ترکیب شیمیایی و غلظت ترکیبات اسانس حاصل از گیاه نعناع و تأثیر آن بر سه سوش *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus rhamnosus*

دکتر زهرا گلستان‌نژاد[۱]، هژیر یوسف‌شاهی[*]، آزاده افشاری[۲]، دکتر مونا بزاززاده[۳]

چکیده

مقدمه: پوسیدگی دندانی یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در جهان است. باکتری‌های مختلفی در ایجاد و پیش‌برد این ضایعه نقش دارند که لاکتوباسیل‌ها از آن جمله می‌باشند. هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر اسانس گیاه نعناع (Menthaspicata) بر سه سوش *Lactobacillus casei(PTCC 1608)*، *Lactobacillus plantarum (PTCC 1058)* و *Lactobacillus rhamnosus (PTCC 1637)* بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی هم‌گروهی آزمایشگاهی، تهیه‌ی اسانس نعناع به‌وسیله‌ی دستگاه Clevenger type و به روش تقطیر با آب (Hydro distillation) انجام شد. جهت بررسی ترکیب شیمیایی آنالیزهای کروماتوگرافی گازی به‌همراه طیف سنجی جرمی صورت پذیرفت. برای تعیین اثر ضدباکتری اسانس از روش‌های Dilution of well و انتشار دیسک استفاده شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ به روش One way ANOVA و Tukey آنالیز آماری شد($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: اسانس نعناع بر هر سه سوش مؤثر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) برای هر سه سوش برابر با ۲۲۲ /۵ µg/mL بود. حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای دو سوش *Lactobacillus casei* و *Lactobacillus plantarum* برابر با ۴۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سوش *Lactobacillus rhamnosus* 1637 برابر با ۸۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. برای غلظت‌های پایین‌تر از ۸۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تفاوت معناداری میان میزان هاله عدم رشد (Inhibition zone) برای سه سوش باکتری مشاهده نشد (p value <۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: با توجه به محدودیت‌های این مطالعه، اسانس نعناع دارای خواص ضد باکتری بوده و علیه پاتوژن‌های حفره‌ی دهان مؤثر است. البته مطالعات بیشتر در این زمینه توصیه می‌گردد.

کلید واژه‌ها: گیاه نعناع، اسانس، لاکتوباسیل

* دانشجوی دندان‌پزشکی، کمیته پژوهش‌های دانشجویی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران (مؤلف مسؤول)
h.yshahi@yahoo.com

۱: استادیار، مرکز تحقیقات ایمپلنت‌های دندانی، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲: دانشجوی دندان‌پزشکی، کمیته پژوهش‌های دانشجویی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد، یزد، ایران

۳: استادیار، گروه بیماری‌های دهان،فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد، یزد، ایران

این مقاله در تاریخ ۹۳/۳/۲۰ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۳/۴/۱۰ اصلاح شده و در تاریخ ۹۳/۴/۱۷ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۳؛ ۱۰(۵)؛ ۳۲۲ تا ۳۳۴

Archive of SID

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

مقدمه

از زمان‌های دور تاکنون از گیاهان برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌شده است. در طی تاریخ، ساکنان آسیا، آمریکای جنوبی و آفریقا بیشترین استفاده از گیاهان دارویی را داشته‌اند[۱].

براساس گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی هنوز حدود ۸۰٪ از مردم جهان به درمان‌های سنتی اعتماد دارند[۲]. به‌علاوه امروزه نیز تعداد فراوانی از داروهای مدرن از گیاهان مشتق می‌گردند[۳]. به‌طور مثال، مطالعه‌ی فدایی و همکاران نشان دهنده‌ی اثر ضد باکتریایی اسانس نعناع فلفلی علیه استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی بوده است[۴].

با ظهور داروهای نوین و عوامل ضد میکروبی و استفاده‌ی گسترده از آن‌ها ، مقاومت در میکروارگانیسم‌ها و عوامل بیماری‌زا افزایش یافته است. به دنبال این امر تمایل برای یافتن عناصر طبیعی و استفاده‌ی از گیاهان دارویی بیشتر شده است[۵-۷]. مشتقات گیاهی که خواص ضد میکروبی دارند به شکل‌های مختلفی هم چون اسانس موجود می‌باشند[۸، ۹].

اسانس‌ها و ترکیبات حاصل از آن‌ها علیه میکروارگانیسم‌هایی هم‌چون باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها مؤثر هستند[۱۰]. Ultee و همکاران طی تحقیقاتی دریافتند که اسانس آویشن با تأثیر بر غشای سلولی، تغییر در نفوذپذیری کانال‌های +k+/H و به تبع آن تغییر شیب یونی، منجر به توقف و اختلال عملکردهای سلولی و لیز سلول می‌گردد[۱۱]. در تحقیقاتی دیگر مشخص گردید که اسانس حاصل از درخت چای استرالیایی و نعناع فلفلی روی ویروس HSV مؤثر می‌باشند[۱۲-۱۴].

پوسیدگی دندان شایع‌ترین بیماری مزمن در جهان و یک بیماری عفونی ناشی از کلونیزاسیون باکتری‌ها است، که با دکلسیفیکاسیون بخش غیرآلی دندان شروع شده و با تخریب ماتریکس آلی دنبال می‌شود. دهان‌شویه‌ها به‌عنوان ابزار کمکی و در کنار روش‌های مکانیکی مثل مسواک‌زدن و استفاده‌ی از نخ دندان در کاهش میزان باکتری‌ها نقش دارند[۱۵]. استراتژی‌های دیگری نیز برای کنترل پوسیدگی وجود دارد که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به استفاده‌ی از مواد ضد میکروبی، بهبود دفاع میزبان و جلوگیری از ایجاد بیوفیلم اشاره کرد[۱۶]. به‌طور مثال در مطالعه‌ای که توسط Tsai و همکاران صورت پذیرفت، نتایج نشان دهنده‌ی اثر اسانس اسطوخودوس بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگوئیس و استرپتوکوکوس سوبرنیس بود[۱۷]. Kim و همکاران طی مطالعه‌ای نشان دادند که دهان‌شویه‌های گیاهی در مقایسه با دهان‌شویه‌های کلرهگزیدین و لیسترین بر ضد گونه‌های استرپتوکوکوس‌موتانس و استرپتوکوکوس سانگوئیس مؤثرتر هستند[۱۸].

