



بررسی اثر آنتی باکتریالی عصاره هیدروالکلی نعنای فلفلی بر شش باکتری

بیماری زا در مواد غذایی

نویسندگان: هنگامه زندی^۱، بهادر حاجی محمدی^۱، آسیه امیری^۲، علی محمد رنجبر^۳، حسن مظفری خسروی^۴، حسین فلاح زاده^۵، علی رضا وحیدی^۶، امین دهقان^۶

۱. استادیار مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۲. نویسنده مسئول: دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۳. استادیار گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۴. استادیار گروه تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۵. استادیار گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۶. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

درمانی شهید صدوقی یزد تلفن تماس: ۰۹۱۷۳۰۵۳۲۸۸ Email: a.amiri2004@gmail.com

چکیده

مقدمه: کشور ایران از نظر پراکندگی و گستردگی گیاهان دارویی از غنی ترین مناطق جهان محسوب می شود. امروزه اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره های گیاهی بخوبی مشخص شده و به عنوان جایگزینی مناسب، در صنعت غذا جهت کنترل پاتوژنهای غذا زاد استفاده می گردد. با توجه به فعالیت ضد باکتریایی عصاره ها و کارایی آنها علیه میکروارگانیسم ها هدف از انجام این تحقیق بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره نعنای فلفلی به منظور کنترل باکتری های بیمار یزا بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی از گونه Piperita L.، یکی از گونه های نعنای استفاده شد و عصاره گیری به روش پركولاتور انجام گردید. اثر ضد میکروبی عصاره با استفاده از روش چاهک - آگار، حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با روش میکروداپلوشن بر روی شش باکتری استاندارد انجام شد. آزمون برای هر کدام از باکتری ها با ۳ تکرار انجام پذیرفت و داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: در این پژوهش کمترین غلظت ممانعت کنندگی عصاره نعنای بر میکروارگانیسم های مورد آزمایش برابر با ۳/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و در مورد باکتری های Staphylococcus aureus و Enterococcus faecalis مشاهده شد. همچنین بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری Staphylococcus aureus (۳۲ میلی متر) بود.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره نعنای فلفلی اثر کنترل کنندگی مناسبی در رشد پاتوژنهای منتقله از مواد غذایی دارد که می توان از آن بعنوان یک نگهدارنده مناسب جهت حفظ و نگهداری مواد غذایی استفاده نمود.

واژه های کلیدی: عصاره هیدرو الکیلی، نعنای فلفلی، اثر آنتی باکتریالی

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی رشته کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می باشد.

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال پانزدهم

شماره: چهارم

مهر و آبان ۱۳۹۵

شماره مسلسل: ۵۸

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۳/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۰



مقدمه

آلودگی میکروبی مهم ترین عاملی می باشد که سبب کاهش کیفیت و ایمنی ماده غذایی می گردد (۱). امروزه علی رغم استفاده از انواع گوناگون روش های نگهداری، مسمومیت غذایی و بیماری های ناشی از مصرف غذاهای آلوده حتی در کشورهای پیشرفته نیز یک مشکل اساسی به شمار می آید (۲). با توجه به مضرات استفاده از نگهدارنده های شیمیایی و همچنین نگرانی مصرف کنندگان، اخیراً تقاضا جهت مصرف نگهدارنده های طبیعی گیاهی فاقد هرگونه عوارض احتمالی بر عملکرد ایجاد طعم و بوی نامناسب در غذا و نیز سیستم ایمنی انسان، افزایش یافته است (۳).

طب سنتی ایران از غنی ترین طب های سنتی در جهان محسوب می شود که حاوی اطلاعات گرانبها در به کارگیری گیاهان در درمان بیماری ها می باشد. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی ۸۰٪ از مردمی که در کشورهای توسعه یافته زندگی می کنند کم و بیش برای درمان از گیاهان دارویی استفاده می کنند (۴، ۵). نعنای فلفلی جزء گیاهانی است که از دیرباز بدلیل خواص درمانی و نیز ویژگیهای آروماتیک مورد توجه فراوان قرار گرفته است (۶). نعنای خوراکی و نعنای فلفلی از مهمترین و مشهورترین گونه های نعنای می باشد (۷) که از آن به عنوان مقوی معده، ضد درد، ضد تشنج و تسکین دهنده اعصاب استفاده می گردد (۸، ۹). این گیاه همچنین در درمان عفونت های دستگاه گوارش نیز کاربرد دارد (۱۰).

