Original Article

مجله دنیای میکروب ها
سال سوم، شماره دوم (پیاپی ۷)، تابستان ۱۳۸۹
صفحات ۱۳۶-۱۲۹

شناسایی ترکیبات شیمیایی و اثر اسانس گیاهان نعنا، ریحان، شوید و جعفری بر قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس

دکتر فاطمه نوربخش*[1]، دکتر ساسان رضایی[2]، مرجان عرب[3]

[1]استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، گروه میکروبیولوژی، [2]دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی،
[3]مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، گروه علوم گیاهی

چکیده

سابقه و هدف: در این مطالعه اثرات ضدقارچی اسانس گیاهان نعنا، شوید، جعفری و ریحان بر روی قارچ سم زای آسپرژیلوس پارازیتیکوس استاندارد مورد بررسی قرار گرفت. همچنین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس گیاهان ذکر شده تعیین گردید.

مواد و روش ها: در ابتدا اسانس گیاهان با روش تبخیر آبی از گیاه خشک به دست آمدند. سپس برای شناسایی ترکیبات شیمیایی آن‌ها از روش GC/MS استفاده شد. حداقل غلظت بازدارنده رشد با روش تعیین غلظت متوالی تعیین گردید.

یافته‌ها: مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده نعنا: بنزن برومو فنوکسی متیل دی متوکسی، ریحان: اتیل دکبوران، شوید: دی متیل دکربا دکبوران و جعفری: متیل آنتراسن بود. غلظت بازدارنده برای نعنا، شوید، ریحان و جعفری به ترتیب ۱/۵، ۱/۵، ۳ و ۴ میکرولیتر در میلی‌لیتر محاسبه گردید. اثر ضدقارچی با توجه به غلظت و ترکیب اسانس به‌کار رفته متفاوت بود. این اثر در دو گیاه نعنا و شوید مشابه و بیش از دو گیاه دیگر مشاهده شد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان دادکه اسانس‌های گیاهی به‌کار رفته در این پژوهش دارای اثر ضدقارچی بسیار قوی می‌باشند. بنابراین می‌توانند به عنوان عواملی محافظت کننده در جلوگیری از آلودگی برخی از مواد غذایی با قارچ‌های آلوده کننده سم زا به‌کار روند.

واژگان کلیدی: نعنا، ریحان، شوید، جعفری، آسپرژیلوس پارازیتیکوس

دریافت مقاله: اسفند ۸۸ پذیرش برای چاپ: اردیبهشت ۸۹

مقدمه

کپک‌های جنس آسپرژیلوس به طور گسترده در محیط‌های مختلفی مانند خاک، روی سبزی‌ها، مواد آلی در حال فساد، بقایای مواد غذایی، داروها و بافرها یافت می‌شوند. تمامی گونه‌های آسپرژیلوس نسبت به حرارت مقاوم بوده و قادرند به راحتی خود را با بافت سازگار کرده و بیماری ایجاد کنند. بهترین شرایط برای رشد و تولید مایکوتوکسین در این قارچ‌ها در محیط‌هایی با حرارت ۲۵°C و رطوبت بیش از ۸۵٪ است. مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ هستند که موجب مسمومیت مصرف کنندگان قارچ‌های مولد و یا محصولات آلوده به آن‌ها می‌شوند (۱). این توکسین‌ها اغلب توسط آسپرژیلوس فلاووس (Aspergillus flavus) و

*) آدرس برای مکاتبه: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا
تلفن: ۰۹۱۲۲۰۴۳۶۵۴
پست الکترونیک: fatemehnoorbakhsh@iauvaramin.ac.ir

آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus parasiticus*) تولید می‌شوند و می‌توانند در حیوانات و انسان‌ها اثرات توکسیژنیک، کارسینوژنیک، موتاژنیک و ایمنوساپرسیو داشته باشند (۱). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که آسپژیلوس پارازیتیکوس غیرسم‌زا بسیار نادر است و بنابراین اکثر موارد بیماری‌زایی این قارچ مربوط به تولید سم می‌باشد (۲). سم آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آفلاتوکسین نامیده می شود و می‌تواند تاثیر خود را به صورت حاد و مزمن بر روی انسان و حیوان نشان دهد. وجود آفلاتوکسین در مواد غذایی حیوانات موجب کاهش شیر، تخم مرغ و وزن می‌شود. از طرف دیگر وجود این سم به دلیل اثرات ایمنوساپرشن و تخریب اندام‌های حیاتی می‌تواند موجب افزایش ابتلا به بیماری‌های دیگر نیز گردد. آلودگی مواد غذایی با آفلاتوکسین می‌تواند در انسان باعث ایجاد هپاتوتوکسیستی (سمیت کبد)، سرطان کبد و اثرات تراتوژنیک گردد (۳). مطالعات نشان داده است که در مناطق اندمیک هپاتیت B، مصرف مداوم مواد غذایی حاوی آفلاتوکسین مهم‌ترین عامل ایجاد کارسینومای هپاتوسلولار به شمار می‌رود (۴ و ۵).

جعفری (*Petroselinum crispum*) گیاهی علفی، دو ساله و دارای برگ‌هایی به رنگ سبز تیره می‌باشد. ریشه، میوه و گاهی بخش‌های هوایی از این گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد. بذر این گیاه حاوی ۷٪ اسانس فرار بوده و قسمت‌های ریشه و برگ به ترتیب دارای ۱٪ و ۳٪ اسانس می‌باشند. جعفری به مقدار کم به هضم غذا کمک کرده، نفخ را کاهش می‌دهد و در درمان عفونت‌های مجاری ادرار و التهاب غده پروستات مورد استفاده قرار می‌گیرد. اسانس این گیاه مایعی بی‌رنگ، حاوی آپیول مریستیسن به مقدار کم اتر اکسیدها، فنل‌ها، اسیدپالمیتیک، آلدهیدها و استن‌ها می‌باشد (۸-۶).

ریحان (*Acimum basilicum*) گیاهی علفی، یک ساله و معطر می‌باشد که برای معالجه اختلالات قلبی و درمان بزرگی طحال استفاده می‌شود. از ریحان اسانسی به نام اسانس بازیلیک یا روغن ریحان به دست می‌آید. این اسانس حاوی موادی مانند استراگول است. اسانس ریحان خاصیت ضدقارچی و ضد باکتریایی دارد. ترکیب اصلی اسانس گل‌ها و برگ‌ها متیل کاویکول و لیمونن می‌باشد. اما در ساقه گیاه ترکیباتی مانند آپیول، متیل کاویکول و کاریوفیلن اکسید به مقدار بیشتری وجود دارند (۸-۶).

شوید (*Anethum graveolens*) گیاهی علفی، بسیار معطر و دارای اثر ضدباکتریایی می‌باشد. تمام پیکر رویشی این گیاه دارای اسانس است. اما بذرهای کاملا رسیده گیاه اسانس بیشتری دارد. مهم‌ترین مادهٔ موثر شوید اسانس دکارون است، اما مقداری د ـ آلفا فلاندرون و لیمونن نیز در آن وجود دارد (۸-۶).

نعنا (Mentha viridis) گیاهی علفی، چند ساله و معطر می‌باشد. این گیاه در درمان مشکلات گوارشی اثر بسیار خوبی دارد. بیشترین ترکیب تشکیل دهندهٔ اسانس آن منتول است. اما مواد دیگر موجود در اسانس آن شامل منتون، پیپریتون، پولگون، پنین، سابینین و متیل استات می‌باشد (۸-۶).

