

## بررسی اثر ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی و مقایسه آن با بنزوات سدیم

سحر فدائی<sup>a</sup>, پرویز آبرومندآذر<sup>b</sup>, انوشه شریفان<sup>c</sup>, کامبیز لاریجانی<sup>b</sup>

<sup>a</sup> کارشناس ارشد مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

<sup>b</sup> عضو هیأت علمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

<sup>c</sup> استادیار دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۱۸

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۸/۹

### چکیده

مقدمه: نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده *Lamiaceae* از جمله گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی فراوانی دارد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) Minimum Inhibitory Concentration (MIC) اسانس نعناع فلفلی و یک نگهدارنده شیمیایی مورد مصرف در صنایع غذایی (بنزوات سدیم) علیه سه میکروارگانیسم (PTCC 1330

*Salmonella typhimurium* (PTCC 1622) و *Bacillus subtilis* (PTCC 1254)، *Escherichia coli*

یافته‌ها: نتایج آزمایش میکروبی نشان داد که MIC اسانس نعناع فلفلی برای سه میکروب مذکور یکسان و برابر با ۱۰۰۰ ppm می‌باشد. اما MIC بنزوات سدیم بر روی باکتری (PTCC 1622) *Salmonella typhimurium* برابر با ۳۰۰۰ ppm و بر روی باکتری‌های (PTCC 1330) *E. coli* (PTCC 1254) و *Bacillus subtilis* برابر با ۳۵۰۰ ppm به دست آمد.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج بیانگر خاصیت ضد میکروبی بالاتر اسانس نعناع فلفلی نسبت به بنزوات سدیم است.

واژه‌های کلیدی: اسانس نعناع فلفلی، بنزوات سدیم، حداقل غلظت بازدارندگی SIDir

## مقدمه

انسان از دیر باز از گیاهان به عنوان منبع غذایی و همچنین دارویی استفاده می‌نموده است. امروزه مصرف کنندگان خواهان غذاهایی با کیفیت بالا و با حداقل مراحل فرآوری هستند که بدون مواد نگهدارنده قابلیت سالم ماندن در یک مدت زمان قابل قبول را داشته باشند. این خواسته همراه با قوانین سخت موجود در مورد استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی، موجب گسترش دامنه تحقیقات برای یافتن مواد طبیعی که خصوصیات آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشند، شده است (زرگری، ۱۳۷۲).

**گیاه نعناع فلفلی** با نام علمی *Mentha piperita* L. جمله گیاهان دارویی است که به واسطه اثرات دارویی متعدد از دیرباز توجه محققان را به خود معطوف داشته است (هی و واتمن، ۱۳۷۹). مصرف این گیاه در اشکال مختلف دارویی، غذایی و بهداشتی سبب امتیاز این گیاه نسبت به سایر گیاهان دارویی شده است (زرگری، ۱۳۷۲).

امروز در کشورهای مختلف جهان متجاوز از یک میلیون کیلوگرم اسانس در سال از این گیاه تهیه می‌شود و این خود درجه اهمیت و توسعه کشت آن را در نقاط مختلف کره زمین نشان می‌دهد (هی و واتمن، ۱۳۷۹).

در حال حاضر در ایران از اسانس وارداتی *Mentha piperita* L. همراه دیگر گونه‌های گیاهی در ساخت داروهای گیاهی مانند قرص مکیدنی آلتادین (مواد مصرف: التهاب‌های مخاط دهان و گلو)، قرص روکشدار آلیکوم (مواد مصرف: پایین آورنده فشار خون و چربی، ضد تصلب شرايين، ضد نفح، اشتها آور)، گرانول پلاتنتازل (مواد مصرف: اسهال‌های ساده)، قرص د- رگلیس (مواد مصرف: درمان زخم معده و اثنی عشر، گاستریت و نفح معده)، پودر کارامین (مواد مصرف: اختلال‌های هضم همراه نفح)، قرص مکیدنی ماسومنت (مواد مصرف: اسپاسم‌های دستگاه گوارش، نفح معده و به عنوان خوشبو کننده دهان)، ژل مرتاژل (مواد مصرف: قارچ کچلی لای انگشتان پا و کشاله ران، ضد خارش و سوزش، گزیدگی‌ها و سوختگی‌های سطحی) استفاده www.SID.ir می‌شود (میر حیدر، ۱۳۷۷).

