

اثر ضد باکتریایی اسانس نعناع سبز (*Mentha spicata L.*) بر هشت گونه باکتری بیماری‌زای مهم دستگاه گوارش

مجید زارع ییدکی^۱, مینا عرب^۲, محترمه خزانی^۳, احسان افکار^۴

چکیده

زمینه و هدف: گیاه نعناع با نام علمی *Mentha spicata L.* از جمله گیاهانی است که اسانس آن مصارف دارویی فراوانی دارد و اثرات ضد باکتریایی آن مورد بحث است. هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس این گونه خاص نعناع، بر روی ۸ سویه استاندارد باکتریایی شامل: اشربیکاکولی، باسیلوس سرئوس، کلبسیلا پنومونیه، پسودوموناس آبروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا فلکسینری و دو گونه سالمونلا بود.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، با روش میکروبایلوشن براث، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و کشنده (MBC) اسانس نعناع در برابر این باکتری‌ها، به دو روش چشمی و کدوروت سنجی، توسط دستگاه الایزا ریدر تعیین شد. مراحل آزمایش، سه بار تکرار شد. نتایج با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده، میانگین MIC اسانس نعناع در بین باکتری‌های مورد آزمایش، تفاوت معنی‌داری داشت ($P<0.05$): به طوری که بیشترین حساسیت نسبت به این اسانس، در باسیلوس سرئوس و کمترین حساسیت در کلبسیلا پنومونیه و استافیلوکوکوس اورئوس وجود داشت. اما از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری بین میانگین MBC این اسانس در بین باکتری‌ها مشاهده نشد ($P>0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که اسانس این گیاه، دارای اثرات ضد باکتریایی انتخابی است و پیشنهاد می‌شود تا به عنوان یک ماده آنتی‌سپتیک، در صنایع دارو سازی و غذایی مورد کاربرد قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: نعناع سبز؛ اسانس؛ اثر ضد باکتریایی؛ MIC؛ MBC

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1393؛ 21(3): 274-282.

دریافت: 1393/04/24 پذیرش: 1393/09/29

^۱ استادیار، مرکز تحقیقات هپاتیت، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ایران
^۲ نویسنده مسؤول؛ دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
^۳ آدرس: بیرجند - خیابان غفاری - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بیرجند - دانشکده پزشکی
^۴ تلفن: 09384052017 پست الکترونیکی: minaarab70@yahoo.com
^۵ کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
^۶ کارشناس ارشد آمار، معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

مقدمه

می‌گرفته است. گیاه نعناع، دارای 4000 گونه است که در 200 جنس جای داده شده است. گونه *Mentha spicata* L. از تیره *Lamiaceae*، یکی از مهم‌ترین و مشهورترین گونه‌های نعناع است که در قسمت‌های مختلف جهان پراکنده می‌باشد. این گونه، از لحاظ ترکیب اسانس، تفاوت‌هایی با دیگر گونه‌های نعناع دارد که اصلی‌ترین این تفاوت‌ها، عدم وجود متنول و تشکیل شدن ترکیبی به نام کاروون (carvon) است که درصد بالایی (73%) از اسانس را شامل می‌شود (6). در طب سنتی، استفاده از این گیاه برای هضم بهتر مواد غذایی، افزایش حرکات دستگاه گوارش، درمان سرماخوردگی و بیا و کاهش التهاب برونش‌ها، کاربرد فراوانی داشته است. امروزه نیز از این گیاه در تهییه بسیاری از غذاها و همچنین در لوازم آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. مطابق بعضی گزارش‌ها، عصاره این گیاه، دارای خواص ضد باکتریایی و همچنین ضد قارچی و ضد سرطانی است (7). با وجود اینکه برخی از پژوهشگران، خواص ضد انگلی و آنتی‌اکسیدانی این گونه نعناع را اثبات نموده‌اند و استفاده از آن را برای پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان پیشنهاد می‌کنند، اما ترکیبات و خواص ضد میکروبی آن، به میزان بسیار کمی بررسی شده است (8). در مطالعات Znini و همکاران (9) و Kokkini و همکاران (10)، صرفاً ترکیبات شیمیایی این گونه از نعناع شناسایی شده است؛ همچنین موسوی و همکاران در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس این گونه نعناع و نایسین به صورت ترکیبی بر روی لیستریا منوسیتوژن و اشريشیاکولی O157:H7، گزارش کردند که اثر ترکیبی آنها منجر به کاهش معنی‌دار در تعداد هر دو باکتری می‌شود (11، 12).

