

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^{۱*}، بهروز علیزاده بهبهانی^۲، محمد امین مهرنیا^۲

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 ضد میکروبی 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 اسانس بود. قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز بر اساس فعالیت مهار رادیکال پایدار ۲ و ۲-دیفنیل ۱-پیکریل هیدرازیل برابر با ۷۰ درصد بود. میزان فنل کل اسانس ریحان سبز 29.05 ± 0.50 میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بود. بیشترین و کم‌ترین فعالیت ضد میکروبی 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 اثرورینوزا و اشرشیا کلی به ترتیب ۱۲/۵، 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

۱- مقدمه

مطابق با تعریف سازمان بهداشت جهانی^۱، 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 پزشکی تشخیص لازم، از عناصر گیاهی با توجه به مواد مؤثر و خواص آن‌ها، جهت رفع علائم بیماری‌استفاده می‌شود (مطرح گردد [۱]). گیاهان دارویی و ادویه‌ای از گیاهان اقتصادی (با ارزش) مورد استفاده بشر می‌باشند که 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 ۴].

ریحان سبز با نام علمی *basilicum Ocimum* گیاه دارویی از خانواده نعناعیان^۲ است که منشأ آن، ایران، هند و افغانستان گزارش شده است [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 ارتفاع ۲۰ تا ۶۰ سانتی‌متر بوده و امروزه تقریباً در تمام مناطق گرم و معتدل کشت می‌گردد [۵]. از نظر گیاه‌شناسی، 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

1. World health organization
2. Lamiaceae

غذایی همانند، سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسایتوزنز 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 ضد میکروبی جدید با کم‌ترین اثر سوء جانبی می‌باشد [۱۰].

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

- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس ریحان سبز بر باکتری‌های لیستریا/اینوکوا، 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 ۲،۲-دیفنیل-۱-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 ۴ ساعت از عمل اسانس‌گیری، شیر تخلیه دستگاه باز و اسانس به دست آمده از گیاه ریحان سبز که حاوی قطرات آب

۲-۴- 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- دیفنیل-۱-پیکریل هیدرازیل DPPH به عنوان معرف (جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی رایج می‌باشد) استفاده شد. ۳/۹ میلی‌لیتر از DPPH استوک ساخته شده (۰/۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) در داخل لوله آزمایش ریخته و ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس ریحان سبز به آن اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در مکانی تاریک قرار گرفت. در انتها میزان جذب نمونه اسانس ریحان سبز در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز مطابق با معادله ۱، محاسبه شد:

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

$$\text{RS activity (\%)}$$

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 [۱۴].

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، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) و ۲ باکتری گرم منفی (سودوموناس اثرورژینوزا و اشرشیا کلی) بود. جهت فعال‌سازی هر یک از باکتری‌های بیماری‌زا، ابتدا از کشت ذخیره کاری به محیط نوترینت برات عمل تلقیح انجام شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از عمل تلقیح و نگهداری کشت‌های میکروبی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از محیط کشت نوترینت برات که در اثر رشد میکروبی حاوی کدورت بود بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت خطی انجام شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از کلنی‌هایی که به صورت تک و خالص بودند، برای تهیه سوسپانسیون استاندارد میکروبی استفاده شد. برای استاندارد کردن

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 ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیوم 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 قلبایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ، که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ 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 مدت ۲ ساعت، جذب محلول در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۱۳].

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

۲-۶- ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس

ریحان سبز در شرایط برون‌تنی

۲-۶-۱- دیسک دیفیوژن (کربی-بوئر)

در این روش ابتدا ظروف میکروبی (پتری‌دیش) با محیط کشت مولر هیتون آگار به عمق ۴ میلی‌متر پر شد. پس از سرد شدن و بسته شدن محیط کشت مولر هیتون آگار، از باکتری‌های بیماری‌زا که مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند تهیه شده بودند بر سطح محیط کشت میکروبی به صورت سفراه‌یکشت انجام شد. اسانس ریحان سبز با استفاده از فیلتر سرسنگی 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 ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال قرار گرفت. پس از مرحله پیش‌انتشار عمل گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت انجام پذیرفت. در نهایت پس از گذشت ۲۴ ساعت از عمل گرمخانه‌گذاری، هاله عدم رشد میکروبی مشاهده شده در اطراف دیسک‌ها توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد و بر حسب میلی‌متر ثبت گردید [۱۶].

