DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2011.6385

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ٤٤٩-٤٤٠ (۱۳۹۰)

بررسی اجزای تشکیل‌دهنده و اثرهای ضدمیکروبی اسانس ده گونه اکالیپتوس بر روی *Micrococcus loteus* و *Escherichia coli*

بابک ترابی‌سگوند[1*] محمود نادری حاجی‌باقر کندی[2] و لیلا صادق‌زاده[3]

۱*- نویسنده مسئول، دکترای عمومی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران پست الکترونیک: b_torabi_s@yahoo.com
۲- کارشناس ارشد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
۳- کارشناس، عضو باشگاه پژوهشگران جوان

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۸ تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۹

چکیده

اسانس‌های موجود در گیاهان معطر یک دسته ارزشمند از ترکیب‌های طبیعی با خواص دارویی مختلف، ازجمله خواص ضدمیکروبی هستند. همچنین گونه‌های مختلفی از اکالیپتوس دارای اسانس هستند. در این تحقیق ضمن استخراج اسانس و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس ده گونه اکالیپتوس شامل: *Eucalyptus gilli*، *E. microcarpa*، *E. kingesmillii*، *E. loxophleba*، *E. gongylocarpa*، *E. salubris*، *E. erythrocorys*، *E. salmonophloia*، *E. spathulata* و *E. flocktoniae*، اثر ضد میکروبی این اسانس‌ها بر علیه دو سویه میکروبی *Escherichia coli* (1330) و *Micrococcus loteus* (1110) مورد مطالعه قرار گرفت. اسانس‌ها به روش تقطیر با آب از برگهای گونه‌های مختلف اکالیپتوس تهیه و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آنها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج (GC/MS)، با محاسبه اندیس بازداری شناسایی شدند. اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها پس از رقیق کردن با دی متیل سولفوکساید با روش انتشار در آگار بررسی شد. نتایج نشان داد ترکیب اصلی و عمده همه اسانس‌ها ۸،۱-سینئول و آلفا-پینن بود. به‌طوری که بیشترین میزان ۸،۱-سینئول (۸۲/۱٪) در اسانس *E. kingesmillii* یافت شد و کمترین میزان این ترکیب (۵۹/٦) در اسانس *E. salubris* وجود داشت. همچنین اسانس کلیه گونه‌های مورد بررسی اثر بازدارندگی قوی بر روی باکتریهای مورد استفاده داشتند. درحالی‌که هاله‌های عدم رشد تشکیل‌شده بر روی باکتری *Micrococus loteus* بین ۱۰ تا ٤۹ میلی‌متر و بر روی *Esherichia coli* قطری بین ۱۰ تا ۲۲ میلی‌متر داشتند.

واژه‌های کلیدی: اکالیپتوس، اسانس، ۸،۱-سینئول، اثر ضدمیکروبی، میکروکوکوس لوتئوس، اشرشیا کلی.

مقدمه

اکالیپتوس‌ها از قدرت سازش‌پذیری بالایی نسبت به شرایط محیطی برخوردار هستند و می‌توانند در محدوده وسیعی از آب و هوای کاملاً متفاوت با زادگاه خود رویش کرده و نشو و نما نمایند (Weiss, 1997؛ Coppen, 2000). موطن اصلی اکالیپتوس استرالیا است و از این قاره

به مناطق دیگر برده شده است (قهرمان، ۱۳۷۲). درختان اکالیپتوس بین عرض جغرافیایی ٤٥ درجه شمالی و ٤٥ درجه جنوبی قادر به ادامه حیات هستند. بنابراین شاید مهمترین عامل محدودکننده رشد، دمای پایین باشد. به همین دلیل در نواحی محدودی از استرالیا که بارش برف در آنجا زیاد است، اکالیپتوس رشد نمی‌کند (Weiss, 1997).

جنس اکالیپتوس در جهان شامل بیش از ۷۰۰ گونه است که از بین آنها حداقل ۵۰۰ گونه دارای اسانس هستند. از برگها و اسانس بسیاری از گونه‌های اکالیپتوس، برای درمان التهابات دستگاه تنفسی مثل برونشیت یا خناق استفاده می شود (Kaspar *et al.*, 1994؛ Wittman *et al.*, 1998؛ Mahlo, 1990؛ Juergens *et al.*, 2003).