نعنای فلفلی با نام علمی (*Mentha X Piperita L*) و نام عمومی Peppermint که در کتب طب سنتی از آن با نام

"سوسنبر، سه سنبل یا حاشابری" یاد می شود، گیاه علفی چند ساله است که در رده بندی گیاهی از تیره Laminacea راسته Lamiales و رده Rosidae می باشد (۱۱). این گیاه در بیش تر نقاط ایران به ویژه در استان های شمال، شمال شرقی و نیز دامنه های البرز و سایر نقاط دیگر انتشار دارد (۱۲).

امروزه از این گیاه به عنوان ادویه و چاشنی در منازل و نیز رستوران ها همراه با غذا استفاده می شود (۱۰). از خواص دارویی نعنای می توان به خاصیت ضد اسپاسم، ضد تشنج، پیشگیری کننده از استفراغ، ضد نفخ، آنتی باکتریال و نیز ضد قارچ بودن آن اشاره کرد (۹).

نعنای فلفلی دارای خواص میکروبی و ضد سرطانی نیز می باشد. از روغن این گیاه در طب خانگی جهت تسکین میگرن، سردرد، درد شکم، کاهش عصبانیت و نیز بی خوابی استفاده می گردد (۱۳). همچنین دم کرده برگ این گیاه به عنوان مسکن ضعیف عمل کرده و دارای اثر آرام بخش می باشد و ضماد آن در کاهش خارش پوست اثر بسزایی دارد (۱۳).

محققان بسیاری اثر ضدباکتریایی این گیاه را مورد تأیید قرار داده اند و علت این امر را ترکیبات مؤثر موجود در این گیاه برشمرده اند (۱۳، ۱۱، ۶). ترکیبات مؤثره این گیاه شامل ۱٪ روغن فرار، رزین، فلاوونوئیدها و فنل ها (کافئیک اسید، رزمارینیک اسید، اوژنول و آلفا توکوفرول)، کاروتن، بتائین و تانن می باشد (۱۴). بطور کلی اثر ضد باکتریایی عصاره ها به ترکیبات موجود در آنها از جمله ترکیبات فنولیک بستگی دارد. این ترکیبات با نفوذ پذیر نمودن غشای سلول با کاتیون های غشاء شلاته شده و فعالیت حیاتی باکتری ها را مختل می کنند



در ظروف تیره رنگ و در بسته در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شد.

سویه های استاندارد باکتری های گرم منفی اشریشیاکلی (ATCC 700728) O157:H7، سالمونلا انتریکا سروتیب تیفی موریوم (ATCC 14028)، شیگلا دیسنتری (ATCC 13313)، و باکتری های گرم مثبت باسیلوس سرئوس (ATCC 11778)، انتروکوکوس فکالیس (ATCC 33196) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) از آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه شهید صدوقی یزد تهیه گردید. سویه ها از استوک گلیسرول ۱۵٪ در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خارج گردیده و با کشت در محیط تریپتیکاز سوی برات (Merck, Darmeshtadt, Germany) و گرمخانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد احیا شدند.

جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره از روش چاهک-پلیت استفاده شد و غلظت های مختلف (۵٪، ۱۰٪، ۱۵٪، ۲۰٪، ۳۰٪)، تهیه شده در حلال Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck, Germany) به هر چاهک ریخته شد. بدین منظور سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت نیم مک فارلند تهیه و با استفاده از سوآپ پنبه ای استریل در پلیت حاوی محیط مولر - هیتون آگار (Merck, Darmeshtadt, Germany) بصورت چمنی کشت داده شد.

چاهک هایی به قطر ۶ میلی متر در پلیت ایجاد گردید. پس از آن مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف عصاره، بطور جداگانه به چاهک ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد (۲۲).

(۱۵، ۳). طبق تحقیقات Dorman و همکاران در سال ۲۰۰۳، محتوای فنولیگی گیاهان تیره نعنای حدود ۲۳۰-۱۲۸ میلی گرم بر حسب اسید گالیک می باشد (۱۶).

