



## بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی آن

زهرا ایزدی<sup>۱</sup>، علی سروش‌زاده<sup>۱\*</sup>، سیدعلی محمد مدرس ثانوی<sup>۱</sup>

محمود اثنی‌عشری<sup>۲</sup>، پوران‌دخت داودی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

<sup>۲</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا همدان

<sup>۳</sup> گروه بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

(دریافت مقاله: ۹۱/۵/۲۴ - پذیرش مقاله: ۹۱/۶/۸)

### چکیده

**زمینه:** گیاه سرخارگل، گیاهی علفی می‌باشد که به‌عنوان قابض، ضد عفونی کننده، ضد میکروب و ضد مسمومیت به‌کار می‌رود. هدف اصلی پژوهش کنونی بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس حاصل از اندام هوایی این گیاه بر تعدادی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم مثبت و منفی، قارچ‌های رشته‌ای و مخمر می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این بررسی تجربی آزمایشگاهی نمونه گیاهی برای تهیه اسانس در مرحله گل دهی کامل جمع‌آوری گردید. استخراج اسانس از اندام هوایی به‌روش تقطیر با آب و به‌کارگیری دستگاه کلونجر انجام شد. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی انجام شد. خواص ضد میکروبی اسانس گیاه با استفاده از روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و رقیق‌سازی در چاهک (میکروبراث دایلوژن) بررسی شد. در پایان داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۵ و به کمک آزمون‌های آماری t و دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** شناسایی اجزای اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی وجود ۲۹ ترکیب را نشان داد که در مجموع ۹۶/۲۱ درصد از کل اسانس را تشکیل دادند. در میان ترکیبات شناسایی شده جرم‌اثر دی (۵۳/۳۰ درصد)، پاراسیمن (۹/۷۸ درصد)، بتا کاریوفیلن (۷/۵۲ درصد)، آلفا هومولن (۵/۲۲ درصد)، بتا بیسبولن (۴/۴۳ درصد) و آلفا پینن (۴/۲۳ درصد) به‌ترتیب اجزای اصلی اسانس بودند. اسانس حاصل از اندام هوایی با میانگین قطر هاله عدم رشد ۳۹/۶۳ میلی‌متر اثر ضدقارچی خوبی در مقابل قارچ‌های رشته‌ای و مخمر نشان داد. میکروارگانیسم‌ها از نظر مقاومت نسبت به اسانس گیاهی متفاوت بوده و باکتری‌ها (گرم مثبت و گرم منفی) نسبت به قارچ‌ها و باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقاوم‌تر بودند. پسودوموناس آئروژینوزا و سالمونلا تیفی‌موریوم از سایر میکروارگانیسم‌ها نسبت به اسانس مقاوم‌تر بودند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس گیاه سرخارگل دارای اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی که مقاومت میکروبی به آن‌ها رو به افزایش است، به‌کار رود.

**واژگان کلیدی:** گیاه سرخارگل، اسانس، جرم‌اثر دی، خواص ضد میکروبی

\* تهران، پل نصر، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، صندوق پستی: ۳۳۶-۱۴۱۱۵

## مقدمه

به مقاومت روزافزونی که میکروارگانیسم‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از خود نشان می‌دهند، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان به‌عنوان عوامل طبیعی که اثرهای کشندگی و بازدارندگی بر عوامل بیماری‌زا دارند، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. همچنین در ذائقه مردم نیز میل بیشتری نسبت به مصرف داروهای گیاهی به جای داروهای شیمیایی دیده می‌شود (۷).

سرخارگل<sup>۱</sup> از جمله گیاهان دارویی مهمی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارد. با وجود اینکه بومی ایران نیست اما در سال‌های اخیر وارد گیاهان بومی ایران شده است. این گیاه علفی، چند ساله و متعلق به تیره میناسانان (گل ستاره)<sup>۲</sup> است و دارای ریزوم کوتاه و ریشه مستقیم و کم و بیش منشعب به رنگ قهوه‌ای تیره تا سفید مات است. ساقه این گیاه قائم و استوانه‌ای شکل بوده و رنگ آن به‌علت وجود آنتوسیانین سبز روشن، آبی و یا حتی قرمز رنگ می‌باشد (۸). برگ‌ها پهن، نيزه‌ای و یا بیضوی شکل است (۹ و ۱۰). گل‌ها مخروطی شکل و در انتهای ساقه‌های اصلی و فرعی پدیدار می‌شوند. طول گلچه‌های زبانه‌ای ۴ تا ۶ و پهنای آن ۰/۵ تا ۰/۶ سانتی‌متر می‌باشد (شکل ۱) (۹).

تمام پیکر این گیاه اعم از ریشه و پیکر رویشی حاوی مواد مؤثره ارزشمندی از قبیل ترکیبات آلکیل آمیدی، ۲-متیل بوتیل آمید، مواد فنلی به‌ویژه شامل مشتقات کافئیک اسید و فلاونوئیدهایی مانند کوئرستین و کامفرول (۱۱)، ترکیبات پلی ساکاریدی مانند اکیناسین، اکتاکوزید، اکتینولون و همچنین اسانس است (۱۲ و ۱۳). مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را هومولن، کاریوفیلن،

امروزه با اینکه بخش عظیمی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند، اما تخمین زده شده که دست کم یک سوم کلیه فرآورده‌های دارویی منشأ گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته‌اند. استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها قرن‌ها سابقه دارد. داروهای گیاهی به‌دلیل دارا بودن منشأ طبیعی و همچنین نزدیکی و سازگاری با فیزیولوژی بدن انسان در مقام مقایسه با داروهای شیمیایی، خطرات و عوارض جانبی کمتری را در پی دارند. این ویژگی یکی از دلایل اصلی رویکرد و تمایل دوباره مردم به گیاهان دارویی و استفاده از آن در قیاس با داروهای شیمیایی شده است (۱).

