بررسی اثر ضد میکروبی اسانس ریحان بر روی باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولای* و مخمر *رودوتورلا روبرا*

فریبا بخشی[1]، حمید میرزایی[2]* نارملا آصفی [3]

۱ . دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

۲ . گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ، تبریز، ایران.

۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

***نویسنده مسئول**: *hmirzaei@iaut.ac.ir*

تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/٤/۲۳ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۵/۱۱/۲۲

چکیده

استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی برای جلوگیری از فساد مواد غذائی و جلوگیری از بروز بیماری های ناشی از مصرف غذاهای آلوده به میکروب های بیماری زا یکی از بحث های مهم در دنیا می باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین اثر ضد میکروبی اسانس ریحان بر روی باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولای* و مخمر *رودوتورلا روبرا* بود. اسانس گیاه ریحان به روش تقطیر با آب با استفاده از کلونجر استخراج شد. اسانس بدست آمده با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) آنالیز و اجزای آن ها بر اساس شاخص بازداری و طیف جرمی تعیین گردید. سپس با استفاده از تکنیک میکرودایلوشن حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس علیه *استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولای و رودوتورلا روبرا* بررسی شد. نتایج حاصل از بررسی اجزای اسانس، ۴۳ ترکیب را نشان داد که بنزن (۲۰/۹۷ ٪)، E– سیترال (۱۲/۸۴۵ ٪)، Z – سیترال (۶/۱۳۷ ٪)، متیل چاویکول (۷/۶۸ ٪) و تیمول (۷/۷۹ ٪) ترکیبات عمده موجود درآن بودند. MIC و MBC اسانس علیه *اشریشیا کولای* و *رودوترولا روبرا* ۲۵/. میلی گرم در میلی لیتر و علیه استافیلوکوکوس اورئوس۵۰ /. میلی گرم در میلی لیتر بدست آمد. در مجموع با عنایت به ترکیب شیمیائی و خاصیت ضد میکروبی مشاهده شده در این مطالعه می توان گفت که اسانس ریحان می تواند به عنوان یک ماده نگهدارنده برای مواد غذائی مطرح شود. البته در خصوص هر کدام از مواد غذائی مورد نظر باید تحقیقات بیشتر و متناسب با آن غذا طراحی و اجرا شود.

واژگان کلیدی: اسانس ریحان، ضد میکروبی، *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولای* و *رودوتورلا روبرا*.

مقدمه

بیماری های حاصل از مصرف غذاهای آلوده به میکروب های بیماریزا از اهمیت فراوانی برخوردار بوده و سالانه خسارات مالی و جانی فراوانی را به جوامع تحمیل می نماید (Sharon, 2001). در سال 1999 مرکز کنترل و پیش گیری بیماری ها اعلام کرد که سالانه ۷۶ میلیون نفر در ایالات متحده بر اثر میکروب های بیماریزا با منشأ مواد غذایی بیمار می شوند (Oussalah et al., 2007). چنین بیماری هایی سالانه منجر به ۲۲۵۰۰۰ مورد بستری در بیمارستان و ۵۰۰۰ مورد مرگ می گردند(Oussalah et al., 2007). مطابق ارزیابی دپارتمان کشاورزی ایالات متحده (USDA) هزینه های پزشکی و زیان های اقتصادی ناشی از دورریزی مواد غذایی ایجادکننده بیماری غذایی در محدوده ۶/۵ تا ۳۴/۹ بیلیون دلار در هرسال است (Vahidi et al., 2002). کنترل رشد باکتری های بیماریزا در مواد غذایی از نظر قوانین استاندارد کیفی مواد غذایی و همچنین از نظر بهداشت و سلامت عمومی حائز اهمیت فراوان است. یکی از راه های کنترل رشد باکتری های بیماریزای مواد غذایی استفاده از نگهدارنده ها و ترکیبات ضد میکروبی می باشد (Erturk, 2006). افزودن مواد شیمیایی به منظور نگهداری مواد غذایی معمولاً بر مبنای جلوگیری از رشد میکروب ها و یا کشتن و از بین بردن گروه هایی از میکروارگانیسم های مضر می باشد. با توجه به نگرانی های عمومی در

