Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

شناسایی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس ریحان سبز و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر تعدادی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی

حسن برزگر [1*]، بهروز علیزاده بهبهانی [2]، محمد امین مهرنیا [2]

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۱۴)

چکیده

در این پژوهش، اثر ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز به روش‌های متنوع کیفی و کمی (دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی) و همچنین برهمکنش (اینترکشن) آن با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر تعدادی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی مورد ارزیابی قرار گرفت. ترکیبات شیمیایی، قدرت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل اسانس ریحان سبز نیز تعیین شد. نتایج نشان داد که اسانس ریحان سبز حاوی ۳۱ ترکیب بود. استراگول با ۴۹/۹۷ درصد بیشترین جزء اسانسبود. قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز براساس فعالیت مهار رادیکال پایدار ۲و۲- دیفنیل۱-پیکریل هیدرازیل برابر با ۷۰ درصد بود. میزان فنل کل اسانس ریحان سبز۰/۵۰±۲۹/۰۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بود.بیشترین و کم‌ترین فعالیت ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز با قطر ۲۱/۹۵ و ۱۰ میلی‌متر به ترتیب برای باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* و *اشرشیا کلی* مشاهده شد. در حالت ترکیبی (اینترکشن) اسانس ریحان سبز با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر باکتری‌های گرم منفی حالت سینرژیستی مشاهده شد. حداقل غلظت بازدارندگی اسانس برای باکتری‌های *لیستریا اینوکوا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس ائروژینوزا* و *اشرشیا کلی* به ترتیب ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۶/۲۵، ۲۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان سبز برای باکتری‌های مذکور نیز به ترتیب ۵۰، ۱۲/۵، ۱۲/۵، ۴۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

کلید واژگان: ریحان سبز، فنل کل، رقیق‌سازی در مایع، تتراسایکلین، کلرامفنیکل.

*مسئول مکاتبات: hbarzegar@asnrukh.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

۱- مقدمه

مطابق با تعریف سازمان بهداشت جهانی[1]، هر آنچه از گیاه، شامل مواد گیاهی، ترکیبات گیاهی و فرآورده‌های گیاهی که عنصر فعال آن‌ها قسمتی از گیاه باشد، می‌تواند به عنوان گیاه درمانی(گیاه درمانی روشی است که در آن، بعد از معاینات پزشکیو تشخیص لازم، از عناصر گیاهی با توجه به مواد مؤثر و خواص آن‌ها، جهت رفع علایم بیماریاستفاده می‌شود) مطرح گردد[۱]. گیاهان دارویی و ادویه‌ای از گیاهان اقتصادی (با ارزش) مورد استفاده بشر می‌باشندکه قرن‌های متمادی از آن‌ها جهت تغذیه و درمان بیماری‌ها استفاده شده است[۲]. در پی آشکار شدن عوارض سوء ناشی از مصرف داروهای شیمیایی و سنتزی در اواسط قرن بیست، اهمیت استفاده از گیاهان دارویی به جای داروهای شیمیایی و سنتزی دوچندان گردید. براساس آمار سازمان بهداشت جهانی حدود هشتاد درصد مردم جهت مراقبت‌های بهداشتی اولیه و درمان به طور سنتی به گیاهان دارویی و تولیدات طبیعی، گرایش دارند [۳ و ٤].

ریحان سبز با نام علمی*basilicumOcimum*گیاه دارویی از خانواده نعناعیان[2] است که منشاء آن،ایران، هند و افغانستان گزارش شده‌است [۵-۷]. نام ریحان از basileus یونانی به معنای پادشاه گرفته شده است. دلیل انتخاب این نام بدان جهت می‌باشد که قصر پادشاهان یونان باستان را با اسانس گیاه ریحان معطر می‌کردند. این گیاه علفی و معطر به ارتفاع۲۰تا ٦۰ سانتی‌متر بوده و امروزه تقریبا در تمام مناطق گرم و معتدل کشت می‌گردد[۵]. از نظر گیاه شناسی، گیاه ریحان یک ساله بوده و تنوع زیادی در سطح مورفولوژی و ترکیبات ثانویه دارد. این جنس دارای ۵۰ تا ۱۵۰ گونه علفی و بوته‌ای بوده و به همین سبب یکی از بزرگترین جنس‌ها در خانواده نعناعیان به شمار می‌رود.در طب سنتی از گیاه ریحان برای معالجه نفخ شکم، برخی بیماری‌های قلبی، بزرگ شدن طحال و همچنین کمک به هضم غذا استفاده می‌شود[۸ و ۹].

بیماری‌های ناشی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی همانند، *سودوموناس ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* سالیانه ضررهای جانی و مالی فراوانی را به جوامع بشری تحمیل می‌کنند. با توجه به مقاومت چندگانه ریزاندامگان بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، بشر به ناچار به دنبال یافتن ترکیبات ضدمیکروبی جدید با کم‌ترین اثر سوء و جانبی می‌باشد[۱۰].

با توجه به ارزان بودن و در دسترس بودن گیاه ریحان سبز در ایران، اهداف پژوهش حاضر شامل:

- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز بر باکتری‌های *لیستریاایتوکوا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس ائروژینوزا* و *اشرشیا کلی* در شرایط برون‌تنی؛
- برهمکنش اسانس ریحان سبز با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و کلرامفنیکل؛
- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان سبز با دستگاه کروماتوگرافی گازی؛
- اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز با استفاده از رادیکال آزاد ۲و۲- دیفنیل۱-پیکریل هیدرازیل؛
- اندازه‌گیری فنل کل اسانس ریحان سبز با استفاده از روش رنگ‌سنجی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- اسانس‌گیری از ریحان سبز

این پژوهش تجربی در سال ۱۳۹۸، در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و شیمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام پذیرفت. برای عمل اسانس‌گیری از گیاه ریحان سبز، میزان ۵۰ گرم گیاه با دقت توزین شده و به دستگاه کلونجر (اساس کار دستگاه براساس تقطیر می‌باشد) که حاوی ۷۵۰ میلی‌لیتر از آب مقطر بود انتقال گردید. پس از گذشت ٤ ساعت از عمل اسانس‌گیری، شیر تخلیه دستگاه باز و اسانس به دست آمده از گیاه ریحان سبز که حاوی قطرات آب

1. World health organization
2. Lamiaceae

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

بود در ظرف شیشه‌ای تمیز جمع‌آوری شد. جهت جداسازی قطرات آب موجود در اسانس روغنی ریحان سبز از سولفات سدیم استفاده شد[۱۱].