هدف از این پژوهش، ارزیابی اثرات ضدقارچی اسانس گیاهان نعنا، شوید، جعفری و ریحان بر روی سویه استاندارد قارچ سم‌زای آسپرژیلوس پارازیتیکوس استاندارد و شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس هر یک از گیاهان یاد شده بود.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه اسانس: در ابتدا بذر هر یک از گیاهان نعنا، شوید، جعفری و ریحان تهیه و توسط دستگاه به طور کامل آسیاب گردید. سپس مقدار ۳۰g از پودر حاصل با ۲۵۰cc آب مقطر مخلوط و بر روی هیتر (Heater)، به دستگاه کلونجر متصل گردید و به مدت ۳ ساعت در حرارت ملایم قرار گرفت. بخار حاصل از جوشیدن بذر پودر شده گیاه در دستگاه کلونجر به حالت مایع در آمد و به صورت اسانس نهایی جمع‌آوری گردید. تقریبا اسانس به دست آمده از هر چهار گیاه به صورت بی‌رنگ و متمایل به زرد کم رنگ دیده شدند. اسانس‌ها در ویال‌های مخصوص نگهداری شدند تا در ادامه برای بررسی خاصیت ضدقارچی مورد استفاده قرار گیرند.

ب) کشت قارچ: سویه استاندارد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس ATCC 15517 از بانک قارچی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شد. قارچ آسپرژیلوس در محیط کشت سابرو دکستروز آگار (SDA) شرکت مرک آلمان به صورت نشاکاری کشت و به مدت ۳ روز در دمای ۲۵°C نگهداری گردید.

پلیت‌ها پس از ۳ روز از نظر ماکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین به منظور بررسی شکل میکروسکوپی قارچ‌ها، اسلاید کالچر تهیه شد.

ج) تهیه سوسپانسیون قارچی: اسپورهای کشت تازه قارچ آسپرژیلوس پارازیتکوس در آب مقطر حل و غلظت آن بر اساس استاندارد ۰/۵ مک فارلند (۹/۹۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱٪ و ۰/۰۵ میلی لیتر کلرید باریم) معادل با $1/5\times10^{8}$CFU/ml تنظیم گردید.

د) کشت قارچ در حضور اسانس‌های گیاهی: برای ارزیابی اثر ضدقارچی اسانس‌ها از روش رقیق سازی متوالی (Serial dilution) استفاده گردید. بدین منظور از میکرو پلیت‌های ۲۴ حفره‌ای استفاده شد. در ابتدا یک میلی‌لیتر از محیط کشت SDA به هر یک از حفرات تزریق گردید. در هر ردیف یک میلی‌لیتر از اسانس یک گیاه به حفره اول اضافه شد و به طور کامل با محیط کشت مخلوط گردید. سپس یک میلی‌لیتر از مخلوط حاصل به حفره دوم اضافه شد. پس ازمخلوط کردن، این کار تا حفره آخر ادامه یافت. یک حفره به عنوان کنترل مثبت و یک حفره نیز به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. در نهایت ۵۰ µl از سوسپانسیون اسپور قارچی به همه حفرات به جز کنترل منفی اضافه گردید. سپس پلیت حاصل به مدت ۴ روز در دمای ۲۵°C نگهداری شد. پس از به دست آمدن نتایج حاصل از رقت‌های متوالی، آزمایش تعیین غلظت بازدارنده رشد قارچ در حضور مقادیر مشخصی از اسانس‌های گیاهی (۱/۵، ۲، ۳ و ۴ میکرولیتر بر میلی لیتر) انجام شد.

ه) تعیین وزن خشک قارچ: قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس در حضور اسانس گیاهان یاد شده با توجه به غلظت تعیین شده در حجم ۱۵ میلی‌لیتر کشت داده شد. پس از نگهداری و رشد قارچ، محتوای محیط کشت و آسپرژیلوس رشد کرده فیلتر گردید. قارچ با آب مقطر استریل شستشو و در کاغذ فویل قرار داده شد. سپس در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و برای تعیین وزن خشک قارچ رشد کرده در حضور اسانس‌های گیاهی و مقایسه با نمونه کنترل، وزن گردید.