برای کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی در طب مکمل، بررسی اثرات ضد میکروبی آنها در رشد باکتری‌های بیماری‌زا در محیط آزمایشگاهی ضرورت دارد؛ بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس نعناع بر هشت گونه پاتوژن مهم گوارشی به صورت *in vitro* بود.

بیماری‌های عفونی، یکی از چالش‌های بزرگ علم پزشکی در قرن بیست و یکم است و به طبع آن، تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید روز به روز افزایش می‌یابد. در عین حال، گسترش روزافزون مقاومت باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها، درمان بیماری‌های عفونی را مشکل و پرهزینه کرده است؛ از این‌رو، امروزه محققین به سمت جایگزین‌های گیاهی روی آورده‌اند که ضمن دارابودن اثرات ضد باکتریایی، قادر عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی هستند (1). امروزه نسبت تعداد داروهای گیاهی رسمی مورد استفاده در درمان بیماری‌ها، در مقایسه با تعداد کل داروهای رسمی در جهان در حال فزونی است. این نسبت در کشورهایی همچون: چین و هند با حدود بیش از 70%， در بالاترین مقدار و در کشورهایی همچون آمریکا با حدود 20% در حد پایینی قرار دارد (2). متأسفانه در ایران، این نسبت در حد پایینی است؛ به طوری که در حال حاضر در حدود 5% می‌باشد (3).

بعضی از اسانس‌های گیاهان، به عنوان عوامل مهم ضد میکروبی طبیعی گزارش شده‌اند. اسانس‌ها، مایعات روغنی معطری هستند که از اندام‌های مختلف گیاه نظیر: دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، برگ، غنچه و گل به دست می‌آیند. به طور عمده، ترکیبات فنلی، مسئول خواص ضد میکروبی اسانس‌ها هستند. اسانس‌ها می‌توانند تا بیش از 60 نوع ترکیب داشته باشند و ترکیبات اصلی، ممکن است تا 85% اسانس را تشکیل دهند. نتیجه بعضی از بررسی‌ها نشانگر این موضوع است که اثرات ضد باکتری اسانس‌ها، به صورت کامل نسبت به اثرات تک‌تک اجزا بیشتر است (4). اسانس‌ها با داشتن خاصیت آب‌گریزی، موجب نفوذ در چربی غشایی سلول باکتری می‌گردند و متعاقباً منجر به خارج شدن یون‌ها و محتويات سلولی از آن می‌شوند. خروج این مواد از سلول، با ایجاد اختلال در عملکرد سلولی، باعث مرگ آن می‌شود (5).

نعناع یکی از رایج‌ترین گیاهانی می‌باشد که از زمان باستان به دلیل خواص درمانی و آروماتیک آن، مورد استفاده قرار

بودند از:

اشریشیاکولی (ATCC 25922)، باسیلوس سرئوس (ATCC 11778)، کلپسیلا پنومونیه (ATCC 700603)، پسودوموناس آیروژینوزا (ATCC 27883)، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213)، شیگلا فلکسینری (ATCC 12022)، سالمونلا انتریکا (PTCC 1709) و سالمونلا تیفی موریوم (PTCC 1639).

این باکتری‌ها، از قبل به صورت جداگانه و لیوفیلیزه، از انتیتو پاستور ایران و مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و در کرايو بانک تلقیح و در دمای 70°C نگهداری شدند. برای احیای این باکتری‌ها، ابتدا از هر کرايو بانک، یک ساقمه آغشته به محلول باکتری‌های مورد نظر برداشته و در سه میلی‌لیتر محیط نوترینتبراث (مرک، آلمان) قرار داده شد؛ سپس این محیط‌های کشت، به مدت 24 ساعت در دمای 37°C گرماخانه‌گذاری شدند تا باکتری‌ها دوباره تکثیر شوند. پس از احیای باکتری‌های مورد مطالعه، به منظور به دست آوردن پرگنهایی از باکتری، از محیط کشت نوترینتبراث حاوی باکتری‌های پاتوژن، بر روی محیط بلادآگار، کشت جداگانه‌ای به عمل آمد تا بتوان از پرگنهای ظهور یافته بر سطح محیط کشت، برای تهیه محلولی معادل با کدورت نیم مکفارلندر ($1/5 \times 10^8$ cfu/ml) استفاده کرد.

