

## اثر ضد باکتریال عصاره زنیان

مهديه شفقت<sup>۱</sup> - بتول شريفی مود<sup>۲</sup> - مليحه متانت<sup>۳\*</sup> - سعیده سعیدی<sup>۴</sup> - ناهید سپهری راد<sup>۵</sup>

- ۱ - کارشناس ارشد زیست شناسی گیاهی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
- ۲ - متخصص بیماری های عفونی و طب گرمسیری، استاد مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و طب گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
- ۳ - متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشیار مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و طب گرمسیری - دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
- ۴ - کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی کرمان
- ۵ - کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و طب گرمسیری زاهدان

\* نشانی برای مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و طب گرمسیری، تلفن: ۰۵۴۱-۳۲۳۲۰۲۳،  
malihemetanat@yahoo.com

پذیرش برای چاپ: تیر نود و سه

دریافت مقاله: اردیبهشت نود و سه

### چکیده

**سابقه و هدف:** *Ajowan* یا *Trachyspermum Ammi* و یا زنیان، معمولا به عنوان یک گیاه که دانه های آن به عنوان ادویه در بسیاری از کشورهای آسیایی از جمله مصر، هند، پاکستان و ایران استفاده می شود، شناخته شده است. تیمول موجود در دانه این گیاه، به عنوان یک ماده آنتی سپتیک و آنتی باکتریال معرفی شده است. هم چنین برای تمیز کردن زخم ها و درمان عفونت های قارچی پوستی در بعضی از نقاط دنیا استفاده می شود. هدف این مطالعه تعیین اثر آنتی باکتریال عصاره زنیان بر رشد میکروارگانیسم ها مانند اشریشیا کلی، کلبسیلا، استافیلوکوک اورئوس و پنوموکوک بود.

**روش کار:** فعالیت ضد باکتریایی عصاره زنیان در برابر دو باکتری گرم منفی کلبسیلا (ATCC13183) و اشریشیا کلی (ATCC18739) و دو باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC6583) و پنوموکوک (ATCC49619) بررسی شد. سپس حداقل غلظت مهار (MIC) این ماده در برابر هر چهار باکتری تعیین شد.

**یافته ها:** اثرات ضد میکروبی عصاره *Ajowan* در برابر همه عوامل بیماری زا انتخاب شده با MIC های مختلف مشاهده شد. حداقل غلظت مهار کننده عصاره بر استافیلوکوک اورئوس ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای پنوموکوک ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و این غلظت برای اشریشیا کلی ۵ میلی گرم بر میلی لیتر و کلبسیلا ۵ گزارش شد.

**نتیجه گیری:** عصاره زنیان دارای عوامل ضد باکتری مؤثر در برابر عوامل پاتوژن انسانی، حتی عواملی که در برابر آنتی بیوتیک های رایج مقاومت نشان داده اند، است. برای درک بیش تر و کاربردی کردن آن در علم پزشکی نیاز به مطالعات بیش تری هست تا مکانیسم دقیق اثر ضد میکروبی آن مشخص شود.

**واژگان کلیدی:** *Ajowan*، عصاره، اثر بازدارندگی، میکروارگانیسم ها، زنیان

### مقدمه

در بعضی از کشورها، از آن برای درمان سردرد میگرنی، استفاده می کنند. برخی از مردم در هند، پاکستان و در جنوب شرقی ایران برای تهیه ادویه کاری از آن استفاده می کنند. گاه دانه ها را در هاون خرد و سپس در کره سرخ نموده و از آن به عنوان سس معطر استفاده می شود. یکی از خواص دارویی آن توانایی در کاهش نفخ شکم می باشد. هندی ها از ساییده دانه آن بعد از غذا جهت کمک به هضم غذا استفاده می کنند و یا آن را می توان با چای دم کرده و برای درمان قولنج و اسهال استفاده نمود. هم چنین این گیاه دارای اثر میکروب کشی و درمان اختلالاتی از قبیل خارش و دردهای دوران قاعدگی می باشد. گزارش هایی در مورد اثر دانه های این گیاه در مقابل عفونت ها وجود دارد (۴-۱). مطالعه حاضر، به بررسی فعالیت ضد میکروبی و تعیین حداقل غلظت مهار (MIC) عصاره زنیان یا *Ajowan*