۲-۲- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان سبز با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی

برای شناسایی ترکیبات شیمیایی، ۰/۱ میکرولیتر از اسانس ریحان سبز به دستگاه کروماتوگرافی گازی(مدل A Agilent Technologies 7890،آمریکا) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (مدل Agilent Technologies 5975C ،آمریکا) تزریق شد. دمای ستون از ٤٠تا۲۵۰درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون استفاده گردید. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها و به دست آوردن شاخص بازداری آن‌ها (شاخص کواتز) و مراجعه به فرهنگ ترکیبات طبیعی شناسایی شد[۱۲].

۲-۳- تعیین فنل کل اسانس ریحان سبز

تعیین فنل کل اسانس ریحان سبز مطابق با روش نوشاد و همکاران (۲۰۱۹)، با اندکی اصلاحات انجام شد. برای تعیین مقدار فنل کل اسانس ریحان سبز از واکنشگر فولین سیو-کالتیو که اساس کار آن، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی(اسانس ریحان سبز) در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ، که حداکثر جذب را در طول موج ۷٦۰ نانومتر نشان می‌دهد استفاده شد. در این روش به طور خلاصه، بعد از مخلوط کردن ۲۰ میکرولیتر اسانس ریحان سبز با واکنشگر فولین سیو-کالتیو، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم به مخلوط اضافه شده و پس از مدت۲ساعت، جذب محلول در ۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۱۳].

۲-٤- تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز مطابق با روش نوشاد و همکاران (۲۰۱۸)، با مختصر اصلاحات انجام گردید. در این روش رادیکال پایدار ۲و۲- دیفنیل۱-پیکریل هیدرازیل DPPH به عنوان معرف (جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی رایج می‌باشد) استفاده شد.۳/۹ میلی‌لیتراز DPPH استوک ساخته شده (۰/۰۰٤ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) در داخل لوله آزمایش ریخته و ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس ریحان سبز به آن اضافه شدهوبهمدت ۳۰ دقیقه در مکانی تاریک قرار گرفت. در انتها میزان جذب نمونه اسانس ریحان سبزدر طول موج ۵۱۷ نانومترخواندهشد. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبزمطابق بامعادله ۱، محاسبه شد:

$$\text{DPPH- RS activity (\%)} = [1-A_s/A_c] \times 100 \quad \text{(معادله ۱):}$$

در معادله ۱،A_s جذب نمونه و A_c جذب نمونه‌ی کنترل می‌باشد. از محلول اتانول ۹۵ درصد به عنوان شاهد جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد [١٤].

۲-۵- تهیه و آماده سازی سوسپانسیون میکروبی

ریزاندامگان بیماری‌زایی که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت شامل ۳ باکتری گرم مثبت (*لیستریا اینوکوا*، *استافیلوکوکوساورئوس* و *باسیلوس سرئوس*) و ۲ باکتری گرم منفی (*سودوموناس ائروژینوزا* و *اشرشیا کلی*) بود. جهت فعال‌سازی هر یک از باکتری‌های بیماری‌زا، ابتدا از کشت ذخیره کاری[3]به محیط نوترینت براث عمل تلقیح انجام شد. پس از گذشت ٢٤ ساعت از عمل تلقیح و نگهداری کشت‌های میکروبی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از محیط کشت نوترینت براث که در اثر رشد میکروبی حاوی کدورت بود بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت خطی انجام شد. بعد از گذشت ٢٤ ساعت از کلنی‌هایی که به صورت تک و خالص بودند، برای تهیه سوسپانسیون استاندارد میکروبی استفاده شد. برای استاندارد کردن

3. Working stock

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

سوسپانسیون میکروبی از استاندارد نیم مک‌فارلند استفاده گردید[۱۵].

۲-٦- ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس ریحان سبز در شرایط برون‌تنی

۲-٦-۱- دیسک دیفیوژن (کربی-بوئر)

در این روش ابتدا ظروف میکروبی (پتری‌دیش) با محیط کشت مولر هینتون آگار به عمق ٤ میلی‌متر پر شد. پس از سردشدن و بسته شدن محیط کشت مولر هینتون آگار، از باکتری‌های بیماری‌زا که مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند تهیه شده بودند بر سطح محیط کشت میکروبی به صورت سفره‌ایکشت انجام شد. اسانس ریحان سبز با استفاده از فیلتر سرسرنگی با قطر منفذ ۰/۲۲ میکرونی استریل شد. اسانس استریل شده به میزان ۲۰ میکرولیتر به آرامی بر دیسک‌های بلانک که با پنس استریل در محل مناسب (با رعایت فاصله ۲۵ میلی‌متر از یکدیگر و ۲۰ میلی‌متر فاصله از لبه پلیت) قرار گرفته بودند، ریخته شد. ظروف میکروبی حاوی دیسک‌ها جهت عمل پیش‌انتشار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در یخچال قرار گرفت. پس از مرحله پیش‌انتشار عمل گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲٤ ساعت انجام پذیرفت. در نهایت پس از گذشت ۲٤ ساعت از عمل گرمخانه گذاری، هاله عدم رشد میکروبی مشاهده شده در اطراف دیسک‌ها توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد و بر حسب میلی‌متر ثبت گردید [۱٦].