و) آنالیز اسانس‌های گیاهی: برای بررسی و آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه از تکنیک GC/MS و دستگاه VARIAN 3800 استفاده گردید. ۱ µl از هر نمونه در اتانل ۱٪ به دستگاه تزریق شد. انژکتور تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد و درجه حرارت ستون بین ۴۰ تا ۲۸۰ درجه تنظیم گردید. مدت زمان انجام آنالیز ۲۹ دقیقه به طول انجامید. در نهایت نتایج به صورت نمودار ترسیم گردید. سپس با مقایسه بین زمان نگهداری (Retention Time) و نمودار استاندارد، محتوای مواد تشکیل دهنده هر اسانس مشخص شد.

یافته‌ها

الف) ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی: از اسانس نعنا ۱۶ ترکیب به دست آمد. Menthen- isopropylidene-vinyl-Elixene با ۵۴٪ بیشترین ترکیب شناسایی شده در این اسانس بود. سایر ترکیبات به دست آمده در جدول ۱ نشان داده شده است.

اسانس ریحان از ۱۹ ماده مختلف تشکیل شده بود . بیشترین ترکیب شناسایی شده (۶۵/۸٪) آن Ethyldecaborane شناسایی شد. سایر ترکیبات این اسانس در جدول ۲ نشان داده شده است.

اسانس شوید دارای ۱۲ ترکیب بود که Dicarbadecaborane-dimethyl با ۵۴/۵۶٪ بیشترین ترکیب شیمیایی جداسازی شده در این اسانس را به خود اختصاص داد. سایر ترکیبات به دست آمده در جدول ۳ نشان داده شده است.

اسانس جعفری شامل ۸ ماده متفاوت بود. Methyl anthracene با ۵۷/۸٪ بیشترین ترکیب تشکیل دهنده این اسانس را به خود

جدول ۱: ترکیبات موجود در اسانس نعنا (*Mentha viridis*).

ماده	مقدار (٪)	زمان نگهداری (R.T)
Pinene	۵/۰	۴/۰۱
α-Thujene(origanen)	۱/۲	۴/۳
Thiobenzoic acid	۱/۲	۴/۵
Trifluroacetyl- Isopulegol	۱/۹	۴/۷
Oxaspiro-deca-diene-tetramethyl	۲۲	۵/۹
2-Norbornano	۰/۳۱	۶/۵
Trans-mentha-diol	۰/۹	۷/۰
Menthone	۰/۵	۷/۳
Menthen- Isopropylidene-vinyl-Elixene	۵۴	۹/۷
Isoeugenol	۰/۱۵	۱۰/۱
Eremophilene	۴/۲	۱۱/۱
α Guaiene	۰/۵	۱۱/۵
β Cubebene	۰/۷	۱۱/۸
Ledene	۰/۸۱	۱۱/۹
Spathulene	۲/۵	۱۳/۰
Apiol	۰/۹	۱۴/۰۲
مجموع	۹۳/۷	-

جدول۲: ترکیبات موجود در اسانس ریحان (*Acimum basilicum*).

ماده	مقدار (٪)	زمان نگهداری (R.T)
Santolinu triene	۲	٤/٠١
Methyl heptenone	١/٥	٤/٦
Limonene	٠/٥	٥/٣
Heptadienal-ethylidene-methyl	١/٧	٦/٢
Ethyldecaborane	٦٥/٨	٨/٠٤
Propyl-pyroline	٠/٧٥	١٠/٣
Methyl eugenol	٣/٢	١٠/٦
Tetramethyl tricycle- undec- ene	٤/٢	١١/٠٤
Cedrene	٠/٥	١١/٢
α Guaiene	٢/٣	١١/٤
Aristolene	٠/٣	١١/٦
Bicyclo-dec-ene iso-propyl-methyl-methylene	٠/٩	١١/٨
γ Cadinene	٠/٦	١٢/١
β Guaiene	٢/٥	١٢/٢
Tetramethyl-tricyclo-undec-ene	٠/٦	١٢/٤
Citoxigenin	٠/٤	١٣/١
Tricyclo-triacontane-diepoxy	٠/٥	١٣/٣
Cinnamic acid	٠/٤٢	١٤/٠٤
Tetramethyl-hexadecen	٠/٣١	١٨/٧
مجموع	٩٥/٨٨	

اختصاص داد. جدول ۴ سایر ترکیبات اسانس را نشان می‌دهد.

