Antimicrobial properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) separately and in combination on inhibiting the growth of some food spoilage bacteria

Pages 59-72

K. Dashtisarmadi[1], M. Najafi[2*], M. Miri[3] and S. Najafi[4]

1, 2 & 3) Department of Food Science and Technology, University of Zabol, Zabol, Iran.
4) Department of Agronomy, University of Zabol, Zabol, Iran.

*Corresponding author: **najafi413@yahoo.com**

Received date: 2024.03.18 **Accepted date: 2024.06.12**

Abstract

The adverse effects of chemical preservatives on human health have led to the attention of natural preservative compounds such as essential oils. The aim of this study was to investigate the antibacterial effects of basil (*Ocimum basilicum*) and sage (*Salvia officinalis*) essential oils (in basil: sage ratios of 0:100, 25:75, 50:50, 75:25, 100:0%) against some pathogenic bacteria. Antimicrobial tests were performed using two methods: agar well diffusion and microdilution. The results of GC-MS data showed that the major components (<5%) of basil essential oil were estragole (66.01%) and myrcene (20.38%); and in sage, linalool (66.03%), linalyl anthranilate (15.90%) and alpha-pinene (6.05%). Individual essential oils of basil and sage showed growth inhibitory effects against tested bacterial, except basil against *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) ($p<0.05$). Based on the fractional inhibitory concentration index of the mixture of, the combined treatments of basil: sage essential oils 75:25 and 50:50% showed a synergistic effect against *Pseudomonas aeruginosa*, 50:50 and 25:75% against *Escherichia coli* (ATCC25922), 25:75% against *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), and 75:25% against *Bacillus cereus* (ATCC 11778) showed an additive effect. The findings showed that the intensity of the inhibitory effect of the essential oil samples depends on the type, the mixing ratio, and the target strain. The mixture of basil and sage essential oils is rich in biological compounds and has antibacterial effects, which could be used in food. Obviously, the commercial use of this product requires further research in food and obtaining the necessary permits.

Keywords: Pathogen, Bacterial growth, Healthy food and Natural preservative.

اثرات ضد میکروبی اسانس‌های ریحان (*Ocimum basilicum*) و مریم گلی (*Salvia officinalis*)، جداگانه و در ترکیب با یکدیگر بر مهار رشد برخی باکتری‌های مولد فساد غذایی

شماره صفحات
۵۹-۷۲

کوثر دشتی‌سرمدی[۱]، محمدعلی نجفی[۲*]، محمدامین میری[۳] و سارا نجفی‌قاقلستانی[۴]

۱، ۲ و ۳) گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۴) گروه زراعت، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

* نویسنده مسئول: **najafi413@yahoo.com**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳

چکیده

اثرات نامطلوب نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان موجب شده ترکیبات نگهدارنده طبیعی مانند اسانس‌ها مورد توجه قرار گیرند. هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های ریحان (*Ocimum basilicum*) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (در نسبت‌های ریحان: مریم گلی ، ۰:۱۰۰، ۲۵:۷۵ ، ۵۰:۵۰، ۷۵:۲۵، ۱۰۰:۰ درصد) در برابر برخی باکتری‌های بیماری‌زا بود. آزمون‌های ضد میکروبی به دو روش انتشار در چاهک آگار و میکرودایلوشن انجام شد. نتایج حاصل از داده‌های GC-MS نشان داد مهمترین اجزاء (<۵٪) اسانس ریحان استراگول (۶۶/۰۱ درصد) و میرسین (۲۰/۳۸ درصد)؛ و در مریم گلی لینالول (۶۶/۰۳ درصد)، لینالیل آنترانیلات (۱۵/۹۰ درصد) و آلفا- پینن (۶/۰۵ درصد) بودند. اسانس‌های منفرد ریحان و مریم گلی در برابر تمامی سویه‌های باکتریایی، به استثناء ریحان در برابر *پسودوموناس آئروژنزا* (ATCC27853) اثر مهارکنندگی رشد نشان دادند ($p< ۰/۰۵$). براساس شاخص غلظت‌های ممانعت کننده سهمی ریحان : مریم گلی نشان داد تیمارهای ترکیبی ۷۵ : ۲۵ و ۵۰ : ۵۰ درصد در برابر *پسودوموناس آئروژنوزا* اثر هم‌افزایی، ۵۰:۵۰ و ۲۵: ۷۵ درصد در برابر *اشریشیاکلی* (ATCC25922)، 25:75 درصد بر سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC25923) و ۷۵:۲۵ درصد در برابر *باسیلوس سرئوس* (ATCC 11778) اثر افزایشی نشان دادند. یافته‌ها نشان داد شدت فعالیت ضدباکتریایی نمونه‌های اسانس تابع نوع، نسبت اختلاط و سویه هدف قرار دارد. مخلوط اسانس‌های ریحان و مریم گلی، غنی از ترکیبات زیستی بوده و به نظر می‌رسد با دارا بودن اثرات ضدباکتریایی قابلیت کاربرد در مواد غذایی را دارا باشد. بدیهی است کاربرد تجاری این فرآورده نیازمند پژوهش‌های بیشتر در ماده غذایی و دریافت مجوزهای لازم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری‌زا، رشد باکتری، غذای سالم و نگهدارنده طبیعی.