در روند پوسیدگی، استرپتوکوکوس موتانس در شروع پوسیدگی و لاکتوباسیل‌ها در ادامه‌ی روند پوسیدگی نقش مهمی دارند[۱۹]. لاکتوباسیل باکتری گرم مثبت بوده که در دهان و در ارتباط با پوسیدگی‌ها یافت می‌گردد. به‌وسیله‌ی تولید اسیدلاکتیک محیط خود را اسیدی نموده و از رشد برخی از گونه‌های دیگر جلوگیری می‌نماید[۲۰]. در مطالعه‌ای که توسط Byun و همکاران بر روی لاکتوباسیل‌های موجود در پوسیدگی‌های دندانی صورت پذیرفت، مشخص گردید که به‌ترتیب *لاکتوباسیل کازه‌ای* (*L. casei*)، لاکتوباسیل رامنوسوس (*L.rhamnosus*)، لاکتوباسیل کرسپاتوس (*L. crispatus*)، لاکتوباسیل‌گاسری (*L.gasseri*)، لاکتوباسیل التونسیس (*L. ultunensis*) و لاکتوباسیل سالیواریس (*L. salivarius*) بیشترین حضور در پوسیدگی‌ها را داشته‌اند[۲۱]. نتایج مطالعه‌ی سرابی و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشانگر اثر مهاری اسانس‌های نعناع فلفلی و کاکوتی بر روی باکتری لاکتوباسیل اسیدوفیلوس بوده است[۲۲]. هم‌چنین نتایج مطالعه‌ی Mkaddem و همکاران نشان داده که اسانس گیاه نعناع بر باکتری‌هایی هم‌چون اشریشیاکلی اثر مهاری دارد[۲۳].

همان‌گونه که پیش‌تر بیان شد، گیاه نعناع که دارای ترکیبات آنتی‌باکتریال مختلف از جمله پولگون و منتون است می‌تواند بر باکتری‌هایی هم‌چون لاکتوباسیل که در پیشرفت پوسیدگی نقشی کلیدی دارد، اثر مهاری داشته باشد. با توجه به ترکیبات مختلف و غلظت متفاوت این ترکیبات در گیاه نعناع بر اساس عواملی چون محل رویش و زمان برداشت، بررسی انواع مختلف این گیاه می‌تواند در جهت یافتن ترکیبات جدید برای جلوگیری از پیشرفت پوسیدگی کمک‌کننده باشد. بدین منظور این مطالعه با هدف بررسی ترکیب اسانس menthe spicata و اثرات آن برسه سوش لاکتوباسیل‌کازیی (*PTCC 1608*)، لاکتوباسیل

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

رامنوسوس (*PTCC 1637*) و لاکتوباسیل پلانتاریوم (*PTCC 1058*) که از مهم‌ترین لاکتوباسیل‌ها در روند پوسیدگی هستند، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه‌ی‌حاضر از نوع هم‌گروهی و در محیط In vitro بود و تعیین ترکیبات، غلظت و تأثیر اسانس نعناع بر سه سوش *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus plantarum* به روش زیر انجام گردید.

تهیه‌ی‌گیاه و استخراج اسانس

برای تهیه‌ی اسانس از برگ و ساقه‌ی گیاه تازه چیده شده‌ی نعناع که از استان اصفهان درسال ۱۳۹۲ جمع‌آوری گشته بود، استفاده گردید. سپس گیاه به‌مدت ۳ روز در دمای اتاق خشک شده و پس از آن اسانس ۵۰۰ گرم از گیاه به روش تقطیر با آب، به‌وسیله‌ی دستگاه کلونجر (Clevenger type apparatus) تهیه گردید. عمل آبگیری اسانس به‌وسیله‌ی سولفات سدیم بدون آب (Na2So4) صورت پذیرفت و اسانس حاصل تا زمان مصرف در یک Amber vial بسته شده و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

آنالیز اسانس

برای تهیه‌ی اسانس از برگ و ساقه‌ی گیاه تازه چیده شده‌ی نعناع که از استان اصفهان درسال ۱۳۹۲ جمع‌آوری گشته بود استفاده گردید. سپس گیاه به مدت ۳ روز دردمای اتاق خشک شده و پس از آن اسانس ۵۰۰ گرم از گیاه به روش تقطیر با آب، به‌وسیله‌ی دستگاه کلونجر تهیه گردید. عمل آب‌گیری اسانس به وسیله‌ی سولفات سدیم بدون آب (Na2So4) صورت پذیرفت و اساس حاصل تا زمان مصرف در یک amber vial بسته شده و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

به‌منظور بررسی عناصر فرار موجود در اسانس از دستگاه کروماتوگرافی توام با طیف‌سنجی جری(GC/MS)استفاده گردید. آنالیز کروماتوگرافی گازی (GC) به‌وسیله‌ی دستگاه Agilent 7890A (Agilent company, United States) با ستون‌های HP- 5MS 5% (طول ستون ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵٪ میکرومتر و قطرخارجی ۰/۲۵ میلی‌متر) صورت پذیرفت. گاز هلیوم (با خلوص ۹۹/۹۹۹٪) با سرعت ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه تزریق گردید. دمای اولیه ستون۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و دمای نهایی ستون ۲۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بوده، دما با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت.

میزان جداسازی ((Sepration ratio) ۴۰:۱ تنظیم گردید. دمای محل تزریق۳۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس به‌وسیله‌ی سرنگ همیلتون تزریق گردید.