برگها و یا اسانس برخی از گونه‌های اکالیپتوس برای درمان تب‌های خاص مثل تب ناشی از مالاریا و تیفوئید و درمان برخی التهابات پوستی مثل سوختگی و زخم کاربرد دارند. همچنین عصاره آبی گونه‌های مختلف اکالیپتوس برای درمان سل، اسهال خونی باکتریایی، درد مفاصل و موارد مشابه در داروهای غربی و شرقی بکار می‌رود (Reynolds & Prasad, 1982).

اسانس اکالیپتوس و ترکیب اصلی آن یعنی ۸،۱–سینئول به‌طور وسیع در تهیه نرم‌کننده‌ها، پمادها، شربتهای ضد سرفه، خمیر دندان و به‌عنوان طعم‌دهنده در سایر داروها مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین به‌عنوان مواد معطرکننده در صابونها، پودرها و مواد شوینده و به مقدار کم در عطرها بکار می‌رود. اسانس اکالیپتوس اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهاب هم دارد (Grafsman *et al.*, 2000؛ Juergens *et al.*, 2003).

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و در نتیجه افزایش روزافزون مقاومت باکتریها به آنها، نیاز به ترکیب‌ها و داروهای جدید را بیش از پیش ضروری می‌سازد. برای تولید داروهای جدید، منابع مختلف به‌ویژه گیاهان، مورد توجه محققان می‌باشد.

تحقیقات نشان داده که ترکیب اصلی اسانس برگهای *Eucalyptus microtheca*، *E. congylocarpa*، *E. gilli*، *E. woodwardi* و *E. salubaris* (جمع‌آوری شده از دزفول و شوشتر) ۸،۱–سینئول است (سفیدکن و همکاران، ۱۳۸٦؛ Jaimand *et al.*, 2006). همچنین در اسانس برگهای *Eucalyptus microtheca* var. *microtheca* F. Muell.، *Eucalyptus spatulata*، *Eucalyptus largiflorense* و *Eucalyptus torquata* (جمع‌آوری شده از کاشان) نیز ۸،۱–سینئول جزء اصلی اسانس را تشکیل داده است (Sefidkon *et al.*,2007). آبروش و همکاران (۱۳۸٦) نیز ۸،۱–سینئول را به‌عنوان ترکیب عمده اسانس برگهای *Eucalyptus stricklandii* Maiden، *E. brockwayii*، *E. sargentii*، *E. largiflorens* F. Muell و *E. kruseana* F. Muell گزارش کرده‌اند. اسانس گونه‌های مختلف دیگری از اکالیپتوس نیز به‌طور عمده حاوی ۸،۱–سینئول گزارش شده‌اند (فتحی، ۱۳۸۷). جایمند و همکاران (۱۳۸٤) ترکیب اصلی اسانس *E. stricklandii* و *E. erythrocorys* از شمال خوزستان را به‌ترتیب ۷۲/۷٪ و ۸۰٪ ۸،۱–سینئول اعلام کردند. این ترکیب همچنین ۷۳/۳٪ اسانس *E. congylocarpa* و ۷۵/٦٪ اسانس *E. salubris* را در شمال خوزستان به خود اختصاص داده است (عصاره و همکاران، ۱۳۸۵).

تحقیقات زیادی در زمینه بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس برخی از گونه‌های اکالیپتوس انجام شده است. در بررسی انجام شده توسط Prabuseenivasan و همکاران (۲۰۰٦) اثر ضدمیکروبی اسانس اکالیپتوس همراه با ۱۸ اسانس از گونه‌های دیگر گیاهی بر روی ٤ باکتری گرم‌منفی و دو باکتری گرم‌مثبت بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده اثر متوسط ضدمیکروبی اسانس اکالیپتوس بود و باکتری باسیلوس سوبتیلیس بیشترین حساسیت را داشت.

بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس یک گونه اکالیپتوس (حاوی ٦۳٪ ۸،۱-سینئول) بر روی کلبسیلا، سودوموناس پروتئوس، اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس ارئوس نشان داد که حساسیت کلبسیلا و اشرشیا کلی بیش از سایر گونه‌ها بود و حساسیت سودوموناس و پروتئوس از همه گونه‌ها کمتر بود (Sherry *et al.*, 2001).