عصاره های گیاهی حاوی متابولیت های ثانویه، منابع عمده ضد اکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی هستند (۲۰-۱۷). در این بین، استفاده از ترکیبات طبیعی گیاهان جهت افزایش ایمنی بهداشتی و نیز بهبود زمان ماندگاری ماده غذایی حائز اهمیت است. لذا هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره هیدروالکلی نعنای فلفلی علیه برخی از باکتری های مهم بیمارزا در مواد غذایی می باشد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی از روش پرکولاسیون جهت عصاره گیری استفاده شد (۲۱). بدین منظور گیاه نعنای فلفلی از بازارچه گیاهان دارویی اصفهان تهیه گردید و توسط متخصص گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یزد با توجه به گونه هرباریومی مورد تایید قرار گرفت. برگ گیاه توسط ترازوی دیجیتالی به میزان پانصدگرم توزین شد و درون پرکولاتور قرار گرفت و از اتانول ۷۰٪ بعنوان حلال استفاده شد. عصاره ای که به این طریق بدست آمد، غلیظ، دارای رنگ تیره و بوی قوی بود. این عصاره بعنوان عصاره خالص (تام) در نظر گرفته شد. پس از پایان مرحله پرکولاسیون، حلال آن توسط دستگاه تبخیرکننده دورانی تحت خلا Rotary Evaporator (RV) (05B, IKA, Germany) با دمای ۴۵-۵۰ درجه سانتی گراد جدا و در گرمخانه ۴۵ درجه سانتی گراد تحت خلا (OT 53, Iran) تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید و تا زمان استفاده



میکرو پلیت بمدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در گرمخانه نگهداری شد. اولین چاهک بدون کدورت به عنوان حداقل غلظت بازدارنده (MIC) به صورت mg/ml گزارش شد (۲۳). آزمایشات برای کلیه سویه های مورد بررسی بطور جداگانه انجام شد. همچنین آزمایشات مشابه برای کنترل مثبت (شامل محیط کشت با DMSO و باکتری) و کنترل منفی (شامل محیط کشت با DMSO و عصاره) صورت گرفت. تمام آزمایشات سه بار تکرار گردید و میانگین داده ها بدست آمد.

با توجه به نتایج MIC، مقدار ۵ میکرولیتر از چاهک هایی که فاقد کدورت بودند، به پلیت های حاوی محیط کشت مولر-هیتون تلقیح گردید و بمدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد و اولین غلظت که فاقد رشد باکتری بود به عنوان MBC گزارش شد (۲۳).

داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

در این مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی نعنای فلفلی بر سویه های میکروبی اشیشیاکلی O157:H7، سالمونلا انتریکا سروتیب تیفی موریوم، شیگلا دیسنتری و باکتری های گرم مثبت باسیلوس سرئوس، انتروکوکوس فکالیس و استافیلوکوکوس اورئوس مورد آزمایش قرار گرفت که میانگین نتایج آن در جدول یک نشان داده شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی در مقابل عصاره حساسیت بیشتری از

سپس قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف چاهک بوسیله خط کش با مقیاس میلی متر اندازه گیری و ثبت گردید. آزمایشات برای هر یک از سویه ها بطور جداگانه انجام شد. آزمایشات مشابه جهت کنترل مثبت شامل دیسک آنتی بیوتیک حاوی ۱۰ میکروگرم جنتامایسین (ساخت شرکت پادتن طب، ایران) انجام شد. تمام آزمایشات با ۳ مرتبه تکرار انجام پذیرفت و سپس میانگین داده ها تعیین گردید.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی Minimum inhibitory concentration (MIC) و حداقل غلظت کشندگی Minimum bactericidal concentration (MBC) به روش میکرودايلوشن مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از کمترین غلظت مهار کننده رشد باکتری، به روش رقیق سازی در محیط مایع (Microdilution broth) استفاده شد. از باکتری های یاد شده، کشت ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در محیط مولر-هیتون برآث تهیه گردید. با استفاده از پرگنه های کشت ۲۴ ساعته، سوسپانسیون باکتریایی معادل $10^6 \times 1/5$ باکتری در میلی لیتر در لوله حاوی سرم فیزیولوژیک تهیه گردید. محلول استوک از عصاره در DMSO تهیه شد. رقت های سریال ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳/۱۲۵ میلی گرم در میلی لیتر با استفاده از محیط کشت مولر-هیتون تهیه شد.

در مرحله بعد ۷۰ میکرولیتر محیط مولر-هیتون برآث داخل میکروپلیت ۹۶ خانه ای (ارمغان طب، ایران) ریخته شده و ۷۰ میکرولیتر از رقت های ذکر شده به میکروپلیت اضافه گردید. سپس ۷۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده به میکروپلیت ها اضافه شد.