خصوص عوارض نگهدارنده های شیمیایی تمایل به مصرف محصولاتی است که فاقد نگهدارنده بوده و یا از نگه دارنده طبیعی استفاده شده است. به همین دلیل در سال های اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده های طبیعی صورت گرفته است. عصاره ها و اسانس های گیاهی و اجزای تشکیل دهنده آنها دارای اثرات شناخته شده ضد باکتریایی می باشند (Canillac and Mourey, 2001). ریحان (Ocimvm) یکی از گیاهان خانواده نعنایان (Lamiaceae) است که جزو گیاهان علفی یک ساله، معطر، دارای ساقه های منشعب از قاعده و به ارتفاع ۱۰تا ۴۵ سانتی متر است و برگ هایی متقابل، بیضوی نوک تیز با کناره دندانه دار و گل هایی معطر به رنگ های سفید، گلی، بنفش و مجتمع به صورت دسته های ۴ تا ۶ تایی در طول قسمت انتهایی ساقه دارد که اغلب مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می روید (داداش بیگی و همکاران، ۱۳۸۹; Meyers , 2003). اهمیت ریحان در این است که علاوه بر عطر و طعم در مواد غذایی ماده مؤثر اصلی آنها دارای اثرات ضد میکروبی می باشد و در برابر انواع مختلف باکتری های گرم مثبت، گرم منفی بیماری زا و کپک ها و مخمرها مؤثر است. اثرات ضد میکروبی عصاره ریحان را به ترکیب فنولی آن ربط می دهند. مهمترین ترکیبات فنولی موجود در ریحان لینالول و متیل چاویکول مطرح شده است (Koga , 1999; Burt, 2004). مقدار این ترکیبات شیمایی بسته به نوع گونه گیاه متفاوت است. متیل چاویکول طعم و لینالول عطر و بوی ریحان را باعث می شود (Bown, 2001). هدف از مطالعه حاضر تعیین حداقل غلظت مهاری و کشندگی اسانس ریحان برروی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولای و مخمر رودوتورلاروبرا بود.

مواد و روش کار

تهیه ریحان، استخراج وآنالیز اسانس

گیاه ریحان از شهرستان مرند تهیه و توسط گیاه شناس پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی مورد تایید قرارگرفت. سپس گیاهان جمع آوری شده درسایه خشک شد. ۲۰۰ گرم از پودر خشک گیاه به یک بالن دو لیتری منتقل و حدود دو سوم بالن، آب به مجموعه اضافه شد و بالن به دستگاه کلونجر متصل و عمل تقطیر به مدت ۴ ساعت انجام شد. پس از استخراج اسانس، عمل آب گیری با کمک سولفات سدیم انجام و اسانس حاصله در یک ظرف در بسته تیره رنگ و در یخچال نگهداری گردید. آنالیز اسانس توسط دستگاه کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۰). دستگاه GC/MS از نوع با ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ سلسیوس و گاز حامل هلیم با سرعت ۱/۵ میلی لیتر در دقیقه بود. شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ سلسیوس بود.

تعیین خاصیت آنتی میکروبی اسانس

تهیه نژادهای باکتریایی و مخمری

سوش های میکروبی مورد استفاده در این مطالعه شامل *اشریشیا کولای* (PTTCC ۱۲۷۰)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC ۱۱۱۲)) و *رودوتورولا روبرا* (PTCC ۵۰۷۶) بود که به صورت کشت آماده از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز تهیه شد. سویه های باکتریایی یک شب قبل از انجام آزمایش روی محیط کشت نوترینت آگار و سویه مخمر یک هفته قبل روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت شده و به ترتیب در دمای ۳۷ و ۲۲ درجه سلسیوس در شرایط هوازی گرمخانه گذاری شدند. کلنی ها مرتبا از لحاظ خالص بودن مورد ارزیابی

قرار می گرفت تا احتمال آلودگی و خطا در کار کاهش یابد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibition Concentration) با استفاده از روش میکرودایلوشن