۲-٦-۲- رقیق‌سازی در مایع(حداقل غلظت مهارکنندگی[4]) اسانس ریحان سبز

رقیق‌سازی در مایع (میکرودایلوشن براث[5]) یکی از اساسی‌ترین آزمون‌های حساسیت ترکیبات ضدمیکروبی می‌باشد. به طور خلاصه در این روش ابتدا میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های متوالی (۱/۵٦، ۳/۱۲، ٦/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اسانس ریحان سبز استریل شده به ۹ خانه از چاهک‌های پلیت ۹٦ خانه‌ای اضافه گردید. سوسپانسیون میکروبی استاندارد به میزان ۱۰ میکرولیتر به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد. خانه شماره ۱۰ و ۱۱ نیز به عنوان کنترل منفی (محیط کشت حاوی اسانس و فاقد باکتری) و کنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری و فاقد اسانس) در نظر گرفته شد. پس از عمل گرمخانه گذاری (۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) به هر یک از چاهک‌ها ۹٦ خانه‌ای ۱۰ میکرولیتر از معرف تری فنیل تترازویلیوم کلرید[6]اضافه شد و مجددا عمل گرمخانه گذاری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت. پس از گذشت ۱۵ دقیقه، پلیت ۹٦ خانه‌ای از نظر تغییرات رنگی مورد بررسی قرار گرفت. اولین خانه از غلظت‌های متوالی اسانس ریحان سبز که در آن تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی رنگ مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس ریحان سبز ثبت شد[۱٤].

۳-٦-۲- تعیین حداقل غلظت کشندگی[7]

حداقل غلظتی از اسانس یا ماده ضدمیکروب که ریز اندامگان در آن رشد نکند، به عنوان حداقل غلظت کشندگی بیان می‌شود، به عبارت دیگر، به حداقل غلظتی از عامل ماده ضدمیکروب که برای کشتن ۹۹/۹ ٪ از ریزاندامگان پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲٤ ساعت و تحت یک مجموعه شرایط استاندارد، لازم است، حداقل غلظت‌کشندگی می‌گویند. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی به طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتراز خانه‌هایی که در آن تغییر رنگ ارغوانی یا قرمز مشاهده نشد برپلیت‌های حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار کشت انجام شد. پس از طی ۲٤ ساعت و گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، اولین غلظتی از اسانس ریحان سبز که فاقد رشد ریزاندامگان بیماری‌زا (کلنی یا پرگنه در سطح محیط کشت مشاهده نشد) بود، به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس‌ریحان سبز برای آن‌ها در نظر گرفته شد[٤].

4. Minimum inhibitory concentration
5. Microdilution broth

6. Triphenyl-tetrazoliumchloride
7. Minimum bactericidal concentration

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

٤-٦-٢- بررسی برهمکنش(هم‌افزایی و کاهندگی) اسانس ریحان سبز در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل

برای تعیین اثر ترکیبی (برهمکنش) اسانس ریحان سبز با آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل از روش انتشار دیسک مطابق با روشدانشمندی و همکاران (۱۳۸۹)، استفاده شد[۱۷]. برای ارزیابی اثر هم‌افزایی و کاهندگی اسانس بر آنتی‌بیوتیک از غلظت تحت مهاری (sub-MIC) استفاده می‌گردد، این غلظت‌ها معمولا برابر ۱/۲ و ۱/٤ حداقل غلظت مهارکنندگی می‌باشد. در این پژوهش غلظت تحت مهاری (۱/۲ حداقل غلظت مهارکنندگی) اسانس ریحان سبز به محیط مولر هینتون آگار اضافه شد. سوسپانسیون باکتریایی استاندارد (مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند) بر سطح محیط کشت حاوی غلظت‌های تحت مهاری اسانس ریحان سبز توسط سوآپ به صورت چمنی کشت داده شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و کلرامفنیکل روی سطح آگار قرار گرفته شد. عمل گرمخانه گذاری به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از گذشت ٢٤ ساعت از زمان گرمخانه گذاری قطر هاله عدم رشد میکروبی توسط خطکش اندازه‌گیری شده و بر حسب میلی‌متر ثبت شد[۱۷].

۲-۷- آنالیز آماری

میانگین‌های به دست آمده از آزمون‌ها برای آنالیزهای آماری استفاده شد. معنی‌دار بودن نتایج آنالیز واریانس در سطح ۵٪ و با مقایسه میانگین (آزمون دانکن) انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها با کمک نرم افزار SPSS (Version18.0, SPSS Inc., Chicago, USA)انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

نتایج مربوط به آنالیز شیمیایی اسانس ریحان سبز در جدول ۱، نشان داده شده است. همانگونه که در شکل ۱، نیز مشخص است مجموع ترکیبات شیمیایی شناسایی شده اسانس ریحان سبز توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی ۳۱ ترکیب بود. ترکیب عمده اسانس ریحان سبز استراگول یا متیل چاویکول با ٤۷/۹۷ درصد بود. مجموع کل ترکیبات شناسایی شده در اسانس ریحان سبز ۹۷/۷۲ درصد بود.

Table 1 Chemical comppunds of the *Ocimumbasilicum*essential oil

No.	Compound	%
1	α-Pinene	0.08
2	Sabinene	0.06
3	β-Pinene	0.12
4	D-Limonene	0.09
5	Eucalyptol	2/06
6	1,3,6- Octatriene	0.15
7	cis-Linalool oxide	0.76
8	trans-Linalool oxide	0.70
9	1,6-Octadien-3-ol	26.7
10	Cyclohexanol	0.82
11	Estragole	47.97
12	Citral	2.54
13	Anethole	0.1
14	Copaene	0.24
15	Cis- Hexenyllactate	0.24
16	β-Elemene	0.29
17	α-Gurjunene	0.15
18	Caryophyllene	1.28
19	Bicyclo [3.1.1] hept-2-ene	2.97
20	Trans-β-Farnesene	0.60
21	α-Humulene	0.73
22	Benzene	0.12
23	Cis-β-Farnesene	0.6
24	β-Selinene	0.11
25	Aromandendrene	0.13
26	β-Bisabolene	0.45
27	Naphthalene	0.16
28	Cis-α-Bisabolene	5.32
29	Nerolidol	0.36
30	Methoxycinnamaldehyde	0.36
31	Caryophyllene oxide	1.46
Total		**97.72**