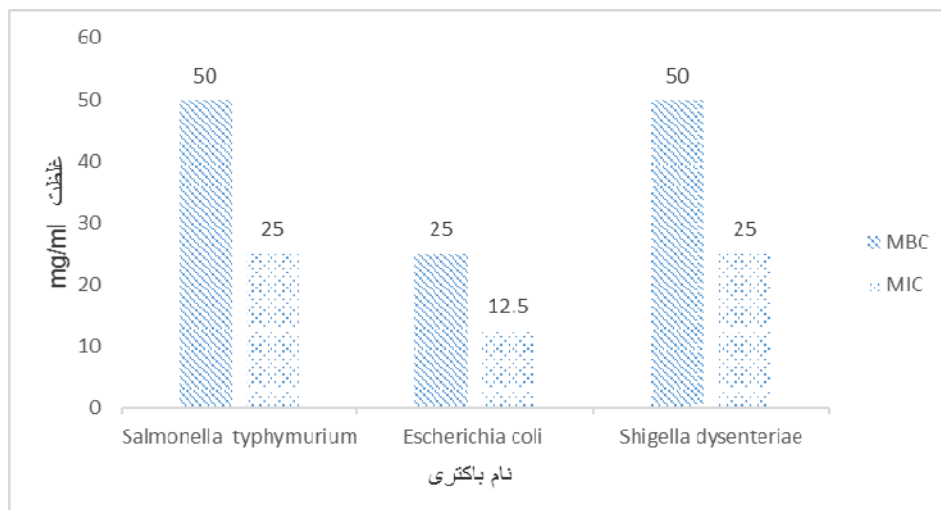


dysenteriae و در گروه باکتری های گرم مثبت برای Bacillus cereus و برابر ۲۵ mg/ml و کمترین MIC برای Enterococcus faecalis و Staphylococcus aureus برابر ۶/۵ mg/ml نشان داده شد. هم چنین بیشترین غلظت کشندگی عصاره (MBC) نیز برای باکتری های Shigella dysenteriae و Salmonella enterica serotype Typhymurium کمترین مقدار MBC برای باکتری های Enterococcus faecalis و Staphylococcus aureus به ترتیب برابر با ۵۰ mg/ml و ۳/۲۵ mg/ml مشاهده گردید.

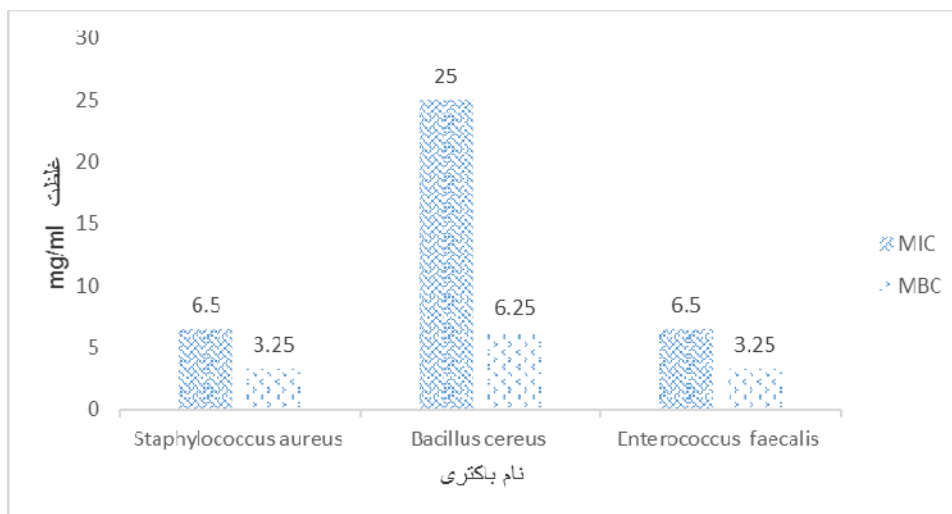
خود نشان دادند، بطوریکه در گروه باکتری های گرم مثبت بیشترین تاثیر عصاره در مورد Staphylococcus aureus (قطر هاله عدم رشد ۳۲ میلیمتری) و کمترین تاثیر آن بر Bacillus cereus (با هاله عدم رشد ۱۵ میلیمتری) بود. در گروه باکتری های گرم منفی، Salmonella Typhymurium با هاله عدم رشد ۱۲/۵ میلیمتر و Ecoli O157:H7 با قطر ۱۴ میلیمتر به ترتیب مقاوم ترین و حساس ترین باکتری ها بودند. نتایج حاصل از MIC و MBC نیز در نمودارهای یک و دو نشان داده شده است. بیشترین غلظت مهار کنندگی عصاره (MIC) در گروه باکتری های گرم منفی برای Salmonella enterica serotype Typhymurium و Shigella