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ گودی استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد. ابتدا از محیط کشت مولرهینتون براث (مرک آلمان) به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر کدام از چاهک های پلیت ۹۶ گودی ریخته شد. بعد به اولین چاهک هر ردیف مقدار ۱۰۰ میکرولیتر اسانس اضافه گردید. سپس از خانه اول به خانه دوم، و از خانه دوم به خانه سوم به همین ترتیب تا خانه نهم۱۰۰میکرولیتر منتقل گردید و به این ترتیب کار رقیق سازی صورت گرفت. در مرحله بعد، از کشت ۲۴ ساعته باکتری مورد نظر با کدورت نیم مک فارلند حاوی CFU/ml $۱/۵\times۱۰^{۸}$ رقت ۱/۱۰۰ تهیه و در تمامی چاهک ها به غیر از چاهک های۱۱ و ۱۲ مقدار۱۰۰میکرو لیتر ریخته و سپس از معرف رزازورین به مقدار ۳۰ میکرولیتر به تمامی چاهک ها اضافه و پلیت های حاصله گرمخانه گذاری شد. چاهک ۱۰ به عنوان کنترل مثبت (محیط کشت + باکتری + رزازورین) بود، که بایستی پس از گرمخانه گذاری به رنگ صورتی تبدیل می شد. چاهک ۱۱ به عنوان شاهد محیط کشت جهت کنترل محیط کشت از نظر آلودگی بود. این چاهک (محیط کشت + رزازورین) بایستی منفی و به رنگ بنفش آبی باقی می ماند. چاهک ۱۲ به عنوان شاهد اسانس جهت کنترل اسانس از نظر آلودگی بود. این چاهک (محیط کشت +۱۰۰میکرولیتر اسانس + رزازورین) بایستی منفی و به رنگ بنفش آبی باقی می ماند(EL- and Mahasneh , 1999 Oqlah).

سنجش میزان حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration)

حداقل غلظت کشندگیMBC اسانس ها با توجه به نتایج MIC تعیین شد. میزان ۵ میکر و لیتر از چاهک هایی که رشد باکتری درآنها کاملا متوقف شده بود، به پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت رقیق ترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی(MBC) اسانس لحاظ شد (Celiktas et al., 2007).

نتایج

نتیجه آنالیز اسانس ریحان مورد استفاده دراین مطالعه با GC/MSدر جدول ۱ آورده شده است. همان طور که در این جدول دیده می‌شود از بین ترکیبات شناسایی شده، بنزن (۲۰/۹۷ ٪)، E– سیترال (۱۲/۸۴۵ ٪)، z - سیترال (۶/۱۳۷ ٪)، متیل چاویکول (۷/۶۸ ٪) و تیمول (۷/۷۹ ٪) ترکیبات عمده موجود در اسانس را تشکیل می‌دادند. ترکیبات پی-سیمین، لیمونن و کامفن نیز به میزان بسیار جزیی در اسانس این گونه تشخیص داده شدند. نتایج مربوط به حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان در مقابل میکروارگانیسم های مورد آزمایش در جدول ۲ آورده شده است.

بحث

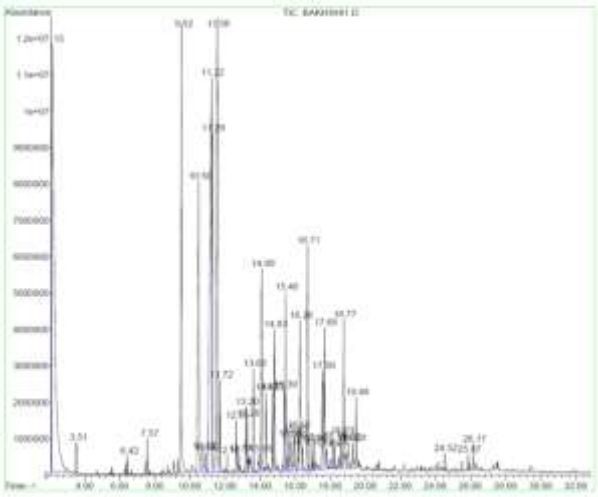
پائین بودن دز عفونت زایی بسیاری از پاتوژن های غذازاد، نیازمند تحقیقات گسترده در زمینه ترکیب های دارویی جدید با توان میکروب کشی بالا بوده که در جهت نیل به این هدف استفاده از ترکیب های روغنی حاصل از گیاهان و ادویه جات جهت تأمین سلامت و بهداشت غذا بسیار حایز اهمیت می باشد، در این راستا آگاهی و شناخت مکانیسم های عملکردی این ترکیب ها، می تواند درتشخیص میکروارگانیسم های حساس و افزایش کارایی این ترکیب ها در سیستم های غذایی

بسیار مفید و تأثیر گذار باشد(Kaur and Kapoor , 2002). بالاترین ترکیب موجود در اسانس ریحان به کار رفته در این مطالعه بنزن (۲۰/۹۷ ٪) و E– سیترال (۱۲/۸۴۵ ٪)، بود که اثرات ضدمیکروبی این ترکیبات