آزمایش میکرودایلوشن براث (Microdilution broth) برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibition Concentration: MIC)

آزمایش MIC، در میکروپلیت 96 چاهکی استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد. این میکروپلیت‌ها، دارای 8 ردیف 12 چاهکی به حجم 250 میکرولیتر هستند. ابتدا از محیط کشت نوترینتبراث، ۱۰۰ µl داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته شد. به اولین چاهک هر ردیف، توسط سمپلر، ۱۰۰ µl از اسانس نعناع (که در حلال DMSO حل شده بود) اضافه گردید؛ سپس ۱۰۰ µl از چاهک اول برداشته و در چاهک دوم ریخته و بعد از چند بار پر و خالی کردن توسط

روش تحقیق

این مطالعه تجربی، در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شد.

تهیه اسانس:

پس از جمع‌آوری گیاه نعناع (Mentha spicata L.) و تأیید علمی آن توسط کارشناس ارشد گیاهان دارویی در دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، استخراج اسانس گیاه ذکر شده، به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر انجام شد؛ بدین ترتیب که ابتدا ۱۰۰ گرم از برگ خشک گیاه، آسیاب و به بالن ۲ لیتری منتقل شد و مقدار یک لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. عملیات اسانس گیری، ۴ ساعت به طول انجامید. با توجه به اینکه چگالی اسانس از چگالی آب کمتر است، بنابراین اسانس استخراج شده، روی فاز آبی قرار گرفته و به راحتی توسط قیف دکانتور جداسازی شد. اسانس تقطیر شده، پس از آبگیری با سولفات سدیم‌انیدرید، بلا فاصله به یک شیشه تیره و در بسته بدون تماس با نور و هوای آزاد، منتقل و تا زمان استفاده، در یخچال در دمای 4°C نگهداری گردید (13).

آماده کردن اسانس:

با توجه به عدم حلالیت اسانس در محیط کشت محتوی آب، به یک امولسیفایر که اسانس را بدون داشتن اثرات ضد میکروبی چشمگیر در خود حل کند، نیاز بود؛ از این رو از ماده دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) به عنوان حلال استفاده شد. با انجام یکسری آزمایش‌های متناوب، بهترین میزان حلالیت برای اسانس نعناع به دست آمد؛ سپس در لوله‌ای سترون، به طور جداگانه، 50 µl اسانس خالص نعناع ریخته شد و ۱۹۵۰ µl از حلال DMSO به آن اضافه و توسط شیکر به هم زده شد تا محلول یکدست و شفافی به دست آید. از این استوک اولیه، برای مراحل بعدی استفاده گردید (14).

تهیه سوسپانسیون باکتریایی:

میکرووارگانیسم‌های مورد مطالعه در این تحقیق عبارت

بررسی حداقل غلظت کشنده (Minimum Bactericidal Concentration/ MBC)

برای اندازه‌گیری حداقل غلظت کشنده‌ی، از چاهک‌های قادر کدورت (غلظت‌های MIC و بیشتر از آن)، مقدار $10\mu\text{l}$ در شرایط کاملاً استریل و در نزدیکی شعله برداشته و بر روی محیط بلادانگار، تلقیح و کشت داده شد. پس از انکوباسیون 24 ساعته در دمای 37°C ، کمترین رقتی که توانسته $99/9\%$ باکتری‌ها را بکشد، به عنوان رقت MBC در نظر گرفته شد. کلیه مراحل آزمایش، سه‌بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین آنها ارائه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش 16) انجام شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار در نتایج به دست‌آمده، از آزمون‌های one-way ANOVA همراه با LSD استفاده شد و اختلاف میانگین داده‌ها در سطح $P<0/05$ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقیح گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) انسانس نعناع برای 8 میکروارگانیسم مذکور به روش میکرودایلوشن براث، بر حسب درصد در جدول یک آمده است.

