

بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه داروئی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) روی

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)

امیرمحمد دانشیان مقدم^۱، جلال شایق^۲، جلیل دلگری شرف^۳، علیرضا احمدزاده^۱

۱- عضو هیأت علمی گروه کشاورزی ۲- عضو هیأت علمی گروه دامپزشکی ۳- کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر

* امیرمحمد دانشیان مقدم- آذربایجان شرقی- شبستر- دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر-

email: daneshian.a.m@gmail.com

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس گیاه داروئی ریحان روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر در سال ۱۳۸۸ به اجرا گذاشته شد. در این آزمایش اسانس بدست آمده از دو مرحله مختلف برداشت گیاه (شامل برداشت در ۱ مرداد و ۱۰ شهریور ماه) و همچنین دو صورت جداگانه اسانس شامل اسانس کل بوته و برگهای گیاه مورد استفاده قرار گرفت. اسانس گیری با استفاده از روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام گرفت. ماده آزمایشی شامل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تهیه شده از موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بود. در این آزمایش اثرات ضد میکروبی اسانس به روشهای حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و میکروب کشی (MBC) صورت گرفت. روش کار در این آزمایش مطابق با استانداردهای پیشنهادی توسط CLSI بود. بدین ترتیب که ابتدا روش انتشار دیسک در روی باکتری انجام و سپس روش MIC در خصوص کشت هایی که دارای پاسخ مثبت نسبت به اسانس مذکور بودند اجرا گردید. در این تحقیق حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در اسانس حاصل از هر دو برداشت ۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. نتایج حاصل از بررسی اثر اسانس بر این باکتری با روش دیسک دیفیوژیون آگار نشان داد، قطراله بازدارندگی در اسانس کل بوته و برگ حاصل از برداشتهای اول و دوم برترتیب بین ۳۰/۴۱-۲۹/۶۰ و ۳۰/۵۶-۲۹/۲۰ میلی متر در مقایسه با کشت میکروبی در محیط شاهد (دیسک تراسایکلین) ۲۳/۹۳ میلی متر بود. بهترین اثر ضد میکروبی از اسانس حاصل از برگ گیاه در برداشت دوم (۳۰/۵۶ میلی متر) بدست آمد.

کلمات کلیدی: ریحان، مهارکنندگی، میکروب کشی، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

۱- مقدمه

با توجه به گرایش بیشتر مجامع علمی و پزشکی و همچنین مردم به استفاده از داروهای گیاهی، بررسی خواص ضد باکتریایی گیاهان دارویی ضروری به نظر می رسد. در این میان گیاه ریحان طبی، که کشت آن در بیشتر مناطق به سهولت امکان پذیر می باشد، می تواند بعنوان یک گیاه ضد باکتریایی مورد استفاده قرار گیرد (۱). ریحان یکی از مهمترین گیاهان دارویی بوده و اسانس این گیاه حاوی ترکیبات شیمیایی خاصی است که مقدار آن با توجه به گونه گیاهی و شرایط اقلیمی محل رویش متفاوت بوده و بین ۰/۵ تا ۱/۵ درصد متغیر است. از ترکیبات موجود در آن در گونه های مختلف می توان به متیل کایوکول، لینالول، اوژنول، گرانپول، سینئول و کامفور اشاره کرد که دارای خواص ضد قارچی و باکتریایی بوده و نیز در صنایع بهداشتی و آرایشی مورد استفاده قرار می گیرد. از خصوصیات دیگر این گیاه می توان به اثرات ضد تشنج، مقوی و مدر، اشتها آور، معالج سردردهای میگرنی و عصبی، رفع کننده نفخ و گاز معده، درمان کننده ناراحتی های حاصل از نیش حشرات، التیام بخش زخم

های دهان، تب بر و مسکن اشاره کرد (۲۱). محققین زیادی به اثرات ضد میکروبی اسانس ریحان اشاره کرده اند و این خاصیت را بیشتر مربوط به حضور بالای ترکیبی بنام لینالول (Linalool) میدانند (۱۲).

۲- مواد و روشها

بوته های ریحان در دو نوبت (برداشت اول و دوم بترتیب در تاریخهای اول مرداد و ۱۰ شهریور) ماه در آغاز مرحله گلدهی برداشت شد. از نمونه های هر برداشت قسمتی برای جداکردن برگها از کل بوته تفکیک شده و قسمتی دیگر به صورت کل بوته در دمای معمولی اطاق و در شرایط سایه خشک شدند. جهت تعیین مقدار اسانس از نمونه های خشک شده مذکور، ۵۰ گرم بطور جداگانه از هر کدام وزن شده و با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب در آزمایشگاه اسانس گیری شد. در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی اسانس ریحان به دو صورت (اسانس حاصل از برگ گیاه و اسانس کل بوته) در روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس تهیه شده از موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام پذیرفت. اثر ضد میکروبی در دو مرحله شامل مرحله اول تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار دیسک و روش ارزیابی به روش MIC انجام پذیرفت (۴). در روش انتشار دیسک ابتدا از کشت ۲۴ ساعته باکتری سوسپانسیونی در نرمال سالین استریل بطوری که هر میلی لیتر آن، حاوی 1.08×10^8 CFU/ml باکتری بود، در مقایسه با لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سوسپانسیون باکتری مورد نظر به وسیله سوآپ استریل روی محیط کشت MHA به صورت سطحی پخش گردید. سپس بر روی هر محیط از باکتری مورد نظر یک عدد دیسک حاوی اسانس های مورد مطالعه که قبلاً در محلول استوک (۱ گرم در لیتر DMSO) غوطه ور شده بود قرار داده شد. از یک دیسک تتراسایکلین ماده موثره به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. پلیتهای کشت شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در مطالعه MIC و MBC از روش تهیه رقت به شیوه Macrodilution در محیط آبگوشت MHB حاوی غلظت های متوالی از اسانس گیاه ریحان در دو سری، سری اول حاوی اسانس حاصل از کل بوته و سری دوم حاوی اسانس حاصل از برگ استفاده گردید. بدین ترتیب که از اسانس اولیه (۱ گرم در لیتر DMSO) رقت های متوالی ۱ به ۲ تا ۱ به ۱۲۸ در محیط مولر هیتون برات تهیه گردید. سپس طبق استاندارد CLSI از سوسپانسیون باکتری با غلظت 1×10^8 cfu/ml به رقت های تهیه شده افزوده گردید. محیط کشت های حاوی باکتری و اسانس گیاهی به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد (MIC) تعیین گردید. در مرحله بعدی جهت تعیین MBC در شرایط کاملاً استریل از محتویات لوله آزمایشی که مدت ۲۴ ساعت انکوبه شده بود و MIC آن تعیین گردیده و فاقد کدورت بود، به میزان ۰/۱ میلی لیتر برداشته و در پلیت های حاوی محیط کشت MHA کشت سطحی داده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. اولین غلظتی که در آن عدم رشد مشاهده گردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد. این روش یک بار با محصولات چین اول و بار دیگر برای محصولات چین دوم اجرا گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی نشان داد که اثر اسانس در این تحقیق حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در اسانس حاصل از هر دو برداشت ۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. نتایج حاصل از بررسی اثر اسانس بر این باکتری با روش دیسک دیفیوژیون آگار نشان داد که قطرهاله بازدارندگی در اسانس کل بوته و برگ حاصل از برداشتهای اول و دوم بترتیب بین ۳۰/۴۱-۲۹/۶۰ و ۳۰/۵۶-۲۹/۲۰ میلی متر در مقایسه با کشت میکروبی در محیط شاهد (دیسک تتراسایکلین) ۲۳/۹۳ میلی متر بود. بهترین اثر ضد میکروبی از اسانس حاصل از برگ گیاه در برداشت دوم (۳۰/۵۶ میلی متر)

بدست آمد. با توجه به اسانسهای بدست آمده از دو قسمت گیاه مشخص گردید که اسانس حاصل از برگ گیاه نسبت به اسانس کل بوته دارای درصد ماده مؤثره بیشتری بوده و لذا اثرات ضد میکروبی قویتری دارد و این موضوع میتواند در باکتریهای دیگر نیز اثرات مشابهی داشته باشد لذا بررسی های دیگر در این زمینه ضروری بنظر میرسد.

۴ - منابع

- ۱- امید بیگی، ر. ۱۳۸۵. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی. چاپ چهارم. جلد سوم. ۳۹۷ صفحه.
- ۲- امید بیگی، ر. ۱۳۸۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی. چاپ اول. جلد اول. ۳۴۷ صفحه.
- 3- Bernath, J. 1990. Ecophysiological approach in the optimalization of medicinal plant, agro-systems. *Herba Hungarica*, 29: 7-15.
- 4- Ravid, U., Putievsky, E., Katzir, I., Lewinsohn, E. 1997. Enantiomeric composition of linalool in the essential oils of *Ocimum* species and in commercial basil oils. *Flavour Fragrance J.* 12, 293-296.

Antibacterial effect of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil on pathogenic bacteria of (*Staphylococcus aureus*)

Daneshian, A. M.¹, J. Shayegh², J. Dolghari Sharaf² A. Ahmadzadeh¹

1. Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University-Shabestar Branch, East Azarbayjan, IRAN

2. Department of Veterinary, Islamic Azad University-Shabestar Branch, East Azarbayjan, IRAN

*** Corresponding E-mail address: daneshian.a.m@gmail.com**

Abstract

This study was carried out to investigate the antibacterial effects of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil on pathogenic bacteria of (*Staphylococcus aureus*) at microbiological laboratory of Islamic Azad University-Shabestar branch in 2009. Essential oil of basil obtained from herb and leaves separately by Clevenger apparatus that extracted from two cutting time (23 July, 1 August). The bacteria that used in this study was *Staphylococcus aureus* as gram positive that provided from Institute of Standard and Industrial Research of Iran (ISIRI). Antibacterial evaluation of essential oil is carried out by disc diffusion, Minimum inhibition concentration (MIC) and Minimum bactericidal concentration (MBC) methods. MIC results on bacteria showed bacterial inhibition and bactericidal effect of basil essential oil minimum inhibition concentration in *Staphylococcus aureus* was 18 µg/ml in both of two cuts. Results of disc diffusion showed zone of inhibition in *Staphylococcus aureus* in the essential oil of herb and leaves at first and second cuts were between 29.60-30.41 mm and 29.20-30.56 mm separately. Disc diffusion in control plates (Tet. Disc) was 23.93 mm. The best antimicrobial effect was obtained from leaf essential oil of second cut (30.56 mm).

Keywords: Antimicrobial, Essential oil, MIC, MBC, *Ocimum basilicum*, *Staphylococcus aureus*