تحقیقات دیگر نشان داده که کاربرد موضعی اسانس اکالیپتوس در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین مؤثر است (Kumar, 1988). همچنین کاربرد اسانس اکالیپتوس در درمان عفونت‌های موضعی گزارش شده است (Ahmad & Beg, 2001).

هدف از این تحقیق، تعیین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس ۱۰ گونه اکالیپتوس کاشته شده در ایستگاه تحقیقات باغ گیاهشناسی فدک در دزفول و بررسی اثر ضدمیکروبی آنها بوده است.

مواد و روشها

الف- جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس

برگهای ۱۰ گونه اکالیپتوس شامل *Eucalyptus gilli*، *E. microcarpa*، *E. kingesmillii*، *E. loxophleba*، *E. gongylocarpa*، *E. salubris*، *E. erythrocorys*، *E. salmonophloia*، *E. spathulata* و *E. flocktoniae*، در اواسط بهمن ماه از ایستگاه تحقیقات باغ گیاهشناسی فدک (دزفول) در استان خوزستان (یکی از محل‌های کشت این گونه‌ها) جمع‌آوری گردید. گیاهان در سایه و در دمای مناسب خشک شدند. سپس آنها را آسیاب کرده (در حدود ۷۰-۵۰ گرم) و اسانس به روش تقطیر با آب، استخراج گردید و توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شده و تا زمان تزریق به دستگاههای GC و GC/MS نگهداری شد. جهت تعیین رطوبت گیاه در زمان اسانس‌گیری، مقدار ۵ گرم از گیاه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از رسیدن به وزن ثابت، میزان رطوبت و درصد آن محاسبه شد.

ب- شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده

دستگاه GC

تزریق اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) انجام شد. گاز کروماتوگراف مورد استفاده شیمادزو (Shimadzu) 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 بود، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ٦۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، بتدریج با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای محفظه تزریق ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و دمای آن در ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل استفاده شد که فشار ورودی آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شده بود.

دستگاه GC/MS

پس از یافتن مناسبترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون در GC جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس‌های بدست‌آمده با دی‌کلرومتان رقیق شده و به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق شده و طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوطه بدست آمد.

گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی، واریان ۳٤۰۰ از نوع تله یونی بود که ستون آن (DB-5) به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بود، فقط دمای نهایی ستون تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بالا برده شد. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بالاتر از دمای نهایی ستون (۲٦۰ درجه سانتی‌گراد) تنظیم شد و گاز حامل هلیوم با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ٤۰ تا ۳٤۰ بود.

پس از تهیه طیف‌های GC و GC/MS با استفاده از زمان بازداری، اندیس بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها، مورد شناسایی کمّی و کیفی قرار گرفت. برای محاسبه اندیس‌های بازداری از تزریق هیدروکربن‌های نرمال ۹ تا ۲۲ کربنه، در شرایط برنامه‌ریزی حرارتی ستون (مشابه با تزریق نمونه) استفاده شد.

باکتریهای موردمطالعه

در این مطالعه از دو سویه استاندارد باکتری گرم مثبت و گرم منفی به نامهای *Micrococcus loteus* (1110) و *Escherichia coli* (1330) استفاده شد. این دو سویه به شکل آمپولهای لیوفیلیزه از انستیتو پاستور تهیه گردید و همواره از کشت ٢٤ ساعته آن برای بررسی‌های میکروبی استفاده شد.

بررسی اثرهای ضدمیکروبی

به منظور بررسی اثر ضدمیکروبی، از روش انتشار در آگار (Disk diffusion method) استفاده شد. از کشت ۱۸ ساعته باکتریها مایه تلقیح با غلظت ۱ استاندارد مک فارلند معادل 3×10^{8} cfu/ml در محیط کشت تریپتوکیس سوی براث (شرکت مرک) تهیه و ۵۰۰ میکرولیتر به سطح محیط کشت تریپتوکیس سوی آگار (شرکت مرک) تلقیح و با استفاده از سوآپ پنبه‌ای استریل به شکل یکنواخت در سطح محیط پخش شد. بر روی محیط کشت دیسک‌های بلانک با قطر ٦ میلی‌متر (شرکت پادتن طب) حاوی ۳۰ میکرولیتر از اسانس‌های مختلف رقیق‌شده توسط دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) در غلظت‌های ۰/۱٪، ۰/۰۱٪ و ۰/۰۰۱٪ بر روی پلیت قرار گرفت. از دیسک بلانک حاوی ۳۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان شاهد منفی استفاده گردید. پس از ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد. هر تست برای هر یک از باکتریها ۳ بار تکرار شد و متوسط ۳ بار تکرار بدست آمد.