آنالیز GC/MS به‌وسیله دستگاه Agilent 5975 C (Agilent company, United States) صورت پذیرفت. انرژی یونیزاسیون در طیف سنج جرمی برابر با ۷۰ الکترون ولت بود. طیف‌سنجی بین ۵۰–۵۵۰m/z صورت پذیرفت. IR (Inhibition index) برای همه‌ی‌اجزا به‌وسیله‌ی‌تزریق سرمی‌هایی از n-alkanes (C5-C25) که با شرایط نمونه‌ها تزریق شده بودند محاسبه گردید. شناسایی اجزای اسانس با مقایسه‌ی retention time با retention time استاندارد authentic و هم‌چنین مقایسه‌ی الگوی طیف‌سنجی صورت پذیرفت[۲۴].

آماده سازی باکتری‌ها و محیط دکستروز آگار

گونه‌های باکتریایی از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. *Lactobacillus Casei (PTCC 1608)*، *Lactobacillus plantarum (PTCC 1058)*، *lactobacillus rhamnosus (PTCC 1637)* در این محیط‌های کشت TSB (Tripticase soy Broth) و Agar از شرکت مرک (Merck, Germany) کشت داده شدند.

تعیین هاله‌ی عدم رشد (Inhibition zone)

به‌منظور مطالعه‌ی اثر ضد باکتریایی روش انتشار دیسک (Disk diffusion) مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۱۸ ساعت کشت، مایع حاوی باکتری با غلظت استاندارد (1-ml 1×106CFU) ۰/۵ مک فارلند (MacFarland) در محیط TSB آماده شده با استفاده از sampler ۵۰۰ میکرولیتر از مایع به محیط بلاد آگار (Blood Agar, BA) منتقل شد. مایع به‌آرامی و به کمک یک لوپ استریل روی سطح BA پخش شد.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

دیسک‌های خالی (Blank) به قطر۶ میلی‌متر حاوی۳۰ میکرولیتر اسانس با غلظت‌های ۴۴۵،۵، ۲۵/۸۹۰، ۱۱۱/۲۲۲، ۶۲۵/۵۵، ۸۱۲/۲۷، ۹۰۶/۱۳ و ۹۵۳/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر (µg/mL) روی BA قرار گرفت. یک دیسک حاوی ۳۰ میکرولیتر آب نیز به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. قطر هاله‌ی عدم رشد پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد و در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت.

تعیین حداقل غلظت مهاری Minimum Inhibitory Concentration (MIC) با استفاده از روش dilution of well

در ابتدا به‌منظور تعیین MIC برای سه گونه‌ی لاکتوباسیل سوسپانسیون باکتریایی از کشت مایع با تیرگی ۵٪ مک فارلند تهیه گردید. غلظت اولیه ۸۹۰ میکروگرم به میلی‌لیتر آماده و غلظت‌های مختلف (۶ غلظت)، به لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر مایع Culture medium اضافه شد. MIC اسانس از طریق روش Microwell تعیین گردید. در این مرحله به‌منظور تعیین MIC، ظرف ۹۶ حفره‌ای (Well-plate–۹۶)مورد استفاده قرارگرفت که هر حفره (well) حاوی ۹۵ میکرولیتر TSB و ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی که پس از تهیه رقت‌های اسانس به حفرات اضافه گردید، بود. ۱۰۰ میکرولیتر اسانس با غلظت ۸۹۰ میکروگرم به میکرولیتر به اولین حفره اضافه گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر مایع از حفره‌ی اول برداشته شد و به حفره‌ی بعدی منتقل گردید. این روند برای هر۶ حفره ادامه یافت. آخرین حفره حاوی ۱۹۵میکرولیتر TSB culture medium و ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی بدون هیچ‌گونه اسانسی بود.

این حفره به‌عنوان کنترل منفی لحاظ گردید. در مرحله‌ی بعدی محتویات تمامی حفرات به‌وسیله‌ی Rotary shaker به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط گردید. سپس ظرف به مدت ۲۴ ساعت درانکوباتور با دمای مناسب ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. رشد میکروبی در ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. دراین مطالعه اثر اسانس بر روی هر ۳ سوش به‌صورت جداگانه و در۳ نسخه بررسی شد.

آنالیز آماری

داده‌های پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL)، به روش One way ANOVA آنالیز آماری شد و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی صورت گرفت (α = ۰/۰۵).

یافته‌ها

نتایج حاصل از آنالیز اسانس نعناع در جدول ۱ گزارش شده است. نتایج به‌دست آمده مربوط به حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی Minimum Bactericidal Concentration (MBC) نیز در جدول ۲ ذکر شده است.

جدول ۱. ترکیبات و غلظت‌های آن‌ها در اسانس نعناع

شماره	IR*	ترکیب	درصد
۱	۹۲۷	α-Thujene	۰/۰۳
۲	۹۳۴	α-Pinene	۱/۰۹
۳	۹۵۰	Camphene	۰/۵۶
۴	۹۶۳	Sabinene	۰/۷۴
۵	۹۶۷	β-Pinene	۱/۵۹
۶	۹۹۱	β-Myrcene	۰/۴۱
۷	۹۹۶	3-Octanol	۰/۲۱