جدول ۱: سنجش فعالیت ضد میکروبی غلظت های مختلف عصاره نعنای فلفلی بر میکرو ارگانیسم های مورد آزمایش (* به معنای عدم تشکیل هاله می باشد)

باکتریهای مورد مطالعه	آنتی بیوتیک جتتامایسین	قطر هاله عدم رشد باکتری در غلظت های مختلف عصاره نعنای فلفلی بر حسب میلیمتر				
		۵٪	۱۰٪	۱۵٪	۲۰٪	۳۰٪
سالمونلا تیفی موریوم	۱۹/۸	۱۲/۵	۱۱	۹	۸	*
اشرشیا کلی O157:H7	۳۴	۱۴	۱۲/۷	۱۰/۵	۹/۶	*
شیگلا دیسانتری	۱۲	۱۳/۲	۱۱	۱۰	۹	*
انتروکوکوس فکالیس	۳۲	۲۹	۲۴	۲۰	۱۳	۱۱
باسیلوس سرئوس	۱۶	۱۵	۱۱/۵	۱۰	۸/۷	۸/۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۹	۳۲	۲۷	۲۳/۳	۱۸	۱۵/۲



نمودار ۱: حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی عصاره نعنای فلفلی در باکتری های گرم منفی



نمودار ۲: حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی عصاره نعنای فلفلی در باکتری های گرم مثبت

راهکارهای سازنده جهت امنیت و نیز سلامت مواد غذایی را آشکار می سازد. امروزه یکی از روش های نوین کنترل پاتوژن های غذا، استفاده از ترکیبات مشتق شده از گیاهان می باشد (۲۴).

بحث و نتیجه گیری

یکی از نگرانی های اصلی صاحبان صنایع غذایی و نیز مصرف کنندگان مواد غذایی، سلامت غذا می باشد. گزارش های بیشمار عفونت های حاصل از مواد غذایی آلوده، ضرورت ارائه



وجود دیواره سلولی لیپوپلی ساکاریدی، نفوذپذیری ترکیبات ثانویه با دشواری بیشتری همراه است (۱). دلیل دیگر این امر می تواند فقدان لایه خارجی غشاء در باکتری گرم مثبت باشد. یافته های قبلی نتایج این پژوهش را نیز مورد تأیید قرار می دهد (۲۸). چنانچه نتایج حاصل از ول دیفیوژن در تحقیق حاضر نیز نشان می دهد که باکتری های گرم منفی در مقابل عصاره نعنای فلفلی، با هاله عدم رشد کوچکتر حساسیت کمتری نسبت به باکتری های گرم مثبت از خود نشان می دهند. در مطالعه ای که توسط Witkowska و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر اثر آنتی باکتریالی پنچ گیاه مختلف انجام شد، به این نتیجه رسیدند که باکتری های گرم مثبت در مقابل عصاره های حاصل از گیاهان نسبت به باکتری های گرم منفی حساسیت بیشتری از خود نشان می دهند، چنانچه MIC این عصاره ها در مورد *E. coli*, *S. aureus*, *L. innocua* یک یا دو رقت نسبت به *E. coli* پائین تر می باشد (۲۹) که با یافته های مطالعه حاضر همسو می باشد.

جدول یک نشان می دهد که هاله عدم رشد حاصل از باکتری های گرم مثبت در مقایسه با باکتری های گرم منفی بزرگتر می باشند، که در واقع این امر اثر آنتی باکتریالی بیشتر عصاره را در مورد باکتری های گرم مثبت نشان می دهد. Singh و همکاران در سال ۲۰۱۱ به این نتیجه رسیدند که عصاره نعنای بر باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتریهای گرم منفی اثر بیشتری دارد، بطوریکه قطر هاله عدم رشد در مورد باکتری های گرم منفی *Klebsiella pneumonia* و *E. coli* بترتیب ۱۲/۴ و ۵/۱ میلی متر است در حالیکه در مورد باکتری های گرم مثبت *S. aureus* و *Streptococcus pyogenes* بترتیب ۱۷/۲

اگرچه از دیرباز اثر بازدارندگی ادویه جات، عصاره ها و اسانسهای گیاهی شناخته شده است؛ لیکن، اخیرا به تاثیر اسانس ها و عصاره های معطر گیاهی بر پاتوژنها و میکروارگانیسم های عامل فساد مواد غذایی توجه ویژه ای گردیده است (۲۵). ترکیبات شیمیایی زیادی از قبیل متابولیت های ثانویه در گیاهان وجود دارد که با توجه به خواص زیست فعالی و بیوشیمیایی بسیار، از آنها در صنایع مختلف دارویی، شیمیایی، آرایشی و بویژه صنعت غذا استفاده می گردد (۲۶). در جنس نعنای گونه *Piperia* فلاونوئید های زیادی وجود دارد که از مهم ترین آنها می توان به اریوسیتین، هیسپریدین، لوتیولین ۷-۱، روتینوساید، دیوسمین و رزماریک اسید اشاره کرد (۲۷).