ب) غلظت‌های موثر اسانس‌های گیاهی: پس از انجام آزمایشات متعدد برای تعیین خاصیت ضدقارچی اسانس گیاهان نتایج زیر حاصل شد. رشد قارچ آسپرژیلوس در حضور ۲µl اسانس نعنا ممانعت گردید. حداقل غلظت بازدارنده رشد ۱/۵ µl/ml تعیین گردید.

همچنین اثر اسانس شوید بر این قارچ مشابه نعنا بود. ولی اسانس ریحان در غلظت بالاتری اثر بازدارندگی از رشد را نشان داد. در این مطالعه اثر بازدارندگی جعفری بر رشد قارچ آسپرژیلوس کم‌تر مشاهده شد. نتایج حاصل از غلظت مؤثر هر یک از اسانس‌های گیاهی در جدول ۵ نشان داده شده است.

ج) میزان رشد قارچ در حضور اسانس گیاهان: وزن خشک قارچ‌های رشد کرده در حضور اسانس‌های گیاهی با ترازوی دیجیتال اندازه گیری شد. وزن هر یک از نمونه‌های کنترل (قارچ رشد کرده در محیط فاقد هرگونه اسانس) ۰/۱۴۰ گرم، نمونه رشد یافته در حضور اسانس نعنا ۰/۰۳۸ گرم، قارچ رشد کرده در مجاورت اسانس ریحان ۰/۰۲۰ گرم، نمونه رشد کرده در محیط حاوی اسانس شوید ۰/۰۵۲ و قارچ رشد یافته در حضور اسانس جعفری ۰/۱۲۹ گرم به دست آمد.

بحث

استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی در نگهداری مواد غذایی و همچنین کنترل بیماری‌های انسان و گیاه در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از اهمیت قابل توجهی برخوردار است (۹ و ۱۰). برخی از گونه‌های آسپرژیلوس موجب آلودگی مواد غذایی می‌گردند. مصرف غذاهای آلوده به سم آفلاتوکسین تولید شده توسط این قارچ، می‌تواند موجب صدمات جدی در انسان و حیوان گردد (۱۱ و ۱۲). امروزه استفاده از ترکیبات طبیعی به منظور نگهداری مواد غذایی مورد توجه می‌باشد. گیاهان و میکروارگانیسم‌ها منابع طبیعی برای توسعه تولید داروهای جدید در پزشکی محسوب می‌گردند. گیاهان تعداد زیادی مواد شیمیایی تولید می‌کنند که به عنوان عامل دفاعی می‌توانند در برابر عوامل خارجی به کار روند. این مواد باید به طور خالص جداسازی و از نظر ترکیبات تشکیل دهنده مورد بررسی قرار گیرند. زیرا بسیاری از این مواد شیمیایی دارای اثرات سمی بر روی موجودات زنده در طبیعت می‌باشند (۱۳). در سال‌های اخیر اثر ضدقارچی بسیاری از گیاهان دارویی مورد ارزیابی قرار گرفته است. رسولی (Rasooli) و اولیا (Owlia) در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که اسانس گیاه آویشن بر روی قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس دارای اثر ضدقارچی است و همچنین می‌تواند از تولید توکسین آن ممانعت کند. محققین یاد شده ثابت کردند که اثر ضدقارچی به غلظت اسانس مصرفی بستگی دارد (۱۴). سلیمان (Soliman) و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز نشان دادند که اسانس گیاهان آویشن،

جدول۳: ترکیبات موجود در اسانس شوید (*Anethum graveolens*).