جدول ۱ - آنالیز اسانس ریحان شامل درصد، نوع ترکیبات و شاخص بازداری کواتس

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد
۱	1-Hexanol	۸۴۹	۰/۲۷۳
۲	α-Thujene	۹۲۴	۰/۳۲۹
۳	Camphene	۹۴۹	۰/۵۷
۴	Myrcen	۹۸۷	۲/۶۴۶
۵	Limonene	۱۰۲۸	۰/۰ ۸۰
۶	1,8-Cineole	۱۰۳۳	۰/۱۷۰
۷	O-Cymen	۱۰۲۴	۰/۱۶۹
۸	β -cis-Ocymen	۱۰۴۴	۰/۰۴۵
۹	Fenchone	۱۰۶۶	۰/۱۱۶
۱۰	Linalool	۱۰۹۹	۰/۳۲۹
۱۱	β– Thujone	۱۱۱۹	۰/ ۴۶
۱۲	Camphor	۱۱۴۶	۰/۰۳۱
۱۳	Methyl Chavicol	۱۱۹۶	۷/۶۸
۱۴	α-Terpineol	۱۱۹۷	۰/۲۶۷
۱۵	Geraniol	۱۲۵۳	۰/۷۴۸
۱۶	Chavicol	۱۲۵۹	۰/۳۳۱
۱۷	Z-Citral	۱۲۶۷	۶/۱۳۷
۱۸	E-Citral	۱۲۶۸	۱۲/۸۴۵
۱۹	Geranyl acetate	۱۲۸۱	۰/۶۶۶
۲۰	Carvacrol	۱۳۰۲	۰/۹۲۶
۲۱	α-Cubebene	۱۳۴۴	۰/۴۷۰
۲۲	Eugenol	۱۳۵۵	۰/۱۹۱
۲۳	Geranyl acetate	۱۳۷۷	۰/۸۲۴
۲۴	β - Trans-Caryophyllen	۱۴۱۶	۲/۵۲۵
۲۵	α-Bergamotene	۱۴۳۱	۰/۸۵۰
۲۶	α -Humulene	۱۴۵۱	۱/۹۴۳
۲۷	β-(E) -Farnesene	۱۴۳۸	۱/۰۰۵
۲۸	-Bisabolene β	۱۵۰۵	۰/۷۴۴
۲۹	γ-Cadinene	۱۵۰۹	۱/۰۰۸
۳۰	Nerolidol	۱۵۲۱	۰/۳۷۱
۳۱	Para Methoxy Cinnamic Aldahyde	۱۵۲۵	۳/۸۹۶
۳۲	Caryophyllene oxide	۱۵۷۱	۲/۰۹۱
۳۳	Spathulenol	۱۵۷۳	۱/۵۷
۳۴	β-Eudesmol	۱۶۵۰	۰/۲۴۶
۳۵	α -Cadinol	۱۶۵۲	۲/ ۶۸۳
۳۸	α–Cis- Bisabolene	۱۶۸۵	۲/۹۱۶
۳۹	Thymol	۱۲۸۹	۷/۰۸۰
۴۰	Spathulenol	۱۵۷۳	۱/۷۴۵
۴۱	β-Germacrene	۱۴۸۲	۳/۱۸۳
۴۲	m-Bis(m-phenoxyphenoxy)benzene	-	۲۰/۹۷
۴۳	Sulcatone		۰/۰۵۷

جمع	۹۳/۸۰



شکل ۱:کروماتوگرام اسانس گیاه ریحان توسط روش GC/MS

جدول۲- حداقل غلظت مهاری وحداقل غلظت کشندگی اسانس ریحان روی میکروارگانیسم های مورد آزمایش

نام باکتری	(mg/ml)MIC	(mg/ml)MBC
اشریشیا کولای (PTTCC 1270)	۰/۲۵	۰/۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 11120)	۰/۵۰	۰/۵۰
رودوتورلا روبرا (PTCC 5076)	۰/۲۵	۰/۲۵