سمپلر، $100\mu\text{l}$ از چاهک دوم برداشته و به چاهک سوم ریخته شد. این کار، تا چاهک شماره 11 ادامه داده شد. سپس $10\mu\text{l}$ از محیط کشت حاوی هر باکتری که معادل کدورت نیم مک‌فارلن德 شده بود، به تمام چاهک‌ها به استثنای چاهک شماره 11 هر ردیف اضافه شد. چاهک‌های شماره 11 هر ردیف، به عنوان شاهد انسانس (کنترل منفی)، فقط حاوی محیط کشت و انسانس بود. چاهک‌های شماره 12 هر ردیف، به عنوان شاهد باکتری (کنترل مثبت) برای تعیین کدورت باکتری حاوی محیط کشت، DMSO و باکتری‌ها بود. پس از تلقیح باکتری‌ها، میکروپلیت بر روی شیکر به مدت 30 ثانیه قرار داده شد تا مخلوط کاملاً یکنواخت گردد؛ سپس جذب نوری با استفاده از دستگاه الیزا ریدر در ساعت صفر و با طول موج 620nm خوانده شد. در مرحله آخر، میکروپلیت در انکوباتور با دمای 37°C به مدت 24 ساعت قرار داده شد و بعد از اتمام انکوباسیون، کدورت یا عدم کدورت در چاهک‌ها به صورت چشمی مشاهده و نیز جذب نوری توسط الیزا ریدر خوانده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد، کمترین غلظتی که کدورتی نداشت و به عبارت دیگر رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به عنوان عدد MIC منظور گردید.

جدول 1- میانگین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و کشنده‌ی (MBC) انسانس نعناع علیه باکتری‌های مورد مطالعه

| MBC ($\bar{x} \pm \text{SD}$) | MIC ($\bar{x} \pm \text{SD}$) | باکتری |
|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| $0/234 \pm 0/13$ | $0/13 \pm 0/05$ | اشریشیاکولی |
| $0/156 \pm 0/13$ | $0/104 \pm 0/05$ | باسیلوس سرئوس |
| $0/312$ | $0/26 \pm 0/09$ | کلبسیلا پنومونیه |
| $0/52 \pm 0/18$ | $0/208 \pm 0/09$ | پسودوموناس آیرورژنیزا |
| $0/312$ | $0/26 \pm 0/09$ | استافیلوکوکوس اورئوس |
| $0/364 \pm 0/23$ | $0/156$ | شیگلا فلکسنری |
| $0/52 \pm 0/18$ | $0/156$ | سالمونلا انتریکا |
| $0/468 \pm 0/27$ | $0/156$ | سالمونلا تیفی موریوم |

جدول 2- سطح معنی‌داری تفاوت MIC باکتری‌های مورد مطالعه بر حسب نتایج آزمون LSD

| ساملونلا تیفی‌موریوم | ساملونلا انتریکا | شیگلا فلکسنری | استافیلوکوکوس اورئوس | پسودوموناس آیروزینوزا | کلیسیلا پنومونیه | باسیلوس سرئوس | اشریشیاکولی | |
|-------------------------|---------------------|------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|------------------|-------------|-----------------------|
| 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/017* | 0/128 | 0/017* | 0/6 | | asherishia kolii |
| 0/301 | 0/301 | 0/301 | 0/005* | 0/048* | 0/005* | | 0/6 | basilous serios |
| 0/048* | 0/048* | 0/048* | 1 | 0/301 | | 0/005* | 0/017* | klisisila pnomonie |
| 0/301 | 0/301 | 0/301 | 0/301 | | 0/301 | 0/048* | 0/128 | psodomonas airozinosa |
| 0/048* | 0/048* | 0/048* | | | 0/301 | 1 | 0/005* | astafylokokos oros |
| 1 | 1 | | 0/048* | | 0/301 | 0/048* | 0/301 | shigala flaksnri |
| 1 | | | 1 | 0/048* | 0/301 | 0/048* | 0/301 | samlonla entrika |
| | 1 | 1 | 0/048* | 0/301 | 0/048* | 0/301 | 0/6 | samlonla tifimoribom |

* در سطح P<0/05 معنی‌دار تلقی شده است.