جدول ۱- ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس گونه‌های مختلف اکالیپتوس

E. gongylocra (%)	*E. erythrocorys* (%)	*E. salubris* (%)	*E. kingsmilli* (%)	*E. salmonophloia* (%)	*E. spathulata* (%)	*E. microcarpa* (%)	*E. loxophleba* (%)	*E. flocktoniae* (%)	*E. gillii* (%)
-	-	-	-	۰/۲	-	-	۰/۲	-	-
۹/۳	۱۰/۱	۱۶/۱	۱۱/۳	۱۶/۵	۱۰/۳	۱۰/۶	۲۵/۵	۱۶/۴	۱۱/۳
۰/۳	۰/۱	۰/۴	۰/۴	۰/۲	۰/۲	۰/۴	۱/۵	۰/۴	۰/۲
۰/۲	۰/۱	–	۰/۱	۰/۲	۰/۱	۰/۱	–	۰/۱	۰/۲
۱/۰	۲/۷	۰/۱	۰/۶	۳/۰	۰/۲	۱/۱	۰/۴	۰/۵	۱/۰
۷۹/۳	۷۷/۴	۵۹/۶	۸۲/۱	۶۴/۷	۶۸/۴	۷۵/۴	۶۱/۸	۷۴/۶	۸۱/۵
۰/۲	۰/۱	۰/۳	۰/۵	۰/۴	۰/۱	۰/۲	-	–	–
۳/۲	۱/۸	۴/۸	۱/۸	۴/۶	۱۰/۷	۱/۵	۲/۸	۳/۴	۳/۳
۱/۰	۰/۵	۱/۶	۰/۵	۱/۵	۳/۷	۰/۵	۰/۶	۰/۸	۱/۱
۰/۶	۰/۵	۰/۴	۰/۵	۱/۰	–	۰/۷	–	۰/۴	–
۰/۲	۰/۴	۰/۴	۰/۱	۰/۶	۰/۱	۰/۷	-	۰/۴	-
۰/۳	۰/۵	۱/۸	۰/۲	۰/۲	۱/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۹	۰/۲
۰/۲	-	۲/۳	-	۲/۱	۰/۱	۱/۳	۰/۲	-	۰/۲
۰/۶	-	۵/۳	۰/۲	۰/۷	۱/۹	۱/۳	۲/۵	۰/۳	۰/۳
۰/۱	-	۰/۴	-	-	۰/۲	–	۰/۳	-	–
-	-	۰/۶	-	-	-	۰/۱	-	-	–
-	-	۰/۳	-	-	-	-	-	-	۰/۱
۹۶/۵	۹۴/۳	۹۴/۷	۹۸/۳	۹۶/۰	۹۷/۰	۹۴/۴	۹۵/۹	۹۷/۹	۹۹/۴

نتایج

ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس ده گونه اکالیپتوس در جدول ۱ آورده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در اسانس *E. gongylocrapa* تعداد ١٤ ترکیب شناسایی شد که ۹٦/۵٪ از اسانس را تشکیل می‌دادند. عمده‌ترین اجزای اسانس ۸،۱-سینئول (۷۹/۳٪) و آلفا-پینن (۹/۳٪) بودند. ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس *E. erythrocorgs* یازده عدد بودند که ۹٤/۳٪ از این اسانس را تشکیل می‌دادند. ترکیب‌های اصلی این اسانس ۸،۱-سینئول (۷۷/٤٪) و آلفا-پینن (۱۰/۱٪) بودند.

در اسانس *E. salubris* تعداد ۱۵ ترکیب شناسایی شد که ۹٤/۷٪ از اسانس را تشکیل می‌دادند. عمده‌ترین اجزای اسانس ۸،۱-سینئول (۵۹/٦٪) و آلفا-پینن (۱٦/۱٪) بودند. ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس *E. kingsmilli* سیزده عدد بودند که ۹۸/۳٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دادند. ترکیب‌های اصلی این اسانس ۸،۱-سینئول (۸۲/۱٪) و آلفا-پینن (۱۱/۳٪) بودند.

چهارده ترکیب در اسانس *E. salmonophloia* شناسایی شد که ۹٦٪ از اسانس را تشکیل می‌دادند. ۸،۱-سینئول (٦٤/۷٪) و آلفا-پینن (۱٦/۵٪) اجزای اصلی تشکیل‌دهنده این اسانس بودند. در اسانس *E. spathulata* تعداد سیزده ترکیب شناسایی شد که ۹۷٪ از اسانس را تشکیل می‌دادند. عمده‌ترین اجزای اسانس ۸،۱-سینئول (٦۸/٤٪) و آلفا-پینن (۱۰/۳٪) بودند. ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس *E. microcarpa* چهارده عدد بودند که ۹٤/٤٪ از این اسانس را تشکیل می‌دادند. ترکیب‌های اصلی این اسانس ۸،۱-سینئول (۷۵/٤٪) و آلفا-پینن (۱۰/٦٪) بودند.

یازده ترکیب در اسانس *E. loxophleba* شناسایی شد که ۹۵/۹٪ از اسانس را تشکیل می‌دادند. ۸،۱-سینئول (٦۱/۸٪) و آلفا-پینن (۲۵/۵٪) اجزای اصلی تشکیل‌دهنده این اسانس بودند.

یازده ترکیب در اسانس *E. flocktoniae* شناسایی شد که ۹۷/۹٪ از اسانس را تشکیل می‌دادند. ۸،۱-سینئول (۷٤/٦٪) و آلفا-پینن (۱٦/٤٪) اجزای اصلی تشکیل‌دهنده این اسانس بودند. در اسانس *E. gilli* نیز یازده ترکیب شناسایی شد که ۹۹/٤٪ از اسانس را تشکیل می‌دادند. ۸،۱-سینئول (۸۱/۵٪) و آلفا-پینن (۱۱/۳٪) عمده‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده این اسانس بودند.

اثر ضدمیکروبی اسانس گونه‌های اکالیپتوس بر روی *Micrococus loteus* در جدول ۲ و اثر ضدمیکروبی اسانس گونه‌های مختلف اکالیپتوس بر روی *Escherichia coli* در جدول ۳ آورده شده است.

بحث

ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس‌ها (جدول ۱) نشان می‌دهد که ترکیب‌های اصلی و عمده کلیه گونه‌های اکالیپتوس مورد بررسی ۸،۱-سینئول و آلفا-پینن هستند. بالاترین میزان ۸،۱-سینئول (۸۲/۱٪) در اسانس *E. kingsmilli* و کمترین میزان این ترکیب (۵۹/٦٪) در اسانس *E. salubris* مشاهده شد. پس از آن اسانس *E. gillii* با دارا بودن ۸۱/۵٪ ۸،۱-سینئول و *E. gongylocrapa* با میزان ۷۹/۳٪ ۸،۱-سینئول قرار داشتند. بالاترین مقدار آلفا-پینن (۲۵/۵٪) در اسانس *E. loxophleba* و کمترین مقدار آن (۹/۳٪) در اسانس *E. gongylocrapa* وجود داشت.

جدول ۲- اثر ضدمیکروبی اسانس گونه‌های مختلف اکالیپتوس بر علیه باکتری *Micrococcus loteus*

نام گونه گیاه	قطر هاله عدم رشد (mm) در غلظت‌های مختلف اسانس (٪)			
	۰/۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	شاهد (دیسک بلانک)
E. gongylocrapa	۳۱	۲۸	۲٤	–
E. erythrocorgs	۲۰	۱۳	۱۲	–
E. salubris	٤۹	۳۸	۳٦	–
E. kingsmilli	۲۸	۲۷	۲٤	–
E. salmonophloia	٤٥	٤۰	۳۹	–
E. spathulata	۲۲	۲۱	۱۰	–
E. microcarpa	۳٥	۲۷	۲٥	–
E. loxophleba	۳٥	۳۱	۲۸	–
E. flocktoniae	٤٥	۳۰	۳۰	–
E. gillii	۳۰	۲۹	۲۹	–

جدول ۳- اثر ضدمیکروبی اسانس گونه‌های مختلف اکالیپتوس بر علیه باکتری *Escherichia coli*

نام گونه گیاه	قطر هاله عدم رشد (mm) در غلظت‌های مختلف اسانس (٪)			
	۰/۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	شاهد (دیسک بلانک)
E. gongylocrapa	۱٥	۱٤	۱۰	–
E. erythrocorgs	۱٥	۱۲	۱۲	–
E. salubris	۱٤	۱۰	۱۰	–
E. kingsmilli	۱٥	۱٥	۱٤	–
E. salmonophloia	۱٥	۱٥	۱۲	–
E. spathulata	۱۸	۱۸	۱٦	–
E. microcarpa	۲۰	۱۹	۱۹	–
E. loxophleba	۲۲	۲۰	۱۸	–
E. flocktoniae	۱٥	۱٥	۱۲	–
E. gillii	۱٥	۱٥	۱٥	–

همان‌گونه که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، اسانس کلیه گونه‌های مورد بررسی اثر بازدارندگی رشد را بر روی باکتری *Micrococcus loteus* نشان دادند، اما این اثر در غلظت‌های مختلف و برای اسانس گونه‌های مختلف متفاوت بود.

به‌طور کلی قویترین اثر و بزرگترین قطر هاله عدم رشد (٤۹ mm) برای غلظت ۰/۱٪ از اسانس *E. salubris* مشاهده شد و کمترین اثر ضدمیکروبی مربوط به اسانس *E. erytrocarys* دیده شد که قطر هاله عدم رشد آن در بالاترین غلظت اسانس (۰/۱٪) به میزان ۲۰ میلی‌متر و در

کمترین غلظت اسانس (۰/۰۰۱٪) برابر ۱۲ میلی‌متر بود. در بالاترین رقت از اسانس‌ها (۰/۰۰۱٪) اسانس *E. salmonophloia* بالاترین قطر هاله عدم رشد (mm ۳۹) را داشت و پس از آن به‌ترتیب *E. salubris* (با قطر هاله عدم رشد ۳٦ میلی‌متر)، *E. flocktoniae* و *E. gilli* (با قطر هاله عدم رشد ۳۰ و ۲۹ میلی‌متر) در مقام بعدی قرار داشتند. در این رقت، اسانس *E. spathulata* کمترین اثر ضدمیکروبی (قطر هاله عدم رشد ۱۰ میلی‌متر) را نشان داد.

در اسانس *E. salubris* به‌عنوان مؤثرترین اسانس بر علیه *Micrococcus loteus* مقدار ٦۰٪ ۸،۱-سینئول وجود داشت که میزان این ترکیب در برخی اسانس‌های دیگر کمتر است. در عوض در این اسانس بجز ٤/۸٪ ترانس پینوکاروئول به‌عنوان یک ترکیب منوترپن الکلی، ۵/۳٪ گلوبولول و ۲/۳٪ اسپاتولنول به‌عنوان ترکیب‌های سسکوئی‌ترپن الکلی وجود دارد که در هیچ یک از اسانس‌های دیگر این میزان از دو ترکیب اخیر مشاهده نشد. همچنین مقدار آلفا-پینن در این اسانس نیز نسبت به بسیاری از اسانس‌های دیگر مورد مطالعه بالاتر است.

در جدول ۳ اثر ضدمیکروبی اسانس گونه‌های مختلف اکالیپتوس بر روی *Escherichia coli* آورده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، به‌طور کلی قطر هاله‌های عدم رشد برای تمام اسانس‌ها روی این باکتری کمتر از *Micrococcus loteus* بود. مؤثرترین اسانس بر علیه این باکتری *E. loxophelba* بود که در غلظت ۰/۱٪ باعث قطر هاله عدم رشدی برابر با ۲۲ میلی‌متر و پس از آن بالاترین اثربخشی مربوط به *E. microteca* (با قطر هاله عدم رشد ۱۹ میلی متر) و بعد *E. loxophelba* (با قطر هاله عدم رشد ۱۸ میلی‌متر) و پس از آن *E. spathulata* (با قطر هاله عدم رشد ۱٦ میلی‌متر) بود.

در اسانس *E. loxophelba* به‌عنوان مؤثرترین اسانس بر علیه *Escherichia coli* مقدار ٦۲٪ ۸،۱-سینئول وجود داشت که از میزان این ترکیب در برخی اسانس‌های دیگر کمتر است. ولی مقدار آلفا-پینن (۲۵/۵٪) و بتا-پینن (۱/۵٪) در این اسانس از همه اسانس‌های مورد مطالعه بالاتر است. به نظر می‌رسد آلفا-پینن بر روی *Escherichia coli* اثر قابل ملاحظه‌ای دارد. برخی از ترکیب‌های الکلی مثل گلوبولول نیز در این اسانس درصد بالاتری دارند.

کمترین اثر ضدباکتری در این رقت نیز مربوط به اسانس گونه‌های *E. gongylocarpa* و *E. salubris* است. این نتایج نشان می‌دهد که اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها نه تنها از ۸،۱-سینئول (Sivropoulou *et al.*, 1997) بلکه از برخی ترکیب‌های دیگر موجود در اسانس مثل آلفا-پینن و برخی الکل‌های منوترپنی و سسکوئی‌ترپنی مثل ترپینن-٤-ال، آلفا-ترپینئول، اسپاتولنول و گلوبولول نیز ناشی می‌شود. برخی تحقیقات دیگر نیز نشان داده که این ترکیب‌ها اثر ضدمیکروبی دارند (Lee *et al.*, 2008). آلفا-پینن بر روی Staphylococcus epidermidis و propioni bacterium acnes اثر بازدارندگی داشته است (Merrily *et al.*, 2001).

منابع مورد استفاده

- آبروش، ز.، سفیدکن، ف. و عصاره، م.ح.، ۱۳۸٦. بررسی و تعیین ترکیبهای شیمیایی پنج گونه اکالیپتوس مناطق گرمسیری ایران. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۳(۳): ۳۳۰-۳۲۳.
- جایمند، ک.، عصاره، م.ح.، رضایی، م.ب. و برازنده، م.م.، ۱۳۸٤. بررسی و تعیین ترکیبهای شیمیایی اسانس برگ *Eucalyptus*