در مطالعه های مختلف گزارش شده است.Keita و همکاران (۲۰۰۰) در مطالعه ای دریافتندکه درصد ترکیبات اسانس ریحان حاوی لینالول (۶۹٪) ، اوژنول (۱۰٪) و آلفا - برگوموات (۳٪) بود.در مطالعه ای دیگر بیشترین ترکیبات اسانس ریحان را متیل اوژنول (۷۸/۰۲ ٪) ، آلفا - کوبنن (۶/۱۷ ٪) و نرول (۰/۳۸ ٪) گزارش کردند (Ozcan and Chalchate, 2002). Leeو همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند ترکیبات اصلی اسانس ریحان شامل لینالول (۳/۹۴ $mg.g^{-1}$)، استراگول (۲/۰۳ $mg.g^{-1}$) و متیل سینامات (۱/۲۸ $mg.g^{-1}$) بود. در تحقیقی دیگر Bagamboula و همکاران (۲۰۰۴) نیز فعالیت آنتی باکتریایی اسانس ریحان را به وجود ترکیبات استراگول و لینالول ربط دادند. شرافتی چالشتری و همکاران (۲۰۱۵) درمطالعه ای درصد ترکیبات اسانس یک گونه ریحان را شامل متیل چاویکول (۸۵/۱۹ ٪)، ۱-۸-سینئول (۳/۹۶ ٪)، ترانس – آلفابرگوموات (۱/۱۸۵ ٪)، لینالول (۱/۰۳ ٪)، اوژنول (۰/۷ ٪) و لا-ترپینن (۰/۵۳ ٪)گزارش کردند. Klimankova و همکاران (۲۰۰۸) لینالول، متیل چاویکول و اوژنول را به عنوان ترکیبات اصلی در اسانس گونه مورد آزمایش گزارش کردند. تفاوت در ترکیبات اسانس گونه های مختلف گیاه ریحان به دلیل وجود تفاوت در درجه حرارت و توپوگرافی (فاکتورهای محیطی و دیگر عوامل رشد) می باشد

(Goze et al ., 2009). در این تحقیق حاضر نشان داده شد که اسانس فوق دارای اثرات مهاری و کشندگی قوی تری نسبت به قارچ و باکتری گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت می باشد. به بیان دیگر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که یک باکتری گرم مثبت است مقاومت بیشتری نسبت به باکتری *اشریشیا کولای* و مخمر *رودوتورولا روبرا* نشان داد. به طور کلی گونه های گرم منفی حساسیت بیشتری نسبت به گونه های گرم مثبت در برابر اسانس ریحان نشان دادند. اغلب مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس های روغنی بر روی ارگانیسم های عامل فساد و پاتوژن های غذازاد نشان می دهند که اثر اسانس های گیاهی بر روی باکتری های گرم مثبت قدری بیشتر از تاثیر آنها بر روی باکتری های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت ها نسبت به اثر آنتی باکتریال اسانس ها حساس ترند. علت حساسیت کمتر گرم منفی ها شاید به علت وجود غشاء خارجی در باکتری های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپوپلی ساکارید می شود. با این حال همه مطالعات انجام شده بر روی فعالیت آنتی باکتریال اسانس های روغنی نشان گر حساسیت بیشتر در گرم مثبت ها نمی باشد. برای مثال آئروموناس هیدروفیلا که یک باکتری گرم منفی است یکی از حساس ترین گونه های باکتریایی نسبت به اثرات اسانس ها می باشد (Burt, 2004).در تحقیقی koga و همکاران (۱۹۹۹) فعالیت باکتری کشی اسانس ریحان را در برابر تعدادی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس* و *میکروکوکوس لوتئوس* مورد بررسی قراردادند و گزارش کردند که باکتری های گرم مثبت مقاومت بالایی نسبت به باکتری های گرم منفی در برابر اسانس ریحان از خود نشان دادند. بر خلاف آنها و نتایج حاصل از مطالعه حاضر Prasad و همکاران درسال (۱۹۸۶) و نیز Farag و همکاران در سال ۱۹۸۹ گزارش کردند که تاثیر مهاری اسانس گیاه ریحان بر باکتری های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *میکروکوکوس*، *باسیلوس سرئوس* و....) بیشتر از باکتریهای گرم منفی (*اشریشیا کولای*، *انترو باکتر* و *سودوموناس*) می باشد. تفاوت بین نتایج یافته های این تحقیق و گزارش koga و همکاران در سال (۱۹۹۹) از یک طرف با یافته های Prasad و همکاران (۱۹۸۶) و Farag و همکاران (۱۹۸۹) از طرف دیگر می تواند مربوط به انتخاب میکروارگانیسم ها، چگونگی برخورد بین اسانس و میکروارگانیسم ها و روش های ارزیابی فعالیت میکروبی باشد. مطالعه ای که Wan و همکاران در سال (۱۹۹۸) انجام دادند به صورت واضح بر این موضوع تاکید کرد که در سیستم آگار دیفیوژن، اسانس ریحان بر رشد سودموناس فلورسنس بی اثر می باشد درحالیکه در سیستم براث، ترکیب متیل چاویکول اسانس ریحان رشد سلول های سودموناس فلورسنس را مهار کرده و فعالیت آنتی باکتریایی از خود نشان می دهد. نتایج تحقیق دیگری که توسط Roussis و همکاران درسال (۱۹۹۶) انجام شد نشان دهنده تغییر در تأثیر اسانس های گیاهی بر روی فعالیت میکروارگانیسم های مختلف می باشد و متغیر بودن تأثیر بر میکروارگانیسم های مختلف به نوع و اندازه مولکولهای مؤثر و قدرت نفوذپذیری آنها به داخل میکروارگانیسم ها مطرح شده است. در تحقیق دیگری نتیجه گیری شده که باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت حساس تر هستند و علت آن را به حضور ترکیبات متفاوت اسانس ها اعلام کرده اند که قادر به نفوذ در لایه های بیرونی باکتری های گرم منفی می باشند (Pripdeevech et al ., 2010).