در سال ۲۰۰۲، فعالیت ضد میکروبی و ترکیبات شیمیایی برخی از اسانس‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق نتایج به دست آمده اسانس نعناع فلفلی خاصیت ضد میکروبی قوی علیه استافیلوكوکوس اورئوس و اشرشیاکلی از خود نشان داده است (Aridogan *et al.*, 2002).

در مطالعه‌ای دیگر خواص ضد میکروبی اسانس پاتوژن بررسی شد. نتایج نشان داد که اسانس نعناع فلفلی از رشد میکرووارگانیسم‌های پاتوژن به شدت جلوگیری می‌کند. با استفاده از روش bioautography مسئول خواص ضد میکروبی *Menthol* شناخته شد (İşcan *et al.*, 2002).

مطالعات دیگر نشان داد که گیاه نعناع فلفلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و قادر به دام انداختن رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Mimica- Dukić *et al.*, 2003).

اخیراً مطالعه‌ای برای بررسی اثر برخی از اسانس‌های گیاهی بر روی استافیلوكوکوس اورئوس در پنیر فتا انجام شده است. نتایج نشان داد که اسانس گیاه نعناع فلفلی بیشترین اثر ضد میکروبی را در بین اسانس‌های دیگر علیه استافیلوكوکوس اورئوس دارد. پس اسانس بسیاری از گیاهان را می‌توان به عنوان نگهدارنده‌های غذایی استفاده نمود (Moshtaghi and Bonyadian, 2007).

با توجه به مطالب ذکر شده و اهمیت این گیاه در صنایع غذایی از جمله کارخانجات تولیدکننده آدامس، آبنبات، شکلات، بستنی و انواع سس‌ها تصمیم گرفته شد تا در این کار تحقیقاتی فعالیت ضد میکروبی نعناع فلفلی با بنزوات سدیم که یک نگهدارنده شیمیایی مجاز است، مقایسه گردد.

بنزوات سدیم در نوشابه‌های گازدار و تقطیر شده، شربت‌ها، سالادهای میوه، پوشش‌های شکر و سفیده تخم مرغ روی شیرینی‌ها، مرباها، ژله‌ها، ترشی‌ها، مارگارین شور، قیمه آمیخته با کشمش، ترشی‌خیار و سبزی و چاشنی‌ها، چای، نان روغنی، سالادهای آماده، کوکتل‌های میوه، انواع سس‌ها، سس گوجه فرنگی، خمیردنдан و لوسيون‌های آرایشی در محدوده ۰/۰۵٪ تا ۰/۱٪ استفاده می‌شود (Daescu *et al.*, 1986).

شد. سپس مقدار ۵/۰ میلی لیتر محیط کشت استریل Nutrient Broth توسط پیپت پاستور به داخل آمپول تخلیه، و با سر سوزن به هم زده شد، سپس سوسپانسیون میکروبی را درون ظرف حاوی محیط کشت استریل ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد و سپس در محیط ۳۷ درجه سانتی گراد چهار منطقه ای Nutrient Agar به روش خطی چهار منطقه ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد.

#### - تهیه رقت های مورد نظر از اسانس

با توجه به عدم حلالیت اسانس ها در محیط کشت محتوی آب لازم است به کمک حلال آلی مناسب اسانس را در محیط کشت ثابت و یکنواخت نمود. به این منظور از حلال آلی اتائل استفاده شد. اسانس استخراج شده، در اتائل مطلق رقیق شده، غلظت های ۱۰۰۰ ppm، ۵۰۰، ۴۰۰، ۳۰۰، ۲۵۰، ۲۰۰، ۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰ از آن تهیه شده و به محیط کشت

Muller – Hinton Agar خوبی در تمام قسمت های محیط کشت یکنواخت شد. لازم به توضیح است که به علت فرار بودن اسانس ها پس از سرد شدن و بستن محیط های کشت حاوی اسانس بلا فاصله عمل تلقیح میکرو ارگانیسم مورد نظر صورت گرفت. یک نمونه شاهد نیز تهیه شد که تنها حاوی حلال بود، تا خاصیت ضد میکروبی حلال بررسی شود. زیرا حلال مورد استفاده نباید هیچ خاصیت ضد میکروبی داشته باشد.

- تهیه رقت های مورد نظر از بنزوات سدیم  
بنزوات سدیم دارای فرمول شیمیایی و جرم مولکولی ۱۴۴/۱۱ می باشد.