۲-۶-۲- رقیق‌سازی در مایع (حداقل غلظت

مهارکنندگی^۴) اسانس ریحان سبز

رقیق‌سازی در مایع (میکروداپلوشن براث^۵) یکی از اساسی‌ترین آزمون‌های حساسیت ترکیبات ضد میکروبی می‌باشد. به طور خلاصه در این روش ابتدا میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های متوالی (۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اسانس ریحان سبز استریل شده به ۹ خانه

از چاهک‌های پلیت ۹۶ 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 گرمخانه‌گذاری (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) به هر یک از چاهک‌ها ۹۶ خانه‌ای ۱۰ میکرولیتر از معرف تری فینیل تترازولیوم کلرید^۶ اضافه شد و مجدداً عمل گرمخانه‌گذاری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت. پس از گذشت ۱۵ دقیقه، پلیت ۹۶ 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 [۱۴].

۳-۶-۲- تعیین حداقل غلظت کشندگی^۷

حداقل غلظتی از اسانس یا ماده ضد میکروب که ریز اندامگان در آن رشد نکنند، به عنوان حداقل غلظت کشندگی بیان می‌شود، به عبارت دیگر، به حداقل غلظتی از عامل ماده ضد میکروب که برای کشتن ۹۹/۹٪ از ریزاندامگان پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت و تحت یک مجموعه شرایط استاندارد، لازم است، حداقل غلظت کشندگی می‌گویند. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی به طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از خانه‌هایی که در آن تغییر رنگ ارغوانی یا قرمز مشاهده نشد بر پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت انجام شد. پس از طی ۲۴ ساعت و گرمخانه‌گذاری 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 اسانس ریحان سبز برای آن‌ها در نظر گرفته شد [۴].

6. Triphenyl-tetrazoliumchloride

7. Minimum bactericidal concentration

4. Minimum inhibitory concentration

5. Microdilution broth

اسانس ریحان سبز استراگول یا متیل چاویکول با ۴۷/۹۷ درصد بود. مجموع کل ترکیبات شناسایی شده در اسانس ریحان سبز ۹۷/۷۲ درصد بود.

Table 1 Chemical compounds of the *Ocimum basilicum* 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

۴-۶-۲- بررسی برهمکنش (هم‌افزایی و کاهندگی) اسانس ریحان سبز در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل

برای تعیین اثر ترکیبی (برهمکنش) اسانس ریحان سبز با آنتی‌بیوتیک‌های 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 معمولاً برابر ۱/۲ و ۱/۴ حداقل غلظت مهارکنندگی می‌باشد. در این پژوهش غلظت تحت مهاری (۱/۲) حداقل غلظت مهارکنندگی) اسانس ریحان سبز به محیط مولر هیتون 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 ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از گذشت ۲۴ 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 داده‌ها با کمک نرم افزار SPSS (Version 18.0, 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