Eucalyptus erythrocorys F. Muell. و *stricklandii* Maiden.
تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۱(٤): ٤٥٢-٤٤٣.
- سفیدکن، ف.، عصاره، م.ح.، آبروش، ز.، میرزا، م. و صالحه شوشتری، م.ح.، ١٣٨٦. مقایسه بازده و اجزای اسانس پنج گونه اکالیپوس سازگار شده در دو منطقه در جنوب ایران. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳(۱): ۵۰-۳۹.
- فتحی، ا.، ۱۳۸۷. بررسی اثر روشهای مختلف خشک کردن و اسانس‌گیری بر کمیت و کیفیت اسانس چهار گونه اکالیپتوس. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، رشته علوم گیاهی، دانشگاه پیام نور.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۲. کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد دوم، مرکز نشر دانشگاهی تهران، ٨٤١ صفحه.
- عصاره، م.ح.، جایمند، ک.، رضایی، م.ب. و برازنده، م.م.، ۱۳۸۵. بررسی و تعیین ترکیب‌های شیمیایی اسانس دو گونه اکالیپتوس *Eucalyptus congylocarpa* Maiden و *Eucalyptus salubris* F. Muell. فصلنامه تحقیقات علوم گیاهی، ۱(۱): ۲۱-۱۷.
- Ahmad, I. and Beg, A.Z., 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. Journal of Ethnopharmacology, 74: 113-123.
- Budavari, S., 1996. The Merck Index: An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, 12th ed. Whitehouse Station, Merck Co., 2564p.
- Coppen, J.J.W., 2000. Eucalyptus; the Genus of Eucalyptus. Insence Magic Ltd., UK, 450p.
- Grrafsmann, J., Hippeli, S., Dornisch, K., Rohnert, U., Beuscher, N. and Elstner, E.F., 2000. Antioxidant properties of essential oils. Possible explanations for their anti-inflammatory effects. Arzneim Forsch/Drug Research, 50:135-139.
- Jaimand, K., Assareh, M.H. and Rezaee, M.B., 2006. Volatile oil constituents of leaves of *Eucalyptus gilli* Maiden and *E. microcarpa* Hook from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 1: 73-75.
- Juergens, U.R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R. and Vetter, H., 2003. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineole (eucalyptol) in bronchial asthma: a double blind placebo-controlled trial. Respiratory Medicine, 97: 250-6.
- Kaspar, P., Repges, R., Dethlefsen, U. and Petro, W., 1994. Sekretolytika im Vergleich. Anderung der Ziliarfrequenz und Lungen function nach Thrapie mit Cineol und Ambroxol. Atemw-Lungenkrkh, 20: 605-14.
- Kumar, A., 1988. Antibacterial properties of some *Eucalyptus* oils. Fitoterpia, 59: 141-144.
- Lee, J.H., Yang, H.Y., Lee, H.S. and Hong, S.K., 2008. Chemical composition and Antimicrobial Activity of Essential oil from cones of pinus koroiensis. Journal of Microbiology and Biotechnology, 8(3): 497-502.
- Mahlo, D.H., 1990. Obstruktive Atemwegserkrankungen. Mit Cineol die Lungenfunktionsparameter verbesern. Therapiewoche, 40: 3157-62
- Merrily, A. kuhu, D.W., Ara, D. and Ara, H.D.M., 2001. Herbal Therapy & Supplements: A Scientific & Traditional Approach. Lippincott Williams & Wilkins, 430p.
- Prabuseenivasan, S., Jaykumar, M. and Ignacimuthu, S., 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complementary and Alternative Medicine, 6(1): 39-44.
- Reynolds, J.E.F. and Prasad A.B., 1982. Martindle. The Exta Pharmacopoiea. 28th ed., London, Pharmaceutical Press, 1017p.
- Sefidkon, F., Assareh, M.H., Abravesh, Z. and Barazandeh, M.M., 2007. Chemical composition of the essential oils of four cultivated Eucalyptus species in Iran as medicinal plants (*E. microtheca*, *E. spatulata*, *E. largiflorense* and *E. trquata*). Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 6(2): 135-140.
- Sherry, E., Bocek, H. and Warnke, P.H., 2001. Tropical application of a new formulation of eucalyptus oil phytochemical clears methiciline resistant Staphylococcus aureus infection. American Journal of Infection Control, 29: 346-349.
- Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M., 1997. Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fructicosa* essential oil, Journal of Agricural and Food Chemistry, 45(8): 3197-3201.
- Weiss, E.A., 1997. Essential Oils Crops. CABI Publishing, Oxon, UK, 616p.
- Wittman, M, Petro, W, Kaspar, P, Reptes, R. and Dethlesten, U., 1998. Zur Thrapie chronisch obstruktiver Atemwegser-Krankungen mit Sekretolytika. Doppelblinder, randomisierter Cross-over-Vergleich zwischen Cineol und Ambroxol. Atemw-Lungenkrkh, 24: 67-74.

Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of ten *Eucalyptus* species against *Micrococcus loteus* and *Escherichia coli*

B. Torabi Sagvand[1*], M. Naderi Hadji Bagher Kandi[2] and L. Sadeghzadeh[3]

1*- Coressponding author, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran, E-mail: b_torabi_s@yahoo.com
2-Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
3- Member of Young Researchers Club

Received: March 2010 Revised: September 2010 Accepted: : September 2010

Abstract

Essential oils in aromatic plants are one of the valuable classes of natural product with medicinal properties. Many species from the genus of Eucalyptus contain essential oils and these oils could be used because of their antimicrobial effects. In this research, the essential oils of ten Eucalyptus species were obtained by hydro-distillation and examined against *Escheichia coli* (1330) and *Micrococcus loteus* (1110). The Eucalyptus species were *Eucalyptus gilli, E. microcarpa, E. kingesmillii*, *E. loxophleba, E. gongylocarpa, E. salubris*, *E. erythrocorys*, *E. salmonophloia*, *E. spathulata* and *E. flocktoniae*. The essential oils were analyzed by capillary GC and GC/MS. Antimicrobial effects of essential oils were evaluated after dilution with dimethyl sulfoxide (DMSO) through agar diffusion method. The results showed that the main component of all essential oils was 1,8-cineole and α-pinene. The highest amount of 1,8-cineole (82.1%) was found in the oil of *E. kingesmillii* and the lowest amount (59.6%) was found in the oil of *E. salubris*. The results showed that all oils were effective against two bacteria. The diameters of inhibitory zones on *Micrococcus loteus* and *Escheichia coli* were 10 to 49 mm and 10 to 22 mm respectively.

Key words: *Eucalyptus*, essential oil, 1,8-cineole, antimicrobial effects, *Micrococcus loteus*, *Escherichia coli*.