همچنین مشخصات شیمیایی آن عبارتند از:  
Merck NO. 8527 , chemical abstract code: [532 – 32 – 1]

دانستیه آن نیز برابر با  $1/۴۴ \text{ gr/cm}^3$  بود. این ماده به صورت پودر سفید می باشد، لذا برای حلالیت بهتر در محیط کشت با استفاده از آب مقطر استریل از آن رقت های مختلفی تهیه کرده و سپس به محیط کشت اضافه می شود. بنابراین بنزوات سدیم پودری شکل در آب مقطر

#### مواد و روش ها

##### - تهیه و شناسایی گیاه

گیاه L. *Mentha piperita* از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه گردید و در دانشکده دارو سازی دانشگاه تهران شناسایی و تعیین نام علمی گردید. گیاه پس از جمع آوری در سایه خشک گردید.

#### - روش استخراج و آنالیز ترکیبات سازنده اسانس

در هر بار اسانس گیری حدود ۲۰۰ گرم از برگ و سرشاخه های خشک گیاه نعناع فلفلی به صورت آسیاب شده در بالن ۲ لیتری دستگاه کلونجر ریخته شد و مقداری آب که سه تا شش برابر وزن گیاه بود، برای نرم شدن بافت های گیاه به آن اضافه گردید. سپس اسانس موجود در گیاه با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۵ ساعت استخراج شد. اسانس تقطیر شده پس از آبگیری با سولفات سدیم انیدرید، درون شیشه های رنگی کوچک جمع آوری گردید. شناسایی ترکیبات سازنده اسانس با استفاده از کروماتوگراف GC/MS (مدل Hewlet Packard 6890) با ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی لیتر کوبل شده با طیف سنجی جرمی (مدل HP 5973) انجام شد. دمای ستون با سرعت ۶ درجه در دقیقه از ۶۰ به ۲۲۰ درجه سانتی گراد رسید. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۱ ml/min طیف سنجی جرمی ۷۰ الکترون ولت بود. نوع و میزان هر یک از ترکیبات سازنده اسانس پس از تجزیه و تحلیل کروماتوگرام ها مشخص گردید.

#### - روش بررسی خواص ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی

##### - تهیه میکرو ارگانیسم های فعال

بدین منظور سویه های استاندارد میکروبی *Escherichia coli* (PTCC 1330) *Bacillus subtilis* (PTCC 1254) *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622) از آزمایشگاه مرکزی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران به صورت لیو فلیزه تهیه شد.

آمپول حاوی میکروب ها با اختیاط کامل در شرایط استریل و در زیر هود لامینار ایرفلو شکسته

، Menthol٪/۵۷، اسانس غالب اسانس٪/۲۶، Menthone٪/۱۴، Carvone٪/۱۴، Neomenthol٪/۸۵ و ۱,8-Cineole٪/۶، ۶٪/۴۴ تعیین گردید.

- بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس بر اساس نتایج حاصل از MIC برای ۳ میکروارگانیسم مذکور برای اسانس نعناع فلفلی، یک روند نزولی در رشد لکه های باکتری با افزایش غلظت مقدار اسانس مصرفی دیده شد. در غلظت ۱۰۰۰ ppm هیچ رشدی از میکروبها مشاهده نشد. بنابراین MIC اسانس نعناع فلفلی ۱۰۰۰ ppm تعیین گردید. بر روی پلیت شاهد نیز هر ۳ میکروارگانیسم رشد کرده بودند، که نشان دهنده عدم خاصیت ضد میکروبی حلال مورد استفاده است.

- بررسی اثرات ضد میکروبی بنزوات سدیم نتایج نشان داد که در غلظت ۱۰۰۰ ppm نیز رشد باکتری ها دیده شد لذا برای تعیین MIC رقت های تازه ای از بنزوات سدیم تهیه گردید. نتایج نشان داد که اثر بنزوات سدیم روی سه باکتری مورد نظر یکسان نبود. برای باکتری *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622) غلظت های ۳۰۰۰ ppm و ۳۵۰۰ ppm ۴۰۰۰ هیچ رشدی مشاهده نشد. بدین ترتیب MIC برای این باکتری ۳۰۰۰ ppm تعیین شد.