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

ادامه جدول ۱

شماره	IR*	ترکیب	درصد
۸	۱۰۱۶	α-Terpinene	۰/۱۲
۹	۱۰۲۴	p-Cymene	۰/۸۳
۱۰	۱۰۲۸	Limonene	۵/۶۶
۱۱	۱۰۳۲	1,8-Cineole	۱۳/۵۳
۱۲	۱۰۵۶	gamma-Terpinene	۰/۵۸
۱۳	۱۰۶۵	*trans*-Sabinene hydrate	۰/۰۶
۱۴	۱۰۸۶	α-Terpinolene	۰/۱
۱۵	۱۰۹۵	Linalool	۰/۳۷
۱۶	۱۱۵۷	Menthone	۰/۲۶
۱۷	۱۱۶۲	Borneol	۸/۱۲
۱۸	۱۱۷۲	Terpinen-4-ol	۰/۴۸
۱۹	۱۱۸۵	α-Terpineol	۳/۲۵
۲۰	۱۱۹۳	Dihydrocarvone	۰/۶۹
۲۱	۱۲۱۷	*trans*-(+)-Carveol	۰/۴۸
۲۲	۱۲۳۵	Pulegone	۳/۲۸
۲۳	۱۲۴۰	(-)-Carvone	۴۶/۹۹
۲۴	۱۲۸۴	Thymol	۰/۶۷
۲۵	۱۲۹۸	Carvacrol	۰/۴۷
۲۶	۱۳۷۸	β-Bourbonene	۰/۱۶
۲۷	۱۴۱۳	β-Caryophyllene	۰/۹۳
۲۸	۱۴۴۶	α-Humulene	۰/۱۶
۲۹	۱۴۷۵	Germacrene-D	۰/۰۹
۳۰	۱۵۸۳	Caryophyllene oxide	۰/۱۶

*IR: Infrared

جدول ۲. حداقل غلظت مهاری(MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس نعناع

سوش باکتریایی	MIC	MBC
Lactobacillus casei	۲۵	۵۰
Lactobacillus plantarum	۲۵	۵۰
Lactobacillus Rhamnosus	۲۵	۱۰۰

MBC: Minimum Bactericidal Concentration MIC: Minimum Inhibitory Concentration

اثر غلظت‌های مختلف نعناع بر ۳ سویه باکتری *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus rhamnosus* در ساعات ۲۴، ۴۸ و ۷۲ مورد بررسی آماری قرار گرفت، نتایج نشان داد که غلظت ۸۹۰ µg/mL و بعد از آن غلظت ۴۴۵ µg/mL کارایی بیشتری نسبت به غلظت‌های پایین تر در هر ۳ باکتری دارد (p value < ۰/۰۱) (جدول ۳).

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

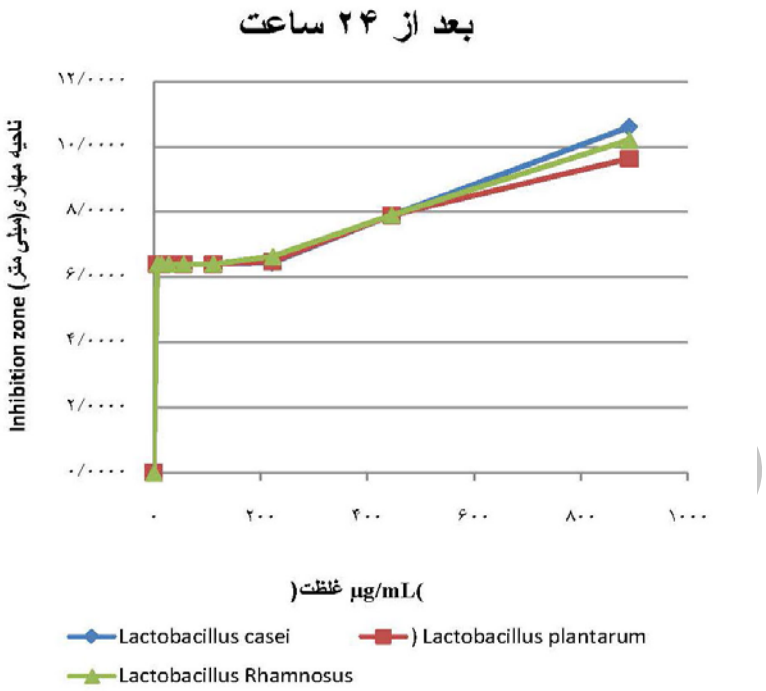
جدول ۳. نتایج حاصل از کشت و مساحت Inhibition zone

غلظت اسانس نعنا µg/mL	Lactobacillus Rhamnosus			Lactobacillus plantarum			Lactobacillus casei		
	میانگین ± انحراف معیار			میانگین ± انحراف معیار			میانگین ± انحراف معیار		
	۷۲	۴۸	۲۴	۷۲	۴۸	۲۴	۷۲	۴۸	۲۴
۶/۹۵۳	۶/۴۰۰±۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰±۰/۰۰۰ ^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}
۱۳/۹۶۰	۶/۴۰۰±۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰±۰/۰۰۰ ^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}
۲۷/۸۱۲	۶/۴۰۶±۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰	۶/۴۰۰±۰/۰۰۰ ^{a}	۶/۴۰۳± ۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۳ ± ۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۳ ± ۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۳ ± ۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۳±۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}
۵۵/۶۲۵	۶/۴۱۶±۰/۰۲۰^{a}	۶/۴۱۰ ± ۰/۰۱۷^{a}	۶/۴۰۳±۰/۰۰۵ ^{a}	۶/۴۰۳± ۰/۰۱۱a	۶/۴۰۳ ± ۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۱۹ ± ۰/۰۲۳^{a}	۶/۴۲۶±۰/۰۲۵^{a}	۶/۴۰۳± ۰/۰۰۵^{a}
۱۱۱/۲۵	۶/۴۳۰±۰/۰۲۰^{a}	۶/۴۲۳ ± ۰/۰۲۳^{a}	۶/۴۰۰±۰/۰۰۰ ^{a}	۶/۴۱۰± ۰/۰۱۰	۶/۴۰۳ ± ۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۰ ± ۰/۰۰۰^{a}	۶/۴۲۶ ± ۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۱۶±۰/۰۰۵^{a}	۶/۴۰۰± ۰/۰۰۰^{a}
۲۲۲/۵	۶/۷۰۶±۰/۴۰۹^{a}	۶/۶۸۰ ± ۰/۴۱۶^{a}	۶/۶۳۳ ± ۰/۴۰۴^{ab}	۶/۵۲۰ ± ۰/۰۱۰^{a}	۶/۵۱۳ ± ۰/۰۱۵^{a}	۶/۴۶۷ ± ۰/۰۳۰^{a}	۶/۷۷۰ ± ۰/۱۰۴^{a}	۶/۴۷۰±۰/۰۴۵^{a}	۶/۴۴۰± ۰/۰۳۶^{a}
۴۴۵	۸/۱۱۶±۰/۷۰۲^{b}	۸/۰۷۳ ± ۰/۷۲۵^{b}	۷/۹۰۰ ± ۰/۷۰۰^{b}	۸/۱۱۰ ± ۰/۶۵۶^{b}	۸/۰۱۶ ± ۰/۶۶۳^{a}	۷/۸۹۶ ± ۰/۷۰۳^{ab}	۸/۴۴۰ ± ۰/۵۸۸^{b}	۸/۲۶۶±۰/۶۴۰^{b}	۷/۹۰۰± ۰/۷۰۰^{b}
۸۹۰	۱۰/۳۷۶±۰/۱۵۰^{c}	۰/۳۲۳±۰/۱۳۵ ^{c}	۱۰/۲۰۶ ± ۰/۱۴۳^{c}	۱۱/۱۶۳ ± ۰/۲۳۴^{c}	۱۰/۰۲۰ ± ۰/۶۸۷^{b}	۹/۶۳۶ ± ۰/۹۳۶^{b}	۱۱/۳۵۳ ± ۰/۰۸۵^{c}	۱۱/۲۹۰± ۰/۰۹۵^{c}	۱۰/۶۰۳± ۰/۴۲۰^{c}