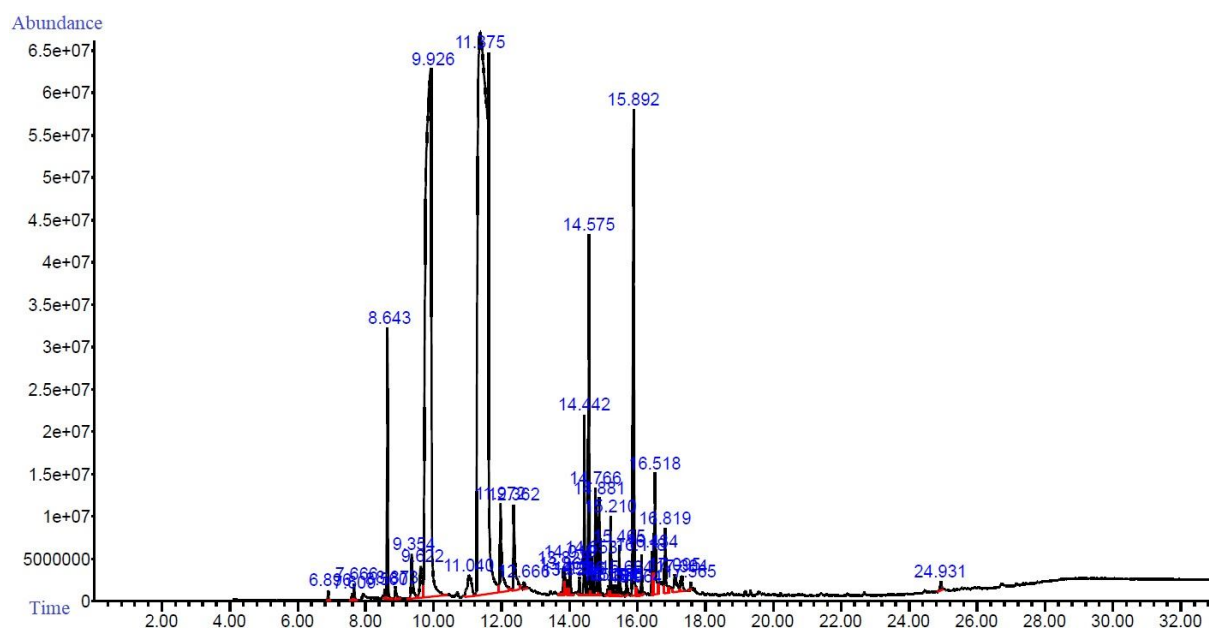


Fig 1 The chromatogram of the *Ocimum basilicum* essential oil.

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 فینیل 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 پیش از گلدهی و ساعتی که در آن چینی 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 [۴ و ۲۳].

فعالیت مهار رادیکال آزاد اسانس ریحان سبز برابر با ۷۰ درصد

شیرازی و همکاران (۲۰۱۴)، ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان سبز را مورد شناسایی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که ترکیب اصلی اسانس ریحان، استراگول (۴۷ درصد) بود [۱۸]. شرافتی چالشری 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 (۲۰۰۶)، ترکیبات ریحان بنفش را توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد شناسایی قرار داد. این پژوهشگر گزارش کرد که ترکیبات غالب این گیاه را متیل استراگول (۵۲/۴۰ 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 [۴، 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 (۶۹/۸۷ درصد)

باکتری‌های *سودوموناس اثرورژینوزا*، *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 اثرورژینوزا*، *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 آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و اسانس ریحان سبز برای ۴ باکتری *سودوموناس اثرورژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوایه* 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*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس اثرورژینوزا* و *اشرشیا کلی* به ترتیب ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۶/۲۵ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان سبز برای باکتری‌های مذکور نیز به ترتیب ۵۰، ۱۲/۵، ۱۲/۵، ۴۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به طور کلی حداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان سبز بالاتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود.

بود. محتوای فنل کل اسانس ریحان سبز $29/05 \pm 0/50$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بود. بسیاری از مطالعه‌های قبلی به نقش مستقیم میزان ترکیبات فنلی به عنوان عامل اصلی حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد اشاره کرده‌اند [۲۲]. عزیزاده بهمانی 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 [۴]. براساس پژوهش‌های پیشین ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اسانس و عصاره‌های گیاهی وجود دارد [۴ و ۱۳]. هر گیاه دارای طیف وسیعی از ترکیباتی فنلی متفاوت است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هر کدام 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 متجاوز آن‌ها باعث افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی می‌گردد [۲۵]. شرافتی چالستری و همکاران (۲۰۱۵)، ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان سبز را مورد بررسی قرار دادند. 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 با $39/3 \mu\text{g/mL}$ بود [۲۶]. کوی و نیمیر (۲۰۱۱)، رنج ترکیبات فنلی پانزده وارته ریحان سبز را $3/47$ تا $17/58$ میلی‌گرم 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 هیدروکسیل حلقه فنلی به رادیکال DPPH، 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

Table 2 The mean inhibition zone diameters (mm) of *Ocimumbasilicum* essential oil and the effects of its interaction 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)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	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)
<i>Escherichia coli</i>	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)
<i>Bacillus cereus</i>	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 ^c (Syn)
<i>Staphylococcus aureus</i>	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)
<i>Listeria innocua</i>	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)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	200	400
<i>Escherichia coli</i>	200	400
<i>Bacillus cereus</i>	6.25	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.25	12.5
<i>Listeria innocua</i>	12.5	50