مقدمه

ازگذشته‌های دور ارتباط میان غذاهای آلوده و بیماری‌های عفونی در انسان شناخته شده است. امروزه موضوع ایمنی مواد غذایی با هدف کنترل فساد میکروبی نقش مهمی در ارتقاء سطح سلامت جامعه و جلوگیری از ضررهای اقتصادی هنگفت دارد. علی‌رغم تلاش‌ها و پیشرفت‌ها در پادمان‌های بهداشتی و همچنین روش‌های تولید مواد غذایی، میکروب‌های منتقله از غذا همچنان بصورت خطرناکی افزایش یافته است (Sateriale *et al*., 2022). به همین دلیل توسعه و بهبود روش‌های نگهداری و تولید مواد غذای به یکی از دغدغه‌های اصلی متولیان بهداشت عمومی و تولید کنندگان مواد غذایی تبدیل شده است (Alhaithloul *et al*., 2020). در میان میکروب‌های شناخته شده، گونه‌های باکتریایی نقش مهمی در آلودگی مواد غذایی دارند. از مهمترین سویه‌های باکتریایی می‌توان به *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *پسودوموناس آئروژنوزا* و *اشریشیاکلی* اشاره نمود (Najafi *et al*., 2024). امروزه استفاده از ترکیبات نگهدارنده شیمیایی به دلیل ارزانی و دامنه اثرگذاری گسترده رایج شده است. شناخت اثرات منفی افزودنی‌های شیمیایی بر سلامت انسان، به همراه افزایش سطح دانش عمومی موجب شده تا متولیان صنایع غذایی نگهدارنده‌های طبیعی و کم خطری مانند اسانس‌ها را مورد قرار دهند (Abers *et al*., 2021). اسانس‌ها، ترکیبات شیمیایی طبیعی و حاصل متابولیت ثانویه برخی گیاهان هستند. این ترکیبات سازگار با محیط زیست بوده و با دارا بودن ترکیبات شیمیایی متعلق به گروه‌های ترپنوئیدی و فنیل پروپانوئیدها خواص ضدمیکروبی دارند (Raeisi *et al*., 2017). با این وجود اثرات محدود اسانس‌ها بر کنترل رشد میکروب‌ها و نیز ظهور سویه‌های مقاوم به ترکیبات بازدارنده رشد، موجب گردیده تا روش اختلاط اسانس‌ها با هدف دستیابی به تاثیرگذاری بیشتر مورد توجه قرار گیرد (Kachkoul *et al*., 2024). بررسی منابع علمی گذشته نشان می‌دهد تحقیقاتی متعددی در خصوص اختلاط اسانس‌های مختلف مانند مریم گلی و آویشن (Mokhtari *et al*., 2023)، ریحان و نعنا فلفلی (Turk *et al*., 2024)، رزماری، نعنا و اکالیپتوس (Kachkoul *et al*., 2024) بر کنترل رشد باکتری‌های مولد فساد مواد غذایی انجام شده است. تفاوت‌هایی در نتایج منتشره دیده می‌شود که اصولا به تنوع در نوع و مقدار اجزاء شیمیایی نمونه‌های اسانس تهیه شده باز می‌گردد. عواملی چون نوع گیاه، شرایط پرورش و برداشت، ناحیه جغرافیایی، فرآوری و روش اسانس‌گیری بر نوع و مقدار هر جزء سازنده اسانس موثر هستند (Alhaithloul *et al*., 2020). گیاهان خانواده نعنائیان مانند مریم گلی (*Salvia officinalis*) و ریحان (*Ocimum basilicum*) غنی از اسانس هستند (Mokhtari *et al*., 2023; Najafi and Najafi, 2023; Rahmati-Joneidabad, 2023). ریحان گیاهی علفی، یک ساله و معطر است که در اکثر نواحی جهان مانند شمال غربی هند، آسیای میانه، شمال شرق آفریقا و ایران بصورت خودرو و زراعی دیده می‌شود. ریحان در طب سنتی جهت درمان بیماری‌های گوش درد، کلیوی، سرماخوردگی، بی‌اشتهایی، مالاریا و همچنین تازه‌خوری کاربرد دارد (Najafi and Najafi., 2023). مریم گلی گیاهی معطر و دارویی است که بصورت بوته‌های کوچک و چند ساله در مناطق گسترده‌ای از آسیا و آفریقا قابل رویت است. وجود خواص

دارویی مانند ضدمیکروبی، ضدانعقادی، ضدسرطانی، ضدالتهابی، ضد درد، آنتی‌اکسیدانی، هیپوگلیسمی و هیپولیپیدی این گیاه را متمایز ساخته است (Ghorbani and Esmaeilizadeh, 2017). هدف اصلی از انجام این پژوهش مقایسه خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر در برابر برخی از مهمترین باکتری‌های بیماری‌زای غذایی به دو روش سنجش در آگار[1] و میکرودایلوشن است. اثر مهارکنندکی رشد نمونه‌های اسانس در برابر هر سویه، پس از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC[2]) و به کمک شاخص غلظت‌های ممانعت کننده سهمی (FICI[3]) بررسی گردید. در انتها موثرترین نسبت اختلاط اسانس‌ها معرفی شده است.

مواد و روش

تهیه مواد اولیه

نمونه‌های برگ گیاهان ریحان و مریم گلی از پژوهشگاه کشاورزی زابل (زابل، ایران)، تمامی ترکیبات شیمیایی و محیط کشت‌های مورد استفاده با نام تجاری مرک[4] (دارمشتات، آلمان) از بازار، سویه‌های باکتریایی *باسیلوس سرئوس* (ATCC11778)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923)، *پسودوموناس آئروژنوزا* (ATCC 27853) و *اشریشیاکلی* (ATCC 25922) بصورت لیوفلیزه از کلکسیون کشت میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شدند.

استخراج اسانس و آنالیز GC-MS:

نمونه‌های برگ ریحان و مریم گلی پس از تائید گروه زراعت و اصلاحات نباتات دانشگاه زابل و حذف آلودگی‌های احتمالی در دمای اتاق خشک و در ادامه به کمک دستگاه کلونجر و حلال آب اسانس‌گیری شدند. نمونه‌های بدون رطوبت اسانس، تا زمان استفاده درون ویال‌های شیشه‌ای تیره رنگ و در بسته، تحت شرایط یخچالی نگهداری شدند (Najafi *et al*., 2024). جهت شناسایی اجزا سازنده هر اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent 7890A - آمریکا) متصل به طیف‌سنج جرمی (Agilent 5975C) و ستون DB-5 (به طول ۳۰ m متر و قطر داخلی ۲۵۰ µm) استفاده گردید. گاز هلیوم به عنوان ناقل با سرعت ۱/۱ ml/min- ۰/۹ و دمای کنترل شده ۳۰ تا ۲۵۰°C (روند افزایشی ۲/۵ °C/min) به درون ستون تزریق گردید. طیف سنج جرمی دارای انرژی یونیزاسیون ۷۰ ev بود. شناسایی ترکیبات اسانس با بررسی طیف نرمال آلکان‌های C7 - C22 و کتابخانه ویلی[5] انجام شد (Euch *et al*., 2019).