برای باکتری های *E. coli* (PTCC 1330)، *Bacillus subtilis* (PTCC 1622) غلظت های ۳۵۰۰ ppm و ۴۰۰۰ ppm هیچ رشدی مشاهده نشد. بدین ترتیب MIC برای این دو باکتری ۳۵۰۰ ppm تعیین گردید.

## بحث

### - بررسی اسانس

نتیجه به دست آمده از بازده اسانس نعناع فلفلی حاصل از روش HD برابر با ۱/۲۴ درصد بود که با مطالعات یزدانی و همکاران (۱۳۸۱) که به مقایسه میزان اسانس موجود در نعناع فلفلی کاشته شده در مناطق مختلف کشور پرداختند، مطابقت داشت. طبق

استریل رقيق شده، غلظت های ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰، ۳۰۰۰، ۳۵۰۰ ppm از آن تهیه شده و به محیط کشت - Muller Hinton Agar انتقال یافته و به خوبی در تمام قسمت های محیط کشت یکنواخت شد. پس از بستن محیط های کشت حاوی بنزوات سدیم بالافاصله عمل تلقیح میکروارگانیسم مورد نظر صورت گرفت.

- تهیه سوسپانسون های میکروبی و تلقیح میکروارگانیسم ها به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی در مجاور شعله تعدادی کلی از کشت های تازه و فعال باکتری برداشته و به سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد به طوری که کدورت حاصله (جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر در مقابل بلانک سرم فیزیولوژی) برابر با استاندارد نیم مک فارلند گردید.

از رقت ۱۰ از این سوسپانسیون که حاوی ۱۰<sup>۶</sup> سلول باکتری در هر میلی لیتر می باشد ۳ میکرولیتر به محیط های کشت حاوی اسانس تلقیح شد (۲ لکه ۳ میکرولیتری) پس از تلقیح میکروارگانیسم های مورد نظر، محیط های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی گراد گرماخانه گذاری شدند تا اسانس استخراج شده و بنزوات سدیم از نظر خاصیت ضد میکروبی مورد مقایسه قرار گیرند (Deans *et al.*, 1997) در ۴ تکرار انجام گرفت.

## یافته ها

### - بررسی اسانس

اسانس حاصل از برگ و سرشاخه های گیاه نعناع فلفلی به رنگ زرد و دارای بویی نافذ بود. بازده اسانس حاصله که با روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر به دست آمده است، ۱/۲۴ درصد بود. اجزای اسانس به وسیله GC/MS شناسایی شدند. ۳۱ ترکیب از اجزای متشکله این روغن اسانسی، شناسایی گردیدند.

جدول ۱ ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در روغن اسانسی گیاه *Mentha piperita* L. را با روش تقطیر با آب نشان می دهد.

جدول ۱- درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *Mentha piperita L.* با روش HD

| ترکیبات               | درصد    | اندیس بازداری کواتس (KI) |
|-----------------------|---------|--------------------------|
| alpha-pinene          | • / ۶۸  | ۹۳۹                      |
| beta-pinene           | • / ۹۶  | ۹۷۹                      |
| Limonene              | ۲ / ۲۲  | ۱۰۲۹                     |
| 1,8-cineole           | ۶ / ۶۴  | ۱۰۳۱                     |
| sabinene              | • / ۴   | ۹۷۵                      |
| alpha-Terpinene       | • / ۲۸  | ۱۰۱۷                     |
| gamma-Terpinene       | • / ۴۴  | ۱۰۶۰                     |
| Neoiso-Menthol        | ۱ / ۲۸  | ۱۱۸۷                     |
| Menthol               | ۲۶ / ۵۷ | ۱۱۷۲                     |
| cis-Dihydrocarvone    | ۲ / ۱۳  | ۱۱۹۳                     |
| pipertone             | • / ۳۱  | ۱۲۵۳                     |
| Carvone               | ۱۶ / ۱۴ | ۱۲۴۳                     |
| acetate Menthyl       | ۳ / ۶۲  | ۱۲۹۵                     |
| beta-Bourbonene       | • / ۵   | ۱۳۸۸                     |
| beta-Caryophyllene    | ۱ / ۹۷  | ۱۴۱۹                     |
| Germacrene-D          | ۱ / ۸۸  | ۱۴۸۵                     |
| Bicyclogermacrene     | • / ۴۲  | ۱۵۰۰                     |
| viridiflorol          | • / ۷۶  | ۱۵۹۳                     |
| cis-sabinenehydrate   | • / ۴۲  | ۱۰۷۰                     |
| Menthone              | ۱۴ / ۱  | ۱۱۵۳                     |
| pulegone              | • / ۴۹  | ۱۲۳۷                     |
| alpha-Humulene        | • / ۲۳  | ۱۴۵۵                     |
| trans-sabinenehydrate | ۲ / ۰۵  | ۱۰۹۸                     |
| Neodihydrocarveol     | ۲ / ۰۷  | ۱۱۹۴                     |
| beta-Myrcene          | • / ۲   | ۹۹۱                      |
| Neomenthol            | ۵ / ۸۵  | ۱۱۶۶                     |
| beta-Farnesene        | • / ۹۴  | ۱۴۵۷                     |
| para-Cymene           | ۱ / ۲۹  | ۱۰۲۵                     |
| Terpinene-4-ol        | ۲ / ۷۶  | ۱۱۷۷                     |
| Iso-Menthylacetate    | ۱ / ۹۷  | ۱۱۶۶                     |
| Isomenthone           | • / ۵۲  | ۱۱۶۳                     |