باکتری‌های سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس به صورت سینرژیستی بود (قطر هاله بازدارندگی افزایش یافت). برهمکنش آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و

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

لینالول را به عنوان عامل اصلی و مهارکننده رشد ریزاندامگان بیماری‌زا عنوان کردند [۳۵]. مقدم و همکاران (۲۰۱۱)، اثر ضد میکروبی 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 ۳۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا* و *اشرشیا کلی* ۹ تا ۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود [۳۶]. 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 (۲۰۱۶)، فعالیت ضدباکتریایی اسانس ریحان سبز را برابر تعداد از باکتری‌های گرم منفی مورد بررسی قرار دادند. برخی سویه‌های انتخاب شده باکتری‌های گرم منفی 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 باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سیتروباکتر فرنیدی* و *هافنیا آلوی* و *آئروموناس هیدروفیلا* 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 (۲۰۱۶)، ترکیبات شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس‌های ریحان سبز، مریم گلی و زینان 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.

اسانس ریحان سبز برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* 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 سیپروفلوکسین بر *استافیلوکوکوس اورئوس* را مورد تایید قرار دادند [۲۹]. زائو و همکاران (۲۰۰۱)، اثر سینرژیستی چای سبز و پنی‌سیلین 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 ضد میکروبی است که سلول میکروبی در معرض آن قرار می‌گیرد و یا اینکه اثر اسانس در ابتدا موجب یک تخریب کوچک می‌گردد و سپس تخریب دیواره سلولی اتفاق می‌افتد. از آنجا که اجزای تشکیل دهنده اسانس‌های روغنی متنوع می‌باشد به نظرمی‌رسد که فعالیت ضد میکروبی 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 تیفی و کانیدیا آلبیکنس* بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اسانس ریحان سبز دارای اثر ضد میکروبی است [۳۳]. حاسین و همکاران (۲۰۰۸)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد میکروبی اسانس ریحان سبز را به ترکیبات ترپنوئیدی موجود در آن مرتبط دانستند. این محققین بخش عمده‌ای از فعالیت ضد میکروبی 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 [۳۴]. پرپدیوچ و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش کردند که اسانس ریحان سبز به خوبی از رشد سویه‌های استاندارد و بالینی *سالمونلا انترتیدیس* جلوگیری کرد. این پژوهشگران

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

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 (*Ocimum basilicum* 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 characterisation essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. 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 *Ocimum basilicum* 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 (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 14(3): 128-130.
- [10] TabatabaeiYazdi, 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

۴- نتیجه گیری

طبق نتایج حاصل از این پژوهش آزمایشگاهی مشخص گردید که اسانس ریحان سبز اثر ضد میکروبی مناسبی بر ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی داشت. اثر ضد میکروبی 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 ضد میکروبی 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 کلرامفنیکل استفاده گردد. نتایج شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان سبز نشان داد که استراگول یا متیل چاویکول با ۴۷/۹۷ درصد بیشترین ترکیب اسانس بود.

۵- 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.

۶- منابع

- [1] Klassen-Langlois, D. Kipp, W. Jhangri, G.S. and Rubaale, T. 2007. Use of traditional herbal medicine by AIDS patients in Kabarole District, Western Uganda. *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

- [18] Shirazi, M. T., Gholami, H., Kavooosi, 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 In Vitro. *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).

- 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.
- 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 Mukiyama, T. K. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of

Identification of the chemical compounds and antibacterial activity of *Ocimum basilicum* essential oil and the effects of its interaction with 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. Associate Professor, 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 *Ocimum basilicum* essential oil with different qualitative and quantitative methods (disc diffusion, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration) as well as the effects of its interaction with 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 *Ocimum basilicum* essential oil were measured. The results showed that *Ocimum basilicum* essential oil contained 31 compounds. Estragole was the major constituent of the essential oil with a percentage of 30.75. The antioxidant activity of *Ocimum basilicum* essential oil was 70% based on free 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 *Escherichia coli* respectively. The effects of interaction of *Ocimum basilicum* 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 *Escherichia coli* respectively. The minimum bactericidal concentration of *Ocimum basilicum* essential oil was equal to 50, 12.5, 12.5, 400 and 400 mg/ml for bacteria respectively.

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

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