عصاره گیاهان حاوی چندین فیتوکمیکال با ترکیبات عمده فعال تا ۸۵٪ می باشند که در واقع این ترکیبات، مسئول خاصیت آنتی باکتریالی گیاه از طریق تجزیه دیواره سلولی، تخریب سیتوپلاسم غشاء، نشت ترکیبات درون سلولی، تغییر در اسیدهای چرب و ترکیبات فسفولیپید، تغییر در سنتز DNA و RNA و تخریب انتقال پروتئین می باشند. بنابراین بر اساس اثرات ضد میکروبی و خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه دارویی نعنای، احتمالا تجویز عصاره آن می تواند بر کاهش باکتری های پاتوژن موثر باشد (۳، ۱).

بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش مشخص شد که اثر بازدارندگی و ضد میکروبی عصاره نعنای فلفلی بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی می باشد. مطالعات نشان داده است که باکتریهای گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی در مقابل ترکیبات ثانویه گیاهی آسیب پذیرتر می باشند چرا که در باکتریهای گرم منفی به دلیل



۱۹/۷) مقدار کمتری می‌باشد که این یافته با نتایج مطالعه حاضر همسو می‌باشد (۵).

اسانس و عصاره گیاهان به علت اثرات ضد باکتریایی فراوانی که از خود نشان می‌دهند این پتانسیل را دارند که به عنوان نگهدارنده جهت افزایش عمر ماندگاری مفید در صنعت غذا از آنها استفاده شود به عبارت دیگر، این ترکیبات، نقطه عطفی در کاربرد آنها در صنعت غذا می‌باشد (۳۴، ۳۳). از محدودیت های مطالعه حاضر عدم استفاده از غلظت های بالاتر از ۳۰٪ می‌باشد، چرا که عملاً استفاده از غلظت های بالا از عصاره و اسانس در مواد غذایی بعلا تغییر در خواص ارگانولپتیکی (بو و یا رنگ) مواد غذایی تا حدودی با مشکل همراه می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش و اثر مطلوب عصاره گیاه نعنای فلفلی بر باکتری های پاتوژن و نیز استقبال گسترده مصرف کنندگان و رویکرد عمومی سازمان های ملی و بین المللی مسؤول در زمینه بهداشت مواد غذایی در استفاده از نگه دارنده های طبیعی مختلف جایگزین مواد شیمیایی، می‌توان از این ترکیبات در غلظت مناسب، بعنوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی به منظور افزایش کیفیت و نیز ماندگاری مواد غذایی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه ریاست محترم دانشکده بهداشت و هم چنین مسئولین محترم دانشکده های داروسازی و پزشکی که ما را در انجام این طرح یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

و ۱۳/۱ میلی متر می‌باشد (۵). در پژوهشی دیگر بر تاثیر روغن های فرار آویشن و زیره بر دو گروه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی مشخص شد که عصاره این گیاهان اثر مهارکنندگی بیشتری بر باکتری های گرم مثبت از خود نشان می‌دهند (۳۰) که نتایج این تحقیقات با یافته های ما مطابقت دارد. بر اساس نتایج این تحقیق، افزایش غلظت عصاره، اثر ضد میکروبی بیشتر را بدنبال خواهد داشت. مطالعه جلالی و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد غلظت عصاره ارتباط دقیقی با هاله عدم رشد باکتری نشان می‌دهد بطوریکه متناسب با کاهش غلظت عصاره، از قطر هاله عدم رشد نیز کاسته می‌گردد (۳۱). به عبارت دیگر افزایش غلظت عصاره موجب افزایش قطر هاله می‌گردد. طی پژوهشی دیگر که در سال ۲۰۰۶ توسط فاضلی و همکاران بر خاصیت بازدارندگی عصاره آویشن شیرازی و سماق بر باکتری های بیماری زا در مواد غذایی انجام شد، مشخص گردید که عصاره هر دو گیاه بر باکتری هایی از قبیل *E. coli*، *S. typhi* و *S. aureus* اثر باز دارندگی مؤثری داشته و با افزایش غلظت عصاره ها، خاصیت بازدارندگی نیز افزایش می‌یابد (۳۲) که این یافته ها، نتایج پژوهش حاضر را نیز تأیید می‌کند.

