

اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر

زهراء ایزدی^۱، سید علی محمد مدرس ثانوی^{۱*}، علی سروش زاده^۱، محمود اثنی عشری^۲، پوراندخت داودی^۲

^۱ گروه زراعت، دانشگاه تربیت مدرس، تهران ایران، ^۲ گروه علوم باگبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، ^۳ گروه بیماری‌های دهان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۲۷ تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۳

چکیده

زمینه و هدف: از اسانس گل‌ها و پیکره رویشی بابونه آلمانی و کبیر در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی استفاده فراوانی می‌شود. هدف این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه و بابونه کبیر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی استخراج اسانس از اندام هوایی دو گیاه بابونه آلمانی و کبیر در مرحله گله‌ی کامل، با روش تقطیر با آب و به کارگیری دستگاه کلونجر انجام شد. جداسازی و شناسایی ترکیب‌های متخلکه اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگراف و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیفسنج چرمی صورت گرفت، سپس با استفاده از تکنیک میکرودالیوشن خاصیت ضد میکروبی اسانس‌های مورد نظر با تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشنندگی علیه تعدادی از میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد. همچنین واکنش مقابل اسانس‌های این گیاهان از طریق محاسبه شاخص بازدارندگی افتراقی علیه میکروارگانیسم‌ها نیز بررسی شد. داده‌ها با آزمون آماری چند دامنه‌ای دانکن تجزیه و تحلیل قرار شدند.

یافته‌ها: حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های بابونه آلمانی و بابونه کبیر به ترتیب در دامنه ۰/۰۹ تا ۰/۰۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. محاسبه شاخص بازدارنده افتراقی اسانس این گیاهان علیه میکروارگانیسم‌های لیستریا مونوسیتوجنز، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس وجود فعالیت سینزیستی و علیه میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم فعالیت افزایشی را اثبات نمود.

نتیجه‌گیری: استفاده همزمان از دو اسانس بابونه آلمانی و کبیر دارای اثرهای بازدارنده قابل توجه بوده و می‌توان در راستای بهینه‌سازی استفاده از اسانس‌ها در کنترل مؤثر میکروارگانیسم‌ها استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: بابونه آلمانی، بابونه کبیر، اثر ضد میکروبی

*نویسنده مسئول: دکترسید علی محمد مدرس ثانوی، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

Email: modaresa@modares.ac.ir

مقدمه

ترکیب‌های موجود در گل‌های بابونه آلمانی اسانس فلاونوئید و کومارین‌ها می‌باشند. اسانس بابونه در صورت وجود کامازولن به رنگ آبی دیده می‌شود. اسانس حاصل از گل‌های بابونه آلمانی دارای خواص ضدغوفنی کننده، آرام بخش، ضد اسپاسم، ضد آرژی و ضد نفخ می‌باشد. همچنین گل‌های آن به دلیل داشتن فلاونوئیدها دارای اثر مرطوب کنندگی و لطیف کنندگی هستند و به همین دلیل در صنایع بهداشتی و آرایشی به صورت گستردگی استفاده می‌شوند(۸ و ۷). مطابق پژوهش‌های انجام شده عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بابونه کبیر را کامفور تشکیل می‌دهد(۱۰). مواد مؤثره این گیاه در کنترل و درمان انواع ناراحتی‌ها مثل سر درد، صدای زنگ در گوش، تب، افزایش ترشح عرق و ادرار، کاهش درد شکم و گزش حشرات استفاده می‌شود(۱۱). تحقیقات اخیر نشان دادند که تمام اعضای گیاه به خصوص برگ و گل‌ها دارای اسانس قوی بوده و شامل؛ نوعی الکل بورنئول، کامفور و انواع ترپین‌ها می‌باشد. ترکیب‌های ترپنی و پارتونوئیدی آن نقش مهمی در درمان میگرن و سرطان به عنوان یک آنتی‌پاتوژن در رفع عفونت‌های باکتریایی، قارچ و آفات را به عهده دارند(۱۲ و ۱۳).