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

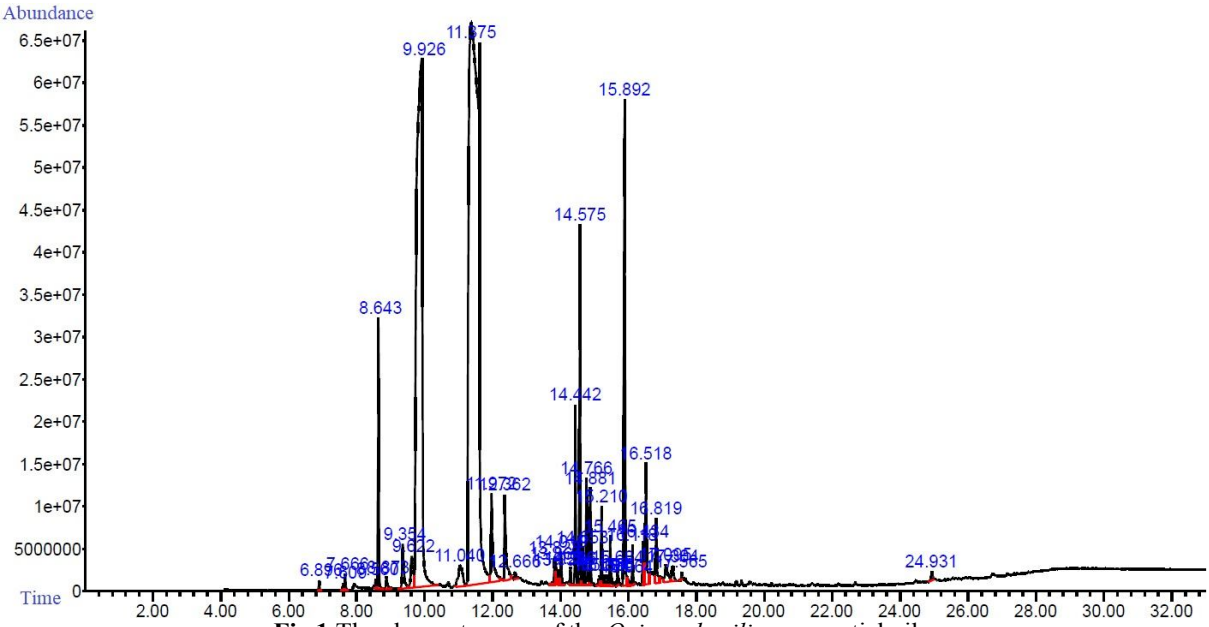

Fig 1 The chromatogram of the *Ocimumbasilicum*essential oil.

شیرازی و همکاران (۲۰۱٤)، ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان سبز را مورد شناسایی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که ترکیب اصلی اسانس ریحان، استراگول(٤۷ درصد) بود [۱۸]. شرافتی چالشتری و همکاران(۲۰۱۵)، ترکیبات اسانس ریحان سبز را تعیین کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که استراگول (۸۵/۱۹ درصد) جز اصلی اسانس بود [۱۹]. سجادی (۲۰۰٦)، ترکیبات ریحان بنفش را توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد شناسایی قرار داد. این پژوهشگر گزارش کرد که ترکیبات غالب این گیاه را متیل استراگول (۵۲/٤۰ درصد) و لینالول (۲۰/۱۰ درصد) تشکیل می‌دهند [۹]. مقایسه نتایج این پژوهشگران با نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نوع ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس ریحان سبز در تمامی پژوهش‌های انجام شده یکسان بود، هر چند میزان ترکیب شناسایی شده در تمامی این مطالعه‌ها با یکدیگر متفاوت بود. پژوهشگران زیادی دلیل این امر را به تفاوت‌های اکولوژیکی و همچنین نحوه استخراج اسانس مرتبط دانسته‌اند [٤، ۱۳ و ۲۰]. عباسی(۲۰۱۵)، اجزای تشکیل دهنده ریحان سبز پرورش یافته در کشور عمان را مورد شناسایی قرار داد. نتایج این پژوهشگر نشان داد که، لینالول (٦۹/۸۷ درصد) ترکیب اصلی اسانس بود [۲۱]. ازکان و همکاران (۲۰۰۲)، بیان کردند که ترکیبات اصلی اسانس ریحان توسط دو مسیر مختلف بیوشیمیایی سنتز می‌شود که شامل ترکیبات فنیل پروپانوئیدی مانند استراگول، اوژنول، متیل آگنول و متیل سینامات که از مسیر بیوشیمیایی اسید شیکیمیک تولید می‌شود. ترکیبات ترپنی نظیر لینالول و ژرانیول که از مسیر بیوشیمیایی اسید موالونیک تولید می‌شود. بنابراین می‌توان دلیل متفاوت بودن ترکیبات شیمیایی مختلف اسانس ریحان در مناطق مختلف را تفاوت در مسیرهای مختلف بیوشیمیایی عنوان کرد [۲۲]. ساختار شیمیایی اسانس با توجه به موقعیت جغرافیایی، محل رشد گیاه (نوع خاک، آب و هوا، طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا) می‌تواند متفاوت باشد. فصل، نمونه‌گیری پیشیا پس از گلدهی و ساعتی که در آن چینش انجام می‌شود بر ساختار شیمیایی اسانس گیاه نیز موثر است. عامل مهم دیگر ساختار ژنتیکی گیاه می‌باشد، بدین صورت که یک گونه گیاهی در شرایط مختلف محیطی می‌تواند اسانس‌هایی با ترکیبات مؤثر و فعالیت دارویی مختلف تولید کند [٤ و ۲۳].