ماده	مقدار (٪)	زمان نگهداری (R.T)
β-pinene	٠/١	٤/٧
Bicyclo-heptene-formylmethyl-trimethyl	٠/٥	٥/٠٩
Isopropenyltoluene	١٩/٩٥	٥/٧
Limonene monoxide	٠/٢	٦/٣
Dimethyl-hexahydrobenzene	٠/١٢	٦/٩
Trimethoxy allylbenzene	٠/١٤	٧/٧
Dicarbadecaborane-dimethyl	٥٤/٥٦	٨/٨
Benzodioxole-methoxy-propenyl	٢/٦	١٢/٢
Trimethoxy allylbenzene	٠/١١	١٢/٤
Caryophylene oxide	٠/١	١٣/٠٥
Benzenamine oxide	٢٠/٥٤	١٣/٧
Apiol	٠/٠٤	١٤/٠٦
مجموع	٩٨/٩٥	

جدول ۴: ترکیبات اسانس جعفری (*Petroselinum crispum*).

ماده	مقدار (٪)	زمان نگهداری (R.T)
2-Bornene	۱۲/۸	٤/۳
β-terpinen	۸/۲	٥/۰۹
Limonen	۱/۳	٥/٤
γ-terpinen(Moslene)	۰/۰٦	٥/۷
α terpieol	۰/۱٦	۷/۸
Methyl anthracene	٥۷/۸	۱۲/٤
Tetramethoxybenzene	٤/٥	۱۳/۰
carotol	۰/٥	۱۳/٤
مجموع	۸٤/۹	-

دارچین، نعنا، ریحان و ماریگولد (Marigold) باعث توقف رشد آسپرژیلوس فلاووس (*A. flavus*)، آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*A. parasiticus*) و آسپرژیلوس اوخراسیوس (*A. ochraceus*) می گردد (۱۵). همچنین آتانا (Atanda) و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که گیاه ریحان در غلظت ۵٪V/V می‌تواند در برابر آسپرژیلوس پارازیتیکوس اثر قارچ‌کشی داشته باشد. اما نشان دادند که دارچین، گشنیز و برگ بو بر رشد قارچ و مهار رشد میسیلیومی قارچ موثر نمی‌باشند (۱۶). سیدو (Sidhu) و همکارانش در سال ۲۰۰۹ اثر بذر گیاه Madhuca indica Gmel بر رشد و تولید توکسین آسپرژیلوس فلاودس را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که اثر ترکیبی عصاره‌های گیاهی بر کنترل رشد قارچی و تولید آفلاتوکسین مؤثرتر از یک گیاه می‌باشد. نتایج تحقیقات آن‌ها اثبات کرد که اثر سینرژیستیک عصاره‌های گیاهی می‌تواند برای کنترل رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین مفید باشد و جایگزین ترکیبات شیمیایی برای کنترل آلودگی محصولات کشاورزی گردد (۱۷). مارینا (Marina) و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر ضدقارچی اسانس *Mentha piperita* و *Menthe spicata* را مورد ارزیابی قرار دادند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که این اسانس در غلظت ۰/۵-۲/۵ µl/ml از رشد قارچ‌های ساپروفیت و درماتوفیت مانند آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، فوزاریوم، ترایکوفایتون، میکروسپوروم و اپیدرموفایتون ممانعت می‌نماید (۱۸). همان طور که مشاهده می شود دو واریته مختلف نعنا در غلظت ۰/۵-۲/۵ µl/ml بر قارچ‌های مختلف از جمله آسپرژیلوس اثر بازدارندگی دارند. این یافته با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر (غلظت ۱/۵ µl/ml) هم خوانی دارد. همچنین جهانشیری (Jahanshiri) و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که زردچوبه در غلظت ۱۰۰۰ µg/ml می‌تواند موجب کاهش رشد قارچ و تولید توکسین آسپرژیلوس پارازیتیکوس شود (۱۹). نتایج تحقیق جاری نشان داد که اسانس گیاه نعنا و شوید در غلظت ۱/۵/ml، گیاه ریحان و جعفری به ترتیب در غلظت‌های ۳/ ml و ۴/ ml می‌توانند از رشد قارچ آسپرژیلوس ممانعت کنند. مقایسه نتایج بدست آمده از این تحقیق با پژوهش‌های دیگر انجام شده در این زمینه نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی با غلظت‌های متفاوتی اثر ممانعت کننده رشد بر روی آسپرژیلوس پارازیتیکوس دارند که تفاوت در غلظت، مربوط به نحوه اسانس گیری از گیاه و همچنین مواد تشکیل دهنده اسانس گیاه می‌باشد. همچنین یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که میزان وزن خشک قارچ رشد یافته در حضور اسانس‌های گیاهی متفاوت است. رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس در محیط حاوی اسانس‌های نعنا، ریحان و شوید در یک محدوده مشاهده گردید، اما میزان رشد مشاهده شده در حضور اسانس جعفری بیشتر بود. در این پژوهش میزان غلظت اسانس به کار رفته در هر نمونه متفاوت بود و بیشترین غلظت