---

[1]. Agar diffusion assay
[2] . Minimum inhibitory concentration
[3] . Fractional Inhibitory Concentration Index
[4] . Merck
[5] . Willy

تکثیر سویه‌های باکتریایی

بسته‌بندی لیوفلیزه نمونه‌های میکروبی تحت شرایط استریل و در زیر هود میکروبی شکسته و به محیط کشت مایع تریپتوسوی براث (TSB[6]) منتقل شدند. سوسپانسیون میکروبی حاوی *باسیلوس سرئوس* در دمای ۳۰°C و سایر سویه‌ها تحت دمای °C ۳۷ برای مدت ۲۴ ساعت در داخل گرمخانه نگهداری گردیدند. کلنی خالص هر سویه با استفاده از روش کشت خطی در محیط کشت تریپتوسوی آگار (TSA[7]) تهیه و به محیط کشت TSB تلقیح شد. پس از ۲۴ ساعت، سوسپانسیون باکتریایی (CFU/ml ۱۰۶ ×۱/۵ – ۱) به کمک روش نیم مک‌فارلند تهیه و در آزمون‌های بعدی استفاده گردید (Saravani *et al*., 2021).

آزمون ضد میکروبی به روش سنجش انتشار در چاهک آگار

برای اندازه‌گیری فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌های ریحان و مریم گلی مقدار µl ۱۰۰ از سوسپانسیون میکروبی به سطح پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار منتقل و سپس چاهک‌هایی به قطر ۶mm در هر پلیت ایجاد شد. در مرحله بعد مقادیر ۲۰، ۴۰، ۶۰ و µl۸۰ از اسانس منفرد و ترکیب شده ریحان : مریم گلی در نسبت‌های اختلاط ۱۰۰:۰، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵، ۷۵:۲۵، ۱۰۰:۰ درصد به هر چاهک اضافه و سطح آن با محیط کشت نوترینت آگار مذاب پر شد. در نمونه کنترل به هر چاهک آب استریل اضافه گردید. در ادامه پلیت ها تحت شرایط ذکر شده در بخش پیشین گرمخانه‌گذاری شدند. اثر ضد میکروبی بر حسب mm هاله بازدارنده گزارش گردید (Boulares *et al*., 2023).

تعیین فعالیت ضد باکتریایی به روش میکرودایلوشن

برای تعیین مقادیر MIC و حداقل غلظت گشندگی (MBC[8]) نمونه‌های اسانس تهیه شده در برابر سویه‌های باکتریایی (CFU/ml ۱۰۶ ×۱/۵ - ۱) از روش میکرودایلوشن، محیط کشت TSB و پلیت ۹۶ خانه استفاده شد. غلظت نمونه‌های اسانس از ۴ تا (µg/mg) ۲۰۰۰ متغیر بود. خانه‌های فاقد نمونه میکروبی و فاقد اسانس بترتیب عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. پس از آنکه پلیت‌ها به مدت یک شبانه روز تحت شرایط ذکر شده در بخش پیشین گرمخانه‌گذاری شدند، جمعیت باکتری هر خانه، به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil 7250, England) در طول موج ηm۶۲۰ بررسی گردید. خانه‌هایی که در آنها ۹۹ درصد جمعیت میکروبی کاهش یافته بود به‌عنوان MBC و غلظتی از اسانس که در آن جمعیت میکروبی تغییری نداشت به عنوان MIC در نظر گرفته شدند. جمعیت اطمینان از اثرگذاری اسانس‌ها، مقدار µl ۵۰ از خانه‌هایی که فاقد رشد میکروبی به پلیت حاوی TSA منتقل و پس از گرمخانه گذاری رشد باکتری بررسی گردید (Sateriale *et al*., 2022).

[6] . Tryptic soy broth
[7] . Tryptic soy agar
[8].Minimum bactericidal concentration

شاخص غلظت‌های ممانعت کننده سهمی (FICI[9]):

غلظت ممانعت کننده سهمی (FIC[10]) نمونه مخلوط اسانس (A و B) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید:

رابطه ۱: $FIC_{A\rightarrow B} = C_B / MIC_B, FIC_{B\rightarrow A} = C_A / MIC_A$

جهت محاسبه FICI از رابطه ۲ بهره گرفته شد:

رابطه ۲: $FICI = FIC_{A\rightarrow B} + FIC_{B\rightarrow A}$

FICI ≤۰/۵ : هم افزایی[11]، ۰/۵ < FICI < ۱ : افزایشی[12]، ۱≤ FICI ≤ ۴ بی اثر[13]، FICI > ۴ : کاهشی[14] در نظر گرفته شدند (Kavalopoulos *et al*., 2024).

تجزیه و تحلیل داده ها:

داده‌های به دست آمده از آزمون میکروبی به روش سنجش انتشار در چاهک آگار با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده آزمون چند دامنه‌ای دانکن (سطح احتمال ۵ درصد) صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج تجزیه و شناسایی ترکیبات اسانس‌ها (GC-MS)

نتایج آزمون GC-MS نمونه‌های اسانس ریحان و مریم‌گلی در جدول ۱ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود ۹۹/۰۵ درصد ترکیبات اسانس ریحان شامل ۱۶ جزء مختلف شناسایی شد. چهار ترکیب شیمیایی استراگول (۶۶/۰۱ درصد)، میرسین (۲۰/۳۸ درصد)، آلفا – پینن (۲/۷۴ درصد) و آلفا کادینول (۲/۴۱ درصد) بیشترین سهم (<۲٪) را به خود اختصاص دادند. همچنین ۹۸/۸۷ درصد ترکیبات شیمیایی اسانس مریم گلی، شامل ۱۷ جزء شیمیایی مختلف تشخیص داده شد. مهمترین اجزاء (<۲٪) شامل لینالول (۶۶/۰۹ درصد)، لینالیل آنترانیلات (۱۵/۹۰ درصد) و آلفا- پینن (۶/۰۵ درصد) بود.