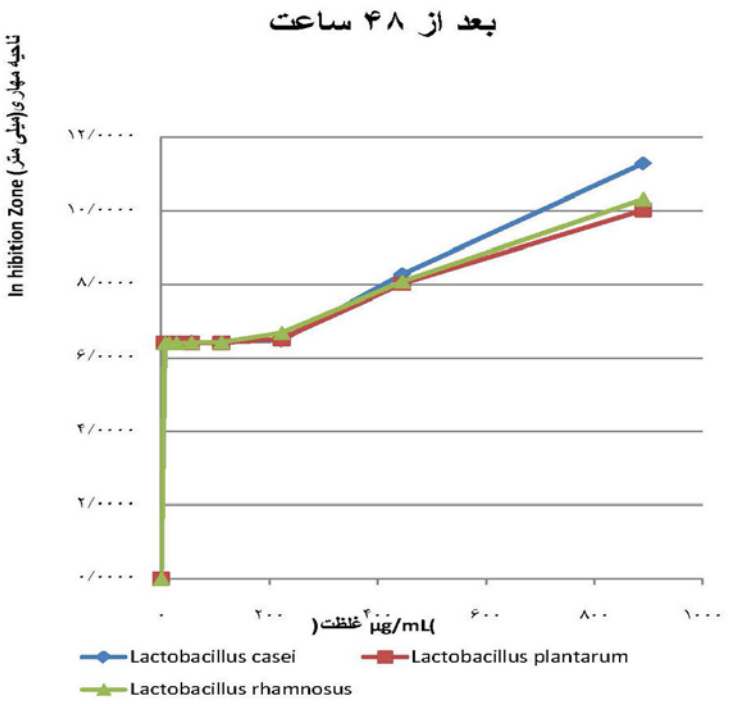
حروف متفاوت درهر ستون نشان از تفاوت معنی‌داری در سطح (p value < ۰/۰۰۱) دارد.

نمودارهای ۱ و ۲ و ۳ با ثابت در نظر گرفتن زمان، به بررسی و مقایسه‌ی میزان تغییرات صورت گرفته در میزان هاله‌ی عدم رشد در اثر تغییر در غلظت، برای ۳ سویه باکتری *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus rhamnosus* پرداخته است. درهر سه نمودار، برای غلظت‌های ۲۲۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمتر از آن شاهد یک روند خطی (با شیب صفر) در میزان افزایش هاله‌ی عدم رشد و از غلظت ۲۲۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به بعد شاهد رشد سریع میزان هاله‌ی عدم رشد مشاهده می‌شود. که این مطلب حاکی از روند رو به رشد میزان اثربخشی نعناع بر هر ۳ سویه باکتری برای غلظت‌های بیشتر از ۲۲۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. در هر سه نمودار برای غلظت‌های پایین‌تر از ۸۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تفاوت معناداری میان میزان هاله‌ی عدم رشد برای سه سویه باکتری مشاهده نمی‌شود ولی برای غلظت از ۸۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر شاهد اثربخشی نسبتاً بیشتر نعناع بر سویه باکتری *Lactobacillus casei* هستیم.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

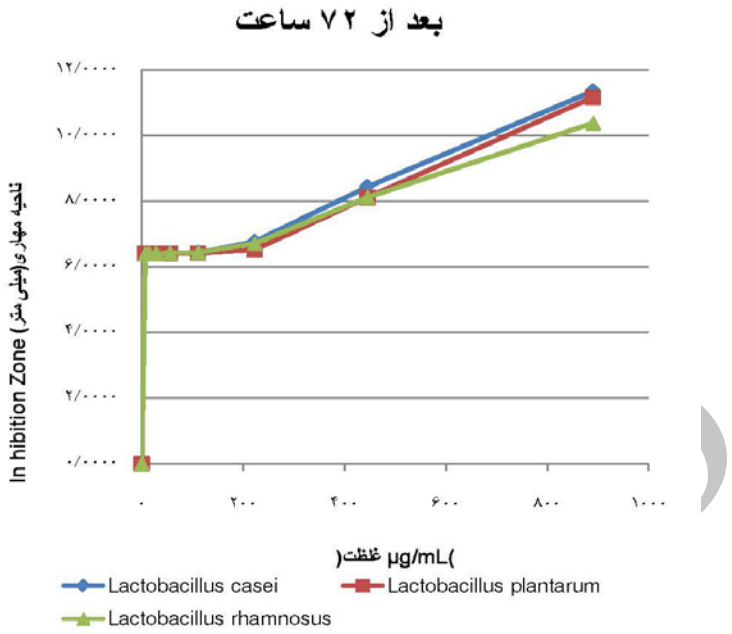


نمودار ۱. مقایسه‌ی تاثیر ضد باکتری غلظت‌های مختلف اسانس نعناع در طی ۲۴ ساعت بر سه سوش *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei*