جدول۵: غلظت‌های اسانس گیاهی بازدارنده رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس.

تیمار	C+	C-	۱ µl/ml	۱/۵ µl/ml	۲ µl/ml	۳ µl/ml	٤ µl/ml
نعنا	+	−	+	⊥	−	−	−
شوید	+	−	+	±	−	−	−
ریحان	+	−	++	+	+	±	−
جعفری	+	−	+++	++	+	+	+

اسانس در گیاه جعفری گزارش گردید. این امر نشان می‌دهد که اثر اسانس جعفری نسبت به سایر اسانس‌های مورد مطالعه کم‌تر می‌باشد.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق جاری نشان داد که اسانس گیاهان به کار رفته دارای اثر ضدقارچی می‌باشند. همچنین به دلیل خوشبو بودن اسانس این گیاهان معطر، می‌توانند به عنوان ممانعت کننده رشد قارچ‌های تولید کننده توکسین در مواد غذایی و محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدر دانی

نویسندگان این مقاله از پرسنل آزمایشگاه بیولوژی مولکولی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل همکاری صمیمانه کمال امتنان را دارند.

References

1. Zeini F, Mahbod ASA, Emami M. Comprehensive Medical Mycology. 2Ed, Tehran University Publication, Tehran. 2004; 147-177.
2. Horn BW, Dorner JW. Regional differences in production of aflatoxin B1 and cy-clopiazonic acid by soil isolation of *A. flavus* along transect within the united states. Appl. Environ. Microbiol. 1999; 65: 1444-1449.
3. Stoloff L. Aflatoxins an overview. Mycotoxin in human and animal health. Park Forest, Illinois: Pathotos Publisher. 1977; 7-28.
4. Bondy GS, Pestka JJ. Immunomodulation by fungal toxins. J. Toxicol. Environ. Health. B-Crit. Rev. 2000; 3(2): 109-143.
5. Wang LY, Hatch M, Chen CJ, Levin B, You SL, Lu SN, Wu MH. Aflatoxin expo-sure and the risk of hepatocellular carcinoma in Taiwan. Int. J. Cancrer. 1996; 67(5): 620-625.
6. Rojhan M. Medicine and herbal treatment. 4th Ed. Tehran Alavi Press. 2000; 20-22.
7. Amin G. Popular medicinal plants of Iran. Iranian Research Institute of Medicinal Plants. Tehran. 1999.
8. Omidbaigi R. Production and processing of medicinal plants. Vol 2. Astan ghodse Razavi Publication, Tehran. 2000; P438.
9. Baratta TM, Dorman DJH, Deans GS, Figueiredo CA, Barroso GJ, Ruberto G. An-timicrobial and antioxidants properties of some commercial oils. Flavour Fragr J. 1998; 13:235-244.
10. Razzaghi Abyaneh M, Shams Ghahfarokhi M, Yoshinari T, Rezaee MB, Jaimand K, Nagasawa H, Sakuda S. Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and afflatoxin pro duction by *Aspergillus parasiticus.* Int. J. Food Microbiol. 2008; 123:228-233.
12. Abrac ML, Bragulat MR, Castella G. Mycoflora and aflatoxin-producing strain in animal mixed feeds. J. Food Protec. 1994; 57(3):256-258.
13 Katta SK, Eskridge KM, Bullerman LB. Mold content of commercial popcorn. J. Food protec. 1995; 58:1014-1017.
14. Bernard CB, Arnason JT, Philogene BJR. Effect of lignans and other secondary metabolites of the *Asterraceae* on the mono oxygenase activity of the European corn borer. Phytochemistry. 1989; 28:1373-1377.
15. Rasooli I, Owlia P. Chemoperventation by Thyme oils of *Aspregillus parasiticus* growth and Aflatoxin production. Phytochemistry. 2005; 66(24):2851-2856.
16. Soleiman KM, Badeo RI. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food Chem. Toxicol. 2002; 40(11):1669-1675.
17. Atanda OO, Akpan I, Oluwafemi F. The potential of some spices essential oils in the control of *Aspergillus parasiticus* CFR223 and aflatoxin production. Food control. 2007; 18(5):601-607.
18. Sidhu OP, Chandra H, Behl HM. Occurance of aflatoxins in mahua *(madhuca in-dica Gmel)* seeds: Synergistic effect of plant extracts on inhibition of *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production.Food Chem. Toxicol. 2009; 47(4):774-777.
19. Sokovic MD, Vukojevic J, Marin PD, Brkic DD, Vajs V, van Griensven JLD. Chemical composition of essen-