آنٹی‌بیوتیک‌های سنتیک مطرح هستند. یکی از این گیاهان، خانواده نعناع است که به‌سبب تنوع گونه‌ها و وجود ترکیبات ترپن‌وئیدی گوناگون، اسانس و ترکیبات فنلی به‌خصوص فلانوئیدها، از لحاظ اثرات ضد میکروبی قابل بررسی است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گونه مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گونه *Mentha spicata L.* (نعناع سبز) بر هشت گونه پاتوژن

مهم گوارشی در شرایط *in vitro* انجام شد.

نتایج این تحقیق نشان داد که اثرات ضد باکتریایی گیاه نعناع قابل توجه است. این یافته با گزارش‌های حاصل از محدود مطالعات انجام‌شده در این زمینه مشابه است. نوری‌زاده و همکاران، آثار ضد باکتریایی عصاره‌های نعناع، شیرینی‌بیان، پونه، بابونه و آویشن را بر هلیکوباكترپیلوری، به دو روش آکاردایلوشن و دیسک‌دیفیوژن بررسی کردند که بیشترین اثر، مربوط به نعناع بود و دامنه MIC عصاره آن برای سویه‌های مختلف 200-350 میکروگرم در میلی‌لیتر و دامنه قطره‌الله عدم رشد 17-12 میلی‌متر گزارش گردید (15).

در تحقیق حاضر، دامنه MIC و MBC اسانس نعناع به‌ترتیب بین: 0/104-0/26 و 0/52-0/156 درصد تعیین گردید. نتایج حاصل از این مطالعه، نشان از قدرت مهارکنندگی (MIC=%0/104) و باکتری‌کشی (MBC=%0/156) بالای اسانس گیاه نعناع بر

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه، بیانگر تفاوت معنی‌دار MIC اسانس نعناع در بین باکتری‌های مورد آزمایش بود ($F=2/847$, $P=0/039$). مطابق داده‌های مندرج در جدول فوق، غلظت 0/104 درصد اسانس نعناع، بر ضد basilous serios بیشترین اثر مهارکنندگی و غلظت 0/26 درصد این اسانس بر ضد klisisila pnomonie و astafylokokos oros کمترین اثر مهارکنندگی را از خود نشان داد؛ همچنین اسانس این گیاه در غلظت‌های 0/13 و 0/156 و 0/208 درصد، باعث مهار رشد سایر باکتری‌های مورد آزمون شد. حساسیت هر دو گونه samlonla نسبت به این اسانس، در غلظت 0/156 درصد بود.

برای مقایسه دوبعدی MIC اسانس نعناع در بین باکتری‌های مورد مطالعه، از آزمون آماری LSD استفاده گردید (جدول 2)؛ همچنین نتایج آزمون واریانس یک‌طرفه مشخص کرد که MBC اسانس نعناع، در بین باکتری‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/145$, $F=1/854$)؛ با این وجود، غلظت 0/156 درصد از این اسانس، بر basilous serios اثر کشندگی داشت (جدول 1).

بحث

محصولات گیاهی دارای خواص ضد باکتریایی، به علت دسترسی ارزان و عوارض اندک، به عنوان جایگزین

مؤثر است (19). Sokovic و همکاران، ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد قارچی اسانس گونه‌های نعناع و آویشن را بررسی نمودند و گزارش کردند که بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده گونه *M.spicata*, کاروون (5/69٪) و متون (9/21٪) بوده و خاصیت ضد قارچی قوی دارد (20). نائینی و همکاران که اثر ضد قارچی 50 اسانس و عصاره گیاهی را بر روی کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند، نشان دادند که اسانس نعناع، در روش دیسک‌گذاری و انتشار در آگار، دارای اثرات ضد کاندیدایی بسیار قوی است (21). در مطالعه عطایی و همکاران مشخص شد که عصاره گیاه نعناع، دارای اثر ضد قارچی می‌باشد؛ به طوری که در رقت 1/5، از رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس جلوگیری می‌کند و در رقت 1/2 دارای اثر کشنده‌گی است (22).