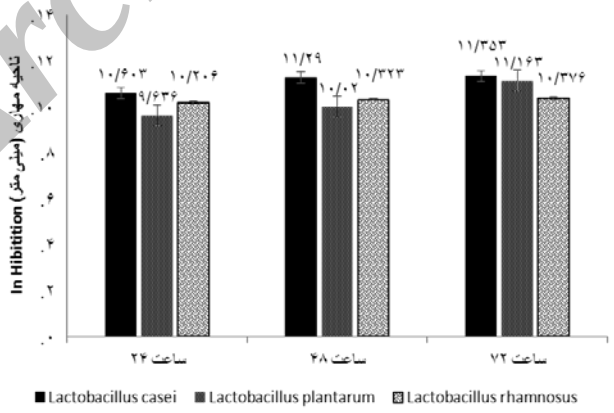
نمودار ۲. مقایسه‌ی تاثیر ضد باکتری غلظت‌های مختلف اسانس نعناع در طی ۴۸ ساعت بر سه سوش *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei*

www.SID.ir
www.mui.ac.ir



نمودار ۳. مقایسه تاثیر ضد باکتری غلظت‌های مختلف اسانس نعناع در طی ۷۲ ساعت بر سه سوش *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei*

نمودار ۴ با ثابت نگه داشتن غلظت (۸۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، به مقایسه‌ی میزان هاله عدم رشد برای ۳ سویه باکتری *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus rhamnosus* تحت زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پرداخته است. براساس این نمودار می‌توان این گونه استنباط نمود که برای غلظت ثابت ۸۹۰ µg/mL تفاوت معناداری بین میزان هاله عدم رشد *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus rhamnosus* برای هر سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ مشاهده نمی‌شود. اما از نگاه ریزبینانه می‌توان اثر غلظت ۸۹۰ µg/mL از نعناع بر سویه باکتری *Lactobacillus casei* را بیشتر دانست.



نمودار ۴. مقایسه‌ی تاثیر غلظت ثابت ۸۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های ۲۴،۴۸ و ۷۲ ساعت بر سه سوش *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei*

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

بحث

در طی دو دهه‌ی اخیر ایجاد مقاومت دارویی و در کنار آن عوارض جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها باعث گردیده تا تلاش‌ها برای یافتن ترکیبات ضد میکروبی به‌خصوص در میان مشتقات گیاهی به‌منظور یافتن ترکیبات جدید افزایش یابد[۲۹-۲۵]. اسانس‌ها یکی از مشتقات گیاهی بوده که علیه پاتوژن‌های دهانی مؤثر می‌باشند[۳۰].

نعناع گیاهی است که علاوه بر معطر بودن خاصیت ضد میکروبی نیز دارد[۳۱].گیاه نعناع از بیش از ۲۵ گونه از جمله mentha spicata ،mentha piperita ،mentha spicata تشکیل شده است[۳۲]. اسانس نعناع دارای ترکیباتی مختلفی هم‌چون پولگون، منتون، پوکلون، آلفاپینن، ترپنولن می‌باشد[۳۳]. نوع و درصد ترکیبات اسانس گیاه نعناع (Mentha spicata) به فاکتورهایی چون شرایط جغرافیایی، شرایط محیطی مانند دما، رطوبت و دوره‌ی نوری مربوط است[۱۱].

در مطالعه‌ای که توسط Mkaddem[۲۳] و همکاران به انجام رسید، اسانس حاصل از گیاه نعناع جمع‌آوری شده از کشور تونس حاوی ۴/۸۷٪ limonen، ۹/۱۴٪ cineole، ۰/۰٪ menthone، ۱/۱۱٪ Pulegone و ٪ ۵۰/۴۷ Carvone بود. در مطالعه‌ای که توسط Chauhan و همکاران صورت پذیرفت، اسانس حاصل از گیاه نعناع جمع‌آوری شده از هیمالیای غربی در هند، حاوی ۹/۵۷٪ limonene، ۱/۹٪ S cineok، ٪ ۷۶/۶۵ Carvone، ۰٪ pulegone بود[۳۴]. در مطالعه‌ای که توسط Abdullah Hussain و همکاران روی گیاه نعناع انجام گرفت، مشخص گردید که غلظت ترکیبات موجود در اسانس گیاهان جمع‌آوری شده از دره‌ی Gil Git در شمال غرب پاکستان در فصول مختلف تا حدودی متفاوت است[۳۲]. نکته‌ی قابل توجه عدم وجود ترکیب آنتی‌باکتریال pulegone در اسانس حاصل از گیاهان در این تحقیق بود. وجود غلظت ۳/۲۸٪ pulegone در اسانس مورد نظر در این مطالعه نکته‌ای قابل توجه بوده که می‌تواند موضوعی برای مطالعات بیشتر به‌منظور یافتن علت وجود این غلظت بالاتر باشد. در مطالعه‌ای که توسط Kizil و Toncer همکاران در زمینه‌ی ارتباط زمان برداشت گیاه نعناع با غلظت ترکیبات اسانس صورت پذیرفت، مشخص گردید که زمان برداشت برغلظت ترکیبات مؤثر است[۳۵]. اما در مطالعه‌ی حاضر آنالیز اسانس حاصل از گیاه نعناع جمع‌آوری شده از استان اصفهان در سال ۱۳۹۲ مقادیر ۵/۶۶٪ برای limonene، ۱۳/۵۳٪ برای S cineone، ۳/۲۸٪ برای Pulegone و ۴۶/۹۹٪ برای Carvone یافت گردید. در مقایسه آنالیز گیاه نعناع مورد آزمایش در این مطالعه با مطالعات قبلی ذکر شده نشان می‌دهد که ترکیب پولگون (Pulegone) در مطالعات قبلی به مقدار ۰ یا حداکثر ۱/۱٪ گزارش شده ولی در مطالعه حاضر غلظت این ترکیب مهم آنتی‌باکتریال ۳/۲۸٪ بوده است. قابل ذکر است که پولگون یکی از قوی‌ترین ترکیبات ضد باکتریال در اسانس نعناع می‌باشد[۳۶].

