial activity of the essential oil, distilled aromatic water and herbal infusion from *Epilobium parviflorum* Schreb. Ind Crops Prod. 2017;100:95–105.

32. Sharifzadeh A, Khosravi AR, Ahmadian SH. Chemical composition and antifungal activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against planktonic and biofilm growth of *Candida albicans* isolates from buccal lesions of HIV^p individuals. Microb Pathog. 2016;96:1-9.

33. Farahani M, Shahidi F, Tabatabaei yazdi F. Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. essential oil against some food born pathogenic and spoilage microorganism. JFST. 2019;85(15):393-405.

34. Hazrati H, Saharkhiz MJ, Niakousari M, Moein M. Natural herbicide activity of *Satureja hortensis* L. essential oil nanoemulsion on the seed germination and morphophysiological features of two important weed species. Ecotoxicol Env Saf. 2017;142:423-30.

35. Zarezadeh A, Sefidkon F, Tabaei Aghdai SR, Mirhosseini A, Mirjalili MR. Investigation on quality and quantity of essential oil cultivated different *Satureja* species in Yazd province. Iranian J Med and Aromatic Plants. 2017;33(3):509-34.

36. Rezaei M, Razmjoo J, Ehtemam MH, Karimjojeni H, Zahedi M. The interaction between shade and drought affects essential oil quantity and quality of *Vitex agnus-castus* L. leaves and seeds. Ind Crop Prod. 2019;137:460-7.

37. Navarro-Rocha J, Fe Andrés M, Díaz CE, Burillo J, González-Coloma A. Composition and biocidal properties of essential oil from pre-domesticated Spanish *Satureja montana*. Ind Crop Prod. Article In Press.

38. Oliveira GC, Vieira WL, Bertolli SC, Pacheco AC. Photosynthetic behavior, growth and essential oil production of *Melissa officinalis* L. cultivated under colored shade nets. Chil J Agric Res. 2016;76:123–8.

39. López-Cobo A, Gómez-Caravaca AM, Švarc-Gajic J, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of a Mediterranean plant: The case of *Satureja montana* subsp. *Kitaibelii*. J Funct Foods. 2015;1167-78.

40. Bozari S. Measuring of the genotoxic and potential antioxidant effects of essential oil obtained from *Satureja hortensis* against to *Phaseolus vulgaris*. Braz Arch Biol Technol. 2016;59:1-9.

41. Alizadeh A, Khoshkhui M, Javidnia K, Firuzi OR, Tafazoli E, Khalighi A, et al. Measuring of the genotoxic and potential antioxidant effects of essential oil obtained from *Satureja hortensis* against to *Phaseolus vulgaris*. Braz Arch Biol Technol. 2016;59:1-9.

42. Piluzza G, Bullitta S. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. Pharm Biol. 2011;49(3):240-7.

43. Mehdizadeh T, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. Vet Res Forum. 2012;3(3):167-73.

44. Bagheri S, Ahmadvand H, Khosrowbegi A, Ghazanfari F, Jafari N, Nazem H, et al. Antioxidant properties and inhibitory effects of *Satureja khuzestanica* essential oil on LDL oxidation induced–CuSO₄ in vitro. Asian Pac J Trop Biomed. 2013;3(1):22-7.

45. Yaldiz G, Çamlica M. Antioxidant activities of *Satureja hortensis* L. essential oil during the flowering period. Indian J Pharm Educ 2017;51(3):258-61.

46. Feyzioglu CG, Tornuk F. Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. LWT - Food Sci Technol. 2016;70:104-10.

47. Abou Baker DH, Al-Moghazy M, ElSayed AAA. The in vitro cytotoxicity, antioxidant and antibacterial potential of *Satureja hortensis* L. essential oil cultivated in Egypt. Bioorg Chem. 2020;95:1-6.

48. Farzaneh M, Kiani H, Sharifi R, Reisi M, Hadian J. Chemical composition and antifungal effects of three species of *Satureja* (*S. hortensis*, *S. spicigera* and *S. khuzistanica*) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. Postharvest Biol Tec. 2015;109:145-51.

49. Pirbalouti AG, Malekpoor F, Enteshari S, Yousefi M, Momtaz H, Hamedi B. Antibacterial activity of some folklore medicinal plants used by Bakhtiari tribal in Southwest Iran. Int J Biol. 2010;2(2):55-63.

50. Valizadeh S, Fakheri T, Mahmoudi R, Katirae Farzad, Gajarbeygi P. Evaluation of antioxidant, antibacterial, and antifungal properties of *Satureja hortensis* essential oil. Biotech Health Sci. 2014;1(3):1-4.

51. Vitanzaa L, Maccellib A, Marazzatoa M, Scazzocchia F, Comanduccia A, Fornarinib S, et al.

Satureja montana L. essential oil and its antimicrobial activity alone or in combination with gentamicin. *Microb Pathog.* 2019;126:323-31.

52. Cherrat L, Espina L, Bakkali M, Pagán R, Laglaoui A. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2014;22:221-9.

53. Santos J, Coelho E, Silva R, Passos CP, Teixeira P, Henriques I, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* by products essential oils. *Ind Crops Prod.* 2019;137:541-8.

54. Saeidi S, Shiri Y, Bokaeian M, Hassanshahian M. Antibacterial activity of essential oil of *Saturea hortensis* against multi-drug resistant bacteria. *Int J Enteric Pathog.* 2014;2:1-4.

55. Tozlu E, Cakir A, Kordali S, Tozlu G, Ozer H, Akcin TA, et al. Chemical compositions and insecticidal effects of essential oils isolated from *Achillea gypsicola*, *Satureja hortensis*, *Origanum acutidens* and *Hypericum scabrum* against broadbean weevil (*Bruchus dentipes*). *Sci Hort.* 2011;130(1):9-17.

56. Ghabraie M, Vu KD, Tata L, Salmieri S, Lacroix M. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. *LWT-Food Sci Technol.* 2016;66:332-9.

57. Soulaïmani B, Nafis A, Kasrati A, Rochdi A, Mezrioui NE, Abbad A, et al. Chemical composition, antimicrobial activity and synergistic potential of essential oil from endemic *Lavandula maroccana* (Mill.). *S Afr J Bot.* 2019;125:202-6.

58. Brahmi F, Abdenour A, Brunoc M, Silviac P, Alessandrac P, Daniloc F, et al. Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Ind Crop Prod.* 2016;88:96-105.

59. Zaouali Y, Bouzaine T, Boussaid M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem Toxicol.* 2010;48:3144-52.