فعالیت مهار رادیکال آزاد اسانس ریحان سبز برابر با ۷۰ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

بود. محتوای فنل کل اسانس ریحان سبز ۰/۵۰±۲۹/۰۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بود.بسیاری از مطالعه‌های قبلی به نقش مستقیم میزان ترکیبات فنلی به عنوان عامل اصلی حذف کننده رادیکال‌های آزاد اشاره کرده‌اند[۲۲]. علیزاده بهبهانی و همکاران (۱۳۹۸)، گزارش دادند که، ترکیبات فنلی به صورت موثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل کرده، به همین دلیل می‌توانند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر عمل نمایند[٤]. براساس پژوهش‌های پیشین ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اسانس و عصاره‌های گیاهی وجود دارد[٤ و ۱۳]. هر گیاه دارای طیف وسیعی از ترکیباتی فنلی متفاوت است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هرکدام از این مواد وابسته به ساختار شیمیایی آن‌ها متفاوت می‌باشد. گروه‌های هیدروکسیل (OH) ترکیبات فنلی از اصلی‌ترین گروه‌ها برای از دست دادن پروتون از اشکال اکسیدشده تک الکترونی می‌باشند. پایداری رادیکال‌های فنوکسیل منتجاز آن‌ها باعث افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی می‌گردد[۲۵]. شرافتی چالشتری و همکاران (۲۰۱۵)، ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز را مورد بررسی قراردادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که، میزان فنل کل و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز به ترتیب برابر با ۱۸/۱ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم و ۵۱/۱ درصد بود[۱۹]. حمد(۲۰۱۷)،فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان را مورد بررسی قرار داد. نتیجه این پژوهش نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان برابر با۳۹/۳µg/mL بود[۲٦]. کوی و نیمیر(۲۰۱۱)، رنج ترکیبات فنلی پانزده واریته ریحان سبز را ۳/٤۷ تا ۱۷/۵۸میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم گزارش دادند[۲۷]. پولیتو و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های روغنی بیشتر از همه، به ترکیب اوژنول مرتبط است. مکانیسم عمل بر اهداییک اتم هیدروژن از گروه هیدروکسیلحلقه فنلی به رادیکالDPPH، استوار است. طبق نتایج پژوهش حاضر، مشخص گردید که ترکیب اصلی موجود در اسانس ریحان سبز استراگول بود. استراگول از لحاظ ساختاری شبیه اوژنول بوده، با این تفاوت که فاقد گروه هیدروکسیل می‌باشد[۲۸].

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد (هاله بازدارندگی) اسانس ریحان سبز و آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در جدول ۲، آورده شده است.همانگونه که مشخص است بیشترین فعالیت ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز با قطر ۲۱/۹۵ میلی‌متر بر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* مشاهده شد. کم‌ترین هاله عدم رشد مربوط به باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* با قطر ۱۰ میلی‌متر مشاهده شد. آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل به ترتیب با قطر ۱۰/۱۰ و ۹/۲۰ میلی‌متر کم‌ترین اثر را بر باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* داشتند. بیشترین هاله عدم رشد مشاهده شده برای آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل به ترتیب با قطر ۱۸/۸۰ و ۱۸/۹۰ میلی‌متر برای باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد.

نتایج برهمکنش بین اسانس ریحان سبز با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در جدول ۲، نشان داده شده است. به طور کلی نتایج نشان داد که برهمکنش آنتی بیوتیک کلرامفنیکل و اسانس ریحان سبز برای ٤ باکتری *سودوموناس ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا*به صورت سینرژیستی بوده و قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا کرد (شکل ۲).

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان سبز بر ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی در جدول ۳، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری‌های *لیستریا اینوکوا*، *استافیلوکوکوساورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس ائروژینوزا* و *اشرشیا کلی* به ترتیب ۱۲/۵، ٦/۲۵، ٦/۲۵، ۲۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان سبز برای باکتری‌های مذکور نیز به ترتیب ۵۰، ۱۲/۵، ۱۲/۵، ٤۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به طور کلی حداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان سبز بالاتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

Table 2 The mean inhibition zone diameters (mm) of *Ocimumbasilicum*essential oil and the effects of itsinteraction with chloramphenicol and tetracycline antibiotics on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning

Antimicrobial substance Microorganism	OBEO	Chl	Tet	In (Chl + OBEO)	In (Tet + OBEO)
Pseudomonas aeruginosa	13.30 ±0.80^{a}	9.30 ±0.52^{b}	11.20 ±0.35^{c}	18.20 ±0.36^{d} (Syn)	17.20 ±0.20^{e} (Syn)
Escherichia coli	10.00 ±0.66^{a}	9.20 ±0.25^{a}	10.10 ±0.43^{a}	16.00 ±0.60^{b} (Syn)	10.20 ±0.65^{a} (Ind)
Bacillus cereus	21.95 ±0.44^{a}	16.70 ±0.41^{b}	18.80 ±0.50^{c}	27.30 ±0.85^{d} (Syn)	24.30 ±0.55^{e} (Syn)
Staphylococcus aureus	18.60 ±0.50^{a}	18.90 ±0.50^{a}	10.30 ±0.72^{b}	19.00 ±0.50^{a} (Ind)	20.90 ±0.50^{c} (Syn)
Listeria innocua	14.80 ±0.67^{a}	13.70 ±0.50^{a}	18.50 ±0.65^{b}	16.60 ±0.92^{c} (Syn)	12.80 ±0.85^{d} (Ant)

-Values are expressed as mean ±standard deviations, $n = 3$; different letters (a, b, c, d and e) in each row show significant difference at $P \leq 0.05$.
- *Ocimumbasilicum*essential oil: OBEO, Tet: Tetracycline, Chl: Chloramphenicol, In: Interaction, Syn: Synergy, Ind: Indifference, Ant: Antagonism.