خاصیت ضد باکتری اسانس نعناع به‌دلیل وجود منتول و کتون‌ها نظیر پوگلون، ایزومنتون، کارون و دهیدروکارون می‌باشد[۳۷]. مشخص شده که با افزایش درصد این ترکیبات در اسانس، میزان فعالیت ضدمیکروبی نیز افزایش می یابد[۳۸].

بر اساس تحقیقات Oumzil و همکاران بر روی عصاره‌ی گیاه Mentha snaveolens مشخص گردید که ترکیب pulegone دارای بیشترین اثر ضد باکتریایی بر روی گونه‌های مورد آزمایش بوده است، هم‌چنین methone که حاصل از واکنش کاهش pulegone است، فعالیت ضدباکتریایی کمتری دارد. ترکیبات limoene و Carvone نیز نسبت به pulegone اثر ضد باکتریایی کمتری (moderate) دارند[۳۶]. این یافته‌ها مشابه نتایج حاصل از تحقیقات Ruth و همکاران در سال ۱۹۹۶ و Flamini و همکاران در سال ۱۹۹۹ بوده است[۴۰، ۳۹].

با توجه به اثرات ضد باکتریایی گیاه نعناع[۳۲] نتایج مطالعه Abdullahlhussain و همکاران نشان داد که اسانس گیاه نعناع در غلظت۲ ± ۲۹٪ در اسانس حاصل از گیاهان برداشت شده در تابستان و زمستان بر روی گونه‌ی *Bacillus subtilis* در محیط آگار اثر مهاری دارد. هم‌چنین MIC در اسانس حاصل از گیاه تابستانی برابر با ۱/۱ ± ۲۵/۴ و در اساس حاصل از گیاه زمستانی برابر با ۱/۱ ± ۲۵/۳ بود[۳۲]. Duarte Moreira و همکاران گزارش نمودند که اسانس نعناع بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی مؤثرتر است[۳۰]. اما در مطالعه‌ی Mkadden و همکاران نیز برای اسانس گیاه نعناع بر علیه گونه‌ی گرم مثبت اشریشیاکلی قطر هاله‌ی عدم رشد ۲۵ میلی‌متر تعیین گردید. اما این اسانس بر روی *klekbsiella*

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

pnemounia که نوعی باکتری گرم مثبت است، بی‌تأثیر بوده که این امر نشان‌گر عدم تأثیر انتخابی این اسانس بر اساس نوع دیواره سلولی (گرم مثبت/ گرم منفی) می‌باشد[۲۳]. مطالعه‌ی حاضر بر روی اثر اسانس نعناع بر سه سوش لاکتوباسیل که گرم مثبت می‌باشد صورت گرفت که نتایج نشان داد اسانس نعناع بر هر سه سوش اثر باکتریو سیدال دارد. در مطالعه‌ای که توسط Badet و همکاران صورت پذیرفت نتایج حاصل نشان‌دهنده‌ی اثر مهاری عسل Manuka در غلظت حداقلی PPM ۲۰۰ بر *Lactobasillus Rhamnous* بود، این در حالی است که نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که اسانس نعناع با غلظت حداقل ۲۲۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر این باکتری اثر مهاری دارد[۴۱]. در مطالعه‌ی Alvino و همکاران نتایج نشان‌دهنده‌ی بی‌تأثیر بودن یکی از ترکیبات گیاه Croton cajucara در غلظت‌های مورد آزمایش بر *Lactobasillus Casei* می‌باشد[۴۲]. هم‌چنین در مطالعه‌ی Seydim و همکاران نتایج نشان دهنده‌ی بی‌تأثیر بودن اسانس رزماری در غلظت‌های مورد آزمایش بر*Lactobasillus plantarum* بود[۴۳]، اما نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد که حداقل غلظت ۲۲۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر این دو باکتری اثر مهاری دارد.

مقایسه‌ی نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر با دو مطالعه‌ی قبل (Seydim و Alvino) نشان دهنده‌ی تأثیر آنتی‌باکتریال بیشتر اسانس نعناع نسبت به دو گیاه رزماری و Croton cajucara بر سوش‌های لاکتوباسیل می‌باشد. ولی با توجه به نبود مقالات مشابه در زمینه‌ی تأثیرات اسانس نعناع بر سوش‌های مورد آزمایش در مطالعه‌ی حاضر، انجام مطالعات بیشتر ضروری به‌نظر می‌رسد. مشخص نبودن سن تقریبی گیاهان جمع‌آوری شده به‌دلیل کمبود افراد آموزش‌دیده و نیز دسترسی مشکل به مناطق رشد این گیاه، از مشکلات عمده‌ی این طرح بود که برطرف ساختن آن‌ها در مطالعات آتی پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌های این مطالعه، اسانس نعناع بر روی سه سوش (*Lactobacillus casei*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus rhamnous*) مورد مطالعه مؤثر است. لازم به ذکر است غلظت و ترکیبات موجود در اسانس نعناع در مناطق مختلف متفاوت است و این تفاوت‌ها ممکن است اثرات ضد باکتریایی را تحت تأثیر قرار دهد.