در این مطالعه مشخص شد که اثر ممانعت کنندگی حاصل از عصاره نعنای در مقایسه با آنتی بیوگرام جنتامایسین کمتر می‌باشد. مطالعه Singh و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ حاکی از آن است که اثر ممانعت کنندگی نعنای در مورد باکتری *E. coli* برابر با (5.1 ± 0.4) می‌باشد که در مقایسه با باکتری *E. coli* برابر با $(5/1 \pm 0/4)$ می‌باشد که در مقایسه با قطر هاله عدم رشد دیسک آنتی بیوگرام جنتامایسین $(0/3 \pm$



References

- 1-Shan B, YZ Cai, JD Brooks, H Corke. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology* 2007;117(1): 112-9.
- 2-Shahnia M ,R Khaksar. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology* 2013;7(5): 949-54.
- 3-Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 2004;94(3): 223-53.
- 4-Fabricant DS, NR Farnsworth. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives* 2001;109(Suppl 1): 69.
- 5-Singh R, MA Shushni, A Belkheir. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry* 2011; 5(2): 120-5
- 6-Moosavy MH, N Shavisi. Determination of Antimicrobial Effects of Nisin and *Mentha spicata* Essential Oil against *Escherichia coli* O157: H7 Under Various Conditions (pH, Temperature and NaCl Concentration). *Journal of Faculty of Pharmacy* 2013; 7(2): 250-7.
- 7-Kumar P, S Mishra, A Malik, S Satya. Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. *Industrial Crops and Products* 2011;34(1): 802-17.
- 8-Shariat S, Collection of medicinal plants. Tehran, Mani. 2007; 1. 35-40.
- 9-Nouraldini M, Nouredin M, Salami M, Mesdaghinia A, Verdi J, M Salimian. Analgesic effects of mentha piperita extract on rats. *Feyz J* 2007; 10: 19-23.
- 10-Najafi KRH, M Bagher, BT Shahram. Effect of essential oil and extract of *Ziziphora clinopodioides* on yoghurt starter culture activity. *World Applied Sciences Journal* 2007; 2(3): 194-7.
- 11-Alvandi K, A Sharifan, M Aghazadeh Meshghi. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. *Journal of Comparative Pathobiology* 2010; 7. 355-64.
- 12-Amin G. Medicinal and traditional plants of Iran. *Research Institute of Iran medicinal plants* 1992. 3. 265-74.
- 13-Nafisi A. Properties of food and Beverages among Various nations over the Centuries and ages. Esfahan: Esfahan University of Medical Sciences 1990; 11(5): 425-8.



- 14-Lai P, J Roy. Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. *Current medicinal chemistry* 2004;11(11): 1451-60.
- 15-Helander IM, HL Alakomi, K Latva-Kala, T Mattila-Sandholm, I Pol, EJ Smid, et al. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry* 1998;46(9): 3590-5.
- 16-Dorman HD, M Kosar, K Kahlos, Y Holm, R Hiltunen. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry* 2003;51(16): 4563-9.
- 17-Gulluce M, F Sahin, M Sokmen, H Ozer, D Daferera, A Sokmen, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food chemistry* 2007;103(4): 1449-56.
- 18-Arash Abdolmaleki 1, AR Fariborz Sangin Abadi. investigate the effects of Analgesic and anti-inflammatory extract of mint. *Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2013;18: 67-74.
- 19-Mimica-Dukić N, B. Bozin, M Soković, B Mihajlović, M Matavulj. Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta medica* 2003;5(69): 413-9.
- 20-Baliga MS, S Rao. Radioprotective potential of mint: a brief review. *Journal of cancer research and therapeutics* 2010;6(3) 255.
- 21-Kinghorn A.D. Pharmacognosy in the 21st century. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2001;53(2) 135-48.
- 22-Skočibušić M, N Bezić, V Dunkić, A Radonić. Antibacterial activity of *Achillea clavennae* essential oil against respiratory tract pathogens. *Fitoterapia* 2004;75(7): 733-6.
- 23-Mahasneh AM, AA El-Oqlah. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 64(3): 271-6.
- 24-Valero M, M Salmeron. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology* 2003;85(1): 73-81.
- 25-Vernozy-Rozand C, Ray-Gueniot S, C Ragot, C Bavaï, C Mazuy, M Montet, et al. Prevalence of *Escherichia coli* O157: H7 in industrial minced beef. *Letters in applied microbiology* 2002; 35(1): 7-11.
- 26-Gourine N, M Yousfi, I Bombarda, B Nadjemi, P Stocker, E Gaydou. Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products* 2010;31(2): 203-8.