تحقیقاتی نیز در مورد خواص آفتکشی و ضد سرطانی گیاه نعناع به انجام رسیده است. فهیم و همکاران، حساسیت تخم، پوره و حشره کامل سفید بالک گلخانه به دو اسانس گیاهی نعناع و زیره سبز را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که میزان حشره‌کشی اسانس نعناع بیشتر از زیره سبز است (23). در مطالعه Yuangang و همکاران مشخص شد که سمیت سلولی اسانس نعناع بر روی سلول‌های کارسینومای پروستات انسان، به طور معنی‌داری قوی‌تر از اثر آن بر روی سلول‌های کارسینومای ریه و سرطان پستان انسان می‌باشد (24). Kumar و همکاران نیز بیان کردند که عصاره گیاه نعناع در کنار ویژگی‌های درمانی، دارای خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد سرطانی است (13). در مورد نحوه عمل اسانس‌ها در مورد مرگ باکتری‌ها، چنین اظهار نظر شده است که متابولیت‌های فتلی موجود در گیاهانی چون نعناع، توانایی این را دارند که یک هیدروژن از گروه هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک خود رها کرده و باعث اکسیداسیون رادیکال‌های آزاد چربی‌ها و دیگر بیومولکول‌های غشای سلولی و تخریب آن شوند و به این ترتیب، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی

باسیلوس‌سرئوس داشت. در بین باکتری‌های مورد بررسی، اشريشياکولی از نظر میزان تأثیرپذیری از اثر ضد باکتریایی اسانس، رتبه دوم را نشان داد و با حداقل غلظت مهاری اسانس، از این نظر پس از باسیلوس‌سرئوس قرار گرفت؛ در عین حال، دو میکروارگانیسم *كليسيلابنومونیه* و استافیلوکوکوس‌اورئوس، در غلظت 0/26 درصد کمترین حساسیت را نشان دادند. این تفاوت‌ها، قدرت باکتری کشی انتخابی این گونه نعناع را به‌ویژه بر باسیلوس‌سرئوس به‌خوبی آشکار می‌سازد؛ در عین حال، عدم وجود تفاوت معنی‌دار در غلظت‌های MBC نعناع برای هشت گونه باکتریایی، پیشنهاد می‌کند که در موارد استفاده عام از این گیاه با هدف کنترل عفونت و یا پیشگیری از فساد و آلودگی میکروبی مواد غذایی، بهتر است از غلظت‌های MBC این گیاه استفاده گردد.

Padmini و همکاران، با بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره نعناع به روش آگار ژل دیفیوژن، اثر چشمگیر نعناع بر ضد باکتری‌های سالمونلاتیفی و پسودومonas ایروژنوزا را گزارش کردند (16). محبوی و حقی، خواص ضد میکروبی اسانس نعناع را به دو روش دیسک‌دیفیوژن و براث‌میکرو‌دایلوشن، مورد بررسی قرار دادند و MIC آن را برای باکتری‌های گرم مثبت، بین 4-0/25 میکرولیتر در میلی‌لیتر و برای لیستریامنوسیتوژن 1 میکرولیتر در میلی‌لیتر گزارش نمودند (17). نیریز نقدی و همکاران، خواص ضد باکتریایی اسانس نعناع و پونه کوهی را بر روی باسیلوس‌سرئوس و اشريشياکولی O157:H7 در شرایط آزمایشگاهی به روش حداقل غلظت مهارکنندگی بررسی کردند و نشان دادند که اسانس نعناع، به صورت کامل می‌تواند رشد این دو عامل بیماری‌زا را مهار کند (18).

اثرات ضد ویروسی و ضد قارچی نعناع نیز توسط محققان، مورد بررسی قرار گرفته است. Hermann و Kusera، اثر ضد ویروسی عصاره نعناع را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که متون (Menthone)، روی و بیروس‌های آنفولانزا، هرپس، نیوکاسل و چند ویروس دیگر

دارویی برای درمان بیماری‌های همچون: مسمومیت‌های غذایی و عفونت‌های چشمی ناشی از باسیلوس‌سرئوس و عفونت‌های گوارشی و ادراری ناشی از اشریشیاکولی استفاده شود؛ همچنین بهدلیل محدودیت روزافرون استفاده از مواد شیمیایی، پیشنهاد می‌شود اثر این گیاه بر روی انواع دیگری از میکرووارگانیسم‌ها نیز مطالعه گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل نتایج طرح تحقیقاتی مصوب (کد 44/92) شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرون که می‌باشد. نویسنده‌گان مقاله، از جناب آقای مهندس پویان که در تهیه اسانس برای انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند و نیز معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرون کمال تشکر و قدردانی را دارند.

خود را اعمال می‌نمایند (25).