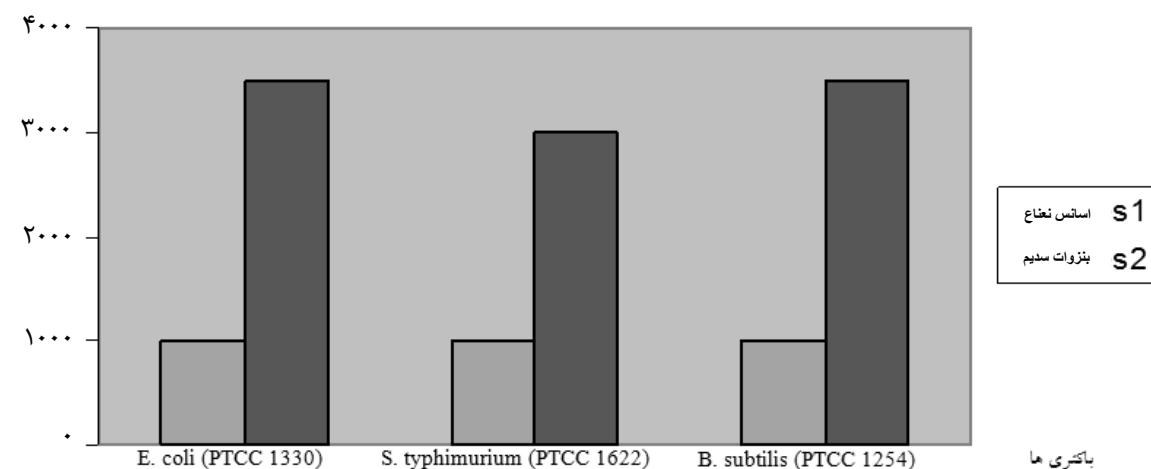
داد که اسانس گیاه *Mentha piperita* L. هم دارای خاصیت ضد میکروبی قوی علیه میکروکوکوس فلاووس و شگیلا بوده و هم دارای خاصیت آنتیاکسیدانی بود.

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد میکروبی بنزووات سدیم با مطالعات غروی و همکاران (۱۳۸۱) که به بررسی فعالیت ضد میکروبی بنزووات سدیم بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس اژوژینوزا پرداختند، مطابقت داشت. نمودار ۱ مقایسه MIC اسانس نعناع فلفلی و بنزووات سدیم را نشان می‌دهد.

نتایج نشان می‌دهند که اسانس نعناع فلفلی اثر یکسانی بر روی باکتری‌های گرم مثبت (*Bacillus* (*E. coli*, *Salmonella*) و گرم منفی (*subtilis*) (*typhimurium*) دارد.