فعالیت ضدباکتریایی نمونه‌های اسانس به روش انتشار در آگار :

نتایج بررسی اثرات نمونه‌های اسانس ریحان و مریم گلی بصورت منفرد و در ترکیب با یکدیگر بر مهار رشد باکتری‌های هدف در جدول ۲ آورده شده است. به استثناء تیمار اسانس ریحان در برابر *پسودوموناس آئروژنزا*، تمامی تیمارهای حاوی اسانس

[9] .Fractional Inhibitory Concentration Index
[10] .Fractional Inhibitory Concentration
[11] . Synergism
[12] . Additive
[13] . Indifferent
[14] . Antagonism

منفرد ریحان و مریم گلی بر مهار رشد باکتری‌های هدف موثر بودند ($p<0.05$). مقایسه هاله بازدارنده رشد تیمارهای منفرد اسانس ریحان و مریم گلی نشان داد اسانس مریم گلی اثرات ضدباکتریایی نیرومندتری دارد. بیشترین هاله بازدارنده رشد *باسیلوس سرئوس* (۲۴/۹ ۰±/۴ mm) توسط تیمار مریم گلی : ریحان (۷۵:۲۵l, ۸۰ µ درصد) و برای سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۹/۴ ۰±/۶ mm)، *اشریشیاکلی* (۱۹/۷ ۰±/۵ mm) و *پسودوموناس آئروژنوزا* (۱۲/۳ ۰±/۳ mm) توسط تیمار منفرد مریم گلی (۸۰l µ) بدست آمد ($p<0.05$). بررسی تیمارهای حاوی اسانس‌های ترکیبی اثرات متفاوتی بر مهار رشد باکتری‌های هدف نشان دادند.

جدول ۱: نوع و مقدار ترکیبات سازنده اسانس‌های ریحان و مریم گلی (برحسب درصد) .

ردیف	ریحان			مریم گلی		
	ترکیب شیمیایی	RT	(درصد)	ترکیب شیمیایی	RT	(درصد)
۱	α- pinene	۸/۹۰	۲/۷۴	α- Pinene	۸/۹۰	۶/۰۵
۲	Sulcatone	۱۰/۱۳	۰/۳۶	3-Octanone	۱۰/۱۵	۰/۳۹
۳	D-Limonene	۱۱/۵۷	۰/۳۴	1,8- Cineole	۱۱/۷۲	۱/۱۲
۴	1,8- Cineole	۱۱/۷۱	۰/۳۶	Ethyl 2-(5-methyl-5-vinyltetrahydrofuran-2-yl)propan-2-yl carbonate	۱۳/۲۴	۱/۴۳
۵	Myrcene	۱۳/۶۳	۲۰/۳۸	Linalool	۱۳/۷۵	۶۳/۰۹
۶	Cyclohexanol, 1-methyl--4-(1-methylethyl)	۱۶/۰۰	۰/۸۲	1,2-Dihydrolinalool	۱۴/۵۶	۱/۲۰
۷	Estragole	۱۶/۷۶	۶۶/۰۱	Bornanone	۱۵/۲۷	۰/۸۰
۸	Z-Citral	۱۷/۶۴	۰/۵۳	Terpinene-4-ol	۱۶/۱۳	۱/۸۲
۹	E-Citral	۱۸/۴۴	۱/۱۶	α-Terpineol	۱۶/۵۱	۰/۶۷
۱۰	α-Terpineol	۱۹/۰۸	۰/۴۲	Linalyl anthranilate	۱۷/۸۶	۱۵/۹۰
۱۱	α - Bergamotene	۲۲/۹۵	۱/۱۸	cinnaamaldehyde	۱۸/۸۱	۰/۵۰
۱۲	Caryophyllene	۲۲/۸۲	۰/۸۰	Dimethyl-1,7-octadiene-3,6-diol	۱۸/۵۳	۰/۳۵
۱۳	β-Elemene	۲۳/۲۷	۰/۳۶	Citral	۲۰/۱۱	۱/۲۹
۱۴	β-Bisabolene	۲۴/۸۰	۰/۳۶	trans-Sabinyl isobutyrate	۲۰/۴۴	۱/۷۱
۱۵	α- Cadinol	۲۵/۵۸	۲/۴۱	Dexchlorpheniramine	۲۷/۷۹	۰/۴۲
۱۶	Methoxycinnamaldehyde	۲۶/۵۳	۰/۷۳	1-(2,6-dichlorophenyl)-1,3-dihydro	۳۳/۹۵	۱/۲۸
۱۷	-	-	-	Methyl stearate	۳۲/۳۳	۰/۴۷
	درصد کل	۹۹/۰۵		درصد کل	۹۸/۸۷	

RT: زمان ماندگاری

مقادیر MIC و MBC نمونه های اسانس به روش میکرودایلوشن

تعیین مقادیر MIC و MBC، از جهت ارزیابی اثرات ضدباکتریایی ترکیبات بازدارنده رشد اهمیت دارد (Najafi *et al.*, 2023). جدول ۳، مقادیر MIC و MBC نمونه‌های اسانس ریحان و مریم گلی (منفر و ترکیبی) را در برابر سویه‌های هدف نشان می‌دهد. بالاترین مقدار (۱۰۰۰µg/mg) MIC در تیمارهای اسانس ریحان منفرد و ترکیبی ریحان: مریم گلی (۷۵:۲۵ درصد)

در برابر سویه *پسودوموناس آئروژنزا* و کمترین مقدار (µg/mg ۶۲) از اثرگذاری تیمار مریم‌گلی منفرد در برابر *باسیلوس سرئوس* ثبت گردید. بر همین اساس حساس‌ترین باکتری *باسیلوس سرئوس* و مقاوم‌ترین آنها *پسودوموناس آئروژنزا* تشخیص داده شدند. اختلاط اسانس‌ها با یکدیگر اثرات متفاوتی را بر مقادیر MIC و MBC اسانس‌ها در برابر سویه‌های مختلف نشان دادند.