مطالعات قبلی در مورد خواص ضد میکروبی گیاهان خانواده کاسنی نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی متوسط تا قوی این گیاهان است(۱۵ و ۱۶). سحرخیز و همکاران(۲۰۰۸) خاصیت ضد میکروبی

استفاده از گیاه در درمان بیماری‌ها در سال‌های اخیر روند رو به رشدی یافته است. استفاده بی‌رویه از داروهای شیمیایی جهت درمان بیماری‌ها منجر به ظهور ایزوله‌های مقاوم میکروبی شده که هر روزه بر تعداد آن‌ها افزوده می‌شود(۲ و ۱). ظهور سویه‌های مقاوم به داروهای شیمیایی، تلاش برای یافتن عوامل ضد میکروبی جدید را ضروری می‌نماید. گیاهان و ترکیب‌های آن‌ها شامل اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند(۳). این در حالی است که عوارض جانبی این ترکیب‌ها در مقایسه با داروهای شیمیایی کمتر است(۴). مشخص شده است که اغلب اسانس‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارای خواص حشره‌کشی، ضد قارچی، ضد انگل، ضد باکتری، ضد ویروس، آنتی اکسیدانی و سیتو توکسیک می‌باشند(۵). بنابراین اسانس‌های گیاهی در زمینه‌های فارماکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی پزشکی، کلینیکی و فیتوپاتولوژی شدیداً غربالگری شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند(۶).

از جمله گیاهان بومی ایران، می‌توان از گیاهان بابونه آلمانی^(۱) و کبیر^(۲) نام برد. این گیاهان از مهم‌ترین گیاهان دارویی از خانواده کاسنی^(۳) می‌باشند و از گل‌های آنها در صنایع داروسازی، آرایشی-بهداشتی و صنایع غذایی استفاده فراوانی می‌شود(۸ و ۷). بابونه به عنوان ستاره‌ای در میان گیاهان دارویی مطرح بوده و نام این گیاه در فارماکوپه‌های ۲۶ کشور وجود دارد(۹). مهم‌ترین

1-Matricaria Chamomilla L.

2-Tanacetum Parthenium L.

3-Asteraceae

گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی نیز مطالعه شدند.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد. اندام‌های هوایی گیاهان بابونه آلمانی و بابونه کبیر در مرحله گلدهی کامل از رویشگاه طبیعی خود از حوالی همدان جمع‌آوری شدند. نمونه‌های تهیه شده، در هر باریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان تأیید شد و از هر گیاه یک نمونه تأیید شده به ترتیب با شماره‌های ۱۵۲۶۸ و ۱۸۶۲۵ در هریاریوم نگهداری شد. پس از خشک کردن گیاهان در سایه و خرد کردن آن‌ها به قطعات کوچک، از اندام‌های هوایی گیاهان به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت با دستگاه کلونجر اسانس‌گیری به عمل آمد و پس از جداسازی اسانس‌ها از سطح آب، به وسیله سولفات‌سدیم آب‌گیری و در شیشه‌های تپره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند^(۱۸). ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگراف^(۲) و گاز کروماتوگراف متصل به طیفسنج جرمی^(۴) شناسایی شدند.

ابتدا نمونه‌های آماده شده به دستگاه کروماتوگراف گازی تزریق شد و مناسب‌ترین

بابونه کبیر را علیه برخی از باکتری‌ها گزارش نمودند^(۱۶). رانی و همکاران^(۱) اثر ضد میکروبی اسانس بابونه آلمانی را علیه ۳ سوش میکروبی بررسی کردند و اظهار نمودند که این گیاه اثر ضد میکروبی داشته و می‌تواند برای مقابله با میکروب‌های بیماری‌زا خاص مورد استفاده قرار گیرد^(۱۷).

نظر به این‌که گیاهان دارویی در کشور ایران پراکندگی وسیعی دارند، مطالعات روی این گیاهان از نظر خواص ضد میکروبی آنها زمینه مناسبی را فراهم می‌کند که از نتایج این بررسی‌ها جهت جایگزین نمودن داروهایی با منشاء طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های میکروبی استفاده نمود و این امر می‌تواند موجب کاهش مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آن شود. بدین لحاظ انجام تحقیقات به منظور مقایسه اثرات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی ضروری می‌نماید. اثر ضد میکروبی اسانس‌ها به روش‌های مقاومتی مورد بررسی قرار می‌گیرند. تعیین دقیق حداقل غلظت بازدارندگی^(۲) و همچنین بررسی وجود خاصیت سینرژیستی بین اسانس‌ها با استفاده از تکنیک میکرو‌دایلوشن به منظور به حداقل رساندن میزان مصرف این مواد در صنایع دارویی و غذایی و همچنین غلبه بر مقاومت میکروبی مورد توجه می‌باشد. بنابراین در این مطالعه ضمن بررسی دقیق ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر اثر ضد میکروبی اسانس این گیاهان در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، از

1-Rani et al
2- Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
3-GC
4-GC/MS

۳۰۰ درجه سانتیگراد بوده است. دکتور مورد استفاده در دستگاه FID بوده و دمای آن ۲۷۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. برای آنالیز و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیفسنج جرمی از نوع واریان مدل ۳۴۰۰ استفاده شد. شرایط آنالیز و مشخصات این دستگاه به صورت؛ ستون ۵ DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۲۵/۰ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۲۵/۰ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه ریزی ستون در دستگاه گاز کروماتوگراف بود، فقط دمای نهایی ستون تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد بالا برده شد. دمای محفظه تزریق در ۲۶۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

در این مطالعه از شش سوش باکتریایی لیستریا مونوسیتوجنز (ATCC 7644)، باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6051)، باسیلوس سرئوس (ATCC1247)، اسکافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، اشرشیاکلی (ATCC 8739) و سالمونلا (ATCC 14028) استفاده شد.

1-Retention Index (RI)
2-Wiley
3 -Labsolution

برنامه‌ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس به دست آمد. درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده هر نمونه اسانس محاسبه شد. سری آلانهای نرمال C₈-C₂₈ نیز تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس، برای محاسبه شاخص بازداری^(۱) اجزای اسانس به دستگاه تزریق شد. شاخص بازداری اجزای نمونه با استفاده از برنامه رایانه‌ای محاسبه شد. سپس اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌نگار جرمی نیز تزریق شده و طیف جرمی ترکیبات به دست آمد. در نهایت اجزای اسانس با استفاده از مقایسه طیف‌های جرمی به دست آمده با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه الکترونیک ویلی^(۲) ۲۰۰۰ موجود در نرم‌افزار لابسولوشن^(۲) دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیفسنج جرمی و محاسبه شاخص بازداری استاندارد سری آلانهای C₈-C₂₈ و مقایسه آنها با اعداد استاندارد موجود در مراجع شناسایی شدند.^(۳)

در این تحقیق از گاز کروماتوگراف شیمادزو مدل ۹A مجهز به ستون ۵ DB-5 به طول ۲۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد، استفاده شد، که در آن از گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ به عنوان فاز متحرک استفاده شد. برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ درجه سانتیگراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۴ درجه افزایش یافته تا به ۲۱۰ درجه سانتیگراد رسید. دمای محفظه تزریق

به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی^(۲)

اسانس‌ها نیز میزان ۵ میکرولیتر از چاهک‌هایی که رشد باکتری در آنها کاملاً متوقف شده بود، به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شد و به مدت ۲۲-۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه نگهداری شدند. غلظت‌هایی که قادر رشد باکتری بودند، به عنوان مقادیر حداقل غلظت کشندگی گزارش شدند(۲۱).

فعالیت ضد میکروبی مخلوط اسانس‌های

بابونه آلمانی و بابونه کبیر به صورت ترکیب با یکدیگر بر اساس محاسبه شاخص یا غلظت بازدارنده افتراقی^(۲) با استفاده از فرمول مربوطه تعیین شدند(۲۲).

مقادیر کوچکتر از ۰/۹ غلظت بازدارنده افتراقی نشان دهنده اثر سینتریستی، مقادیر ما بین ۰/۹ تا ۱/۱ موید اثر افزایشی و مقادیر بیشتر از ۱/۱ ناشی از وجود اثر آنتاگونیستی بین این دو اسانس در نظر گرفته شد(۲۲).

تمام آزمایش‌ها به صورت تصادفی با سه تکرار انجام شدند و میانگین داده‌های به دست آمده به عنوان نتایج تعیین حداقل غلظت بازدارنده و کشندگی ارایه شد. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد(۲۴).

1-Dimethyle Sulfoxide(DMSO)
2-Minimum Bactericidal Concentration(MBC)
3 -Fractional Inhibitory Concentration (FIC)

به منظور تعیین مقادیر حداقل غلظت

بازدارنده از نژادهای باکتری‌های پاتوژن یاد شده یک کشت ۱۸-۲۴ ساعته(کشت شبانه) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در محیط مولر هینتون براث (MHB,Oxoid) تهیه شد. محلول‌های استوک از اسانس‌ها و مواد استاندارد ضد میکروب که در این آزمایش آنتی‌بیوتیک کلاموفنیکل و اسید آلی آسکوربیک اسید بودند در دی‌متیل سولفوکساید^(۱) تهیه شدند(۲۱). سریال‌های رقت با استفاده از محیط کشت مولر هینتون براث از ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تا ۰/۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شدند و ۷۰ میکرولیتر از آن‌ها به پلیت‌های میکروتیتر ۹۶ خانه‌ای که قبلاً حاوی ۷۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث بودند اضافه شدند. بعد ۷۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌ای معادل استاندارد ۰/۵ مکفارلنکه حاوی ۱۰^۸ باکتری در هر میلی‌لیتر بود، به پلیت‌های میکروتیتر اضافه گشت. در مجموع این آزمایش با حجم ۲۱۰ میکرولیتر در هر چاهک انجام شد. آزمایش‌های مشابه برای کنترل مثبت شامل مولر هینتون براث، دی‌متیل سولفوکساید و باکتری تحت تیمار و کنترل منفی شامل مولر هینتون براث، دی‌متیل سولفوکساید و اسانس مورد آزمایش بود. نمونه‌ها به مدت ۲۲-۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه نگهداری شدند. اولین چاهک بدون کورت به عنوان حداقل غلظت بازدارنده به صورت میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد(۲۲).

آزمایش اختلاف قابل توجهی از نظر خاصیت ضد میکروبی وجود دارد. حداقل غلظت بازدارندگی علیه باکتری‌های مورد بررسی برای بابونه آلمانی بین ۰/۲۲ تا ۴ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر و برای اسانس بابونه کبیر ۰/۰۹ تا ۱ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر به دست آمد(جدول ۱). حداقل غلظت کشنده‌گی علیه باکتری‌های مورد بررسی برای اسانس بابونه آلمانی مشابه مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی ۰/۲۲ تا ۴ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر و برای اسانس بابونه کبیر به غیر از باکتری‌های اشرشیاکلی و سالمونلاتیفی موریم که به ترتیب ۱ و ۲ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر بود، مقادیر حداقل غلظت کشنده‌گی بقیه میکروارگانیسم‌ها مشابه حداقل غلظت بازدارندگی اسانس این گیاه محاسبه شد. از میان میکروارگانیسم‌های مورد بررسی باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و سالمونولا تیفی موریوم مقاوم‌تر از سایر میکروارگانیسم‌ها بودند. قوی‌ترین خاصیت ضد میکروبی در میکروارگانیسم‌های لیستریا مونوسیتوجنز، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس مشاهده شد. براساس نتایج فوق خاصیت ضد میکروبی اسانس بابونه کبیر علیه تمام باکتری‌های مورد بررسی مؤثرتر از اسانس بابونه آلمانی بود. همچنین نتایج تعیین مقادیر غلظت بازدارندگی افتراقی اسانس‌های فوق نشان داد که استفاده ترکیبی اسانس‌های این دو گیاه علیه برخی

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS^(۱) و آزمون آماری چند دامنه‌ای دان肯^(۲) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصله نشان داد، اسانس گیاه بابونه آلمانی دارای ۲۶ ترکیب بود که در مجموع ۹۷/۲۹ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. آلفا بیزابولون اکسید آ (۲۲/۱۴ درصد)، آلفا بیزابولون اکسید آ (۴۴/۱۸ درصد)، کامازولن (۹/۹۶ درصد) از مهم‌ترین ترکیب‌های اصلی اسانس بابونه آلمانی بودند و بتافارنزن (۵/۶۴ درصد)، آلفافارنزن (۴/۴۲ درصد) و جرم‌اکرن دی (۳/۴۰ درصد) از نظر درصد ترکیب‌های بعدی را تشکیل می‌دهند. اسانس حاصل از گیاه بابونه کبیر نیز دارای ۳۵ ترکیب بود که در مجموع ۹۵/۸ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در میان ترکیب‌های شناسایی شده کامفور (۴۵/۰۱ درصد)، کریزانتنیل استات (۲۱/۵۴ درصد) و کامفن (۶/۶۶ درصد) به ترتیب از اجزای اصلی اسانس بودند. سه ترکیب پارا-سیمن، آلفا-پین و بورنیل استات نیز به ترتیب با مقادیر ۱۵/۰۴، ۵۵/۳ و ۸۸/۲ درصد در مقایسه با سایر ترکیب‌های از مقادیر قابل توجهی برخوردار بودند.

نتایج حاصل از فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهان بر اساس تکنیک براث میکرودایلوشن نشان داد که بین اسانس‌های مورد

۱-Statistical Package for Social Sciences
2-Duncan's Multiple Range Test

بحث

بابونه آلمانی و بابونه کبیر از قدیمی‌ترین و پر مصرف‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده در جهان و از محدود گیاهانی هستند که جنبه صنعتی پیدا کرده‌اند و از لحاظ صنعتی- دارویی، سرشاخه‌های گل دار آنها مورد توجه می‌باشد (۸). هدف این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه و بابونه کبیر بود.

میکروارگانیسم‌ها خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به کاربرد انفرادی هر اسانس به تنها یی دارد، به طوری که مقادیر غلظت بازدارندگی افتراقی این بررسی نشان داد که در باکتری‌های لیستریا مونوسیتوجنز، پاسیلوس سرئوس و پاسیلوس سوبتیلیس بین این دو اسانس خاصیت سینرژیستی و در باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکل و سالمونلا تیفی موریوم اثر افزایشی وجود دارد. در این آزمایش بین اسانس‌ها حالت آنتاگونیستی مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف میانگین فعالیت ضد میکروبی و بر هم کنترل اسانس‌های بابونه آلمانی و بابونه کبیر

متغیر	اسانس بابونه آلمانی؛ حداقل غلظت بازدارندگی (میلی‌گرم بر لیتر) قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	اسانس بابونه کبیر؛ حداقل غلظت بازدارندگی (میلی‌گرم بر لیتر) قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	حداقل غلظت بازدارندگی کلارامفینیکل (میلی‌گرم بر لیتر)	حداقل غلظت بازدارندگی اسید‌اسکوربیک (میلی‌گرم بر لیتر)	حداقل غلظت بازدارندگی ترکیبی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)؛ بابونه آلمانی بابونه کبیر غلظت بازدارندگی افتراقی بابونه آلمانی (میلی‌گرم بر لیتر) غلظت بازدارندگی افتراقی بابونه کبیر (میلی‌گرم بر لیتر) شاخص غلظت بازدارندگی افتراقی *
لیستریا	باکتری	پاسیلوس سرئوس	پاسیلوس	استافیلوکوکوس اورئوس	سالمونلا تیفی موریوم
۰/۵۵ ^b	۰/۲۲ ^b	۰/۲۵ ^b	۰/۶۵ ^b	۱۳/۱±۰/۴	۷/۳±۰/۰
۲۴/۳±۰/۴	۲۸/۷±۰/۳	۲۸/۷±۰/۳	۲۱/۴±۱/۴	۲۷/۲±۱/۲	۰/۲۵ ^a
۰/۱۴ ^c	۰/۰۹ ^c	۰/۱۲ ^c	۰/۳۵ ^c	۰/۵۰ ^c	۱ ^b
۲۸/۲±۱/۲	۲۶/۳±۱/۰	۲۰/۴±۱/۰	۲۳/۲±۰/۶	۱۵/۴±۰/۷	۹/۲±۱/۲
۰/۱۵ ^c	۰/۰۷ ^c	۰/۱۱ ^c	۰/۱۸ ^d	۰/۲۲ ^d	۰/۲۵ ^c
۱/۵ ^a	۱/۵ ^a	۱/۵ ^a	۱/۵ ^a	۰/۲۵ ^b	۳/۳ ^a
۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۲۵	۱	۴ ^a
۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۲۰	۰/۲۵	۰/۵۰
۰/۳۰	۰/۳۵	۰/۵۶	۰/۳۸	۰/۵۰	۰/۵۰
۰/۳۵	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۵۷	۰/۵۰	۰/۵۰
۰/۶۵	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۵	۱	۱

a,b,c : در هرستون میانگین‌های حداقل غلظت بازدارندگی که دارای حروف مشترک هستند بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

*شاخص غلظت بازدارندگی افتراقی: کمتر از ۰/۹ نشان‌دهنده اثر سینرژیستی، مابین ۰/۹ تا ۱/۱ نشان‌دهنده اثر افزایشی و بیشتر از ۱/۱ نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی می‌باشد.

کبیر بر حسب نوع واریته، مرحله رشد یا زمان جمع‌آوری گیاه و شرایط آب و هوایی رویشگاه متفاوت می‌باشد. به نظر می‌رسد، نوسان‌های شدید نوع و میزان ترکیب‌های موجود در انسان این گیاهان ناشی از تفاوت‌های اکولوژیک مانند؛ طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک بوده و شرایط متفاوت اقلیمی و ادفکی، مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثره را در این گیاهان تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شود.

نتایج بررسی اثرهای ضد میکروبی انسان اندام هوایی بابونه کبیر نشان داد که انسان این گیاه بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوكوکوس اورئوس و استافیلوكوکوس اپیدرمیدیس، باکتری‌های گرم منفی شیگلا فلکسنری، کلبسیلا پنومونیه و سوش‌های اشرشیاکی و تمام قارچ‌های مورد مطالعه دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی است. در مورد باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و سالمونولا تیفیموریوم اثر ضد میکروبی این گیاه قابل توجه نمی‌باشد(۲۸). بر اساس بررسی منابع خواص ضد میکروبی انسان‌های روغزی و عصاره گیاهان دارویی بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است(۲۹). به طور مثال کاپادیا و تالیب^(۱)(۲۰۰۰) اثر ضد میکروبی انسان بابونه بر ۶ باکتری گرم مثبت و گرم منفی را بررسی کرده و از

نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات موجود در انسان گیاهان بابونه آلمانی و کبیر منطقه همدان با ترکیبات موجود در انسان برخی از بابونه‌های خودروی ایران تفاوت دارد، به طوری که به استثناء بابونه برازجان، بقیه بابونه‌های خودروی ایران مانند بابونه شیراز، دماوند، رودهن و چالوس فاقد کامازولن بودند(۲۴). بررسی میزان آلفا بیزابولول اکسید در دشت‌های مرکزی و جنوب ایران نشان داد که نمونه‌های مربوط به منطقه بامیدان در استان کهگیلویه و بویراحمد و نورآباد در استان فارس بیشترین مقدار آلفا بیزابولول اکسید را دارند. کمترین میزان این ترکیب مربوط به نمونه‌های مناطق مرکزی همچون اصفهان و تهران بود(۲۵).

کیت و کیفیت مواد تشکیل دهنده انسان بابونه کبیر رویش یافته در منطقه همدان نیز با موارد گزارش شده از آلمان و ایتالیا تفاوت دارد، به طوری که در مناطق ورزبورگ آلمان و ریوا دل گاردا ایتالیا ترکیب ۱،۸-سینئول به عنوان اصلی‌ترین ترکیب و آلفا-پین و کامفور در آلمان و ایتالیا به عنوان دومین و سومین ترکیب‌های عمدۀ شناخته شدند و ترکیب‌های کریزانتیل استات و کامفن در انسان یافت نشد(۲۶ و ۲۷). همچنین تحقیق انجام شده به وسیله سحرخیز و همکاران(۲۰۰۸) در منطقه تهران شباهت‌هایی از لحاظ نوع ترکیب‌های اصلی تشکیل دهنده این گیاه و تفاوت‌هایی از لحاظ درصد این ترکیب‌ها نشان داد(۱۶). بنابراین می‌توان اذعان داشت که ترکیب‌های شیمیایی انسان بابونه آلمانی و بابونه

صورت ناتوانی سیستم آنژیمی باکتریایی بروز می‌کند(۲۲). برخی از محققین ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزای غالب موجود در اسانس‌ها را با فعالیت ضد میکروبی آن‌ها گزارش نمودند. اسانس‌هایی که دارای ترکیب‌های کریزانتنیل است، پار-سیمن و آلفا بیزابولول اکسید هستند، خاصیت ضد میکروبی شدید آنها گزارش شده است(۳۳). اگرچه بروز فعالیت ضد میکروبی اغلب بسیار واضح است، ولی مکانیزم عمل آن به طور کامل درک نشده است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اسانس‌ها اثر ضد میکروبی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشاء‌ی سلولی اعمال می‌کنند. بررسی‌های صورت گرفته در خصوص مکانیزم عمل اسانس‌ها اثبات نموده که این ترکیب‌ها نفوذپذیری غشاء را افزایش می‌دهند. اجزای اسانس با نفوذ در غشاء منجر به متورم شدن غشاء شده و فعالیت آن را کاهش می‌دهد و در نهایت منجر به مرگ سلول خواهد شد (۳۴).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که گیاهان بابونه آلمانی و کبیر دارای فعالیت ضد میکروبی قابل توجه بوده و قابلیت استفاده در صنایع دارویی را دارند. این مشاهدها همچنین مشخص نمود که اسانس بابونه کبیر نسبت به اسانس بابونه آلمانی خاصیت ضد میکروبی قوی‌تری علیه باکتری‌های مورد آزمایش

آنتی‌بیوتیک‌های جنتامايسین، اریترومايسین و کلامفینیکل به عنوان شاهد مثبت استفاده کردند. بررسی‌های آنان نشان داد که اسانس این گیاه بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باکتری‌های گرم منفی سراشیا مارسنس و اشرشیاکلی دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی در مقایسه با جنتامايسین بود، در حالی که در مقایسه با اریترومايسین و کلامفینیکل اثرات بسیار ضعیفی داشت(۳۱). در تحقیق دیگری، اثر ضد میکروبی عصاره الکلی و کلروفرمی بابونه باعث مهار اشرشیاکلی و لیستریا مونوسینوچنر شد (۳۱). فابری و همکاران^(۳۲) (۲۰۰۷) اثر عصاره متابولی را بر باکتری باسیلوس سرئوس مشاهده نمودند (۳۲).

براساس تحقیقات انجام شده باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس‌ها حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی هستند. به دلیل وجود غشاء‌های خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی منطقی به نظر می‌رسد که این باکتری‌ها در برابر اثر ضد باکتریایی اسانس‌ها حساسیت کمتری از خود نشان دهند. این غشاء خارجی انتشار مواد هیدروفوب از میان این لایه پوشاننده لیپوپلی‌ساکاریدی را محدود می‌کند. در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیب‌های هیدروفوب اسانس‌ها با این فسفولیپید دولایه‌ای صورت می‌گیرد. این محل جای است که این ترکیب‌ها اثر خود را بر جای می‌گذارند. این اثر یا به صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و یا نشت ترکیب‌های حیاتی سلولی رخ می‌دهد و یا این که به

دارد. بسیاری از داروهای گیاهی اثر سودمند خود را به صورت سینرژیستی یا افزایشی بر یک یا چند محل هدف نشان می‌دهند. این نتایج همچنین مبنای علمی اثر ضد میکروبی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی به خصوص استفاده همزمان دو گیاه را نشان داد. بر اساس این نتایج می‌توان ترکیب نمودن اسانس بابونه آلمانی و بابونه کبیر به صورت همزمان که علیه باکتری‌های گرم مثبت لیستریا مونوسینوجنز، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس که خاصیت سینرژیستی، دارند را توصیه نمود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد. از همکاری بهمن شریفی از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان و یلدا محمدی تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES:

- 1.Daferera D, Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *J Ethnopharmacol* 2001; 74: 221-6.
- 2.Omidbaigi R. Production and Processing of Medicinal Plants. Mashhad 2007; 37-40.
- 3.Tepe B, Donmaz E, Unlu M, Candan F, Vadar-Unlu G. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia multicaulis*. *Food Chem* 2004; 84: 519-25.
- 4.Kotze M, Eloff JN. Extraction of antibacterial compound from *combretem microphllum*. *S Afr J Bot* 2002; 68: 62-7.
- 5.Kordali S, Kotan R, Mavi A, Cakir A, Ala A. Yildirim A. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and the antifungal and antibacterial activities of *Artemisia absinthium* and *Artemisia spicigera* essential oils. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 9452-8.
- 6.Deferera DJ, Ziogas BN, Polission MG. GC/MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxity on *Penicillium digitatum*. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 2576-81.
- 7.Salamon I. Effect of the internal and external factors on yield and qualitative-quantitative characteristics of chamomile essential oil. *J Sci Ind Res* 2007; 99: 132-9.
- 8.Franze C, Hoelzel J, Voemel A. Preliminary morphological and chemical characterization of some population and varieties of *Matricaria chamomila* L. *Acta Hortic* 2011 2; 379-85.
- 9.Askin H, Tepe B, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M. Composition of the essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* and *Matricaria chamomile* from Turkey. *Biochem Syst Ecol* 2005; 33: 511-6.
- 10.Tuman TS, Nakamura TU, Nakamura CV. Antileshmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from *T. parthenium*. *J Antimicrob Agent Chemother* 2005; 49: 176-82.
- 11.Goren N, Demirci B, Baser KHC. Composition of the essential oils of *Tanacetum* spp. from Turkey. *Flavour Fragr J* 2002; 16: 191-4.
- 12.Jain NK, Kulkarni SK. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Tanacetum parthenium* L. extract in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 2001; 68: 251-9.
- 13.Nascimento G, Locatell J, Freitas C. Antibacterial activity of plant extract and phytochemical on antibiotic resistant bacteria. *Braz J Microbiol* 2000; 31(2): 347-51.
- 14.Polatoglu K, Demirci F, Demirci B. Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. essential oils from Turkey. *J Oleo Sci* 2010; 59(4): 177-84.
- 15.Arabasi D, Bayram E. The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of (*Tanacetum parthenium* L.). *J Essential Oil Res* 2005; 7(1): 203-5.
- 16.Saharkhiz M, Sattari M, Goodarzi GH, Omidbaigi R. Assessment of antibacterial properties of *Tanacetum parthenium* L. essential oil. *J Med Aromatic Plants* 2008; 24(1): 47-55.
- 17.Rani M, Ozguven M, Kirici A. The effects of some Herb's essential oils on some microbes. *J Med Plants* 2011; 6(20): 3525-9.
- 18.European pharmacopoeia. 1th ed. London: Sainte Ruffine; 1983; 4392.
- 19.Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy. 1th ed. Paris: Illinois Allured Publication; 2001; 400-51.
- 20.Chevallier A. The encyclopedia of medicinal plants. 4th ed. London: WB Saunders; 2005: 33-41.
- 21.Demirci F, Guven K, Demirci B, Dadandi MY, Baser KHC. Antibacterial activity of two *Phlomis* essential oils against food pathogens. *Food Control* 2008; 19: 1159-64.
- 22.Sandari IG, Zacaria J, Fracaro F, Keville K, Marilena C. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Culina* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chem* 2007; 103: 823-8.
- 23.Santiesebar-Lopez A, Palou E, Lopez-Malo A. Susceptibility of food-borne bacteria to binary combination of antimicrobials at selected aw and pH. *J Appl Microbiol* 2007; 102: 486-97.
- 24.Eloff JN. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *J Antimicrob Chemother* 2000; 44(1): 1457-63.
- 25.Omidbagi R. Study on chemotypes of Iranian wild grown chamomile and its comparison with improved types. *J Modarres Agric Sci* 1999; 1: 45-53.

- 26.Ghanavati M, Hushmand S, Zeinali H, Ebrahimpour F. Chemical composition of the essential oils of *Matricaria recutita* L. belonging to central and south parts of Iran. J Med Plants 2010; 34: 102-8.
- 27.Kalodera A, Bohn KH, Schultze W. The essential oil of *Tanacetum parthenium* L. Planta Med 2006; 55(6): 489-93.
- 28.Salamci E, Kordali R, Kotan A. Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Germany *Tanacetum parthenium* L. Biochem System Ecol 2007; 35(3): 569-81.
- 29.Dorman H, Deans SG. Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol 2001; 88(8): 308-16.
- 30.Perez C, Anesini C. In vitro antibacterial activity of Argentinian folk medicinal plants against some microbes. J Ethnopharmacol 1994; 44: 41-6.
- 31.Kapadia L, Talib B. Antibacterial activity of the essential oil of (*Matricaria chamomilla* L.). J Sci Res 2000; 85(5): 116-20.
- 32.Imelouane B, Elbachiri A, Benzeid S. Physico-Chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of *Matricaria chamomilla* L. Int J Agric Biol 2009; 11(4): 113-8.
- 33.Fabry W, Hames E, Locatell J. Antimicrobial activities of methanol extracts of *Matricaria chamomilla*, depending on location and seasonal variation. Food Chem 2007; 100: 559-64.
- 34.Bezic N, Skobibunic V. Composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* L. essential oil. J Ethnopharmacol 2002; 74(1): 123-34.
- 35.Holly RA, Patal D. Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Chem 2005; 22: 273-92.

Archive of SID

Antimicrobial activity of chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) and feverfew (*Tanacetum parthenium L.*)

Izadi Z¹, Modarres Sanavi SAM^{1*}, Sorooshzadeh A¹, Esna-Ashari², Davoodi P³

¹ Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, ² Department of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Hamedan, Iran, ³Department of Oval Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

Received: 23 Jun 2012 Accepted: 17 Sep 2012

Abstract

Background & aim: The essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) and feverfew (*Tanacetum parthenium L.*) are frequently used in pharmaceutical and cosmetic industries. The aim of this study was to investigate the antimicrobial effect of the essential oils of chamomile and chamomile and feverfew.

Methods: This experimental study was conducted in 2012 at Hamedan University of Medical Sciences. Essential oils of two medicinal plants species including chamomile and feverfew were obtained by hydrodistillation; their constituents were analyzed by GC and GC/MS using retention indices and fragmentation patterns. The antimicrobial effects (MIC and MBC) of the essential oils were assessed on a number of microorganisms including gram positive and gram negative bacteria by microdilution technique. The interaction of plant essential oils against microorganisms through differential inhibition index was also evaluated. Data were analyzed by Duncan's multiple range test statistic

Results: The minimum inhibitory concentrations of the oils were 0.22-4 and 0.09-1 mg/ml for chamomile and feverfew respectively. Moreover, the combination of the plants essential oils confirmed synergistic against *L. monocytogenes*, *B. subtilis* and *B. cereus* and additive activities against *S. aureus*, *E. coli* and *S. typhimorium*.

Conclusion: The results of this study showed that the application of these essential oils is recommended in combination as an efficient and complementary method for controlling microorganisms.

Key words: Chamomile, Feverfew, Antimicrobial Effect

*Corresponding Author: **Modarres Sanavi SAM**, Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: modaresa@modares.ac.ir