A: The effect of Chl on *E. coli* **B:** The effect of OBEO on *E. coli* **C:** The interaction of Chl + OBEO on *E. coli*

Fig 2. The interaction of *Ocimumbasilicum*essential oil (OBEO) with chloramphenicol(Chl) antibiotic on *Escherichia coli*.

Table 3 The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Ocimumbasilicum*essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning

Microorganism	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Pseudomonas aeruginosa	200	400
Escherichia coli	200	400
Bacillus cereus	6.25	12.5
Staphylococcus aureus	6.25	12.5
Listeria innocua	12.5	50

نتیجه برهمکنش آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و اسانس ریحان سبز بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دهنده عدم تاثیر بود. نتایج برهمکنش آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و اسانس ریحان سبز برای باکتری‌های*سودوموناس ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به صورت سینرژیستی بود (قطر هاله بازدارندگی افزایش یافت). برهمکنش آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

اسانس ریحان سبز برای باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *لیستریا اینوکوا* به ترتیب به صورت عدم تاثیر و آنتاگونیسمی (کاهش هاله بازدارندگی) بود. براگا و همکاران (۲۰۰۵)، اثر سینرژیستی عصاره انار و آنتی بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، جنتامایسین و سیپروفلاکسین بر *استافیلوکوکوس اورئوس* را مورد تایید قرار دادند [۲۹]. زائو و همکاران (۲۰۰۱)، اثر سینرژیستی چای سبز و پنی سیلین را بر *استافیلوکوکوس اورئوس* تایید کردند [۳۰]. چو (۲۰۰۶)، بیان کرد که زمانی که دو ترکیب (اسانس و آنتی‌بیوتیک) دارای جایگاه یکسانی در ساختار سلول باشند، اتصال یک ترکیب به جایگاه، مانع از اتصال ترکیب دیگر شده و در این حالت اثر آنتاگونیسمی مشاهده می‌شود. همچنین ممکن است وجود یک ترکیب باعث تغییراتی در ساختار سلول شده و باعث تسریع اتصال ترکیب دیگر را به جایگاه شود در چنین مواقعی اثر سینرژیستی بروز می‌کند [۳۱]. هنوز به اثبات نرسیده است که آیا تخریب دیواره سلولی در ارتباط با مقادیر ترکیبات ضدمیکروبی است که سلول میکروبی در معرض آن قرار می‌گیرد و یا اینکه اثر اسانس در ابتدا موجب یک تخریب کوچک می‌گردد و سپست خریب دیواره سلولی اتفاق می‌افتد. از آنجا که اجزای تشکیل دهنده اسانس‌های روغنی متنوع می‌باشد به نظرمی‌رسدکه فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها، به یک مکانیسم معین محدود نمی‌شود بلکه عوامل مختلفی باعث بروز آن‌ها می‌شوند [۳۲].

ماتاسیو و همکاران(۲۰۰۷)، اثر ضد میکروبی اسانس ریحان سبز را بر *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی*، *سودوموناس ائروژینوزا*، *سالمونلا تیفی‌وکاندیدا آلبیکنس*بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اسانس ریحان سبز دارای اثر ضدمیکروبی است[۳۳]. حاسین و همکاران (۲۰۰۸)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز را به ترکیبات ترپنوئیدی موجود در آنمرتبط دانستند. این محققین بخش عمده‌ای از فعالیت ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز را به وجود ترکیب لینالول (متابولیت ثانویه) نسبت دادند. در مطالعه ما نیز ترکیب لینالول از اجزای تشکیل دهنده اسانس ریحان سبز بود[۳٤]. پرپیدویچ و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش کردند که اسانس ریحان سبز به خوبی از رشد سویه‌های استاندارد و بالینی *سالمونلا انتریتیدیس* جلوگیری کرد. این پژوهشگران لینالول را به عنوان عامل اصلی و مهارکننده رشد ریزاندامگان بیماری‌زا عنوان کردند[۳۵]. مقدم و همکاران (۲۰۱۱)،اثر ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز را که از چینش گیاه در دو مرحله زمانی مختلف از رشد، تهیه شده بود، بر *باکتری‌های سودوموناس ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی*،*باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که محدوده حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۸ تا ۳٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا* و *اشرشیا کلی* ۹ تا ۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود[۳٦]. عباسی و همکاران (۲۰۱۵)، گزارش کردند که اثر مهارکنندگی اسانس ریحان عمانی بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی داشت[۲۱]. در مطالعه ما نیز باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا* حساسیت بیشتری نسبت به اسانس ریحان سبز داشتند و در غلظت‌های کمتری اثر مهارکنندگی بر آن‌ها مشاهده شد. نبردلیک و همکاران (۲۰۱٦)، فعالیت ضدباکتریایی اسانس ریحان سبزرا برابر تعداد از باکتری‌های گرم منفی مورد بررسی قرار دادند. برخی سویه‌های انتخاب شده باکتری‌های گرم منفیرا مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که پس از چهار ساعت (در محیط کشت با غلظت ۰/۲۵ وزنی/وزنی اسانس ریحان سبز)، رشد باکترهای *اشرشیاکلی* و *سیتروباکتر فرندی*[8]و *هافنیاآلوی*[9] و *آئرومونا‌س هیدروفیلا*[10] کاهش یافت. نتایج مطالعه ما نیز نشان داد که باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا* نیز بیشترین مقاومت را در برابر اسانس ریحان سبز از خود نشان دادند[۳۷]. مهدی‌زاده و همکاران (۲۰۱٦)، ترکیبات شیمیایی و اثر ضدمیکروبی اسانس‌های ریحان سبز، مریم گلی و زنیان را به تنهایی و در ترکیب با نیسین، مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران گزارش کردند که اسانس ریحان اثر مهارکنندگی بیشتری بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با *اشرشیا کلی* داشت[۳۸]. نتایج این پژوهش، با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی داشت.