نتیجه گیری

با عنایت به یافته های این تحقیق در مجموع می توان گفت که اسانس ریحان دارای خاصیت ضد میکروبی

قابل ملاحظه ای بر علیه با کتری های *استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولای* و مخمر *رودوتورلا روبرا* می باشد. لذا می تواند به عنوان یک ماده نگهدارنده طبیعی برای مواد غذائی مطرح شود. البته در خصوص هر کدام از مواد غذائی مورد نظر باید تحقیقات بیشتر و متناسب با آن غذا طراحی و اجرا شود.

منابع

۱. داداش بیگی، محمد .، رضاخانی، وحید .، پشدار، مروارید .، دارابی، امیرحسین.، مسرور، علیرضا .(۱۳۸۹). بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه ریحان بر اشریشیا کلای وسودموناس ائروژینوزا. مجله دامپزشکی دانشگاه ازاد، دوره ۴، شماره ۴ ،صفحات ۷۱-۷۹.

۲. محمدی، خسرو .، کریم ، گیتی .، حنیفیان ، شهرام .، تاری نژاد، علیرضا.، قاسم نژاد، رضا .(۱۳۹۰). مطالعه تأثیر اسانس گیاه آویشن شیرازی بر باکتری Escherichia coli O157:H7 درپنیر سفید آب نمکی طی فرآیند تولید و نگهداری. مجله بهداشت مواد غذایی، دوره ۱، شماره ۲، صفحات ۷۸-۶۹.

3. Burt, S .۲۰۰٤. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food Microbiology. ۹٤: ۲۲۳–۲۵۳.

4. Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M. and Debevere, J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri. Journal Food Microbiology. 21: 33–42.

5. Brown, H. D .2001. Teaching by Principles: An interactive approach to language pedagogy (second edition) New York: Longman.

6. Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., BedirM, E., Vardar Sukan, F., Ozek T. and Baser, K.H.C .2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry. 100: 559-553.

7. Canillac, N. and Mourey, A. 2001. Antibacterial activity for the essential oil of picea excelsa on Listeria, Staphylococcus aureus and colifom bacteria. Food Microbiology. 18: 261-268.

8. Erturk, O .2006. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice a.plants. Section Cellular and Molecular Biology. 61(3): 275-278.

9. Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M. and EL-Baroty, G. S. A.1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. Journal Food Prot. 52: 665-667.

10. Goze, I., Alim, A., Tepe, A.S., Sokmen, M., Sevgi, K. and Tepe, B .2009. Screening of the Antioxidant Activity of Essential Oil and Various Extracts of Origanum rotundifolium Boiss. From Turkey. Journal Med. Plants Res. 3:246-254.

11. Klimankova, E., Holadova, J., Cajka, T., Poustka, J. and Koudela, M. 2008. Aroma Profiles of Five Basil (Ocimum basilicumL.) Cultivars Grown under Conventional and Organic Conditions. Food Chem. 107: 464–472.