tial oils of Thymus and Mentha species and their anti-fungl activities. Molecules. 2009; 14:238-249.

20. Jahanshiri Z, Shams-Ghahfarokhi M, Allameh A, Razzaghi Abyaneh M. Effect of curcumin on *Aspergillus parasiticus* growth and expression major gene involved in the early and late stages of Aflatoxin biosynthesis. Iranian J. Publ. Health. 2012; 41(6):72-79.

Journal of Microbial World
Volume 3, No. 2, June 2010

Evaluation the Antifungal Activity and Chemical Composition of Essential Oils of *Petroselinum crispum, Acimum basilicum, Anethum graveolens, Mentha viridis* on *Aspergillus parasiticus*

Fatemeh Noorbakhsh[1], Sassan Rezaie[2], Marjan Arab[3]

[1]Assistant Professor, Department of Microbiology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
[2]Associat Professor, Department of Mycology & Parasitology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[3]MSc., Department of Plant Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Abstract

Background and objective: In this study, the antifungal effects of the extracted oil of *Petroselinum crispum*, *Acimum basilicum*, *Anethum graveolens*, *Mentha viridis* on *Aspergilus parasiticus* ATCC 15517 was evaluated. Also, the chemical compositions of the vegetables were determined.

Materials and methods: The essential oils were obtained using hydrodestillation of dried plant material. Their compositions and Minimum inhibitory concenteration (MIC) were determined by GC-MS and serial dilution method, respectively.

Results: The main component of the essential oils was detected as follow: Mentha viridis: Benzen bromophenoxy-methyl dimethyl, *Acimum basilicum:* Ethyldecaborane, *Anethum graveolens:* Decarbadecaborane- dimethyl and *Petroselinum crispum:* Methyl anthracene. Minimum Inhibitory concenteration of the essential oils determined by serial dilution method. MIC for *Mentha viridis, Anethum graveolens, Acimum basilicum*, *Petroselinum crispum* were 1.5, 1.5, 3 and 4 µl/ml, respectively. The antifungal power of assayed essential oils was different, depending on their concentration. This effect in Mentha viridis and Anethum graveolens was identical and stronger than two others.

Conclusion: These results indicate that the mentioned essential oils had great antifungal activities and could be used as preservatives and fungicides in food in order to preventing of food pollution.

Keywords: Petroselinum crispum, Acimum basilicum, Anethum graveolens, Mentha viridis , Aspergillus parasiticus.

Correspondence to: Fatemeh Noorbakhsh
E-mail: fatemehnoorbakhsh@iauvaramin.ac.ir
Tel: +989122043654
Journal of Microbial World 2010 3(2): 129-136