مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۸، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت۱۳۹۲(شماره پی در پی ۷۳)

اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر

زهرا ایزدی[۱]، سید علی‌محمد مدرس ثانوی[۱*]، علی سروش زاده[۱]، محمود اثنی‌عشری[۲]، پوراندخت 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: ۱۳۹۱/٤/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/٦/۲۷

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 میکرودایلوشن 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 ٤ 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: دکترسید علی‌محمد مدرس ثانوی**، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی ، گروه زراعت
Email: modaresa@modares.ac.ir

مقدمه

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 و۱). 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(٤). 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 سیتوتوکسیک می‌باشند(٥). 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[1] و کبیر[2] نام برد. این گیاهان از مهم‌ترین گیاهان دارویی از خانواده کاسنی[3] می‌باشند و از گل‌های آنها در صنایع داروسازی، آرایشی- بهداشتی و صنایع غذایی استفاده فراوانی می‌شود(۸ و۷). بابونه به عنوان ستاره‌ای در میان گیاهان دارویی مطرح بوده و نام این گیاه در فارماکوپه‌های ۲٦ کشور وجود دارد(۹). مهم‌ترین 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 ضدعفونی 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(۸ و۷). 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(۱۳ و۱۲).

مطالعات قبلی در مورد خواص ضد میکروبی گیاهان خانواده کاسنی نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی متوسط تا قوی این گیاهان است(۱۵ و۱٤). سحرخیز و همکاران(۲۰۰۸) خاصیت ضد میکروبی

1-Matricaria Chamomilla L.
2-Tanacetum Parthenium L.
3-Asteraceae

بابونـه کبیـر را علیـه برخـی از بـاکتری‌هـا گـزارش نمودنـد(۱۶). رانـی و همکـاران[1](۲۰۱۱) اثـر ضـد میکروبـی اسـانس بابونـه آلمـانی را علیـه ۳ سـوش میکروبی بررسی کردند و اظهار نمودند کـه ایـن گیـاه اثر ضد میکروبی داشـته و مـی‌توانـد بـرای مقابلـه بـا میکروب‌های بیماری‌زای خـاص مـورد اسـتفاده قـرار گیرد (۱۷).

نظر به این‌که گیاهان دارویی در کـشور ایـران پراکندگی وسیعی دارند، مطالعات روی این گیاهـان از نظر خواص ضد میکروبی آنها زمینه مناسبی را فراهم می‌کنـد کـه از نتـایج ایـن بررسـی‌هـا جهـت جـایگزین نمودن داروهایی با منشاء طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های میکروبی استفاده نمود و این امر می‌توانـد موجب کاهش مصرف داروهای شـیمیایی و عـوارض ناشی از آن شود. بدین لحاظ انجام تحقیقات به منظور مقایـسه اثـرات ضـد میکروبـی اسـانس‌هـای گیـاهی ضروری می‌نماید. اثر ضـد میکروبـی اسـانس‌هـا بـه روش‌های متفاوتی مورد بررسی قرار می‌گیرند. تعیین دقیق حداقل غلظت بازدارندگی[2] و هم‌چنـین بررسـی 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 هـم‌چنـین غلبـه بـر مقاومـت میکروبـی مـورد توجـه می‌باشد. بنابراین در این مطالعه ضمن بررسـی دقیـق ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر اثـر ضـد میکروبـی اسـانس ایـن گیاهان در مقابـل میکروارگانیـسم‌هـای بیمـاری‌زا ، از گروه باکتری‌های گرم مثبت و گـرم منفـی در شـرایط آزمایشگاهی نیز مطالعه شدند.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۰ در دانـشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد. اندام‌های هوایی گیاهان بابونه آلمانی و بابونه کبیر در مرحله گلدهی کامـل از رویـشگاه طبیعـی خـود از حـوالی همـدان جمـع‌آوری شـدند. نمونـه‌هـای تهیـه شـده، در هـر بـاریوم مرکـز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان تأیید شـد و از هر گیاه یک نمونه تأیید شده به ترتیب با شماره‌های ۱۵۲۶۸ و ۱۸۶۳۵ در هرباریوم نگهـداری شـد. پـس از خشک کردن گیاهان در سایه و خرد کـردن آن‌هـا بـه قطعات کوچک، از اندام‌هـای هـوایی گیاهـان بـه روش تقطیر بـا آب بـه مـدت ۳ سـاعت بـا دسـتگاه کلـونجر اسانس‌گیری به عمل آمد و پس از جداسازی اسانس‌ها از سطح آب، به وسیله سولفات سدیم آب‌گیـری و در شیـشه‌هـای تیـره و در دمـای ٤ درجـه سـانتی‌گـراد نگهداری شدند(۱۸). ترکیب‌های موجود در اسانس‌هـا با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگراف[3] و گـاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی[4] شناسایی شدند.