اما بنزووات سدیم روی باکتری‌های *E. coli* (گرم منفی) و *Bacillus subtilis* (گرم مشبت) اثر مشابهی داشته و MIC آن بر روی این دو باکتری *Salmonella* MIC یکسان است، ولی *typhimurium* کمتر است که نشانه فعالیت ضدبacterی بیشتر *Salmonella typhimurium* است. بنزووات سدیم بر روی *typhimurium* نمونه‌ای از رشد باکتری در پلیت حاوی رقت ۵۰۰ ppm و عدم رشد باکتری در پلیت حاوی رقت

MIC(ppm)



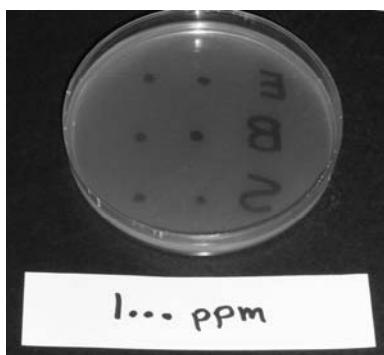
نمودار ۱- مقایسه MIC اسانس نعناع فلفلی و بنزووات سدیم (Minimum inhibitory Concentration) MIC اسانس نعناع فلفلی و بنزووات سدیم ppm کمترین غلظت بازدارندگی بر حسب

بررسی یزدانی و همکاران (۱۳۸۱) درصد اسانس نعناع فلفلی کاشته شده در مناطق مختلف کشور ۱/۱۵ تا ۳/۲ درصد متغیر است که این مقدار تحت تأثیر فاکتورهای مختلف محیطی از جمله آب و هوا، خاک، ارتفاع محل رویش گیاه و طول مدت روشنایی، بود. نتیجه مشابهی توسط زمانی زاده و همکاران (۱۳۷۹) به دست آمد، در این پژوهش اسانس نعناع فلفلی را با روش HD استخراج کردند که بازده اسانس حاصله از این گیاه ۱/۲ درصد بود.

#### - بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس و بنزووات سدیم

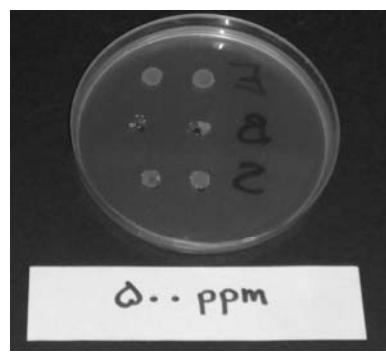
نتایج تحقیقات سایر محققان نیز اثر ضد میکروبی قوی گیاه نعناع فلفلی را تأیید می‌نماید. طبق بررسی های Ozguven و همکاران (1998) بر روی فعالیت ضد میکروبی اسانس گونه‌های نعناع، *Mentha piperita* L. گیاه *Enterococcus* مشخص شد که اسانس گیاه *Staphylococcus aureus*, *E. coli faecalis* داشت. مطالعات Aridoğan و همکاران (2002) نیز نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی قوی اسانس نعناع فلفلی علیه استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی بود.

نتایج مشابهی توسط Mimica- (2003) و همکاران به دست آمد و این مطالعه نشان Dukić



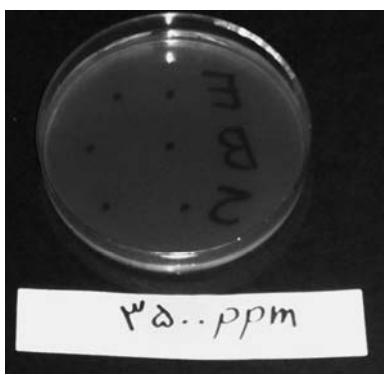
شکل ۲- تصویر عدم رشد باکتری‌ها بر روی محیط کشت حاوی اسانس نعناع فلفلی

E: *E.coli* (PTCC 1330), B: *Bacillus subtilis* (PTCC 1254), S: *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622)



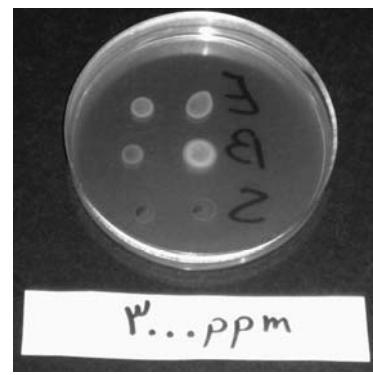
شکل ۱- تصویر رشد باکتری‌ها بر روی محیط کشت حاوی اسانس نعناع فلفلی

E: *E.coli* (PTCC 1330), B: *Bacillus subtilis* (PTCC 1254), S: *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622)



شکل ۴- تصویر عدم رشد باکتری‌ها بر روی محیط کشت حاوی بنزوآت سدیم

E: *E.coli* (PTCC 1330), B: *Bacillus subtilis* (PTCC 1254), S: *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622)