- 27-Inoue T, Y Sugimoto, H Masuda C Kamei. Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. *Biological & pharmaceutical bulletin* 2002; 25(2): 256-9.
- 28-MB Majnooni, RA, PM Khatabi, H Adibi. Antibacterial effect of *Trigonella foenum* leaves and seeds hydro-alcoholic extract on different microbial strains. *Laboratory Medicine*. V.3 2010; 10(6): 121-9.
- 29-Witkowska AM, DK Hickey, M Alonso-Gomez, M Wilkinson. Evaluation of antimicrobial activities of commercial herb and spice extracts against selected food-borne bacteria. *Journal of Food Research* 2013; 2(4): 37.
- 30-Frag RST, SH. Use of some essential oils as natural preservatives for butter. *American oil chemists society*. 1990; 188-91.
- 31-Jalali M, AD Asghari, Gh Rezaie. Z. Antimicrobial effects of several kinds of *Pycnocycla spinosa* fruit extracts. V.17. *mazandaran University of Medical Sciences* 2008; 7(2): 84-8.
- 32-Fazeli MR, G Amin, MMA. Attari, H Ashtiani, H Jamalifar and N Samadi. Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food control* 2007; 18(6): 646-9.
- 33-Shahnia M, DW Schaffner, A Khanlarkhani, F Shahraz, B Radmehr, R Khaksar. Modeling the Growth of *Escherichia coli* under the Effects of *Carum copticum* Essential Oil, pH, Temperature and NaCl Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Safety* 2012;32(4): 415-25.
- 34-Kim HO, SW Park, HD Park. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology* 2004; 21(1): 105-10.



Received: 2015/6/7

Accepted: 2015/7/1

Antibacterial Effects of (Mentha X Piperita L.) Hydroalcoholic Extract on the Six Food-Borne Pathogenic Bacteria

Zandi H (Ph.D)¹, Hajimohammadi B (Ph.D)¹, Amiri A (MS.C)², Ranjbar A.M (Ph.D)³,
Mozaffari khosravi H (Ph.D)⁴, Fallah zadeh H (Ph.D)⁵, Vahidi A.R (Ph.D)³, Dehghan A (MS.c)⁶

1. Assistant Professor, Research Center Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2. Corresponding Author: MS.c in Food Safety and Hygiene, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3. Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4. Professor, Department of Nutrition, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
5. Professor, Department of Statistics and Epidemiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
6. MS.c in Microbiology, Department of Microbiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Introduction: Iran is the richest country in terms of distribution of medicinal plants. The antimicrobial effect of plant extracts and essential oils is well known and they are used as a good substitute in food industry to control food-borne pathogens. Due to the antibacterial activity of plant extracts and their efficacy against microorganisms, the aim of this study was to investigate the antibacterial activity of peppermint extract in order to control pathogenic bacteria.

Methods: Piperita L., which is one of the species of mint; was used in this invitro-experimental study. The extraction was performed by percolation method. Well - agar method was used for antibacterial effects of extracts. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) were done for six standard bacteria using microdilution method. The test was performed 3 times for each bacterium. Data were analyzed by using SPSS version 16 and t-test.

Results: The lowest MIC of peppermint extract on examined microorganisms were observed for Staphylococcus aureus and Enterococcus faecalis (3.25 mg/ ml). Also the maximum diameter of inhibition zone, was related to Staphylococcus aureus (32 mm).

Conclusion: Results of this study indicated that peppermint extract has a favorable control effect on the growth of food borne pathogens, which can be used as a perfect preservative for keeping food.

Keywords: Hydro-alcoholic extract, Peppermint, Antibacterial effect

This Paper Should be Cited as:

Zandi H (Ph.D), Hajimohammadi B (Ph.D), Amiri A (MS.C), Ranjbar A.M (Ph.D),
Mozaffari khosravi H (Ph.D), Fallah zadeh H (Ph.D), Vahidi A.R (Ph.D), Dehghan A (MS.C) . Antibacterial
Effects of (Mentha X Piperita L.) Hydroalcoholic..... Journal Toloobehdasht Sci