8. *Citrobacter freundii*
9. *Hafnia alvei*
10. *Aeromonas hydrophila*

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

٤- نتیجه‌گیری

طبق نتایج حاصل از این پژوهش آزمایشگاهی مشخص گردید که اسانس ریحان سبز اثر ضدمیکروبی مناسبی بر ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی داشت. اثر ضدمیکروبی اسانس ریحان سبز بر باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت کم‌تر بود. در حالت ترکیبی (اینترکشن) اسانس ریحان سبز با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر باکتری‌های گرم منفی حالت سینرژیستی مشاهده شد. با توجه به اثر ضدمیکروبی کم‌تر اسانس ریحان سبز بر باکتری‌های گرم منفی، توصیه می‌شود جهت کنترل رشد این دسته از باکتری‌ها حالت ترکیبی از اسانس ریحان سبز و آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکلاستفاده گردد. نتایج شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان سبز نشان داد که استراگول یا متیل چاویکول با ٤٧/٩٧ درصد بیشترین ترکیب اسانس بود.

٥- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

٦- منابع

[1] Klassen-Langlois, D. Kipp, W. Jhangri, G.S. and Rubaale, T. 2007. Use oftraditional herbal medicine by AIDS patients in Kabarole District, WesternUganda. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 77(4): 757-763.

[2] Beigi, R. O. and Sourestani, M. M. 2010. Effect of water stress on morphological traits, essential oil content and yield of anise hyssop (Agastache foeniculum [Pursh] Kuntze). Iranian Journal of Horticultural Science. 41(2): 153-161.

[3] Barzegar, H., Mehrnia, M.A., Alizadeh Behbahani, B. Determination of the chemical composition, antioxidant activity and the antimicrobial effect of Heracleum lasiopetalum on infection and food poisoning microorganisms. Journal of Applied Microbiology in Food Industry. 4(4): 15-28. (full text in Persian).

[4] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., TabatabaeiYazdi, F., Mortazavi. S.A. Antimicrobial effect of Citrus aurantium essential oil on some food-borne pathogens and determination of its chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. Food Science and Technology. 16(87):275-288. (full text in Persian).

[5] Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H. P. and Vivanco, J.M. 2002.Chemical characterization of basil (Ocimumbasilicum L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50(21): 5878-5883.

[6] Simon, J. E., Morales, M. R., Phippen, W. B., Vieira, R. F. and Hao, Z. 1999. Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. Reprinted from: Perspectives on new crops and new uses. J. Janick: ASHS Press, Alexandria, VA. 499-505.

[7] Labra, M., Milele, M., Ledda, B., Grassi F, Mazzei, M. and Sala, F. 2004. Morphological characterisationessantial oil composition and DNA genotyping of OcimumbasilicumL. cultivars. Plant Science. 167: 725 - 31.

[8] Tahsili, J., Sharifi, M., Behmanesh, M., Pourbozorgi-Rudsari, N. and Ziaei, M. 2012. Expression of 4 genes in Ocimumbasilicum and their relationship with phenylpropanoids content. Journal of Medicinal Plants and By-products. 1: 23-34.

[9] Sajjadi, S. E. 2006. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (Ocimumbasilicum L.) from Iran. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 14(3): 128-130.

[10] TabatabaiYazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., & Mortazavi, S. A. 2019. Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro. Qom University of

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

[18] Shirazi, M. T., Gholami, H., Kavoosi, G., Rowshan, V. and Tafsiry, A. 2014. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of T agetesminuta and O cimumbasilicum essential oils. Food Science and Nutrition. 2(2): 146-155.

[19] Chaleshtori, S., Rokni, N., Rafieian-Kopaei, M., Deris, F., & Salehi, E. 2015. Antioxidant and antibacterial activity of basil (Ocimumbasilicum L.) essential oil in beef burger. Journal of Agricultural Science and Technology. 17(4): 817-826.

[20] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., &Mohebbi, M. 2017. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil. Journal of Food Measurement and Characterization. 11(2): 847-863.

[21] Al Abbasy, D. W., Pathare, N., Al-Sabahi, J. N. and Khan, S. A. 2015. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (Ocimumbasilicum Linn.). Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 5(8): 645-649.

[22] Özcan, M., &Chalchat, J.-C. 2002. Essential Oil Composition of Ocimumbasilicum L. Czech Journal of Food Sciences. 20(6): 223-228.

[23] Andrade, E. H. A., Alves, C. N., Guimarães, E. F., Carreira, L. M. M. and Maia, J. G. S. 2011. Variability in essential oil composition of Piper dilatatum LC Rich. Biochemical Systematics and Ecology. 39(4):669-675.

[24] Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., &Jukic, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chemistry. 94(4): 550-557.

[25] Alavi, L., Barzegar, M., Jabbari, A. and NaghdiBadi, H. 2010. Effect of heat treatment on chemical composition and antioxidant property of Thymus daenensis essential oil. Journal of Medicinal Plants. 3(35): 129-138.

[26] Hamad, G.M., Darwish, A.M., Abu-Serie, M.M. and El Sohaimy, S.A. 2017. Antimicrobial, Antioxidant and Anti-inflammatory Characteristics of Combination (Cassia fistula and Ocimumbasilicum) extract as Natural Preservative to Control and Prevent Medical Sciences Journal. 13(3): 50-62.(full text in Persian).

[11] Alizadeh Behbahani, B., & Shahidi, F. 2019. Melissa officinalis Essential Oil: Chemical Compositions, Antioxidant Potential, Total Phenolic Content and Antimicrobial Activity. Nutrition and Food Sciences Research. 6(1): 17-25.

[12] Noshad, M., & Alizadeh Behbahani, B. 2019. Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Effect of Elettariacardamomum Essential Oil on a Number of Pathogenic Microorganisms in Vitro. Qom University of Medical Sciences Journal. 13(2): 57-69.(full text in Persian).

[13] Noshad, M., & Alizadeh Behbahani, B. 2019. Investigation of Phytochemical Compounds, antioxidant Potential and the Antimicrobial Effect of Bergamot Essential Oil on some Pathogenic Strains Causing Infection Invitro. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 26(6): 122-132. (full text in Persian).