ابتـدا نمونـه‌هـای آمـاده شـده بـه دسـتگاه کرومـاتوگراف گـازی تزریـق شـد و مناسـب‌تـرین

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_8–C_{28} نیز تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس، برای محاسبه شاخص بازداری[1] 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[2] ۲۰۰۰ موجود در نرم‌افزار لابسولوشن[3] دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی و محاسبه شاخص بازداری استاندارد سری آلکان‌های C_8–C_{28} و مقایسه آنها با اعداد استاندارد موجود در مراجع شناسایی شدند(۲۰ و۱۹).

در این تحقیق از گاز کروماتوگراف شیمادزو مدل 9A مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵میلی‌متر 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. دتکتور 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 سوش باکتریایی لیستریا مونوسیتوجنز (ATCC 7644)، باسیلوس سوبتیلیس(ATCC 6051)، باسیلوس سرئوس (ATCC1247)، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، اشرشیاکلی (ATCC 8739) و سالمونلا تیفی‌موریوم (ATCC 14028) استفاده شد.

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

بـه منظـور تعیـین مقـادیر حـداقل غلظـت بازدارندگی از نژادهای باکتری‌های پاتوژن یـاد شـده یک کشت ۲٤ـ ۱۸ ساعته(کـشت شـبانه) در دمـای ۳۷ درجه سـانتی‌گـراد و در محـیط مـولر هینتـون بـراث (MHB,Oxoid) تهیـــه شد. محلول‌هـــای اسـتوک از اسانس‌ها و مواد استاندارد ضد میکروب کـه در ایـن آزمـــایش آنتـــی‌بیوتیـــک کلرامفنیکـــل و اســـید آلـــی آسکوربیک اسـید بودنـد در دی‌متیـل سولفوکـساید[1] تهیه شدند(۲۱). سریال‌های رقت با اسـتفاده از محـیط کشت مولر هینتون براث از ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتـر تا ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شدند و ۷۰ میکرولیتر از آن‌ها به پلیت‌های میکروتیتـر ۹۶ خانـه‌ای کـه قـبلاً حاوی ۷۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتـون بـراث بودنـــد اضـــافه شـــدند. بعـــد ۷۰ میکرولیتـــر از سوسپانـــسیون باکتریـــایی معـــادل اســـتاندارد ۰/۵ مک‌فارلند که حاوی 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر بـود، به پلیت‌های میکروتیتر اضافه گشت. در مجمـوع ایـن آزمایش با حجم ۲۱۰ میکرولیتر در هر چاهـک انجـام شد. آزمایش‌های مشابه برای کنترل مثبت شامل مولر هینتون براث، دی میتل سولفوکساید و بـاکتری تحـت تیمار) و کنترل منفی شـامل مـولر هینتـون بـراث، دی میتـل سولفوکساید و اسـانس مـورد آزمـایش بـود. نمونه‌ها به مدت ۲٤–۲۲ ساعت و در دمای ۳۷ درجـه سانتی‌گراد در گرم‌خانه نگهداری شدند. اولین چاهـک بدون کدورت به عنوان حـداقل غلظـت بازدارنـده بـه صورت میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد(۲۲).

بـه منظـور تعیـین حـداقل غلظـت کـشندگی[2] اسانس‌ها نیز میزان ۵ میکرولیتـر از چاهـک‌هـایی کـه رشـد بـاکتری در آنهـا کـاملاً متوقـف شـده بـود، بـه پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شد و به مدت ۲۴ـ۲۲ ســـاعت و در دمـای۳۷ درجـه سانتی‌گراد در گرم‌خانه نگهداری شدند. غلظت‌هایی که فاقد رشد باکتری بودند، به عنوان مقادیر حداقل غلظت کشندگی گزارش شدند(۲۱).

فعالیـت ضـد میکروبـی مخلـوط اسـانس‌هـای بابونه آلمـانی و بابونـه کبیـر بـه صـورت ترکیـب بـا یکدیگر بر اساس محاسبه شاخص یا غلظت بازدارنـده افتراقـی[3] بـا اسـتفاده از فرمـول مربوطـه تعیـین شدند(۲۳).

مقادیر کوچکتر از ۰/۹ غلظت بازدارنده افتراقی نشان دهنده اثر سینرژیستی، مقادیر ما بین ۰/۹ تا ۱/۱ موید اثـر افزایـشی و مقـادیر بیـشتر از ۱/۱ ناشـی از وجود اثر آنتاگونیـستی بـین ایـن دو اسـانس در نظـر گرفته شد(۲۳).

تمام آزمایش‌ها بـه صـورت تـصادفی بـا سـه تکرار انجام شدند و میانگین داده‌های به دست آمده به عنـوان نتـایج تعیـین حـداقل غلظـت بازدارنـدگی و کشندگی ارایه شد. قطـر هالـه عـدم رشـد بـر حـسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد(۲۴).