جدول ۲: قطر هاله بازدارنده (میلی متر) اسانس‌های ریحان و مریم گلی به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر در برابر سویه های هدف

اسانس ریحان (٪)	اسانس مریم‌گلی (٪)	حجم (µl)	سویه های هدف			
			باسیلوس سرئوس	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*اشریشیا کلی*	*پسودوموناس آئروژنوزا*
		۰	NE	NE	NE	NE
		۲۰	۱۳/۵ ± ۰/۷ B,gh	۱۴/۸ ± ۰/۶ A,cd	۱۱/۸ ± ۰/۱C,g	NE
۰	۱۰۰	۴۰	۱۵/۶ ± ۰/۳ A,f	۱۶/۹ ± ۰/۸ A,bc	۱۶/۳ ± ۰/۷ A,bc	۱۰/۲ ± ۰/۴ C,b
		۶۰	۱۳/۶ ± ۰/۴ B,gh	۱۷/۲ ± ۰/۴ A,b	۱۷/۶ ± ۰/۹ A,b	۸/۵ ± ۰/۶ C,c
		۸۰	۲۰/۱ ± ۰/۵ A,c	۱۹/۴ ± ۰/۶ A,a	۱۹/۷ ± ۰/۵ A,a	۱۲/۳ ± ۰/۳ B,a
		۰	NE	NE	NE	NE
		۲۰	۱۵/۴ ± ۰/۴ A,f	۱۵/۰ ± ۰/۳ A,c	۱۴/۶ ± ۰/۱ A,d	NE
۲۵	۷۵	۴۰	۲۱/۷ ± ۰/۷ A,b	۲۰/۴ ± ۰/۵ A,a	۱۱/۹ ± ۰/۶ B,g	۸/۵ ± ۰/۱C,c
		۶۰	۲۰/۳ ± ۰/۳ A,c	۱۵/۹ ± ۰/۷ B,bc	۱۵/۳ ± ۰/۴ B,c	NE
		۸۰	۲۴/۹ ± ۰/۴ A,a	۱۴/۷ ± ۰/۲ B,cd	۱۲/۷ ± ۰/۱ C,fg	NE
		۰	NE	NE	NE	NE
		۲۰	۱۲/۲ ± ۰/۲ A,h	۱۰/۰ ± ۰/۳ B,g	۱۰/۴ ± ۰/۳ B,i	NE
۵۰	۵۰	۴۰	۱۷/۶ ± ۰/۴ A,e	۱۲/۵ ± ۰/۶ B,f	۱۲/۳ ± ۰/۶ B,f	۷/۷ ± ۰/۲C,d
		۶۰	۱۹/۰ ± ۰/۵ A,d	۱۳/۴ ± ۰/۱ C,ef	۱۶/۸ ± ۰/۵ B,bc	NE
		۸۰	۱۸/۸ ± ۰/۳ A,d	۱۷/۳ ± ۰/۲ B,b	۱۳/۲ ± ۰/۶ C,e	NE
		۰	NE	NE	NE	NE
		۲۰	۱۴/۴ ± ۰/۱ A,g	۱۱/۴ ± ۰/۱ B,g	۱۱/۲ ± ۰/۷ B,h	NE
۷۵	۲۵	۴۰	۱۵/۵ ± ۰/۴ A,f	۱۲/۰ ± ۰/۲ B,f	۱۲/۳ ± ۰/۴ B,fg	۷/۱ ± ۰/۱C,e
		۶۰	۱۶/۳ ± ۰/۳ A,f	۱۴/۳ ± ۰/۱ B,de	۱۳/۴ ± ۰/۱ C, e	NE
		۸۰	۱۷/۱ ± ۰/۲ A,e	۱۳/۹ ± ۰/۶ B,e	۱۳/۵ ± ۰/۳ B,e	NE
		۰	NE	NE	NE	NE
		۲۰	۹/۶ ± ۰/۶ A,i	۸/۱ ± ۰/۳ B,h	۹/۷ ± ۰/۳ A,j	NE
۱۰۰	۰	۴۰	۱۴/۲ ± ۰/۴ A,g	۸/۹ ± ۰/۴ C,h	۱۱/۲ ± ۰/۱ B,i	NE
		۶۰	۸/۰ ± ۰/۷ C,i	۱۵/۴ ± ۰/۵ A,c	۱۱/۴ ± ۰/۵ B,i	NE
		۸۰	۱۲/۴ ± ۰/۳ B,h	۱۴/۶ ± ۰/۶ A, cd	۱۰/۰ ± ۰/۳ C,j	NE

داده ها به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده اند. NE: فاقد اثر بازدارندگی رشد، حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب در هر ردیف و ستون نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می باشند.

مقادیر MIC و MBC نمونه های اسانس به روش میکرودایلوشن

تعیین مقادیر MIC و MBC، از جهت ارزیابی اثرات ضدباکتریایی ترکیبات بازدارنده رشد اهمیت دارد (Najafi *et al.*, 2023). جدول ۳، مقادیر MIC و MBC نمونه‌های اسانس ریحان و مریم گلی (منفر و ترکیبی) را در برابر سویه‌های هدف نشان

می‌دهد. بالاترین مقدار (۱۰۰۰µg/mg) MIC در تیمارهای اسانس ریحان منفرد و ترکیبی ریحان: مریم گلی (۷۵:۲۵ درصد) در برابر سویه *پسودوموناس آئروژنزا* و کمترین مقدار (۶۲ µg/mg) از اثرگذاری تیمار مریم‌گلی منفرد در برابر *باسیلوس سرئوس* ثبت گردید. بر همین اساس حساس‌ترین باکتری *باسیلوس سرئوس* و مقاوم‌ترین آنها *پسودوموناس آئروژنزا* تشخیص داده شدند. اختلاط اسانس‌ها با یکدیگر اثرات متفاوتی را بر مقادیر MIC و MBC اسانس‌ها در برابر سویه‌های مختلف نشان دادند.