[14] Noshad, M., Hojjati, M., & Alizadeh Behbahani, B. 2018. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. Microbial Pathogenesis. 116: 153-157.

[15] Tabatabaei-Yazdi, F., Alizadeh-Behbahani, B., & Zanganeh, H. 2015. The comparison among antibacterial activity of Mespilus germanica extracts and number of common therapeutic antibiotics “in vitro”. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 17(12): 1-6.

[16] Alizadeh Behbahani, B., TabatabaeiYazdi, F., Fakhri, S., Mortazavi, S. A., &Mohebbi, M. 2017. Investigation of Chemical Compounds and Antibacterial Activity of Tarragon (Artemisia dracunculus) Essential Oil on Some Pathogenic Bacteria In Vitro. Qom University of Medical Sciences Journal. 11(9): 42-51.(full text in Persian).

[17] Daneshmandi, S., Soleimani, N., Pourfathollah, A. A., &Sattari, M. 2010. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of cuminumcyminum essential oil. Journal of Arak University of Medical Sciences. 13(2): 75-82.(full text in Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

Food Contamination. Journal of Food and Nutrition Research. 5(10):771-780.

[27] Kwee, E. M. and Niemeyer, E. D. 2011. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (Ocimumbasilicum L.) cultivars. Food Chemistry. 128(4): 1044-1050.

[28] Politeo, O., Jukic, M., and Milos, M. 2007. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (Ocimumbasilicum L.) compared with its essential oil. Food Chemistry. 101(1): 379-385.

[29] Braga, L., Leite, A.A., Xavier, K.G., Takahashi, J., Bemquerer, M., Chartone-Souza, E., Nascimento, A.M. 2005. Synergic interaction between pomegranate extract and antibiotics against Staphylococcus aureus. Canadian Journal of Microbiology. 51(7): 541-547.

[30] Zhao, W.-H., Hu, Z.-Q., Okubo, S., Hara, Y., Shimamura, T. 2001. Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and β-lactams against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 45(6): 1737-1742.

[31] Chou, T.-C. 2006. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. Pharmacological Reviews. 58(3): 621-681.

[32] Nychas, G.-J., Skandamis, P., &Tassou, C. 2003. Antimicrobials from herbs and spices Natural antimicrobials for the minimal processing of foods (pp. 176-200): Elsevier.

[33] Matasyoh, L. G., Matasyoh, J. C., Wachira, F. N., Kinyua, M. G., Muigai, A. W. T., and Mukiama, T. K. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Ocimumgratissimum L. growing in Eastern Kenya. African Journal of Biotechnology. 6(6) :760-765

[34] Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. and Przybylski, R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimumbasilicum) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry.108(3): 986-995.

[35] Pripdeevech, P., Chumpolsri, W., Suttiarporn, P. and Wongpornchai, S. 2010. The chemical composition and antioxidant activities of basil from Thailand using retention indices and comprehensive two-dimensional gas chromatography. Journal of the Serbian Chemical Society. 75(11): 1503-1513.

[36]Moghaddam, A. M. D., Shayegh, J., Mikaili, P. and Sharaf, J. D. 2011. Antimicrobial activity of essential oil extract of Ocimumbasilicum L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. Journal of Medicinal Plants Research. 5(15):3453-3456.

[37] Nabrdalik, M., & Grata, K. 2016. Antibacterial activity of Ocimumbasilicum L. essential oil against Gram-negative bacteria. Post Fitoter. 17:80-86.

[38] Mehdizadeh, T., Hashemzadeh, M.S., Nazarizadeh, A., Neyriz-Naghadehi, M., Tat, M., Ghalavand, M. and Dorostkar, R. 2016. Chemical composition and antibacterial properties of Ocimumbasilicum, Salvia officinalis and Trachyspermumammi essential oils alone and in combination with nisin. Research Journal of Pharmacognosy. 3(4):51-58.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 13:36 IRST on Saturday November 2nd 2019

Identification of the chemical compounds andantibacterial activity of *Ocimumbasilicum*essential oil and the effects of its interactionwith tetracycline and chloramphenicol antibiotics on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning

Barzegar, H. [1*], Alizadeh Behbahani, B. [2], Mehrnia, M. A. [2]

1. AssociateProfessor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

(Received: 2019/06/06 Accepted:2019/08/05)

In this study, the antimicrobial effect of*Ocimumbasilicum*essential oil with different qualitative and quantitative methods (disc diffusion, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration) as well as the effects of its interactionwith tetracycline and chloramphenicol antibiotics on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning were evaluated.The chemical compounds, antioxidant activity and total phenolic content of *Ocimumbasilicum*essential oil were measured. The results showed that *Ocimumbasilicum*essential oil contained 31 compounds. Estragole was the major constituent of the essential oil with a percentage of 30.75. The antioxidant activity of *Ocimumbasilicum*essential oil was 70% based onfree radical scavenging capacity (DPPH). The total phenolic content of the essential oil was 29.05±0.50 mg GAE/g. The most sensitive and the most resistant bacteria with diameter inhibition zone 21.95 mm and 10.00 mm were *Bacillus cereus* and *Escherichiacoli* respectively. The effects of interaction of *Ocimumbasilicum* essential oil with tetracycline and chloramphenicol antibiotics on gram negative bacteria showed synergistic status. The minimum inhibitory concentration of the essential oil was equal to 12.5, 6.25, 6.25, 200 and 200 mg/ml for *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichiacoli* respectively. The minimum bactericidal concentration of *Ocimumbasilicum* essential oil was equal to 50, 12. 5, 12.5, 400 and 400 mg/ml for bacteria respectively.

Keywords:*Ocimumbasilicum*, Total phenolic content,Microdilution broth,Tetracycline, Chloramphenicol.

*Corresponding Author E-Mail Address: hbarzegar@asnrukh.ac.ir

www.SID.ir