از این‌رو صنایع داروسازی و گروه‌های تحقیقاتی در بسیاری از کشورها توجه خود را به کشت و تولید گیاهان دارویی معطوف داشته و هر ساله هزاران هکتار را به کشت و پرورش گیاهان دارویی اختصاص می‌دهند (۲). با توجه به اینکه هر چه مقدار مواد مؤثره یک گیاه دارویی بیشتر باشد، استحصال آن در صنایع داروسازی مقرون به صرفه می‌باشد، بنابراین شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاهان و اثر آنها از اهمیت فراوانی برخوردار است (۳).

متابولیت‌های ثانویه گیاهی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از نظر اثرهای ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند و مشخص شده است که بیشتر اسانس‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارای ویژگی‌های ضد میکروبی می‌باشند (۴ و ۵).

بنابراین اسانس‌های گیاهی در زمینه‌های فارماکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی پزشکی و بالینی و فیتوپاتولوژی به شدت غربالگری شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۶). امروزه با توجه

<sup>1</sup> *Echinacea purpurea* L.

<sup>2</sup> Asteraceae

اکسید کاریوفیلین، جرماکرن D، بورنئول و بورنیل استات

تشکیل می‌دهد (۱۴ و ۱۵).



شکل (۱) گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.)

(Friedman) و همکاران گزارش نمودند که اسانس بابونه کبیر<sup>۵</sup> فعالیت ضد میکروبی در مقابل همه میکروارگانیسم‌های مطالعه شده نشان می‌دهد و این اثر با اثر آنتی‌بیوتیک‌های تجاری قابل مقایسه می‌باشد (۲۲). کردلی (Kordaly) و همکاران ترکیب‌های شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس ترخون<sup>۶</sup> علیه ۹ سوش باکتریایی به روش دیسک دیفیوژن بررسی کردند و اظهار نمودند که این گیاه اثر ضد باکتریایی داشته و می‌تواند برای مقابله با میکروب‌های بیماری‌زای خاص مورد استفاده قرار گیرد (۲۳). در پژوهش دیگری، اثر ضد باکتریایی عصاره برگ حرا<sup>۷</sup> باعث مهار باکتری‌های اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس شد (۲۴).

بنابراین در تحقیق کنونی ضمن بررسی دقیق ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس گیاه سرخارگل در شرایط اقلیمی محل انجام آزمایش، اثر ضد میکروبی اسانس در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (از گروه باکتری‌ها، قارچ‌های رشته‌ای و مخمر) در شرایط

مواد نام برده خاصیت ضد قارچ، باکتری و ویروسی داشته و از آن‌ها داروهای پیش‌گیری کننده و همچنین درمان کننده سرماخوردگی، برونشیت و عفونت‌های ریوی تهیه می‌شود. مواد مؤثره این گیاه سبب تقویت سیستم دفاعی بدن و افزایش تولید ایمونوگلوبین G نیز می‌شود (۱۶ و ۱۷). همچنین این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارا می‌باشد که به اجزاء پلی‌فنلی آن نسبت داده می‌شود (۱۸). اخیراً سازمان بهداشت جهانی نیز مصرف موضعی آن را علاوه بر موارد فوق، در درمان التهابات پوستی تأیید کرده است و به‌عنوان کاندید درمان بیماری ایدز مطرح می‌باشد (۱۹).

نتایج مطالعات قبلی نشان‌دهنده فعالیت ضد میکروبی متوسط تا قوی گیاهان خانواده میناسانان است (۲۰). سینگ (Singh) و همکاران گزارش دادند که اسانس بابونه آلمانی<sup>۳</sup> علیه میکروارگانیسم‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسایتوتنز مؤثرتر از اسانس همیشه بهار<sup>۴</sup> است (۲۱). فریدمن

<sup>5</sup> *Tanacetum parthenium* L.

<sup>6</sup> *Artemisia dracunculus* L.

<sup>7</sup> *Avicennia marina* L.

<sup>3</sup> *Matricaria chamomilla* L.

<sup>4</sup> *Calendula officinalis* L.

آزمایشگاه نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد. به منظور تأمین اسانس گیاهی بوته‌های گیاه سرخارگل از ارتفاع پنج سانتی‌متری سطح زمین و در مرحله گلدهی کامل از مزرعه آموزشی پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان جمع‌آوری شد و سپس در سایه خشک گردید. نمونه‌ای از گیاه برای شناسایی و تأیید به هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی همدان ارسال و با نام علمی (*Echinacea purpurea* L.) تأیید گردید. اسانس‌گیری از ۲۰۰ گرم بافت آسیاب شده بوته‌ها در مدت ۳ ساعت (با توجه به دارونامه اروپا) در دستگاه کلونجر و به‌روش تقطیر با آب انجام گردید و توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد. نمونه به‌دست آمده تا هنگام تعیین خواص ضد میکروبی آن و همچنین تعیین میزان ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس در ظرف شیشه‌ای تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲۵). قبل از انجام آزمایش‌های زی‌سنجی در تعیین خواص ضد میکروبی، به‌منظور جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده شد. جهت یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون برای دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس به‌دست آمده ابتدا به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شده که پس از جداسازی طیف‌ها جهت شناسایی پیک‌ها به نحو مطلوب از گاز کروماتوگراف مجهز به دتکتور جرمی استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوگراف واریان CP-3800 مجهز به ستون DB-1 به طول ۲۵ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد به‌کار گرفته شد. برنامه‌ریزی حرارتی

ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و پس از ۱ دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۴ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای دتکتور و محفظه تزریق به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. جهت آنالیز و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس از گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج جرمی از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه برنامه‌ریزی ستون در دستگاه کروماتوگراف گازی بود. گاز حامل هلیوم و سرعت حرکت آن ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. دمای یونیزاسیون ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد بود. سری آلکان‌های نرمال C۶-C۲۴ نیز تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس، برای محاسبه شاخص بازداری<sup>^</sup> (RI) اجزای اسانس به دستگاه تزریق شد. شاخص بازداری اجزای نمونه با استفاده از برنامه رایانه‌ای محاسبه شد. میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه در بررسی زی‌سنجی اثر ضد میکروبی اسانس سرخارگل شامل کوکسی‌های گرم مثبت، باسیل‌های گرم مثبت و گرم منفی، قارچ‌های رشته‌ای و مخمر بودند (جدول ۱).

به‌منظور تعیین خاصیت ضد میکروبی اسانس این گیاه، سویه‌های باکتریایی روی نوترینت آگار (Nutrient agar) و سویه‌های قارچ و مخمر روی سابورودکستروز آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند. ۲-۳ کلنی از کشت شبانه هر سویه میکروبی به سرم فیزیولوژی استریل افزوده شد و کدورت آن‌ها با ۰/۵ مک فارلند تنظیم گردید. سوسپانسیون باکتریایی (معادل ۱×۱۰<sup>۸</sup> واحد تشکیل‌دهنده کلونی در میلی‌لیتر) آماده بر روی مولر

<sup>^</sup>. Retention Index

آنتی‌بیوتیک به‌عنوان کنترل روی کشت قرار داده شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جتتامایسین، وانکومایسین و آمفوتریسین B به‌ترتیب با دوز ۱۰ میکروگرم، ۳۰ میکروگرم و ۱۰۰ واحد استفاده شد. جهت حصول اطمینان از نتایج به‌دست آمده برای اسانس مورد نظر، آزمایش‌های بالا برای هر سویه سه بار تکرار شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (USA, Il, Chicago, SPSS Inc) ویرایش ۱۵ و آزمون‌های آماری تی و دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

هینتون (Muller Hinton) آگار و سوسپانسیون فارچی (۱۰۵) واحد تشکیل‌دهنده کلونی در میلی‌لیتر) روی سابورودکستروز آگار تلقیح گردیده سپس دیسک‌های کاغذی استریل (قطر ۶ میلی‌متر) حاوی ۲ میکرولیتر اسانس که در ۲۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید حل شده است روی محیط‌های کشت شده قرار داده شد. کشت‌های باکتریایی و قارچی به‌ترتیب ۲۴ و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۲۵) و (۲۶). دیسک حاوی دی‌متیل سولفوکساید و دیسک

جدول ۱) میکروارگانسیم‌های مورد بررسی در زی‌سنجی اثر ضد میکروبی اسانس سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.)

نام میکروارگانسیم	کد اختصاری	نوع میکروارگانسیم
استافیلوکوکوس اورنوس	(ATCC ۲۵۹۲۳)	کوکوس گرم مثبت
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	(ATCC ۱۴۹۹۰)	کوکوس گرم مثبت
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	(ATCC ۱۳۵۱۸)	کوکوس گرم مثبت
باسیلوس سرئوس	(ATCC ۱۲۴۷)	باسیل گرم مثبت
باسیلوس سوبتیلیس	(ATCC ۶۰۵۱)	باسیل گرم مثبت
لیستریا مونوسایتوزنز	(ATCC ۷۶۴۴)	باسیل گرم مثبت
سالمونلا تیغی‌موریوم	(ATCC ۱۹۴۳۰)	باسیل گرم منفی
شیگلا فلکسنری	(ATCC ۱۲۳۴)	باسیل گرم منفی
کلبسیلا پنومونیه	(ATCC ۱۰۰۳۱)	باسیل گرم منفی
پسودوموناس آئروژینوزا	(ATCC ۱۰۷۴)	باسیل گرم منفی
سراشیا مارسنس	(ATCC ۱۱۱۱)	باسیل گرم منفی
اشرشیاکلی	(ATCC ۱۵۷)	باسیل گرم منفی
اشرشیاکلی	(ATCC ۲۵۹۲۳)	باسیل گرم منفی
کاندیدا آلیکانس	(ATCC ۵۰۲۷)	قارچ
آسپرژیلوس نایگر	(ATCC ۱۶۴۰۴)	قارچ
کاندیدا کروزی	ایزوله بالینی	مخمر

سرخارگل در دی‌متیل سولفوکساید ۱۰ درصد با غلظت ۲-۰/۱۲۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر تهیه شد (۲۸). سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی افزوده شد. استاندارد تهیه شده (معادل ۰/۵ مک فارلند) در مرحله قبل رقیق گردید، به نحوی که غلظت سوسپانسیون میکروبی برای باکتری‌ها  $10^5$  واحد تشکیل دهنده کلونی در میلی‌لیتر و برای قارچ‌ها  $10^4$  واحد

در روش رقیق‌سازی در چاهک (میکروبراث دایلوژن) (micro broth dilution)، حداقل غلظت مهارکننده رشد<sup>۹</sup> (MIC) و حداقل غلظت کشنده رشد<sup>۱۰</sup> (MBC) اسانس بر میکروارگانسیم‌های مختلف تعیین شد. بدین‌منظور در این روش سری دو برابر رقت از اسانس

<sup>۹</sup> Minimum Inhibitory Concentration

<sup>۱۰</sup> Minimum Bactericidal Concentration

رشد ۳۳/۵-۳۴/۴ میلی‌متر). مخمر کاندیدا کروز با قطر هاله عدم رشدی معادل ۳۴/۴ میلی‌متر، نظیر باکتری‌های گرم مثبت (۳۴-۱۶/۵ میلی‌متر) نسبت به این اسانس حساسیت نشان می‌دهد.