جدول ۳: حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) نمونه‌های اسانس ریحان و مریم گلی (µg/ml) به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر

پسودوموناس آئروژنزا		*اشریشیا کلی*		*استافیلوکوکوس اورئوس*	*باسیلوس سرئوس*		اسانس مریم‌گلی (٪)	اسانس ریحان (٪)
MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MBC	MIC		
۲۰۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۵۰۰	۱۰۰	۵۰۰	۰	۰
۱۰۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۵۰۰	۷۵	۲۵۰	۲۵	۲۵
۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۵۰۰	۵۰	۲۵۰	۵۰	۵۰
۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵	۲۵۰	۷۵	۷۵
۵۰۰	۵۰۰	۱۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۰	۲۵۰	۱۰۰	۱۰۰

شاخص غلظت‌های ممانعت کننده سهمی (FICI):

نتایج FIC و FICI نمونه‌های ترکیبی اسانس ریحان و مریم گلی در جدول ۴ بیان شده است. همانطور که مشاهده می‌شود ترکیب دو اسانس ریحان و مریم گلی اثرات ضدباکتریایی متفاوتی را نشان دادند. مخلوط اسانس‌های ریحان : مریم‌گلی در نسبت‌های ۷۵ : ۲۵ و ۵۰ : ۵۰ درصد اثر هم افزایی در برابر *پسودوموناس آئروژنوزا* ثبت نمود. حال آنکه نمونه اسانس ریحان : مریم گلی در نسبت ۲۵:۷۵ درصد بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و در نسبت‌های ۵۰ : ۵۰ و ۲۵ : ۷۵ بر *اشریشیا کلی* اثر افزایشی داشتند. شاخص غلظت ممانعت کننده سهمی *برای باسیلوس سرئوس* متغیر بود بطوری‌که تیمارهای ۷۵:۲۵ درصد برابر ۰/۸، ۵۰:۵۰ درصد برابر ۱/۱ و ۲۵:۷۵ درصد معادل ۱/۳ بود که به‌ترتیب افزایشی، بی اثر و بی‌اثر ارزیابی شدند.

جدول ۴: غلظت بازدارنده کسری (FIC) و شاخص غلظت بازدارنده کسری (FICI) نمونه های ترکیبی اسانس‌های ریحان و مریم گلی در برابر میکروبهای هدف

باکتری هدف	FIC اسانس ریحان به مریم گلی	FIC اسانس مریم گلی به ریحان	FICI	نوع برهمکنش
باسیلوس سرئوس	۰/۴-۱/۲	۰/۱-۰/۴	۰/۸-۱/۳	افزایشی - بی اثر
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۶	۰/۱	۰/۷	افزایشی
اشریشیا کلی	۰/۴-۰/۶	۰/۳-۰/۵	۰/۹	افزایشی
پسودوموناس آئروژنوزا	۰/۱	۰/۱-۰/۳	۰/۲-۰/۳	هم افزایی

بحث

تاکنون پژوهش‌های متعددی در مورد ترکیبات اسانس ریحان و مریم گلی منتشر شده است. در یک مورد مهمترین ترکیبات اسانس ریحان استراگول (۷۷/۳ درصد)، اکالیپتو (۶/۴ درصد) و ترانس-آلفا-برگاموتن (۴/۰ درصد) (Hanh *et al*., 2023)، و در گزارشی دیگر لینالول (۴۱/۳ درصد) و ۱و ۸ -سینئول (۹/۶ درصد) (Ghasemi *et al*., 2017) بیان شده است. گزارش شده بیشترین ترکیبات سازنده اسانس مریم گلی متیل چاویکول (۸۶ درصد) و ترنس آنیتول (۸/۶ ٪) (Qasem *et al*., 2023)، کامفور (۳۳/۶ درصد)، ۱و ۸ سینئول (۲۲/۲ درصد) و آلفا توجون (۲۱/۴ درصد) (Euch *et al*., 2019) می‌باشد. مقایسه نتایج بدست آمده با پژوهش‌های گذشته تفاوت‌هایی را به لحاظ مقدار اجزاء اسانس را نشان می‌دهد. که اصولا به دلیل تاثیرپذیری گیاه از عواملی مانند نوع، ژنتیک، سن، ناحیه جغرافیایی، شرایط آب و هوایی فصلی، ویژگی‌های خاک، دفعات آبیاری، کیفیت آب آبیاری، شرایط برداشت و نگهداری گیاه پس از برداشت می‌باشد. ضمن آنکه نباید تاثیر عواملی چون بخش گیاه مولد اسانس، روش خشک کردن، روش اسانس‌گیری و تجهیزات مورد استفاده را بر کیفیت و راندمان اسانس استحصالی از نظر دور داشت (Ovidi *et al*., 2021; Lalitkumar *et al*., 2024; Li *et al*., 2019). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون‌های ضد میکروبی انتشار در چاهک آگار و میکرودایلوشن نشان می‌دهند اسانس‌های ریحان و مریم گلی بصورت منفرد و ترکیبی بر باکتری‌های گرم مثبت *(باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس)* در مقایسه با سویه‌های گرم منفی *(اشریشیاکلی* و *پسودوموناس آئروژنوزا)* موثرتر بودند. این موضوع به نوع و مقدار اجزاء شیمیایی سازنده اسانس‌ها، برهمکنش اجزاء اسانس و نیز تفاوت‌های ساختمانی باکتری‌های گرم مثبت و منفی باز می‌گردد (Ivanova *et al*., 2025). بطور کل اثر ضدباکتریایی اسانس‌ها ناشی از ماهیت چربی دوستی اجزاء شیمیایی و نقش تخریبی آنها بر دیواره‌ی سلولی (فسفولیپیدی-پلی ساکاریدی و اسیدهای چرب) است که موجب تغییر آرایش غشاءسلولی، افزایش نفوذ پذیری و خروج ترکیبات زیستی مانند املاح، یون‌های هیدروژن و ATP می‌شود. بدنبال آننهایت با برهم خوردن تعادل اسمتیک و pH سیتوپلاسم، موجب توقف رشد و مرگ می‌شود (Li *et al*., 2019). بطورکل مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با گرم مثبت به وجود ترکیبات لیپوپلی‌ساکاریدی در ساختمان غشاءسلولی باکتری‌های گرم منفی بازمی‌گردد. این ترکیبات موجب استحکام بیشتر و نفوذپذیری پائین در برابر ترکیبات آبگریز مانند اسانس‌ها می‌شوند. با این وجود برخی از اجزای شیمیایی آب دوست ریز مولکول م از کانال‌های پورین غشاء سلولی عبور نموده و اثرات منفی بر رشد میکروب نشان می‌دهند. در مقابل لایه پپتیدگلیکان دیواره‌ی سلولی انواع گرم مثبت در برابر اجزای شیمیایی اسانس‌ها نفوذپذیرتر هستند. با این حال نمی‌توان با قطعیت بیان داشت که اثرا مهارکنندگی رشد اسانس‌ها بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی است (Purushothaman *et al* .,2018). گزارشاتی در خصوص اثر بازدارندگی اسانس ریحان در برابر باکتری‌های *لیستریا منو سیتوژنز* ، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *اشریشیاکلی*، *سالمونلا تیفی‌موریم* و *پسودوموناس آئروژنوزا* منتشر شده است (Najafi *et al*., 2024; Abers *et al*., 2021; Ilic *et al*., 2023). در یک مورد

عدم تاثیرگذاری اسانس ریحان بر رشد *پسودوموناس آئروژنوزا* گزارش شده است (Gaio *et al*., 2015). همچنین گزارشاتی در خصوص اثرات مهارکنندگی اسانس مریم گلی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *باسیلوس سوبتلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا انتریدیس*، *پسودوموناس آئروژنوزا* و *اشریشیا کلی* در دسترس است (Zouine *et al*., 2024; Khedher *et al*., 2017). تفاوت در نتایج بدست آمده احتمالا ناشی از تفاوت در نوع و میزان ترکیبات سازنده اسانس و سویه‌های باکتریایی بوده است (Khwaza & Aderibigbe, 2025). تیمار ترکیبی اسانس‌های ریحان و مریم گلی اثرات افزایشی مطلوبی را بر رشد میکروبی تمامی سویه‌های هدف نشان دادند. این ویژگی تحت تاثیر نسبت اختلاط دو اسانس‌ها و نیز نوع باکتری قرار داشت. هرچند اسانس منفرد ریحان بر مهار رشد *پسودوموناس آئروژنوزا* بی‌تاثیر بود اما ترکیب آن با اسانس مریم گلی توانست مهار کنندگی رشد را تقویت نماید. این خصوصیت احتمالا ناشی از تنوع بیشتر اجزاء شیمیایی با خصوصیت ضد باکتریایی مانند استراگول، میرسن، لینالول، آلفا -پینن و ا و ۸- سینئول در نمونه‌های اسانس ترکیب شده در مقایسه با تیمار منفرد می‌باشد (Liang *et al*., 2023; Khwaza & Aderibigbe, 2025). بررسی منابع علمی گذشته نشان می‌دهد گزارشات بسیار محدودی در خصوص اثرات ضد میکروبی مخلوط اسانس‌های ریحان و مریم گلی منتشر شده است. تنها در یک مورد اثر افزایشی اسانس‌های ریحان و مریم گلی در برابر سویه *پسودوموناس آئروژنوزا* تائید شده که بانتایج بدست آمده در این پژوهش هماهنگ است (Pejcic *et al*., 2021). در پژوهش‌هایی مشابه اثرات افزایشی خواص ضدباکتریایی مخلوط اسانس‌های آویشن و مریم‌گلی در برابر سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *اشریشیاکلی* (Mokhtari *et al*., 2023;)، همچنین آویشن و میخک در برابر سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* (Sateriale *et al*., 2022) منتشر شده است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش ترکیبات شیمیایی سازنده اسانس‌های ریحان و مریم‌گلی شناسایی شدند. تفاوت‌های کلی در نوع و مقدار اجزاء سازنده اسانس‌ها دیده شد. مهمترین اجزاء (<۵٪) شیمیایی اسانس ریحان شامل استراگول (۶۶/۰۱ درصد) و میرسین (۲۰/۳۸ درصد) و در مریم گلی ترکیبات لینالول (۶۶/۰۳ درصد) و لینالیل آنترانیلات (۱۵/۹۰ درصد) بود. به استثناء تیمار منفرد اسانس ریحان در برابر *پسودوموناس آئروژنوزا*، سایر تیمارهای منفر و ترکیبی اسانس‌های ریحان و مریم گلی اثرات مهارکندگی در برابر سویه‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* (ATCC 11778)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC25923) و گرم منفی *پسودوموناس آئروژنوزا* (ATCC 27853) و *اشریشیاکلی* (ATCC 25922) نشان دادند. بررسی شاخص غلظت‌های ممانعت کننده سهمی (FICI) در تمامی نسبت‌های اختلاط اثر هم افزایی در برابر سویه *اشریشیاکلی* و افزایشی بر سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *پسودوموناس آئروژنزا* ثبت نمودند. یافته‌ها نشان می‌دهند مخلوط اسانس‌های ریحان : مریم گلی می‌تواند به عنوان ترکیب مهار کننده رشد میکروبی مورد استفاده قرار گیرد. بدیهی است کاربرد تجاری این فرآورده نیازمند پژوهش‌های بیشتر در محیط واقعی و دریافت مجوزهای لازم می‌باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود. این پژوهش با بهره‌گیری از گرنت شماره UOZ-GR-9955 اجرا گردیده است.

منابع

Abers, M., Schroeder, S., Goelz, L. & *et al*., (2021). Antimicrobial activity of the volatile substances from essential oils. *BMC Complement Med Ther*, 21(124): 1-14.

Alhaithloul, H.A., Soliman, M.H., Ameta, K.L., El-Esawi, M.A, & Elkelish A., (2020). Changes in ecophysiology, osmolytes, and secondary metabolites of the medicinal plants of Mentha piperita and *Catharanthus roseus* subjected to drought and heat stress. *Biomolecules*, 10(43): 1-21.

Boulares, M., Mania, M., El Adan, S., Ben Moussa, O., Tabor, R. & Hassouna, M., (2023). Anti-Listeria Activity of Oregano and Cinnamon Essential Oils in Vacuum Packed Ground Ovine Meat during Refrigerated Storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 25(1): 61-73.

Euch S. KE, Hassine D.B., Cazaux S., Bouzouita N. & Bouajila J., (2019). *Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities. *South African Journal of Botany*, 120: 253-260.

Gaio I., Saggiorato A.G., Treichel H., Cichoski A.J., Astolfi V. & *et al*., (2015). Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. *Journal fuer Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 10(4): 323-336.

Ghasemi PA, Malekpoor. & Salimi A., (2017). Chemical composition and yield of essential oil from two Iranian species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*). *Trends Phytochem Res*, 1(1): 3–8. (In Persian).

Ghorbani A. & Esmaeilizadeh M., (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(4): 433-440.

Hanh, D T B., Ngu, T.N., Bao, P.H.T., Dung, N.T.V., My, D.T.T. & *et al*., (2023). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil from *Ocimum basilicum* L. Collected in Dak Lak, Vietnam. *Tropical Journal of Natural Product Research (TJNPR)*, 7(9): 4032-4037.