اثر ضد باکتریایی اسانس این گیاه ممکن است به کاروون، لیمونن و متون موجود در ترکیبات شیمیایی این گیاه بستگی داشته باشد. Flamin و همکاران، اثر ضد باکتریایی لیمونن، متول، پولگون و متون بر باکتری‌هایی چون سالمونلا و لیستریا را مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که پولگون، دارای بیشترین اثر روی سالمونلاست (26). Aggarwal و همکاران نیز فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی اناتیومرهای لیمونن و کاروون جداسده از نعناع را مورد تأیید قرار دادند (27).

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش، خاصیت ضد باکتریایی اسانس نعناع را به خوبی آشکار ساخت. پیشنهاد می‌شود که از اسانس این گیاه، در صنایع غذایی (به عنوان نگهدارنده) و در صنایع

منابع:

- 1- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microbiol. 2004; 94(3): 223-53.
- 2- Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, Marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). Braz J Med Biol Res. 2000; 38(2): 179-89.
- 3- Bagheri A, Naghdi Badi H, Movahedian F, Makkizadeh M, Hemati A. Evaluation of using herbal medicine in Isfahan women population. Journal of Medical Plants. 2005; 3(15): 81-93. [Persian]
- 4- Ayfer D, Turgay O. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. Turk. J.Biol. 2003; 27: 157-62.
- 5- Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food Microbiol. 2001; 18(4): 463-70.
- 6- De Feo V, Ricciardi AI, Biscardi D, Senatore F. Chemical composition and antimicrobial screening of the essential oil of *Minthostachys verticillata* (Griseb) Ep1 (Lamiaceae). J Essential Oil Res. 1998; 10(1): 61-5.
- 7- Kumar P, Mishra S, Malik A, Satya S. Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. Ind Crops Prod. 2011; 34(1): 802-17.
- 8- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. Food Chem Toxicol. 2008; 46(2): 446-75.
- 9- Znini M, Boukla M, Majidi L, Kharchouf S, Aouniti A, Bouyanzer A, et al. Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid. Int J Electrochem Sci. 2011; 6(3): 691- 704.
- 10- Kokkini S, Karousou R, Lanaras T. Essential oils of spearmint (carvone-rich) plants from the island of Crete (Greece). Biochem Syst Ecol. 1995; 23(4): 425-30.