شکل ۳- تصویر رشد باکتری‌ها بر روی محیط کشت حاوی بنزوآت سدیم

E: *E.coli* (PTCC 1330), B: *Bacillus subtilis* (PTCC 1254), S: *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622)

ویژه در مواد غذایی مانند سس‌ها) را دارا می‌باشد. نتایج حاصل با نتایج Moreira و همکاران (2005) که به بررسی اثر اسانس‌ها به عنوان عوامل ضد میکروبی جهت کاهش پاتogen‌های غذایی پرداخته‌اند، مطابقت داشت. طبق بررسی Moreira و همکاران اسانس گیاه *Mentha piperita* L. دارای خاصیت باکتری‌کشی خوبی بوده و به عنوان نگهدارنده غذایی قابل مصرف بود. نتیجه مشابهی توسط Moshtaghi و Bonyadian در این پژوهش اثر اسانس نعناع فلفلی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر فتا بررسی شد و نتایج نشان داد که از این گیاه می‌توان به عنوان نگهدارنده غذایی استفاده کرد. اما محدودیت‌هایی نیز وجود دارد. در حالی که

۱۰۰۰ ppm برای اسانس نعناع فلفلی در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

نمونه‌ای از رشد باکتری در پلیت حاوی رقت ۳۰۰۰ ppm و عدم رشد باکتری در پلیت حاوی رقت ۳۵۰۰ ppm برای بنزوآت سدیم در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است.

### نتیجه‌گیری

مقادیر مربوط به MIC نشان می‌دهد که اسانس گیاه *Mentha piperita* L. خاصیت ضد میکروبی قوی تری نسبت به بنزوآت سدیم که به عنوان نگهدارنده در صنایع غذایی استفاده می‌شود، دارد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این گیاه قابلیت استفاده در صنایع غذایی به عنوان نگهدارنده (به

(۱۳۸۱). مقایسه اثر محافظتی سدیم متیل پارابن و بنزووات سدیم علیه استافیلولوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس اثروژینوزا در سوسپانسیون خوارکی آموکسی سیلین. مجله علمی پژوهشی اهواز، شماره ۳۵، صفحات ۱-۸.

میر حیدر، ح. (۱۳۷۷). معارف گیاهی (کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری)، جلد اول. نشر فرهنگ اسلامی. صفحات ۲۸۵-۲۹۵.

هی، ر. و واترمن، پ. (۱۳۷۹). گیاهان انسان دار (گیاه‌شناسی، فیزیولوژی، شیمی، ژنتیک، بیوتکنولوژی، تجارت جهانی). ترجمه: بقالیان، کامبیز. نشر اندرز. صفحات ۲۱-۲۹.

بیزدانی، د. جمشیدی، اح. و مجتب، ف. (۱۳۸۱). مقایسه میزان اسانس و متنول موجود در نعناع فلفلی کاشته شده در مناطق مختلف کشور. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۳، صفحات ۷۳-۷۸.

Aridogan, B. C., Baydar, H., Kaya, S., ODemirci, M., Ozbasar, D. & Mumcu, E. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Archives of Pharmacal Research, 25, 860-864.

Daescu, A., Constantin, D., Crisan, R., Iodchim, A., Mate, S. & Iosif, D. (1986). Manufacture of sodium benzoate. Rom Ro 90, 296-328.

Deans, S. G. & Ritchie, G. (1997). Antimicrobial properties of plant essential oils. International Journal of Food Microbiology, 5, 165-180.

Işcan, G., Kirimer, N., Kurkcuoğlu, M., Başer, K. H. C. & Demirci, F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 3943-3946.

Mimica-Dukić, N., Božin, B., Soković, M., Mihajlović, B. & Matavulj, M. (2003). Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha species* essential oils. Planta Medica, 69, 413-419.

Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E. & Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT - Food Science and Technology, 38, 565-570.

Moshtaghi, H. & Bonyadian, M. (2007). The effects of some Herb's essential oils on *S. aureus* in feta cheese. Journal of Medicinal Plants, 6, 19-25, 68.

Ozguven, M., Kirici, S., Yaman, A., Aksungur, P. & Gur, A. (1998). Antimicrobial activity of essential oil of wild *Mentha species* growing in Southern-Turkey. Pharmaceutical and Pharmacological Letters, 8, 164-166.