زنیان گیاهی است که در بعضی مناطق دنیا از جمله هند، پاکستان، مصر و جنوب شرقی ایران از دانه های آن به عنوان ادویه استفاده می شود. در کشور هند، در پختن بعضی از غذا ها، تهیه بیسکویت و نان علاوه بر طعم- دار کردن برای خاصیت دارویی از آن استفاده می شود (۱ و ۲). دانه های زنیان غنی از فیبر، مواد معدنی، ویتامین ها و آنتی اکسیدان ها می باشد (۱). تیمول، موجود در آن که عمده ترین ترکیب شیمیایی آن می- باشد به عنوان یک آنتی باکتریال، ضد اسپاسم و داروی ضدقارچ شناخته شده است. به همین علت است که در بعضی مناطق از جمله در هند، مصر و خاورمیانه برای درمان عفونت های پوستی به کار می رود (۳). روغن دانه این گیاه نیز در خمیر دندان و عطر و لوازم آرایشی استفاده می شود (۳-۱).

درمقابل میکروارگانیزم هایی شامل اشیریشیاکولی، کلبسیلا، استافیلوکوک اورئوس و پنوموکوک پرداخته است.

## روش کار

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره استخراج شده از گیاه زنیان، سویه استاندارد میکروبی استافیلوکوک اورئوس، پنوموکوک، اشیریشیاکولی، و کلبسیلا که به سه آنتی بیوتیک رایج سفکسیم، اریترومايسين و تتراسیکلین مقاوم بودند، از شرکت پادتن طب ایران تهیه گردید.

بذر زنیان در تیرماه از منطقه سیستان جمع آوری و سپس در هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه زابل شناسایی گردید. عمل استخراج عصاره از دانه زنیان به روش Maceration انجام شد. ابتدا بذر گیاه توسط ترازوی دیجیتال به میزان پنجاه گرم توزین گردید و پس از پودر کردن آنها درون ارلن قرار گرفت و به آن اتانول هفتاد درصد افزوده شد. سپس ارلن بر روی دستگاه شیکر با نود دور در دقیقه قرار گرفت. بعد از اینکه حلال و گیاه همگن شدند محلول حاصله توسط کاغذ صافی صاف گردید. سپس محلول صاف شده در دستگاه روتاری قرار گرفت تا حلال از عصاره جدا شود. عصاره خالص به دست آمده در ویال های استریل جهت انجام آزمایشات میکروبی در یخچال نگه داری شد (۵).

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، در ابتدا ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیب دار آگار مغذی (مرک آلمان) تلقیح گردید. پس از رشد کلنی های باکتری، سطح محیط کشت با محیط نرمال سالین مورد شست و شو قرار گرفت و سوسپانسیون غلیظ میکروبی حاصل گردید. مقداری از سوسپانسیون باکتری، داخل لوله استریل درب دار حاوی نرمال سالین ریخته شد و میزان کدورت آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول ۰/۵ مک فارلند، با نرمال سالین رقیق و سوسپانسیون باکتری با غلظت  $1/5 \times 10^8$  CFU/ml تهیه گردید.

حساسیت هر سویه از باکتری های مورد نظر دارای مقاومت چندگانه، نسبت به عصاره رقت های مختلف گیاه زنیان (۱/۲۵-۲/۵-۵-۱۰ میلی گرم در میلی لیتر) با استفاده از روش رقیق سازی در محیط مایع در پلیت های ۹۶ خانه ای ته گرد مورد بررسی قرار گرفت. به خانه های ردیف اول پلیت فقط محیط کشت (کنترل منفی) و سوسپانسیون باکتری (کنترل مثبت) اضافه گردید. در ردیف بعدی به ۶ خانه از پلیت ها، مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون اضافه شد. به چاهک اول ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره گیاه به غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر اضافه شده و تا چاهک ششم به ترتیب غلظت های عصاره با رقت های ذکر شده ریخته شد. به هر چاهک مقدار ۲۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه گردید. پس از آن پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد در گرم خانه قرار گرفت و کدورت چاهک ها به صورت چشمی مورد بررسی قرار گرفت. اولین رقتی که کم ترین میزان کدورت را نشان داد به عنوان حداقل غلظت بازدارنده تعیین گردید. این آزمایش در سه تکرار جداگانه انجام و میانگین سه تکرار برای هر چاهک برای تعیین کم ترین غلظت بازدارنده رشد استفاده شد (۶). در رقت های سریالی نزولی (چپ به راست) اولین چاهک مربوط به نمونه که کدورت نداشته باشد، MIC آن نمونه است. از این رو باید چاهک های بعدی دارای رشد و چاهک های قبلی رشد نداشته باشند.