جدول ۲) ترکیبات شیمیایی و مقادیر آن‌ها در اسانس گیاه

سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.)

ردیف	ترکیب	شاخص بازداری	میزان ترکیب (%)
۱	$\alpha$ -Pinene	۹۱۹	۴/۲۳
۲	Benzaldehyde	۹۲۳	۰/۰۱
۳	Sabinene	۹۲۸	۰/۳۲
۴	2-octanol	۹۳۷	۰/۰۲
۵	$\beta$ -Pinene	۹۵۹	۱/۵۴
۶	Limonene	۹۸۳	۰/۶۴
۷	$\alpha$ -Phellandrene	۹۹۲	۰/۲۱
۸	$\delta$ -Elemene	۱۰۰۵	۰/۳۳
۹	$\rho$ -Cymene	۱۰۱۸	۹/۷۸
۱۰	$\beta$ -Caryophyllene	۱۰۳۳	۷/۵۲
۱۱	$\alpha$ -Terpinene	۱۰۳۹	۰/۶۳
۱۲	$\beta$ -Cedrene	۱۰۴۳	۰/۲۲
۱۳	Pinocarvone	۱۱۲۱	۰/۳۴
۱۴	$\alpha$ -Humulene	۱۱۷۸	۵/۲۲
۱۵	Borneol	۱۲۰۶	۰/۱۹
۱۶	Germacrene D	۱۲۷۴	۵۳/۳۰
۱۷	Myrtenal	۱۳۰۹	۰/۲۱
۱۸	Carvacrol	۱۳۱۵	۰/۱۰
۱۹	$\gamma$ -Cadinene	۱۳۶۳	۰/۹۳
۲۰	methyl acetate	۱۴۱۲	۰/۲۴
۲۱	$\beta$ -Bisabolene	۱۴۳۶	۴/۴۳
۲۲	Copaene	۱۴۹۷	۱/۳۱
۲۳	Caryophyllene oxide	۱۵۱۵	۱/۵۳
۲۴	Globulol	۱۵۳۶	۰/۴۳
۲۵	Calamenene	۱۵۴۷	۰/۱۳
۲۶	$\alpha$ -Cadinol	۱۵۶۹	۰/۳۱
۲۷	Spathulenol	۱۵۷۴	۰/۲۴
۲۸	Farnesol	۱۵۹۶	۰/۳۱
۲۹	Valencene	۱۶۰۵	۱/۵۴

با توجه به میانگین اثر اسانس سرخارگل بر میکروارگانیسم‌های مختلف، قارچ‌های رشته‌ای و مخمر کاندیدا کروز در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت در درجه اول قرار دارند (جدول ۳).

تشکیل‌دهنده کلونی در میلی‌لیتر تنظیم گردید و در مورد باکتری‌ها از محیط مولر هیتون براث و در قارچ‌ها و مخمر از محیط RPMI۱۶۴۰ که pH آن با مورفولین پروپان سولفونیک اسید (MOPS) ۰/۱۶۵ مولار به ۷/۲ رسیده استفاده گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به هر چاهک افزوده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت برای باکتری‌ها و به مدت ۴۸ ساعت برای قارچ‌ها انکوبه گردیدند.

### یافته‌ها

اسانس حاصل از اندام هوایی گیاه سرخارگل به رنگ زرد و دارای بویی نافذ بود. بررسی اجزای اسانس سرخارگل در جدول ۲ آمده است. در اسانس این گیاه ۲۹ ترکیب شناسایی شد که ۹۶/۲۱ درصد اسانس را شامل شد. اجزای مهم اسانس به ترتیب شامل جرماکرن دی (۵۳/۳۰ درصد)، پارا سیمن (۱۹/۷۸ درصد)، بتا کاریوفیلین (۷/۵۲ درصد)، آلفا هومولن (۵/۲۲ درصد)، بتا بیسابولن (۴/۴۳ درصد) و آلفا پینن (۴/۲۳ درصد) بودند.

اثر اسانس بر میکروارگانیسم‌های مختلف نشان داد که اسانس سرخارگل بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، قارچ‌ها و مخمر مؤثر است اما میزان اثربخشی آن بسته به نوع ارگانیسم متفاوت است (جدول ۳). متوسط قطر هاله عدم رشد ( $\text{means} \pm \text{SD}$ ) اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت  $25/5 \pm 0/81$  و وانکومایسین  $21/06 \pm 0/63$  میلی‌متر، باکتری‌های گرم منفی  $12/62 \pm 0/44$  و جنتامایسین  $19/42 \pm 0/57$  میلی‌متر و قارچ‌ها و مخمر است (جدول ۳). بر اساس روش دیسک دیفیوژن مخمر و قارچ‌ها در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌ها، نسبت به اسانس سرخارگل حساس‌تر می‌باشند (قطر هاله عدم

جدول ۳) بررسی اثر ضد میکروبی اسانس گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.)

حداقل غلظت رشد (µl/ml)		قطر هاله عدم رشد (میلی متر)				نوع میکروارگانیسم
MBC	MIC	آمفوتریسین B ۱۰۰ واحد در هر دیسک	جنتامایسین ۱۰ میکروگرم در هر دیسک	ونکومایسین ۳۰ میکروگرم	اسانس سرخارگل	
۰/۵	۰/۵	-	-	۲۷/۴±۰/۴	۳۴/۰±۰/۷	استافیلوکوکوس اورئوس
۱	۰/۵	-	-	۱۹/۶±۰/۰	۱۶/۵±۰/۰	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
۰/۵	۰/۲۵	-	-	۱۸/۰±۱/۲	۲۵/۵±۱/۴	استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس
۲	۱	-	-	۲۰/۴±۰/۸	۲۱/۲±۱/۲	باسیلوس سوبتیلیس
۲	۰/۵	-	-	۱۸/۸±۱/۰	۲۹/۸±۰/۴	باسیلوس سرئوس
۰/۵	۰/۵	-	-	۲۲/۲±۰/۴	۲۶/۰±۱/۲	لیستریا مونوسایتوزنز
		-	-	۲۱/۰۶±۰/۶۳	۲۵/۵۰±۰/۸۱	Means±SD
۴	۴	-	۲۰/۵±۰/۰	-	۷/۵±۰/۰	سالمونلا تیفی موریوم
۲	۱	-	۱۷/۴±۰/۶	-	۱۴/۲±۰/۶	شیگلا فلکسنری
۰/۵	۰/۵	-	۱۹/۳±۰/۵	-	۲۱/۵±۱/۴	کلبسیلا پنومونه
۸	۸	-	۲۳/۲±۱/۰	-	۶/۵±۰/۰	پسودوموناس آنروژینوزا
۲	۲	-	۲۰/۲±۱/۳	-	۱۰/۲±۰/۴	سراشیا مارسنس
۲	۱	-	۱۸/۱±۰/۰	-	۱۵/۵±۰/۷	اشرشیاکلی (۱۵۷)
۲	۲	-	۱۷/۳±۰/۶	-	۱۳/۰±۰/۰	اشرشیاکلی (۲۵۹۲۳)
		-	۱۹/۴۲±۰/۵۷	-	۱۲/۶۲±۰/۴۴	Means±SD
۴	۰/۱۲۵	۱۱/۳±۱/۲	-	-	۴۳/۵±۰/۰	آسپرژیلوس نایگر
۱	۰/۵	۱۰/۴±۰/۰	-	-	۳۴/۴±۰/۶	کاندیدا کروزی
۲	۰/۵	۱۴/۲±۱/۰	-	-	۴۱/۰±۰/۰	کاندیدا آلیکانس
		۱۱/۹۶±۰/۷۳	-	-	۳۹/۶۳±۰/۲۰	Means±SD

باسیلوس سرئوس، آسپرژیلوس نایگر و کاندیدا آلیکانس چند برابر غلظت مهار کنندگی رشد آن‌هاست. در بین باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسایتوزنز و در بین باکتری‌های گرم منفی پسودوموناس آنروژینوزا، سالمونلا تیفی موریوم، کلبسیلا پنومونه، سراشیا مارسنس و اشرشیاکلی (۲۵۹۲۳) حداقل غلظت مهار کنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی رشد برابر است (جدول ۳).

### بحث

یافته‌ها نشانگر آن است که ترکیب‌های جرماکرن دی،

آسپرژیلوس نایگر با حداقل غلظت مهار کننده رشد کوچکتر و قطر هاله بزرگتر از میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلیکانس و کاندیدا کروزنی نسبت به اسانس سرخارگل حساس تر می‌باشد. در بین باکتری‌های گرم مثبت، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس کوچکترین قطر هاله عدم رشد را نشان می‌دهد. پسودوموناس آنروژینوزا و سالمونلا تیفی موریوم کوچکترین قطر هاله عدم رشد را به ترتیب با ۶/۵ و ۷/۵ میلی متر در بین میکروارگانیسم‌ها نشان می‌دهند (جدول ۳).

کلبسیلا پنومونه نسبت به سایر باکتری‌های گرم منفی حساس تر می‌باشد. حداقل غلظت کشندگی رشد

دی آن است. در عین حال نباید اثر هم‌افزایی و بر هم‌کنش‌های منفی سایر ترکیبات اسانس در بروز ویژگی‌های ضد میکروبی را از نظر دور داشت، زیرا اسانس مخلوطی از اجزای شیمیایی مختلف است و پژوهش‌ها نشان داده‌اند که خواص ضد میکروبی اسانس در گیاهانی مانند مریم‌گلی<sup>۱۱</sup>، آویشن<sup>۱۲</sup> و مرزنجوش<sup>۱۳</sup> به دلیل اثرات هم‌افزایی که ترکیبات جزئی اسانس با سایر ترکیب‌های آن دارند، افزایش می‌یابد (۳۱).

بر اساس بررسی‌های 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 ضدباکتریایی اسانس‌ها حساسیت کمتری از خود نشان دهند. این غشاء خارجی انتشار مواد هیدروفوب از میان این لایه پوشاننده لیپولی ساکاریدی را محدود می‌کند. در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیب‌های هیدروفوب اسانس‌ها با این فسفولیپید دو لایه‌ای صورت می‌گیرد. این محل جایی 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 (۳۲). بر اساس بررسی منابع، ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس‌های روغنی و عصاره گیاهان دارویی خانواده میناسانان بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است (۲۰ و ۳۳).

گازیم (Gazim) و همکاران، اثر ضد میکروبی همیشه بهار بر تعدادی باکتری گرم منفی و گرم مثبت را بررسی نمودند و نتیجه گرفتند که اسانس این گیاه بر باکتری‌های

پارا سیمن، بتا کاریفیلین، آلفا هومولن، بتا بیسابولن و آلفا پینن ترکیبات عمده اسانس سرخارگل بوده و بخش عمده اسانس گیاه حاوی ترکیب جرماکرن دی بود. برخی منابع میزان و اجزای اسانس سرخارگل را گزارش نموده‌اند. تاپا (Thappa) و همکاران ترکیبات میرسنن (۲۶/۱ درصد)، بتا پینن (۱۳ درصد) و جرماکرن دی (۷/۲ درصد) را به عنوان ترکیب‌های اصلی گزارش نمودند (۲۹). اختلافات موجود در اسانس این گیاه در مناطق مختلف گزارش شده است (۳۰). ترکیب‌های بنزالدهید، ۲ اکتانول، پاراسیمن، آلفا ترپینن، پینوکارون، میرتنال، کارواکرول، متیل استات، کالامین و والنسن تاکنون در هیچ یک از منابع گزارش نشده است. بنابراین می‌توان بیان نمود که تغییر در میزان اجزای اسانس به عوامل مختلفی از جمله شرایط کشت، زمان جمع‌آوری و اندام مورد استفاده بستگی دارد و ممکن است بر خاصیت ضد میکروبی آن اثرگذار باشد. به نظر می‌رسد، نوسان‌های شدید نوع و میزان ترکیب‌های موجود در اسانس این گیاه ناشی از تفاوت‌های بوم‌شناختی (اکولوژیک: طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم، خاک و غیره) بوده و شرایط متفاوت اقلیمی و اداپتیکی، (adaptic) مسیره‌های متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثره را در این گیاه تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شود.

یافته‌های این پژوهش، نشان می‌دهد که اسانس دارای اثر ضدقارچی بسیار مطلوبی است، به گونه‌ای که اثر ۲ میکرولیتر از این اسانس از اثر آموتریسین B بر مخمر و قارچ‌های مطالعه شده و همچنین باکتری‌های گرم مثبت و منفی به مراتب بیشتر است. به نظر می‌رسد که اثر قارچ‌کشی اسانس این گیاه مربوط به محتوی جرماکرن

<sup>۱۱</sup> *Salvia officinalis* L.

<sup>۱۲</sup> *Thymus vulgaris* L.

<sup>۱۳</sup> *Origanum vulgare* L.

<sup>۱۴</sup> به کنترل‌های زیست محیطی که به خاک وابسته هستند، عوامل اداپتیکی می‌گویند.



لژیونلا نموفیلا و هموفیلوس آنفلوانزا نسبت به عصاره الکلی این گیاه حساس و میکروارگانسیم استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم است (۴۱).

مطالعه فوق نشان می‌دهد که اسانس سرخارگل، منبعی سرشار از ترکیب‌های فعال بیولوژیک می‌باشد و به‌عنوان منبعی مفید از عوامل ضدباکتریایی و ضدقارچی جدید می‌تواند به‌کار گرفته شود. در سال‌های اخیر، مقاومت در پاتوژن‌ها افزایش یافته است، به‌طوری که مقاومت به چند دارو در باکتری‌هایی نظیر پseudomonas آئروژینوزا، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شده است (۴۲).

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق و محدودیت‌های روز افزون استفاده از مواد شیمیایی ضد میکروبی مانند عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی نیاز به جایگزینی این مواد با مواد طبیعی و اسانس‌های گیاهی احساس می‌شود که این مسئله می‌تواند زمینه‌ساز بررسی‌های بیشتر و کاربردی برای جایگزینی مواد فوق در جهت حفظ مواد خوراکی و کنترل بیماری‌ها باشد. در گزارشات برخی از عوارض تحریک جوش‌های پوستی و تشدید ناراحتی تنفسی به‌خصوص در افراد مبتلا به آسم گزارش شده است (۴۳). همچنین گزارش شده است که زنان باردار و افراد دیابتی نباید از این گیاه استفاده نمایند (۴۴). اگر چه مطالعه حاضر اطلاعاتی در زمینه ترکیب‌های شیمیایی و اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه سرخارگل ارائه می‌کند اما در این مطالعه به دلیل محدودیت زمانی و مالی، اثرات همه ترکیبات شیمیایی اسانس این گیاه بر انواع مختلف میکروب‌ها امکان‌پذیر نبود و نیاز است محققین با فراهم‌آوری هزینه و امکانات مربوطه به منظور یافتن اطلاعات بسیار دقیق‌تر و جامع‌تر در این جهت گام بردارند.

اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مؤثر بود (۳۴). کاپادیا (Kapadia) و تالیب (Talib) اثر ضد میکروبی اسانس بابونه آلمانی بر ۶ باکتری گرم مثبت و گرم منفی را بررسی نمودند. بررسی‌های آنان نشان داد که اسانس این گیاه بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باکتری‌های گرم منفی سراسیا مارسنس و اشرشیاکلی دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی در مقایسه با جتتامایسین بود، در حالی که در مقایسه با اریترومایسین و کلرامفنیکل اثرات بسیار ضعیفی داشت (۳۵).

در بررسی دیگری، اثر ضد میکروبی عصاره الکلی و کلروفومی بابونه باعث مهار اشرشیاکلی و لیستریا مونوسایتوژنز شدند (۳۶). یسیل سلیکتاس (Yesil Celiktas) و همکاران اثر عصاره متانولی رزماری<sup>۱۵</sup> را بر باکتری باسیلوس سرئوس مشاهده نمودند (۳۷). در تحقیق صورت گرفته مشاهده شد که عصاره سرخارگل اثر بازدارندگی بر میکروارگانسیم‌های لیستریا مونوسایتوژنز و کاندیدا آلبیکانس داشته است (۳۸). همچنین در مطالعه‌ای دیگر بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره این گیاه مشخص شد که عصاره متانولی این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی مؤثری روی رشد میکروارگانسیم‌های ساکارومایسس سرویزیه، کاندیدا شهاثاته، کاندیدا کفیر، کاندیدا آلبیکانس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا مالتوزا می‌باشد (۳۹). ستانساولجویک (Stanisavljevic) و همکاران گزارش نمودند که عصاره الکلی سرخارگل روی تمام میکروارگانسیم‌های مورد بررسی به‌جز اسپرژیلوس نایگر مؤثرتر از آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش بود (۴۰). هدسن (Hudson) اظهار نمود که از میان میکروارگانسیم‌های مورد بررسی استرپتوکوک پیوژنز،

<sup>15</sup> *Rosmarinus officinalis* L.

## سپاس و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولان محترم دانشگاه علوم پزشکی همدان و دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا که

امکان انجام این پژوهش را فراهم نمودند، سپاس‌گزاری می‌گردد.

## References:

- Omidbaigi R, editor. Production and processing of medicinal plants. 4th ed. Tehran: Astan GhodsPub; 2006: p. 37-40.
- George P. Concerns regarding the safety and toxicity of medicinal plants-An overview. J Appl Pharm Sci 2011; 1: 40-4.
- Radford AE. Quantitation analysis of polysaccharids and glycoprotein fractions in *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* by HPLC-ELSD for quality control of raw material. J Pharmacol Biomed 2007; 45(4): 115-20.
- Tepe B, Donmez E, Unlu M, et al. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia multicaulis*. Food Chem 2004; 84: 519-25.
- Kordali S, Kotan R, Mavi A, et al. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. J Agric Food Chem 2005; 53: 9452-8.
- Deferera DJ, Ziogas BN, Polission MG. GC/MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungi toxicity on *Penicillium digitatum*. J Agric Food Chem 2000; 48: 2576-81.
- Morteza Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR, et al. Study and comparison of the antimicrobial activity of methanolic extracts of several species of *Stachys* and *Phlomis* (Persian). J Mazandaran Univ Med Sci 2007; 57: 57-66
- Ceeh R. Phytochemical variation within populations of *Echinacea angustifolia* (Asteraceae). Biochem Syst Ecol 2002; 30: 837-54.
- Chicca A, Adinolfi B, Martinotti E, et al. Cytotoxic effects of *Echinacea* root hexanic extracts on human cancer cell lines. J Ethnopharmacol 2007; 110: 148-53.
- Omidbaigi R. Study of cultivation and adaptability of purple coneflower (*Echinaceae purpurea*) in the north of Tehran (Persian). Isfahan Univ Technol 2002; 6: 231-41.
- Wu L, Bea J, Kraus G, et al. Diacetylenic isobutylamides of *Echinacea*: synthesis and natural distribution. Phytochemistry 2004; 65: 2477-84.
- Zollinger N, Kjelgren R, Cerny-Koenig T, et al. Drought responses of six ornamental herbaceous perennials. Sci Hortic 2006; 109: 267-74.
- Chen Y, Fu T, Tao T, et al. Macrophage activating effects of new alkamides from the roots of *Echinacea* species. J Nat Prod 2005; 68: 773-7.
- Dalby-Brown L, Barsett H, Iando AK, et al. Synergistic antioxidative effects of alkamides, caffeic acid derivatives and polysaccharide fractions from *Echinacea purpurea* on in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. J Agric Food Chem 2005; 53: 9413-23.
- Galambosi B, Palevitch D, Simon E, et al. Introduction of *Echinacea purpurea* and *Leuzea carthamoides* into cultivation in Finland. Acta Hort 1992; 331: 169-78.
- Bauer R, Khan IA, Wanger H. TLC and HPLC analysis of *Echinacea pallida* and *Echinacea angustifolia* roots. Planta Medica 1988; 54: 426-30.
- Anonymous Cultivation of *Echinaceae*. Heil und Gewurzpflanzen 31. 1986
- Hu C, Kitts DD. Studies on the antioxidant activity of *Echinacea* root extract. J Agric Food Chem 2000; 48: 1466-72.
- Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. World Health Organization. (Accessed in May 3, 2013 at [whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241546271.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241546271.pdf)).
- Polatoglu K, Demirci F, Demirci B, et al. Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip essential oils from Turkey. J Oleo Sci 2010; 59: 177-84.
- Singh O, Khanam Z, Misra N, et al. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. Pharmacogn Rev 2011; 5: 82-95.
- Friedman M, Henika PR, Mandrell RE.

- Bacterial activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *J Food Prot* 2002; 65: 1545-60.
23. Kordaly S, Kotan R, Mavi A, et al. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *Artemisia santonicum* and *Artemisia spicigera* essential oils. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 9452-8.
  24. Tajbakhsh S, Mahmoodpour M, Haghghi M. Antibacterial Activity of *Avicennia marina* leaves extract on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *ISMJ* 2005; 8: 1-7.
  25. European Pharmacopoeia Commission, editor. European pharmacopoeia. 1st ed. Saint Laurent, QC, Canada: Maisonneuve; 1969; p. 4392.
  26. Eloff JN. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *J Antimicrob Chemother* 2000; 44: 1457-63.
  27. Perrucci S. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *J Med Plants* 2002; 3: 69-73.
  28. Nascimento G, Locatelli J, Freitas C. Antibacterial activity of plant extract and phytochemical on antibiotic resistant bacteria. *Braz J Microbiol* 2000; 31: 347-51.
  29. Thappa RK, Bakshi SK, Dhar PL, et al. Quantitation analysis of polysaccharides and glycoprotein fractions in *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* by HPLC-ELSD for quality control of raw material. *J Pharmacol Biomed* 2007; 45: 115-20.
  30. Shalaby AS, El-Gengaihi SE, Agina EA, et al. Growth and yield of *Echinacea purpurea* L. as influenced by planting density and fertilization. *J Herbs Spices Med Plants* 1997; 5: 69-76.
  31. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 223-53.
  32. Sandri IG, Zacaria J, Fracaro F, et al. 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.
  33. Amin GH. Antimicrobial activity of essential oil in some plants. *Braz J Med Biol Res* 2008; 44: 363-70.
  34. Gazim ZC, Rezende CM, Fraga SR, et al. Antifungal activity of the essential oil from *Calendula officinalis* L. (asteraceae) growing in Brazil. *Braz J Microbiol* 2008; 39: 61-3.
  35. Kapadia L, Talib B. Antibacterial activity of the essential oil of (*Matricaria chamomilla* L.). *J Sci Ind Res* 2000; 85: 116-20.
  36. Imelouane B, Elbachiri A, Benzeid S, et al. Physico-Chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern *Matricaria lavandula dentate*. *Int J Agric Biol* 2009; 11: 113-8.
  37. Yesil Celiktas O, Hames Kocabas EE, Bedir E, et al. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variation. *Food Chem* 2007; 100: 553-9.
  38. Sharma SM, Anderson M, Schoop SR, et al. Bactericidal and anti-inflammatory properties of a standardized Echinacea extract (Echinaforce): Dual actions against respiratory bacteria. *Phytomedicine* 2010; 17: 563-8.
  39. Binns SE, Purgina B, Bergeron C, et al. Light-mediated antifungal activity of Echinacea Extracts. *Planta Med* 2000; 66: 241-4.
  40. Stanisavljevic I, Stojicevic S, Velickovic D, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) extracts obtained by classical and ultrasound extraction. *Chin J Chem Eng* 2009; 17: 478-83.
  41. Hudson JB. The multiple actions of the phytochemistry Echinacea in the treatment of colds and flu. *J Med Plant Res* 2010; 4: 2746-52.
  42. Ahmad I, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi drug resistant human pathogens. *J Ethnopharmacol* 2001; 74: 113-23.
  43. Mullins RJ, Heddle R. Adverse reactions associated with echinaceae: the Australian experience. *Annals Allergy Asthma Immunol* 2002; 88: 42-51.
  44. Rakel RE, Bope ET. Conn's current therapy. 55th ed. Philadelphia: Saunders; 2001; p. 1267.

# Investigation on antimicrobial effects of essential oil of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) and identification of its chemical compounds

Z. Izadi<sup>1</sup>, A. Sorooshzadeh<sup>1\*</sup>, SAM. Modarres Sanavi<sup>1</sup>,  
M. Esna-Ashari<sup>2</sup>, P. Davoodi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy, School of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, IRAN

<sup>2</sup> Department of Horticultural Sciences, School of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, IRAN

<sup>3</sup> Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, IRAN

(Received 14 Aug, 2012 Accepted 29 Aug, 2012)

## Abstract

**Background:** Purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) is a perennial herbaceous with astringent properties, disinfectant, antimicrobial and anti intoxication activity. The main objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of shoot essential oil of purple coneflower against some microorganisms including gram positive, gram negative bacteria, filamentous fungi and yeasts.

**Material and Methods:** In this experimental and laboratory investigation, plant samples were collected in full blooming stage. Shoot essential oil was extracted by hydro-distillation technique using Clevenger apparatus. The chemical constituents of this oil was analyzed by GC and GC/MS method. Anti microbial properties of the essential oil were determined using micro broth dilution and well disk diffusion methods. At the end, data were analyzed by the SPSS version 15 software, using the T-test and Duncan's test.

**Results:** Twenty nine components were identified by GC and GC/MS in the essential oil of purple coneflower representing 96.21% of total oil. The major components were Germacrene D (53.30%), *l*-Cymene (9.78%),  $\beta$ -Caryophyllene (7.52%),  $\alpha$ -Humulene (5.22%),  $\beta$ -Bisabolene (4.43%) and  $\alpha$ -Pinene (4.23%), respectively. This oil exhibited strong antifungal activity against filamentous fungi and yeast with average of inhibition zone (AIZ) 39.63. Microorganisms differ in their resistance to purple coneflower oil. All of the bacteria including gram positive and gram negative bacteria are more resistant than fungi; and gram negative bacteria are more resistant than gram positive bacteria. *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhimurium* were more resistant than others.

**Conclusion:** The results of this study showed that coneflower essential oil with significant antimicrobial effects and can be used instead of synthetic antibiotics that microbial resistance towards them is increasing.

**Keywords:** purple coneflower, essential oil, Germacrene D, antimicrobial properties

\*Address for correspondence: Department of Agronomy, School of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, IRAN;  
E-mail: [soroosh@modares.ac.ir](mailto:soroosh@modares.ac.ir)