Ilic, Z.S., Milenkovic, L., Sunic, L., Tmusic, N., Mastilovic, J. & *et al*., (2021). Efficiency of Basil essential oil antimicrobial agents under different shading treatments and harvest times. *J Agron*. 11(1574): 1-12.

Ivanova, S., Gvozdeva, Y., Staynova, R., Grekova-Kafalova, D., Nalbantova, V., & *et al*., (2025). Essential oils – a review of the natural evolution of applications and some future perspectives. *Pharmacia*, 72: 1-12.

Kachkoul, R., Touimi, G.B, Bennani, B., Habbani, R., Mouhri, G. & *et al*., (2021). The Synergistic Effect of Three Essential Oils against Bacteria Responsible for the Development of Lithiasis Infection: An Optimization by the Mixture Design. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1305264, 1-10.

Kavalopoulos, N. Fatsis, Hevia, D.L.S. & Andersson, D., (2024). Beyond the FIC index: the extended information from fractional inhibitory concentrations (FICs). *J Antimicrob Chemother*, 79(9): 2394–2396.

Khedher, M.R.B., Khedher, S.B., Chaie, I., Tounsi, S. & Hammami, M., (2017). Chemical composition and biological activities of Salvia officinalis essential oil from Tunisia. *EXCLI J*, 6(16): 60-173.

Khwaza, V. & Aderibigbe, B.A., (2025). Antibacterial Activity of Selected Essential Oil Components and Their Derivatives: A Review. *Antibiotics*, 14(1) :68.

Lalitkumar, K.V., Amol, D.G., Navnath, T.H., Padmashri, N., Sabiya, K. & *et al*., (2024). Essential oils for clinical aromatherapy: A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*, 330, 118180.

Li, Z.H., Cai, M., Liu, Y.S., Sun, P.L. & Luo, S.L., (2019), Antibacterial Activity and Mechanisms of Essential Oil from *Citrus medica* L. *var*. sarcodactylis. *Molecules*, 24(8): 1-10.

Liang, L., Zhang, W., Hao, J., Wang, Y., Wei, S. & *et al*., (2023). Estragole Inhibits Growth and Aflatoxin Biosynthesis of Aspergillus flavus by Affecting Reactive Oxygen Species Homeostasis. *Microbiol Spectr* 11:e01348-23.

Mokhtari, R., Kazemi, F.M., Rezaei, M., Moftakharzadeh, S.A. & Mohseni, A., (2023). Antioxidant, Antimicrobial Activities, and Characterization of Phenolic Compounds of Thyme (Thymus Vulgaris L.), Sage (Salvia Officinalis L.), and Thyme–Sage Mixture Extracts. *J. Food Qual*, 2023, 1–9.

Najafi, M.A., Ayinechi, A., Bahmani, Z.A. & Najafi, g.S., (2024). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of basil (Ocimum baslicum L.), rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and cumin (Cuminum cyminum L.) in comparison with Nisin. *New funding in veterinary microbiology*, 6(2): 98-107. (In Persian).

Najafi, G.S. & Najafi, M.A., (2023). Antibacterial properties of basil essential oil (Ocimum baslicum L.) under salt stress. *New funding in veterinary microbiology*, 6(1): 40-51. (In Persian).

Ovidi, E., Laghezza, M.V., Zambelli, M., Tiezzi, A., Vitalini, S. & Garzoli, S., (2021). *Salvia sclarea* and *Salvia officinalis* essential oils and hydrolates: Evaluation of liquid and vapor phase chemical composition and biological activities. *Plants*, 10(4): 707.

Pejcic, M., Stojanovic-Radic, Z., Dimitrijevic, M. & Radulovic, N., (2021). Antimicrobial efficacy of basil and sage essential oils against *Pseudomonas aeruginosa*: time-lapse kinetics and type of interaction with ciprofloxacin. *Biological Nyssana*, 12 (1): 47-54.

Purushothaman, B., Prasanna S.R., Suganthi, P., Ranganathan, B., Gimbun, J. & Shanmugam, K.A., (2018). A comprehensive review on *Ocimum basilicum*. *J Nat Med*, 18(3): 71-83.

Qasem, A., Assaggaf, H., Mrabti, H.N., Minshawi, F., Rajab, B.S. & *et al*., (2023). Determination of Chemical Composition and Investigation of Biological Activities of *Ocimum basilicum* L. *Molecules*, 28(2): 1-23.

Raeisi, M., Ebrahimi, M. & Hashemi, M., (2017). Comparison of Chemical Components and Antibacterial Activity of Rosemary Essential Oil grown in Various Regions of Iran against Foodborne Pathogenic Bacteria. *J Pharm Sci. & Res*. 9(10): 1725-1730.

Rahmati-Joneidabad, M., (2023). Identification of chemical compounds of *Ocimum basilicum* essential oil and its effect on inhibiting the growth of fungi causing postharvest rots in apple. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 1(3): 5-20.

Saravani, P.E., Najafi, M.A., Tavakoli, M. & Soltani, T.N., (2021). Evaluation antimicrobial effects of new edible film from Persian gum incorporated with Saffron extract and nisin, on chicken fillets under chilled conditions. *New Findings in Veterinary Microbiology*. 4(1): 23-36. (In Persian).

Sateriale, D., Forgione, G., De Cristofaro, G.A., Facchiano, S., Boscaino, F., & *et al*., (2022). Towards green strategies of food security: Antibacterial synergy of essential oils from *Thymus vulgaris* and *Syzygium aromaticum* to Inhibit *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* pathogenic food isolates. *Microorganisms*, 10(12): 2446.

Turk, S., Asccı, S.G., Sevimoglu, T. & Dosler, S., (2024), Investigating the antifungal, antioxidant, and antibacterial activities of *Ocimum basilicum* L. and *Mentha piperita* L. essential oils and their synergistic potentials with antibiotics. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 54(1): 49 – 60.

Zouine, N., El Ghachtouli, N., El Abed, S. & Koraichi, S.I., (2024). A comprehensive review on medicinal plant extracts as antibacterial agents: Factors, mechanism insights and future prospects. *Scientific African*, 26, e02395,