## یافته ها

عصاره الکلی گیاه زنیان روی باکتری های مورد آزمایش موثر بود. اثرات ضد میکروبی عصاره Ajowan در برابر عوامل بیماری زا انتخاب شده با MIC های مختلف مشاهده شد. حداقل غلظت مهار کننده عصاره برای استافیلوکوک اورئوس ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای پنوموکوک ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود و این غلظت برای اشیریشیا کلی ۵ میلی گرم بر میلی لیتر و کلبسیلا ۵ گزارش شد. اثر عصاره زنیان بر باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر بازدارندگی رشد بیشتری نسبت به سایر باکتری ها داشت. MIC عصاره این گیاه علیه باکتری های گرم منفی بسیار بالاتر از MIC باکتری های گرم مثبت بود.

## بحث

مطالعه ما اثر ضد میکروبی عصاره Ajowan را در برابر باکتری های انتخاب شده ثابت نمود. این مطالعه نشان داد که رشد باکتری هایی از جمله، کلبسیلا، اشیریشیاکولی، پنوموکوک و استافیلوکوک اورئوس که به دو یا سه آنتی بیوتیک ها (اریترومايسين، سفیکسیم و تتراسیکلین) مقاوم بودند توسط عصاره گیاه زنیان مهار شدند.

نزدیک به ۱۶ ترکیب در عصاره Ajowan وجود دارد، اما تیمول، مهم ترین اصلی ترین ترکیب فنولی در Ajowan، گزارش شده است و حداقل ۴۰ تا ۵۰ درصد عصاره تشکیل می دهد (۷). از این ماده در درمان عفونت ها، نفخ شکم و سردرد و عفونت های قارچی پوست استفاده می شود (۷ و ۸). ترکیبات فنولی خواص ضد میکروبی خود را باروش های متفاوتی اعمال می کنند. ترکیبات موجودی در عصاره با تخریب دیواره سلولی و پروتئین ها و تداخل در عمل کرد آنزیم های غشایی، و اثرگذاری روی ساخت DNA و RNA باعث نابودی میکروارگانیزم ها می شوند (۹ و ۱۰). هم چنین اتانول و استن موجود در عصاره این گیاه در برابر باکتری های بسیاری از جمله سودوموناس-اشیریشیا کلی-کلبسیلا و استافیلوکوک اورئوس موثر است. فعالیت ضد باکتری با استفاده از روش انتشار در آگارو MIC در مطالعات قبلی گزارش شده است (۱۱-۸). هم چنین در مطالعه Singh و هم کاران (۱۲) اثر ضد باکتریایی *Carum copticum* (زنیان) بر پاتوژن های دیگر عامل عفونت در بدن ثابت شده است. مطالعه دیگری اثر هیدروالکلی گیاه زنیان را بر باکتری های مسبب پوسیدگی دندان تایید کرده است (۱۳). بر اساس تحقیقات انجام شده باکتری های گرم مثبت نسبت به عصاره ها حساس تر از گرم منفی می باشند (۱۴). به نظر می رسد بعلت وجود غشاهای خارجی، که اطراف دیواره سلولی باکتری های گرم منفی وجود دارد، اثرات ضد باکتریایی در عصاره گیاه در آنها حساسیت کم تری از خود نشان می دهند (۱۵).

## نتیجه گیری

از آنجایی که که در کشورهای مختلف مقاومت روز افزون میکرو ارگانیزم ها نسبت به آنتی بیوتیک ها مشاهده می شود نتایج به دست آمده از این آزمایش به خصوص تاثیر غلظت های بالای عصاره الکلی زنیان روی باکتری ها می تواند در آینده کاربرد وسیع تری پیدا نماید. به هر صورت کاربرد بالینی گیاه زنیان نیازمند مطالعات وسیع تر می باشد و در صورت موفقیت و استاندارد نمودن نتایج آن، شاید بتوان عصاره الکلی این گیاه را جایگزین بعضی از داروهای ضد میکروبی بی اثر یا کم اثر فعلی نمود.

**تشکر و قدردانی**

زحمات سرکار خانم مهندس حمیده خواجه کارشناس محترم پژوهش کده و سرکار خانم دکتر شهلا نجفی در زابل به خاطر هم اهنگی های لازم تقدیر و تشکر به عمل آید.

این تحقیق با هم کاری پژوهش کده زیست فناوری دانشگاه زابل و مرکز تحقیقات عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی زاهدان انجام شد. از

**REFERENCES**

- 1-Singh G, Maurya S, Catalan C, De Lampasona M P. Chemical, antifungal, antioxidative studies of Ajwain oil and its acetone extract. *Journal Agricultural Food Chemistry* 2004; 52:3292-3296.
- 2-Shruti SH, Sachin, NH, Arun S. Aflatoxin inactivation using aqueous extract of Ajowan (*Trachyspermum ammi*) seeds. *Journal of Food Science* 2005;70(1):29-34.
- 3- Shankaracharya N B, Nagalakshmi S, Naik J.P, Rao I J M. Studies on chemical and technological aspects of Ajowan (*Trachyspermum ammi*) syn (*Carum copticum*) seeds. *Journal of Food Science and Technology* 2000; 37: 277-281.
- 4- Lambert R J W, Skandamis P N, Coote P J, Nychas G J E A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Microbiology* 2001;91: 453-462.
- 5-Samsam Shariat H, Extraction and quantitative and qualitative evaluation of active constituents and control methods for medicinal plants. 1992; . Isfahan, Maani, 12-30.
- 6- Saeedi S, Sabbagh S, Sabori Robot E. A study of antibacterial activity of plant extract and essential oil of *Myrtus communis* against resistant strains of *Staphylococcus aureus* bacteria to selective antibiotics , *Journal of zabol university of medical sciences and health services*. 2012; 4 (3) :21-32.
- 7-Gerchach, P.V. and Reddy, N., Non invasive localization thymol accumulation in carum copticum fruits by chemical shift selection magnetic resonance *Annals of Botany* 2002, 90: 253-257.
- 8- Usha M, Ragini SH, and Naqvi SM . Antibacterial activity acetone and ethanol extracts of Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and Ajowan (*Trachyspermum ammi*) on four Food spoilage bacteria. *Iranian. Research. Journal, Biological Science* 2012; 1(4): 7-11.
- 9-Sagdic O, Karahan AG, Ozcan M. Effect of some spices extracts on bacteria inhibition. *Food Science and Technology International* 2003;9:353-359.
- 10- Aberoomand Azar A, Mottaghianpuor Z, Sharifan A. and Larijani K. Studies on the effect of extraction method on chemical composition and antimicrobial activity of *carum copticum* essential oil. *Food Technology and Nutrition*. 2010; 7 :(2) 81-75 (Full Text In Persian)
- 11-Goudarzi GR, Saharkhiz MJ, Sattar M, Zomorodian K. Antibacterial activity and chemical composition of Ajowan (*Carum copticum*) essential oil, *Journal Medical Plant Reserch* 2011; 13:203-8.
- 12- Singh G, Kapoor I P S, Pandey S K, and Singh U K. water Studies on essential oils: Part10; Antibacterial activity of volatile oils from some species, *Phytotherapy Research* 2005; 16: 680-682.

13- Kermanshah H, Hashemi-Kamangar S, Arami , Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi M et al . In vitro evaluation of antibacterial activity of extract of *Salvia officinalis* and *Carum copticum* against cariogenic microorganisms. *The Journal of Islamic Dental Association of IRAN (JIDA)* . 2011; 23 (3) :155-161.

14- Sandri I G, Zcaria J, Fracaro F, Delamare A p L and Echeverrigaray S. Antimicrobial activity of the essential oils of brazilian species of the genus *Culina* against food borne pathogens and spoiling bacteria, *Food Chemistry* 2007; 103-823-828.

15- Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food- a review. *International Journal of Food Microbiology*, 2004; 94: 223-253.