- 11- Moosavy MH, Mahmoudi R, Davudi S, Shavisi N, Antimicrobial Efficacy of *Mentha spicata* Essential Oil and Nisin in Combination on *Listeria monocytogenes*. Journal of Medicinal Plants. 2013; 4(48): 104-16. [Persian]
- 12- Moosavy MH, Shavisi N, Antimicrobial Efficacy of *Mentha spicata* Essential Oil and Nisin in Combination on *E. coli* O157:H7, Journal of Food Industry Research, 2013; 23(3): 319-28. [Persian]
- 12- Moosavy MH, Shavisi N. Determination of Antimicrobial Effects of Nisin and *Mentha spicata* Essential Oil against *Escherichia coli* O157:H7 Under Various Conditions (pH, Temperature and NaCl Concentration). Pharmaceutical sciences. 2013; 19(2): 61-7.
- 13- Kazem Alvandi R, Sharifan A, Aghazadeh Meshghi M. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. Journal of Comparative Pathobiology. 2011; 7(4): 355-64. [Persian]
- 14- Soltan Dallal M, Bayat M, Yazdi M, Aghaamiri S, Ghorbanzadeh Meshkani M, Abedi Mohtasab T, et al. Antimicrobial effect of Zataria multiflora on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from food. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2012; 17(2): 21-9. [Persian]
- 15- Nourizadeh E, Mirzapur T, Ghasemi K, Razavi SM, Latifi Navid S. Antibacterial effects of extracts of peppermint, licorice, oregano, chamomile and thyme on *Helicobacter pylori*. Bimonthly Official Publication Medical Daneshvar. 2004; 11(52): 67-72. [Persian]
- 16- Padmini E, Valarmathi A, Usha Rani M. Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. Asian J Exp Biol Sci. 2010; 1(4): 772-81.
- 17- Mahboubi M, Hagh G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. J Ethnopharmacol. 2008; 119(2): 325-7.
- 18- Neyriz Nagadehi M, Razavi Rohani SM, Karim G, Razavilar V, Zeynali A, Delshad R. The effect of monolaurin in combination with mentha pulegium l. And mentha spicata l. Essential oils on bacillus cereus and e. Coli o157:h7: in vitro study. Veterinary Journal (Tabriz). 2010; 3(4): 657-66. [Persian]
- 19- Herrmann EC, Kucera LS. Antiviral Substances in Plants of the Mint Family (Labiatae). III. Peppermint (*Mentha piperita*) and other Mint Plants. Exp Biol Med. 1967; 124(3): 874-8.
- 20- Soković MD, Vukojević J, Marin PD, Brkić DD, Vajs V, Van Griensven LJ. Chemical Composition of Essential Oilsof Thymus and *Mentha* Speciesand Their Antifungal Activities. Molecules. 2009; 14(1): 238-49.
- 21- Naeini A, Naseri M, Kamalinejad M, Khoshzaban F, Rajabian T, Nami H, et al. Study on Anti- Candida Effects of Essential Oil and Extracts of Iranian Medicinal Plants, In vitro. Journal of Medicinal Plants. 2011; 2(38): 163-72. [Persian]
- 22- Atai Z, Ansari M, Mousavi A, Mirzaei A. In-vitro study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of *Candida albicans*. The Journal of Islamic Dental Association of IRAN (JIDA). 2007; 19(2): 91-7. [Persian]
- 23- Fahim M, Safaralizadeh MH, Safavi SA. Evaluation of susceptibility of egg, nymph and adult of greenhouse whitefly trialeurodes vaporariorum (hem. Aleyrodidae) to two plant essential oils (spearmint and cumin) under laboratory conditions. Journal of Agricultural Science (University of Tabriz). 2012; 22(3): 27-35. [Persian]
- 24- Zu Y, Yu H, Liang L, Fu Y, Efferth T, Liu X, et al. Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells. Molecules. 2010; 15(5): 3200-10.
- 25- Strycharz S, Shetty K. Peroxidase activity and phenolic content in elite clonal lines of *Mentha pulegium* in response to polymeric dye R-478 and *Agrobacterium rhizogenes*. Process Biochem. 2002; 37(8): 805- 12.
- 26- Flamini G, Cioni PL, Puleio R, Morelli I, Panizzi L. Antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* and its constituent pulegone against bacteria and fungi. Phytother Res. 1999; 13(4): 349-51.
- 27- Aggarwal KK, Khanuja SPS, Ahmad A, Santha Kumar TR, Gupta VK, Kumar S. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. Flavour Fragr J. 2002; 17(1): 59-63.

Anti-bacterial effect of *Mentha spicata L.* essence on eight standard species of gastrointestinal pathogens

Majid Zare Bidaki¹, Mina Arab², Mohtarame Khazaei³, Ehsan Afkar⁴

Background and Aim: Mint plant, scientifically called *Mentha spicata L.*, is one of the plants which has many medicinal uses and its antibacterial effects is a matter of debate. Thus the present study aimed at evaluating antibacterial effects of *Mentha spicata L* essence on 8 standard bacterial species including *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, and two *Salmonella* species.

Materials and Methods: In this experimental study, using micro-dilution broth method and reading the results by ELISA reader, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of mint essence were determined against the 8 standard bacterial strains. The lab tests were repeated three times. The obtained results were analyzed by statistical tests.

Results: The MIC for *Mentha spicata L* essence was significantly different among the bacterial species ($P<0.05$). The highest growth inhibitory effect was found against *Bacillus cereus* and the least ones were recorded against *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. No significant difference was found between the bacterial MBCs ($P>0.05$).

Conclusion: The current study revealed significant and selective antibacterial characteristics of *Mentha spicata L* suggesting that it can be used in pharmaceutical and food industries.

Key Words: *Mentha spicata L*; Essence; Antibacterial effect; MIC; MBC

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014; 21 (3): 274-282.

Received: July 15, 2014

Accepted: December 20, 2014

¹ Assistant professor, Hepatitis Research Center, Department of Medical Microbiology, Faculty of paramedics, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

² Corresponding author; Student of MSc. in clinical biochemistry, Member of Student Research Committee, Faculty of medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

³ Bachelor of laboratory sciences, Faculty of paramedics, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

⁴ MSc in Statistics, Deputy of Research and Technology, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran