بررسی تأثیر عصاره روغنی گیاه نعنا بر روی رشد و بقای برخی از باکتری‌های بیماری‌زای غذایی

مجتبی بنیادیان[۱]، الهام خلیلی صدرآباد[۲]*، الهه عسکری[۲]، محسن پورمقدس[۳]

۱- دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، گروه بهداشت مواد غذایی، شهرکرد، ایران.
۲- دانشجوی Ph.D بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳- دانش‌آموخته دکترای دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: khalili.elham@gmail.com
(دریافت مقاله: ۹۲/۱۰/۲۶ پذیرش نهایی: ۹۳/۸/۲)

چکیده

در این مطالعه تاثیر عصاره روغنی نعنا بر روی باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* در محیط کشت مایع مورد بررسی قرار گرفت. عصاره نعنا در غلظت‌های مختلف در محیط کشت Trypticase Soy Broth (TSB) اضافه و 10^6 باکتری در میلی‌لیتر به محیط‌ها اضافه و گرمخانه‌گذاری شد. با مقایسه رشد باکتری‌ها در گروه‌های شاهد و تیمار اولین لوله‌ای که فاقد کدورت بود به عنوان حداقل ممانعت‌کننده از رشد (MIC) در نظر گرفته شد. سپس از لوله MIC به بعد ۰/۱ میلی‌لیتر برداشت شده بر روی محیط TSA کشت داده شد و پس از انکوباسیون، پلیت‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و اولین پلیتی که فاقد پرگنه بود به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) انتخاب شد. غلظت پایین‌تر از MIC عصاره نعنا جهت بررسی رفتار رشد باکتری‌ها در محیط TSB مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده برای *یرسینیا انتروکولیتیکا* برابر با ۰/۱٪ و ۰/۲۲٪، *لیستریا مونوسیتوژنز* ۰/۱۲٪ و ۰/۱۵٪، *سالمونلا تایفی‌موریوم* ۰/۲۲٪ و ۰/۲۵٪ و *باسیلوس سرئوس* ۰/۳٪ و ۵٪ به‌دست آمد. *یرسینیا انتروکولیتیکا* حساس‌ترین باکتری به عصاره شناسایی گردید و در رده بعد *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تایفی‌موریوم* و *باسیلوس سرئوس* قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد که روغن‌های فرار گیاه نعنا در غلظت‌های پایین قادر است رشد باکتری‌های بیماری‌زا را مهار نموده و به عنوان یک نگه‌دارنده و طعم‌دهنده طبیعی در مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: عصاره روغنی نعنا، باکتری‌های مواد غذایی، رشد باکتری

مقدمه

باکتری‌ها مهمترین عامل میکروبی بیماری‌های ناشی از مواد غذایی می‌باشند. دو نوع باکتری مولد بیماری در مواد غذایی وجود دارد. نوع اول باکتری‌های مسمومیت‌زای غذایی‌اند که منجر به تولید سم در غذا می‌شوند، *باسیلوس سرئوس* جزو این دسته است چون سم این باکتری در اثر اتولیز سلول‌های باکتری در غذا حاصل می‌شود. نوع دوم باکتری‌های عفونت‌زای غذایی‌اند که پس از مصرف غذا با تکثیر خود یا تولید متابولیت‌های خاص، عوارضی را در بدن ایجاد می‌کنند مثل *سالمونلا تیفی موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* که این باکتری‌ها منجر به اسهال و استفراغ می‌شوند. این باکتری‌ها می‌توانند منجر به ایجاد بیماری‌های مزمن (بیماری مفاصل)، عوارض عصبی و عصبی عضلانی (توسط *یرسینیا انتروکولیتیکا*) و هم چنین بیماری‌های حاد خارج روده‌ای، بیماری سیستم عصبی مرکزی و بیماری ریوی (توسط *سالمونلا*) شوند (Mortazavi, 1381).

نعنا گیاهی علفی، پایا، معطر و چند ساله است که بیشترین توزیع آن در منطقه معتدل مدیترانه‌ای است. گیاهان این تیره از نظر خواص اکولوژیکی، سیتولوژیکی، مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی بسیار متنوع می‌باشند. این گیاهان غالبا با خشکی سازگاری حاصل کرده و برگ‌های آن برای جلوگیری از تعریق زیاد پوشیده از کرک است. به نظر می‌رسد گیاه نعنا از اروپا به سایر کشورها معرفی شده باشد، هر چند منشا آن هنوز به خوبی مشخص نیست (Briggs, 1993; Clark and Menory, 1980). گیاه نعنا حاوی منتول، منتون، منتوفوران و استات منتیل است. دیگر ترکیبات دارویی آن شامل کافئیک اسید، فلاونوئید، پلی‌فنول‌های پلیمریزه شده، کاروتن، توکوفرول، بتائین و تانن‌ها می‌باشد. مواد اصلی تشکیل‌دهنده اسانس عبارتند از: اسیدهای آزاد نظیر اسید والرنیک و اسید استیک و ترکیبات دیگری مانند کافئیک اسیدها، مونوترپن‌ها، توکوفرمول و کاروون است (Karuza *et al*., 1996; Shimada *et al*., 1992; Sokovic *et al*., 2009). این گیاه برای رفع نفخ، درد شکم، اسهال، سوء هاضمه، ناتوانی روده‌ها، تب، سرماخوردگی، آنفولانزا، سینوزیت، ناراحتی‌های اعصاب در کودکان، خونریزی بینی و به عنوان ضدسم در موارد گزیدگی و نیش حشرات، بیماری‌های بینی و گلو، سردرد و دردهای صورت استفاده می‌شود. امروزه قرص‌های گیاهی آن در دسترس است (Hemmatkhah, 1383).

امروزه استفاده از مواد غذایی که بدون ترکیبات نگه‌دارنده می‌باشند رو به افزایش گذاشته و تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد غذایی که دارای مواد نگه‌دارنده طبیعی می‌باشند بیشتر شده است. گیاهان و ترکیبات آنها از جمله موادی هستند که بیشتر از سایر مواد طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. گیاهان و ترکیبات آنها علاوه بر خاصیت نگه‌دارنده بودن باعث ایجاد طعم مناسب در ماده غذایی شده که این نکته نیز مورد توجه مصرف‌کنندگان قرار گرفته است (Hirokodo *et al*., 1996). بر همین اساس و به دلیل اهمیت باکتری‌ها و بالاخص چهار گونه مطرح شده، در این مطالعه سعی شد تا اثر عصاره گیاه نعنا روی این باکتری‌ها در محیط کشت مایع مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره نعنا

گیاه نعنا در سایه خشک شده و سپس با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با بخار روغن فرار گیاه استخراج شده و تا زمان استفاده در بطری با رنگ تیره و در یخچال نگه‌داری شد (Walton and Brown, 1999).

نحوه آماده‌سازی نمونه‌های باکتریایی

باکتری‌های مورد مطالعه از کلکسیون آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد انتخاب شد. ابتدا باکتری‌ها در محیط TSB (مرک، آلمان) کشت شده و به‌مدت ٢٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس نگه‌داری شد و سپس تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر محیط محاسبه شد. تعداد 10^5 باکتری در هر میلی‌لیتر جهت انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نحوه محاسبه MIC و MBC

برای شروع آزمایش از ۳۰ لوله آزمایش که محتوی محیط TSB بود در سه سری ۱۰ تایی استفاده شد. سپس عصاره نعنا به میزان‌های ۱۰ تا ۹۰ میکرولیتر در هر ردیف به محیط TSB اضافه شد و لوله آزمایش اول هر ردیف به عنوان شاهد آزمایش بدون عصاره نعنا در نظر گرفته شد. سپس به همه لوله‌های آزمایش (هر ۳۰ لوله) ۱۰میکرولیتر از کشت تازه باکتری مورد نظر که تعداد باکتری‌های آن 10^7 بود، اضافه گردید. لوله‌های آزمایش در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس با مشاهده لوله‌های آزمایش محتوی محیط TSB و مقایسه لوله شاهد با بقیه لوله‌ها، لوله‌هایی که محیط‌شان همانند محیط لوله شاهد کدر باشد، باکتری رشد کرده و لوله‌هایی که محیط‌شان برخلاف محیط لوله شاهد شفاف باشد، به دلیل عدم رشد باکتری در محیط است. این امر نشانگر اثر نکردن مقدار نعنا در لوله‌هایی است که کدر است و اولین لوله‌ای که شفاف باشد درصد نعنا آن همان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (MIC) برای باکتری مورد نظر است. پس از مشاهده و تعیین MIC، چند لوله آزمایش شفاف هر ردیف روی محیط TSA کشت داده شد و دوباره به مدت ٢٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. این بار پس از مشاهده پلیت‌های مورد نظر، مشخص شد لوله‌هایی که در آن کلونی‌های باکتری رشد کرده باشد، این مقدار عصاره نعنا اثر کشندگی روی باکتری نداشته و اولین پلیتی که روی محیط آن هیچ کلونی باکتری رشد نکرده باشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره گیاه نعنا برای باکتری در نظر گرفته شد (Baron, 1990).

مطالعه رفتار رشد باکتری‌ها در حضور روغن‌های فرار

بررسی همزمان رفتار رشد باکتری در حضور غلظت یک سوم MIC عصاره و در عدم حضور عصاره نعنا صورت گرفت. در این مرحله سعی بر این بود که رشد باکتری، تعداد باکتری‌ها در زمان‌های مختلف رشد و همچنین سرعت رشد باکتری‌ها در دو حالت عادی و حضور عصاره نعنا در ساعات مختلف بررسی شود. باکتری‌های مورد آزمون در لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر TSB کشت شد (10^2/ml) و در دو شرایط بدون حضور عصاره و با حضور غلظت کمتر ۱۳ MIC عصاره برای هر باکتری مورد بررسی قرار گرفت. سپس لوله‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند و در زمان‌های ۰/۵، ۱، ۲، ٤، ٦، ٨، ۱۰ و ۱۸ ساعت از لوله‌ها

کشت تهیه شد و تعداد باکتری‌ها مورد شمارش قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات بدست آمده از شمارش باکتری در زمان‌های مختلف مورد با استفاده از نرم افزار Sigma Stat 3.2 و آزمون t. Student مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و اختلاف تعداد باکتری در لوله‌های شاهد و لوله‌هایی که حاوی عصاره گیاه نعنا بود، مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها

نتایج تعیین MIC و MBC

نتایج به دست آمده از مرحله اول آزمون‌ها در جدول زیر آمده است (جدول۱). بر این اساس حساس‌ترین باکتری نسبت به عصاره گیاه نعنا باکتری *یرسینیا اینتروکولیتیکا* بود و در رده بعد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* قرار داشت و باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* و در نهایت *باسیلوس سرئوس* دارای حساسیت کمتری بودند.

جدول ۱- نتایج حداقل غلظت (٪) مهارکنندگی و کشندگی عصاره نعنا روی باکتری‌های مورد آزمایش

نام باکتری	MIC	MBC
باسیلوس سرئوس	٪۰/۳	٪۵
سالمونلا تیفی موریوم	٪۰/۲۲	٪۰/۲۵
لیستریا مونوسیتوژنز	٪۰/۱۲	٪۰/۱۵
یرسینیا اینتروکولیتیکا	٪۰/۱	٪۰/۲۲

نتایج رفتار رشد باکتری‌ها

باسیلوس سرئوس

بر اساس آزمایشات انجام شده، در گروه تیمار، فاز تاخیری باکتری ۲ ساعت بود، در صورتی که فاز تاخیری لوله شاهد ۰/۵ ساعت بود و بلافاصله پس از این مدت وارد مرحله فاز رشد لگاریتمی گردید. در نهایت تعداد باکتری رشدیافته در ساعت پایانی (ساعت ۱۸) طبق جدول در نمونه شاهد برابر با ٦/۸۵ واحد لگاریتمی و در نمونه تیمار برابر با ٤/۵۷ واحد لگاریتمی بود (جدول۱). نتایج بدست آمده از مطالعه روی رفتار رشد *باسیلوس سرئوس* در حضور نعنا و مقایسه آن با رشد باکتری در عدم حضور عصاره نعنا مشخص شد که عصاره نعنا در غلظت کمتر از MIC موجب تاخیر انداختن در رشد باکتری می‌گردد. آزمون آماری (t) داده‌ها در ساعت ۱۸ نشانگر اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمار بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲- تاثیر غلظت پایین‌تر از MIC عصاره نعنا بر روی تعداد *باسیلوس سرئوس* (واحد لگاریتمی)

نمونه	زمان (ساعت)								
	۰	۰/۵	۱	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۸
شاهد	۲/٤۷±۰/۵^{a}	۲/۵۰±۰/٦^{a}	۲/۹٤±۰/۸^{a}	۳/۸۲±۱^{a}	٤/۹۸±۱/۳^{b}	۵/۳۹±۱/٦^{b}	٦/۲۰±۱/۸^{d}	٦/۵٦±۱/۸^{d}	٦/۸۵±۱/۹^{d}
تیمار	۲/٤۱±۰/٤^{a}	۱/٦۹±۰/۲^{a}	۱/۹۵±۰/۲^{a}	۲/۱۱±۰/٦^{a}	۲/٦۰±۰/٦^{c}	۳/٤۷±۰/۹^{c}	۳/۹۰±۱^{e}	٤/٤٤±۱/۲^{e}	٤/۵۷±۱/۳^{e}

سالمونلا تیفی موریوم

نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که در گروه شاهد باکتری بلافاصله وارد مرحله فاز رشد لگاریتمی گردید و در نهایت تعداد باکتری رشدیافته در ساعت پایانی (ساعت هجدهم) در نمونه شاهد برابر ۹/۹۰ واحد لگاریتمی و در نمونه تیمار برابر با ٦/۹۲ واحد لگاریتمی بود (جدول ۳). بنابر نتایج بدست آمده، مشخص گردید اضافه نمودن میزان یک سوم MIC عصاره گیاه نعنا باعث شد که رشد باکتری را به تاخیر انداخته و در نمونه تیمار فاز تاخیری باکتری ٤ ساعت بود در حالی که فاز تاخیری نمونه شاهد کمتر از ۱ ساعت بود. از نظر آماری اختلاف مشاهده شده بین گروه شاهد و گروه تیمار در ساعت ۱۸ معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳- تاثیر غلظت پایین‌تر از MIC عصاره نعنا بر روی تعداد باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* (واحد لگاریتمی)

	زمان (ساعت)									
نمونه	۰	۰/۵	۱	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۸
شاهد	۳/۰۷±۰/۹^{a}	۳/۲۰±۰/۹^{a}	۳/٦۹±۱^{a}	۵/۰۷±۱/٤^{b}	٦±۱/۸^{b}	۷/۲۷±۱/۹^{b}	۸/۲۵±۲/۱^{d}	۹/٤۳±۲/۷^{d}	۹/۹۰±۲/۹^{d}
تیمار	۲/۸۳±۰/۷^{a}	۲/۰٤±۰/٦^{a}	۳±۰/۸^{a}	۳/۱۱±۰/۸^{c}	۳/۳۹±۰/۷^{c}	٤/۱۷±۱/۳^{c}	۵/۳۹±۱/۷^{e}	٦/۵۰±۱/۷^{e}	٦/۹۲±۱/۷^{e}

لیستریا مونوسیتوژنز

بر اساس نتایج جدول ٤ در نمونه تیمار فاز تاخیری این باکتری ۲ ساعت به تاخیر افتاده، در صورتی که فاز تاخیری نمونه شاهد ۰/۵ ساعت بوده و بلافاصله نمونه شاهد وارد مرحله فاز رشد لگاریتمی شد. در نهایت تعداد باکتری رشدیافته در ساعات پایانی مطالعه (ساعت هجدهم) در نمونه شاهد برابر ۸/۵۵ واحد لگاریتمی و در نمونه تیمار برابر با ٦/٦۹ واحد بود (جدول٤). مطابق نتایج بدست آمده، مشخص شد که اضافه کردن میزان یک سوم MIC عصاره گیاه نعنا در مورد باکتری فوق توانست رشد باکتری را به تاخیر اندازد. در آزمون t اختلاف مشاهده شده بین گروه شاهد و تیمار در ساعت ۱۸ معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۴- تاثیر غلظت پایین‌تر از MIC عصاره نعنا بر روی تعداد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* (واحد لگاریتمی)

	زمان (ساعت)									
نمونه	۰	۰/۵	۱	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۸
شاهد	۲/۸۹±۰/٦^{a}	۳/۱٤±۰/۸^{a}	۳/۸۵±۱/۲^{a}	٤/٦۳±۱/۲^{b}	۵/۸۲±۱/۵^{b}	٦/٦٤±۱/۸^{b}	٦/۹۱±۱/۷^{d}	۸/۰٤±۲/۳^{d}	۸/۵۵±۲/۲^{d}
تیمار	۲/٦۵±۰/۵^{a}	۲/۳٦±۰/۵^{a}	۲/۵٤±۰/۸^{a}	۲/۸۸±۰/۷^{c}	۳/۹۹±۱/۲^{c}	٤/۲۷±۱/٤^{c}	٦/۰۷±۱/۵^{e}	٦/٤٦±۱/۷^{e}	٦/٦۹±۱/٦^{e}

یرسینیا انتروکولیتیکا

بر اساس نتایج جدول ۵ در نمونه تیمار فاز تاخیری این باکتری ۲ ساعت، در صورتی که فاز تاخیری نمونه شاهد کمتر از ۰/۵ ساعت بود و بلافاصله پس از این مدت وارد مرحله رشد لگاریتمی گردید. در نهایت تعداد باکتری رشدیافته در ساعت پایانی (ساعت هجدهم) در نمونه شاهد برابر با ۸/۸۱ واحد لگاریتمی و در نمونه تیمار برابر با ٦/٤٤ واحد بود (جدول۵).

نتایج مشخص نمود که اضافه نمودن میزان یک سوم MIC گیاه نعنا موجب به تاخیر انداختن رشد باکتری شد. نتایج آزمون آماری داده‌ها در ساعت ۱۸ نشانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد و تیمار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۵- تاثیر غلظت پایین‌تر از MIC عصاره نعنا بر روی تعداد باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* (واحد لگاریتمی)

	زمان (ساعت)								
نمونه	۰	۰/۵	۱	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۸
شاهد	۲/۳±۰/۵^{a}	۲/۶۵±۰/۶^{a}	۳/۸±۱^{a}	٤/۷±۱/٤^{a}	٥/٦۹±۱/۸^{b}	٦/٦٥±۱/۸^{b}	۷±۱/۷^{b}	۷/٤۳±۱/٦^{b}	۸/۸±۲/۱^{e}
تیمار	۲/۳٤±۰/٤^{a}	۲/۱٤±۰/۷^{a}	۲/۳۹±۰/۸^{a}	۲/٥۷±۰/٦^{b}	۳/۳۲±۰/۹^{c}	۳/۸۷±۱^{c}	٦/۹٥±۱/۸^{d}	٦/۰٤±۱/٤^{d}	٦/٤٤±۱/۷^{f}

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه نعنا بر روی *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* که درصد پایین عصاره گیاه نعنا رشد باکتری‌ها را به تاخیر انداخته و بر روی رشد آن‌ها موثر بوده، پس اثرات ضدباکتریایی عصاره نعنا قابل تامل می‌باشد.

مطالعات متعددی بر روی گیاهان و اثرات ضدمیکروبی آن‌ها در جهان صورت گرفته است و در هر کشوری براساس ذائقه مردم آن کشور این مطالعات بیشتر بر روی گیاهانی انجام شده که در فرهنگ غذایی مردم آن کشور حائز اهمیت بوده است. در کشور ما مطالعه‌ای جامع بر روی گیاهان مورد قبول از نظر ذائقه عموم صورت نگرفته است (Bonyadian *et al.*, 2012).

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۱ توسط بنیادیان و کریم انجام شد، اثر ضدمیکروبی برخی از گیاهان سنتی در محیط کشت بر روی باکتری *اشرشیا کولای* بررسی شد. در این مطالعه مشخص گردید که عصاره گیاه آویشن بیشترین اثر و عصاره گیاه ترخون کمترین اثر ضدمیکروبی را بر روی باکتری مورد مطالعه دارا است. بارت و همکاران در سال ۲۰۰٤ در تحقیقی فعالیت ضدمیکروبی روغن‌های فرار بر ضد *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشرشیا کولای*، *شیگلا دیسنتری*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* را در مقادیر ۰/۲ و ۱/۱ میلی‌لیتر نشان دادند. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که ارگانیسم‌های گرم منفی در برابر روغن‌های فرار گیاهان حساس‌تر از ارگانیسم‌های گرم مثبت هستند. این نتایج با تحقیقات مونتس و همکاران در سال ۱۹۹۸ در توافق کامل است. این محققان بدین نتیجه رسیدند که نعنا بر روی هشت گونه باکتریایی مواد غذایی دارای خصوصیت آنتی‌باکتریال می‌باشد.

در سال ۲۰۱۱ کاراگوزلو و همکاران به بررسی اثر ضدمیکروبی روغن نعنا و ریحان روی بقای *اشرشیا کولای* و *سالمونلا تیفی موریوم* در کاهوی تازه و خرفه پرداختند. نتایج نشان داد که *سالمونلا تیفی موریوم* در نمونه‌های کاهو در برابر ریحان مقاوم‌تر از نمونه‌های

خرفه است، در حالی که *اشرشیا کولای* در روغن نعنا در نمونه‌های خرفه مقاوم‌تر از نمونه‌های کاهو بود.

اثنی عشری و همکاران در سال ۱۳۸۸ به بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس نعنا فلفلی پرداختند. این محققان بیان داشتند که اسانس گیاه نعنا بیشترین اثر ضدباکتریایی را بر باکتری *اشرشیا کولای* دارد و کمترین اثر ضدباکتریایی را بر باکتری‌های *سودوموناس ایروژینوزا* و *استافیلو کوکوس اورئوس* دارد.

نجفی و همکاران در سال ۲۰۰۸ خواص ضدمیکروبی اسانس سه گیاه نعنا، مریم گلی و مرزه را روی باکتری *اشرشیا کولای* بررسی کردند که نتایج حاصل نشان داد که گیاه نعنا دارای بالاترین اثر ضدمیکروبی است.

در یوگوسلاوی، میمیکا و همکاران در سال ۲۰۰۳ در مطالعه‌ای اثر ضدباکتریایی سه گونه نعنا را مورد بررسی قرار دادند. این محققان بیان داشتند که روغن‌های فرار این سه گونه فعالیت ضدباکتریایی بسیار قوی را بخصوص بر ضد *اشرشیا کولای* دارند. قویترین آن‌ها روغن فرار Mentha piperita بود و باکتری‌های *شیگلا سونه ای* و *میکروکوکوس فلاووس* به اسانس این گونه بسیار حساس بودند.

در ترکیه آریدوغان و همکاران در سال ۲۰۰۲ اثر ضدباکتریایی روغن‌های فرار هشت نوع گیاه آروماتیک را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه از سه باکتری *اشرشیا کولای*، *استافیلو کوکوس اورئوس* و *سودوموناس ایروژینوزا* استفاده شد. بخشی از نتایج نشان داد که نعنا فلفلی فعالیت ضدباکتریایی خود را فقط بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* اعمال می‌نماید.

نتایج مشخص کرد که غلظت پایین‌تر از MIC عصاره نعنا بر رشد باکتری‌ها موثر بوده و تاثیر آن بر روی مرحله تاخیری فاز رشد باکتری و مرحله رشد لگاریتمی باکتری می‌باشد.

به طور کلی براساس نتایج بدست آمده در این مطالعه و سایر مطالعات، عصاره‌های گیاهان اثرات ضدمیکروبی را هم در محیط‌های آزمایشگاهی و هم در مواد غذایی از خود نشان می‌دهند. بنابراین، می‌توان از این عصاره‌ها به عنوان یک نگه‌دارنده طبیعی در مواد غذایی استفاده کرد. همچنین، این عصاره‌ها موجب طعم‌بخشی در مواد غذایی شده و به عنوان یک طعم‌دهنده طبیعی نیز می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. به این ترتیب می‌توان با استفاده از این عصاره‌ها در مواد غذایی به منظور طعم‌بخشی و افزایش ماندگاری، از بروز عوارض ناشی از مواد نگه‌دارنده و طعم‌دهنده مصنوعی جلوگیری نمود.

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، به خاطر در اختیار گذاردن نمونه‌ها و همکاری در انجام مراحل آزمایشگاهی ابراز می‌نمایند.

منابع

- اثنی عشری، محمود؛ ایزدی، زهرا؛ احمدوند؛ گودرز؛ داودی، پوراندخت و پیری، خسرو (۱۳۸۸). شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس گیاه نعنا فلفلی بر تعدادی از سویه‌های میکروبی. مجله ارمغان دانش، دوره ۱٤، صفحات: ٤٥-٥٤.
- بنیادیان، مجتبی و کریم، گیتی (۱۳۸۱). مطالعه تاثیر عصاره برخی از گیاهان سنتی بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* در محیط کشت مایع. مجله دانشکده دامپزشکی تهران، دوره ۵۷، صفحات: ۸۱-۸۳.
- بنیادیان، مجتبی؛ قاسمی، عبداله و فتاحی، فرشید (۱۳۹۰). اثرات ضدمیکروبی روغن‌های فرار چند گیاه دارویی بر باکتری *کلستریدیوم پرفرنجنس*. فصلنامه گیاهان دارویی، سال یازدهم، دوره اول، شماره ۸: ٦٣-٥٧.
- مرتضوی، علی؛ کاشانی نژاد، مهدی و ضیاءالحق، سیدحمیدرضا (۱۳۸۱). میکروبیولوژی مواد غذایی. چاپ دوم، مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات: ۱۹۷، ۲۳۹، ۳۱۲.
- همت‌خواه، فرهاد (۱۳۸۳). داروهای گیاهی، چاپ سوم، انتشارات عصر کتاب، صفحات:۱۱۳-۱۱۵.

- Aridogan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbasar, D. and Mumcu, E. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Pharmacalogical research, 25: 860-864.
- Baron E.J (1990). Diagnostic Microbiology. 8th edition, Mosby Com. pp. 37-39.
- Briggs, C. (1993). Peppermint: medicinal herb and flavoring agent. Canadian Pharmacology Journal, 126: 89–92.
- Burt, S. (2004). Essential oils "Their antibacterial properties and potential application food". Journal of Ethnopharmacology, 94: 223-253.
- Clark, R.K. and Menory, R.C. (1980). Environmental effects or peppermint (Mentha piperita). Austurialan Journal of Plant and Physiology, 7: 685–692.
- Hirokodo, M., Hirata, K. and Uematsu, Y. (1996). Survey on the quality of natural preservative used in food processing. Annual report of Tokyo metropolitan research laboratory of public health, 47: 157-181.
- Karagözlü, N., Ergonul, B. and Ozcan, D. (2011). Determination of antimicrobial effect of mint and basil essential oils on survival of *E. coli* O157:H7 and *S. typhimurium* in fresh-cut lettuce and purslane. Food Control, 22: 1851-1855.
- Karuza, L., Blazevic, N. and Soljic, Z. (1996). Isolation and structure of flavonoids from peppermint (Mentha piperita) leaves. Acta Pharmacology, 46: 315–320.
- Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., Mihajlovic, B. and Matavulj, M. (2003). Antibacterial and antioxidant activity of tree Mentha species essential oils. Planta Medicin, 69: 413-419.
- Montes, M.A., Wilkomirsky, T. and Bello, H. (1998). Antibacterial activity of essential oil from aromatic plants growing in Chile. Phytoterapia, 69: 170-175.
- Nagafi, A., Ghasemzadeh, N. and Razavi, S. (2008). Study on antibacterial effects of (Mentha spicata L, Salvia officinalis L and Satureja hortensis L) on Escherichia coli. The journal of Qazvin University of Medical Science, 33: 15-20.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autooxidation of soybean oil in cyclodextrin. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 40: 945–948.

- Sokovic, M.D., Vukojevic, J., Marin, P.D., Brkic, D.D., Vajs, V. and van Griensven, L.J.L.D. (2009). Chemical composition of essential oils of Thymus and Mentha species and their antifungal activities. Molecules, 14: 238–249.
- Walton, M.G. and Brown, D.E. (1999). Chemical from plants. Imperial college press, pp. 106-108.

Effect of peppermint essential oil on growth and survival of some foodborne pathogenic bacteria

Boniadian, M.[1], khalili sadrabad, E.[2*], Askari, E.[2], Pourmoghadas, M.[3]

1- Associated Professor of Food Hygiene, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2- PhD Student of Food Hygiene, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3- DVM Graduate, College of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
*Corresponding author email: khalili.elham@gmail.com
(Received: 2014/1/16 Accepted: 2014/10/24)

Abstract

This study was conducted to determine the effects of peppermint essential oils on *Bacillus cereus, Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica.* In the first step, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of peppermint essential were determined by the tube dilution method in tryptic soy broth (TSB). Then, the growth behavior of each of the aforementioned bacteria was assessed in presence of peppermint essential oil in concentration of less than MIC. The result of first step showed that *Y. enterocolitica* is more sensitive to peppermint essential oil than other tested bacteria (MIC = 0.1% & MBC = 0.22%), followed by *L. monocytogenes* (MIC = 0.12% & MBC = 0.15%), *S. typhimurium* (MIC = 0.22% & MBC = 0.25%) and *B. cereus* (MIC = 0.3% & MBC = 5%), respectively. The results revealed that, the peppermint essential oils in low concentration inhibited the growth rate of bacteria thus may use as a natural preservative and flavoring in foods.

Key words: Peppermint essential oil, Bacteria, Bacterial growth.