

اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر

زهرا ایزدی^۱، سید علی محمد مدرس ثانوی^{۱*}، علی سروش زاده^۱، محمود اثنی عشری^۲، پوران دخت داودی^۳

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

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

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 گلدهی کامل، با روش تقطیر با آب و به کارگیری دستگاه کلونجر انجام شد. جداسازی و شناسایی ترکیب‌های متشکله اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگراف و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی صورت گرفت، سپس با استفاده از تکنیک میکروداپلوشن خاصیت ضد میکروبی اسانس‌های مورد نظر با تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی علیه تعدادی از میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد. همچنین واکنش متقابل 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 ۰/۲۲ تا ۴ و ۰/۰۹ تا ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. محاسبه شاخص بازدارنده افتراقی اسانس این گیاهان علیه میکروارگانیسم‌های لیستریا مونوسیتوجنز، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس وجود فعالیت سینرژیستی 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: دکتر سید 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 ضد عفونی کننده، آرام بخش، ضد اسپاسم، ضد آلرژی 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 گسترده‌ای استفاده می‌شوند (۷ و ۸). 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 ترپن‌ها می‌باشد. ترکیب‌های ترپنی و پارتنوئیدی 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 (۱۴ و ۱۵). 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، آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک 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 (۷ و ۸). 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 بارיום مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان تأیید شد و از هر گیاه یک نمونه تأیید شده به ترتیب با شماره‌های ۱۵۲۶۸ و ۱۸۶۳۵ در هر بارיום 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 سولفات سدیم آب‌گیری و در شیشه‌های تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۸). ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگراف^(۳) 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) (۲۰۱۱) 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 بیماری‌زای 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 منشأ 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 متفاوتی مورد بررسی قرار می‌گیرند. تعیین دقیق حداقل غلظت بازدارندگی^(۲) و همچنین بررسی وجود خاصیت سینرژیستی بین اسانس‌ها با استفاده از تکنیک میکرودايلوشن 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

برنامه‌ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس به دست آمد. درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده هر نمونه اسانس محاسبه شد. سری آلکان‌های نرمال $C_{18}-C_{28}$ 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^(۳) دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی و محاسبه شاخص بازداری استاندارد سری آلکان‌های $C_{18}-C_{28}$ و مقایسه آنها با اعداد استاندارد موجود در مراجع شناسایی شدند (۲۰ و ۱۹).

در این تحقیق از گاز کروماتوگراف شیمادزو مدل 9A مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ 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

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 DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ 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 سوس باکتریایی لیستریا مونوسیتوجنز (ATCC 7644)، باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6051)، باسیلوس سرئوس (ATCC1247)، اسیتوفیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، اشرشیاکلی (ATCC 8739) و سالمونلا تیفی‌موریوم (ATCC 14028) استفاده شد.

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

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 فاقد 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^(۳) با استفاده از فرمول مربوطه تعیین شدند(۲۳).

مقادیر کوچکتر از ۰/۹ غلظت بازدارنده افتراقی نشان دهنده اثر سینرژیستی، 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(۲۳).

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

به منظور تعیین مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی از نژادهای باکتری‌های پاتوژن یاد شده یک کشت ۲۴-۱۸ ساعته (کشت شبانه) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در محیط مولر هینتون برات (MHB, Oxoid) تهیه شد. محلول‌های استوک از اسانس‌ها و مواد استاندارد ضد میکروب که در این آزمایش آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و اسید آلی آسکوربیک اسید بودند در دی‌میتیل سولفوکساید^(۱) تهیه شدند(۲۱). سریال‌های رقت با استفاده از محیط کشت مولر هینتون برات از ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تا ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شدند و ۷۰ میکرولیتر از آنها به پلیت‌های میکروتیتر ۹۶ خانه‌ای که قبلاً حاوی ۷۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون برات بودند اضافه شدند. بعد ۷۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند که حاوی 10^8 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 برات، دی‌میتیل سولفوکساید و باکتری تحت تیمار و کنترل منفی شامل مولر هینتون برات، دی‌میتیل سولفوکساید و اسانس مورد آزمایش بود. نمونه‌ها به مدت ۲۴-۲۲ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرم‌خانه نگهداری شدند. اولین چاهک بدون کدورت به عنوان حداقل غلظت بازدارنده به صورت میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد(۲۲).

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

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

یافته‌ها

نتایج حاصله نشان داد، اسانس گیاه بابونه آلمانی دارای ۳۶ ترکیب بود که در مجموع ۹۷/۲۹ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. آلفا بیزابولول اکسید (۴۴/۱۸ درصد)، آلفا بیزابولون اکسید آ (۲۲/۱۴ درصد) و کامازولن (۹/۹۶ درصد) از مهم‌ترین ترکیب‌های اصلی اسانس بابونه آلمانی بودند و بتافارنزن (۵/۶۴ درصد)، آلفافارنزن (۵/۴۲ 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 ترکیبات شناسایی شده کامفور (۴۵/۰۱ درصد)، کریزانتنیل استات (۲۱/۵۴ درصد) و کامفن (۹/۶۶ درصد) به ترتیب از اجزای اصلی اسانس بودند. سه ترکیب پارا-سین، آلفا-پینن و بورنیل استات نیز به ترتیب با مقادیر ۴/۱۵، ۳/۵۵ و ۲/۸۸ درصد در مقایسه با سایر ترکیبات از مقادیر قابل توجهی برخوردار بودند.

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

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 کشندگی 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 سالمونلاتیفی‌موریم که به ترتیب ۱ و ۲ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر بود، مقادیر حداقل غلظت کشندگی بقیه میکروارگانسیم‌ها مشابه حداقل غلظت بازدارندگی اسانس این گیاه محاسبه شد. از میان میکروارگانسیم‌های مورد بررسی باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم مقاوم‌تر از سایر میکروارگانسیم‌ها بودند. قوی‌ترین خاصیت ضد میکروبی در میکروارگانسیم‌های 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

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

بحث

بابونه آلمانی و بابونه کبیر از قدیمی ترین و پر مصرف ترین گیاهان دارویی شناخته شده در جهان و از معدود گیاهانی هستند که جنبه صنعتی پیدا کرده اند و از لحاظ صنعتی- دارویی، سرشاخه های گل دار آنها مورد توجه می باشد (۸). هدف این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه و بابونه کبیر بود.

میکروارگانسیمها خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به کاربرد انفرادی هر اسانس به تنهایی دارد، به طوری که مقادیر غلظت بازدارندگی افتراقی این بررسی نشان داد که در باکتری های لیستریا مونوسیتوجنز، باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس بین این دو اسانس خاصیت سینرژیستی و در باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی 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 معیار فعالیت ضد میکروبی و بر هم کنش اسانس های بابونه آلمانی و بابونه کبیر

متغیر	باکتری	لیستریا مونوسیتوجنز	باسیلوس سوبتیلیس	باسیلوس سرئوس	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکلی	سالمونلا تیفی موریوم
اسانس بابونه آلمانی؛							
حداقل غلظت بازدارندگی (میلی گرم بر لیتر)	۰/۵۵ ^b	۰/۲۲ ^b	۰/۲۵ ^b	۰/۶۵ ^b	۲/۱±۰/۴	۳ ^b	۴ ^a
قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	۲۴/۳±۰/۴	۲۸/۷±۰/۳	۲۱/۴±۱/۴	۲۷/۲±۱/۲	۱۳/۱±۰/۴	۷/۲±۰/۰	
اسانس بابونه کبیر؛							
حداقل غلظت بازدارندگی (میلی گرم بر لیتر)	۰/۱۴ ^c	۰/۰۹ ^c	۰/۱۲ ^c	۰/۳۵ ^c	۰/۵۰ ^c	۱ ^b	۹/۲±۱/۲
قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	۲۸/۲±۱/۲	۲۶/۳±۱/۰	۲۰/۴±۱/۰	۳۳/۲±۰/۶	۱۵/۴±۰/۷	۳/۳ ^a	۳/۳ ^a
حداقل غلظت بازدارندگی کلرامفنیکل (میلی گرم بر لیتر)	۰/۱۵ ^c	۰/۰۷ ^c	۰/۱۱ ^c	۰/۱۸ ^d	۰/۲۲ ^d	۰/۲۵ ^c	۰/۲۵ ^c
حداقل غلظت بازدارندگی اسیدآسکوربیک (میلی گرم بر لیتر)	۱/۵ ^a	۱/۵ ^a	۱/۵ ^a	۱/۵ ^a	۱/۵ ^a	۳/۳ ^a	۳/۳ ^a
حداقل غلظت بازدارندگی ترکیبی (میلی گرم بر میلی لیتر)؛							
بابونه آلمانی	۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۲۵	۰/۲۵	۱	۲
بابونه کبیر	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۲۰	۰/۲۵	۰/۵۰	۰/۵۰
غلظت بازدارندگی افتراقی بابونه آلمانی (میلی گرم بر لیتر)	۰/۳۰	۰/۵۴	۰/۵۶	۰/۳۸	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
غلظت بازدارندگی افتراقی بابونه کبیر (میلی گرم بر لیتر)	۰/۳۵	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۵۷	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
شاخص غلظت بازدارندگی افتراقی*	۰/۶۵	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۵	۰/۹۵	۱	۱

a, b, c: در هر ستون میانگین های حداقل غلظت بازدارندگی که دارای حروف مشترک هستند بر مبنای آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۱ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

* شاخص غلظت بازدارندگی افتراقی: کمتر از ۰/۹ نشان دهنده اثر سینرژیستی، مابین ۰/۹ تا ۱/۱ نشان دهنده اثر افزایشی و بیشتر از ۱/۱ نشان دهنده اثر آنتاگونیستی می باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات موجود در اسانس گیاهان بابونه آلمانی و کبیر منطقه همدان با ترکیبات موجود در اسانس 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 بابامیدان 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).

کمیت و کیفیت مواد تشکیل دهنده اسانس 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- سینثول به عنوان اصلی‌ترین ترکیب و آلفا- پینن و کامفور در آلمان و ایتالیا به عنوان دومین و سومین ترکیب‌های عمده شناخته شدند و ترکیب‌های کریزانتینیل استات و کامفن در اسانس 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 اسانس بابونه آلمانی و بابونه

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 اسانس این گیاهان ناشی از تفاوت‌های اکولوژیک مانند؛ طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک بوده و شرایط متفاوت اقلیمی و اداپتیکی، 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 اسانس اندام هوایی بابونه کبیر نشان داد که اسانس این گیاه بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باکتری‌های گرم منفی شیگلا فلکسنری، کلبسیلا پنومونیه و سوش‌های اشرشیاکلی و تمام قارچ‌های مورد مطالعه دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی است. در مورد باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و سالمونلا تیفی‌موریوم اثر ضد میکروبی این گیاه قابل توجه نمی‌باشد (۲۸). بر اساس بررسی منابع خواص ضد میکروبی اسانس‌های روغنی و عصاره گیاهان دارویی بر میکروارگانسیم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است (۲۹). به طور مثال کاپادیا و تالیب^(۱) (۲۰۰۰) اثر ضد میکروبی اسانس بابونه بر ۶ باکتری گرم مثبت و گرم منفی را بررسی کرده و از

1-Kapadia & Talib

صورت ناتوانی سیستم آنزیمی 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 کریزانتینیل استات، 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 غشای 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 مشاهده‌ها همچنین مشخص نمود که اسانس بابونه کبیر نسبت به اسانس بابونه آلمانی خاصیت ضد میکروبی قوی‌تری علیه باکتری‌های مورد آزمایش

آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، اریترومایسین و کلرامفنیکل 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 جنتامایسین بود، در حالی که در مقایسه با اریترومایسین و کلرامفنیکل اثرات بسیار ضعیفی داشت (۳۱). در تحقیق دیگری، اثر ضد میکروبی عصاره الکلی و کلروفرمی بابونه باعث مهار اشرشیاکلی و لیستریا مونوسیتوجنز شد (۳۱). فابری و همکاران^(۲) (۲۰۰۷) اثر عصاره متانولی را بر باکتری باسیلوس سرئوس مشاهده نمودند (۳۳).

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 لیپوپلی ساکاریدی 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 نشأت ترکیب‌های حیاتی سلولی رخ می‌دهد و یا این که به

1-Fabry et al

دارد. بسیاری از داروهای گیاهی اثر سودمند خود را به صورت سینرژستی 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 سینرژستی، 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 *Combretum 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 fungitoxicity 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 Hort 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. Tiuman TS, Nakamura TU, Nakamura CV. Antileishmanial 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, Locatelli 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. Santieseban-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. Omidbaigi 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 Argentin 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.

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