خیلی از غذاها فاز آبی دارند، روغن‌های انسانی و ترکیبات آن‌ها هیدروفوبیک هستند، بنابراین وقتی در سیستم‌های غذایی از آن‌ها استفاده می‌شود اثر کم‌تری نسبت به زمانی که از آن‌ها در محیط کشت آزمایشگاه استفاده می‌شود، دارند. چون این روغن‌ها اساساً ترکیبات هیدروفوبیک هستند، استفاده از آن‌ها به عنوان نگهدارنده محدود به تولیدات غذایی چرب می‌شود.

به دلیل این که میکرووارگانیسم‌ها در فاز آبی سیستم‌های غذایی قرار دارند، سرعت انتقال جرم ترکیبات فعال به میکرووارگانیسم‌ها کم است و گفته می‌شود که این مسئله دلیلی برای فعالیت پایین این ترکیبات در مواد غذایی می‌باشد و می‌تواند کاربرد مؤثر اسانس را در غذا محدود کند.

در هر حال، به دلایلی که ذکر شد، غلظت‌های بالاتری از اسانس‌ها نسبت به مقدار اسانس مصرفی در محیط کشت لازم است تا مانع رشد میکرووارگانیسم‌های پاتوژن در مواد غذایی شوند. غلظت‌های بالای اسانس در مواد غذایی باعث کاهش مقبولیت غذا از لحاظ طعم و مزه می‌شوند و یک عامل محدود کننده مهم در سر راه استفاده از اسانس به عنوان آنتی‌میکروبیال می‌باشد.

بنابراین تلاش‌هایی برای یافتن روش‌های جدیدی که باعث کاهش مقدار اسانس مصرفی لازم به گونه‌ای که هم خواص ضدمیکروبی آن‌ها حفظ شود، هم طعم و مزه غذا مطلوب باشد صورت گرفته است. از جمله‌ی آن‌ها استفاده از پایدارکننده‌ها، انکپسوله کردن روغن‌های اسانسی و استفاده از اثر سینرژیستی مخلوط اسانس و ترکیبات آن‌ها در بازداری از رشد میکرووارگانیسم‌ها می‌باشد.

## منابع

- زرگری، ع. (۱۳۷۲). گیاهان دارویی، جلد چهارم. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۱۳-۵.
- زمانی‌زاده، ن. وطن‌دوست، ح. و حاجی‌آخوندی، ع. (۱۳۷۹). استخراج و شناسایی و بررسی شیمیایی و بیولوژیکی اسانس *Mentha piperita*, *Mentha spicata* پایان‌نامه دکتری داروسازی. دانشگاه علوم پزشکی تهران.
- غروی، م.، کرمانشاهی، ر.ک. و کمالی‌زاده، ع. (۱۳۸۹). زمستان / سال هشتاد / علوم غذایی و تغذیه / زمستان

## Evaluation of Antimicrobial Activity of *Mentha piperita* L. Essential Oil and Its Comparison with Sodium Benzoate

S. Fadaei <sup>a\*</sup>, P. Aberoomand Azar <sup>b</sup>, A. Sharifan <sup>c</sup>, K. Larijani <sup>b</sup>

<sup>a</sup> M. Sc. Student of Food Science & Technology, Science and Research Branch ,Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>b</sup> Academic Member of Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>c</sup> Assistant Professor of the College of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 29 September 2009

Accepted: 9 February 2010

### Abstract

**Introduction:** Belonging to the family of *Lamiaceae*, peppermint (*Mentha Piperita* L.) is a therapeutic and aromatic herb whose extract has various applications in food, cosmetic, hygienic and pharmaceutical industries.

**Materials and Methods:** The level of minimum inhibitory concentration (MIC) of *Mentha piperita* L. essential oil and a chemical preservative used in food industries (Sodium Benzoate) were determined against three microorganisms *E. coli* (PTCC 1330), *Bacillus subtilis* (PTCC 1254) and *Salmonella typhinurium* (PTCC 1622).

**Results:** The results showed that MIC of *Mentha piperita* L. essential oil for the above microorganisms is 1000 ppm, while MIC of Sodium Benzoate on *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622) is 3000 ppm and on the other two , *E. coli* (PTCC 1330) and *Bacillus subtilis* (PTCC 1254)) is 3500 ppm,

**Conclusion:** Considering the results it was concluded that the essential oil of peppermint has stronger antimicrobial activity as compared to Sodium Benzoate.

**Keywords:** Essential oil, *Mentha piperita* L., Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Sodium Benzoate.