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

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS[1] و آزمون آماری چند دامنه‌ای دانکن[2] 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 (۲۲/۱٤ درصد) و کامازولن (۹/۹٦ درصد) از مهم‌ترین ترکیب‌های اصلی اسانس بابونه آلمانی بودند و بتافارنزن (٥/٦٤ درصد)، آلفافارنزن (٥/٤۲ درصد) و جرماکرن دی (۳/٤۰ 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- سیمن، 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 براث میکرودایلوشن 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 ٤ 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 ٤ 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 میکروارگانیسم‌ها مشابه حداقل غلظت بازدارندگی اسانس این گیاه محاسبه شد. از میان میکروارگانیسم‌های مورد بررسی باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم 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

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

میکروارگانیسم‌ها 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 باکتری‌های لیستریا مونوسیتوجنز، باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس بین این دو اسانس خاصیت سینرژیستی و در باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم اثر افزایشی وجود دارد. در این آزمایش بین اسانس‌ها حالت آنتاگونیستی مشاهده نشد (جدول۱).

بحث

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

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف‌معیار فعالیت ضد میکروبی و بر هم کنش اسانس‌های بابونه آلمانی و بابونه کبیر

متغیر	باکتری	لیستریا مونوسیتوجنز	باسیلوس سوبتیلیس	باسیلوس سرئوس	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکلی	سالمونلا تیفی‌موریوم
اسانس بابونه آلمانی؛							
حداقل غلظت بازدارندگی(میلی‌گرم بر لیتر)		۰/۵۵^{b}	۰/۲۲^{b}	۰/۲۵^{b}	۰/۶۵^{b}	۲^{b}	٤^{a}
قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)		۲۴/۳±۰/۴	۲۸/۷±۰/۳	۲۱/۴±۱/۴	۲۷/۲±۱/۲	۱۳/۱±۰/۴	۷/۳±۰/۰
اسانس بابونه کبیر؛							
حداقل غلظت بازدارندگی(میلی‌گرم بر لیتر)		۰/۱٤^{c}	۰/۰۹^{c}	۰/۱۲^{c}	۰/۳۵^{c}	۰/۵۰^{c}	۱^{b}
قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)		۲۸/۲±۱/۲	۲۶/۳±۱/۰	۲۰/۴±۱/۰	۳۳/۲±۰/۶	۱۵/۴±۰/۷	۹/۲±۱/۲
حداقل غلظت بازدارندگی کلرامفنیکل(میلی‌گرم بر لیتر)		۰/۱۵^{c}	۰/۰۷^{c}	۰/۱۱^{c}	۰/۱۸^{d}	۰/۲۲^{d}	۰/۲۵^{c}
حداقل غلظت بازدارندگی اسیدآسکوربیک(میلی‌گرم بر لیتر)		۱/۵^{a}	۱/۵^{a}	۱/۵^{a}	۱/۵^{a}	۳/۳^{a}	۳/۳^{a}
حداقل غلظت بازدارنگی ترکیبی(میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)؛							
بابونه آلمانی		۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۲۵	۱	۲
بابونه کبیر		۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۲۰	۰/۲۵	۰/۵۰
غلظت بازدارندگی افتراقی بابونه آلمانی(میلی‌گرم بر لیتر)		۰/۳۰	۰/۵۴	۰/۵۶	۰/۳۸	۰/۵۰	۰/۵۰
غلظت بازدارندگی افتراقی بابونه کبیر(میلی‌گرم بر لیتر)		۰/۳۵	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۵۷	۰/۵۰	۰/۵۰
شاخص غلظت بازدارندگی افتراقی*		۰/٦۵	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.

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- سینئول به عنوان اصلی‌ترین ترکیب و آلفا- پینن و کامفور در آلمان و ایتالیا به عنوان دومین و سومین ترکیب‌های عمده شناخته شدند و ترکیب‌های کریزانتنیل استات و کامفن در اسانس یافت نشد (۲۷ و ۲۶). 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 ادافیکی، 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 میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است(۲۹). به طور مثال کاپادیا و تالیب[1](۲۰۰۰) اثر ضد میکروبی اسانس بابونه بر ۶ باکتری گرم مثبت و گرم منفی را بررسی کرده و از

1-Kapadia & Talib

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 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 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 کریزانتنیل 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 (۳٤).

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 ضدمیکروبی قوی‌تری علیه باکتری‌های مورد آزمایش

1-Fabry et al

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 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 fungitoxity on Penicillum 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.Tiuman 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 Aromatatic 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.Demirici 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.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 Appli 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.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

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

Izadi Z[1], Modarres Sanavi SAM[1*], Sorooshzadeh A[1], Esna-Ashari[2], Davoodi P[3]

[1] Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, [2] Department of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Hamedan, Iran,[3]Department 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/mlfor 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 efficients 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