12. Kaur, C. & Kapoor, H.C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science and Technology. 37(2): 153-61.

13. Koga, t., Hirota, n. and Takumi .k. 1999. Bctericidal activities of essential

oils of basil and sage against arrange of bacteria and the effect of these essential on vibrioparahoemolyticus. Microbiological Research. 154:267_273.

14. Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto T. and Lee, K. G .2005. Identification of Volatile Components in Basil (Ocimum basilicum L.) and Thyme Leaves (Thymus vulgaris L.) and Their Antioxidant Properties. Food Chem. 91: 131-137.
15. Meyers, M .2003. Basil: An Herb Society of America Guide, p. 6–7. Kirtland, Ohio: The Herb Society of America. 7-8.
16. Mahasneh, A.M. & EL-Oqlah, A .1999.Antimicrobial activity of herbal plants used inthe traditional medicine ofJordan. Journal Ethnopharmacol. 64(3): 271-6.
17. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M .2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E.coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium,Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control. 18: 414-420.
18. Ozcan, M., and Chalchat, J.C .2002. Essential Oil Composition of Ocimum basilicum L. and Ocimum minimum L. inTurkey. Czech Journal Food Sci. 20: 223-228.
19. Pripdeevech, P., Chumpolsri, W., Suttiarporn P. and Wongpornchai, S. 2010. The Chemical Composition and AntioxidantActivities of Basil from Thailand Using Retention Indices and Comprehensive Twodimensional Gas Chromatography. J. Serb.a.Chem. Soc. 75: 1503-1513.
20. Prasad, G., Kumar, A., Singh, A. K., Bhattacharya, K., Singh. and V.D. SHARMA .1986. Anti – microbial activity of essential oil of some Ocimum specie and clove oil .Fitoterapia .57: 429-432.
21. Roussis, V., Chinou, I., Perdetzoglou, D. and Loukis, A .1996. Identification and bacteriostatic activity of the essential oil of Lamium graganicum L. spp. laevigatum Arcangeli. Journal of Essential Oil Research. 8: 291-93.
22. Sharafati-Chaleshtori,R., Rokni,N., Rafieian-Kopaei,M., Drees,F. and Salehi,E .2015. Antioxidant and Antibacterial Activity of Basil (Ocimumbasilicum L.) Essential Oil in Beef Burger. Journal Agr, Sci, Tech. 17, pp. 817-826.
23. Sharon, B .2001. Electroimmunoassay technology for foodborn pathogen detection. IVDTechnology. 16: 13-34.
24. Vahidi, H., Kamalinejad, M., and Sedaghati, N.2002. Antimicrobial Properties of Croccus sativus L. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 1: 33-35.
25. Wan, J., Wilcock, A. and Coventry,M.G .1998. The effect of essential oils of basil on the growth of Aeromonas hydrophila and Pseudomonas fluorescens. Journal of Applied Microbiology.84: 152–158.

Evaluation of antibacterial effects of basil essential oil against *Escherichia colii, Rhodotorula rubra Staphylococcus aureus*,

Bakhshi F [1], Mirzaei H [2]*, Asefi N[3]

1. M.Sc. graduate in Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.

2. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch,Tabriz, Iran.

3. Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

*__Corresponding author__: *hmirzaei@iaut.ac.ir*

Received: 13 Aug 2016 Accepted : 9 Feb 2017

Abstract

Application of natural preservatives to protect foods from microbial spoilage and to control the occurrence of foodborne pathogens has become an important issue worldwide. The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of Basil (*Ocimum basilicum* L.) essence of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Rhodotorula rubra*. The basil essence was extracted by hydro-distillation using Clevenger apparatus. The components of the essence was analyzed by GC/MS. Afterwards, using micro-dilution method the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) for *S. aureus*, *E. coli* and *R. rubra* was estimated. Based on results, 43 various components were detected in basil essence, namely benzene (20.97%), E-citral (12.845%), Z-citral (6.137%), methyl chavicol (7.68%) and thymol (7.79%). MIC and MBC for was 0.25 mg/ml for *E. coli* and *R. rubra*, meanwhile it was estimated at 0.5 mg/ml for *S. aureus*. Taking into account the various components of basil essence as well as their antimicrobial properties, it was concluded that, with considering the natural properties of each food type, basil essence can be used as a food preservative.

Keywords: Basil essence, antimicrobial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Rhodotorula rubra.*