Archive of SID

References

1. Sarwar M, Attitalla IH, Abdollahi M. A review on the recent advances in pharmacological studies on medicinal plants: Animal studies are done but cinical studies needs completing. Asian J anim vet adv 2011; 6(8): 867-83.
2. Gram H. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. Switzerland: World Health Organization; 1993. p. 13–4.
3. Jones FA. Herbs-useful plants. Their role in history and today. Euro J Gastroenterol Hepatol 1996; 8(12): 1227-31.
4. Fadaei S, Sharifan A, Larijani K. Evaluation of antimicrobial activity of Mentha piperita L. essential oil and its comparison with sodium benzoate. Journal of Food Technology & Nutrition 2011; 2011; 8(1): 34-41.
5. Pesewu GA, Cutler RR, Humber DP. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. J Ethnopharmacol 2008; 116(1): 102-11.
6. Caelli M, Porteous J, Carson CF, Heller R, Riley TV. Tea tree oil as an alternative topical decolonization agent for methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Hosp Infect 2000; 46(3): 236-7.
7. Fani MM, Kohanteb J, Dayaghi M. Inhibitory activity of garlic (Allium sativum) extract on multidrug-resistant Streptococcus mutans. J Indian Soc Pedod Prev Dent 2007; 25(4): 164-8.
8. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4): 564-82.
9. Özkalp B, Özcan MM. Antibacterial activity of several concentrations of sater (Satureja hortensis L.) essential oil on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. World Applied Sciences Journal 2009;6(4):509-14.
10. Stringaro A, Vavala E, Colone M, Pepi F, Mignogna G, Garzoli S, et al. Effects of Mentha suaveolens Essential Oil Alone or in Combination with Other Drugs in Candida albicans. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2014 (2014), Article ID 125904, 9 pages.
11. Ultee A, Kets EP, Smid EJ. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen Bacillus cereus. Appl Environ Microbiol 1999; 65(10): 4606-10.

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

12. Reichling J, Koch C, Stahl-Biskup E, Sojka C, Schnitzler P. Virucidal activity of a beta-triketone-rich essential oil of Leptospermum scoparium (manuka oil) against HSV-1 and HSV-2 in cell culture. Planta Med 2005; 71(12): 1123-7.
13. Schuhmacher A, Reichling J, Schnitzler P. Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. Phytomedicine 2003; 10(6-7): 504-10.
14. Schnitzler P, Schon K, Reichling J. Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. Pharmazie 2001; 56(4): 343-7.
15. Rezaei-Soufi L, Rafieian N, Jazaeri M, Abdolsamadi H, Kasraei SH, Alikhani MU, et al. Comparison of the anti-caries effect of polyphenol extract of green tea with 0.05% fluoride, 0.2% cholorhexidine and fluoride-cholorhexidine, an in vitro study. J Mash Dent Sch 2013; 36(4): 301-8.
16. Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. Trends Microbiol 2003; 11(2): 94-100.
17. Tsai TH, Tsai TH, Chien YC, Lee CW, Tsai PJ. In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. Food Chemistry 2008; 110(4):859-64.
18. Kim J, Gultz J, Dol L. An in vitro investigation of the antimicrobial activity of an herbal mouthrinse. J Clin Dent 1998: 9(2):46-8.
19. Kermanshah H, Hashemi Kamangar S, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinegad M, Karimi M. Comparison of antibacterial effect of Hydroalcoholic Extract of four plants against cariogenic microorganisms by two in vitro methods. J babol univ med sci 2011;13(6): 21-9.
20. Ljungh A, Wadstrom T. Lactobacillus molecular biology: from genomics to probiotics. 1st ed. Norfolk: Caister Academic Press; 2009.
21. Byun R, Nadkarni MA, Chhour KL, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Quantitative analysis of diverse Lactobacillus species present in advanced dental caries. J Clin Microbiol 2004; 42(7): 3128-36.
22. Sarabi-Jamab M, Niazmand R. Effect of essential oil of Mentha piperita and Ziziphora clinopodioides on Lactobacillus acidophilus activity as bioyoghurt starter culture. Am Eur J Agric Environ Sci 2009; 6(2): 129-31.
23. Mkaddem M, Bouajila J, Ennajar M, Lebrihi A, Mathieu F, Romdhane M. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of Mentha (longifolia L. and viridis) essential oils. J Food Sci 2009; 74(7): M358-63.
24. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry: 4th ed. Carol Stream: Allured publishing corporation; 2007.
25. Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Ribner BS, Standiford HC, John JF, Korvick JA, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. Am J Med 1993; 94(3): 313-28.
26. Piddock LJ, Wise R. Mechanisms of resistance to quinolones and clinical perspectives. J Antimicrob Chemother 1989; 23(4): 475-80.
27. Cohen R, de la Rocque F, Boucherat M, Doit C, Bingen E, Geslin P. Treatment failure in otitis media: an analysis. J Chemother 1994; 6 (Suppl 4): 17-22; discussion 3-4.
28. Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science 1994; 264(5157): 375-82.
29. Poole K. Overcoming antimicrobial resistance by targeting resistance mechanisms. J Pharm Pharmacol 2001; 53(3): 283-94.
30. Duarte Moreira RR, Zimmermann Martins G, Teixeira Botelho V, dos Santos LE, Cavaleiro C, Salgueiro L, et al. Composition and activity against oral pathogens of the essential oil of Melampodium divaricatum (Rich.) DC. Chem Biodivers 2014; 11(3): 438-44.
31. Tassou C, Koutsoumanis K, Nychas GJE. Inhibition of Salmonella enteritidis and Staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil. Food Res Int 2000; 33(3): 273-80.
32. Hussain AI, Anwar F, Nigam PS, Ashraf M, Gilani AH. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four Mentha species. J Sci Food Agric 2010; 90(11): 1827-36.
33. Eidi A, Rustaiyan A, Eidi M, Bahramian M. Antiociception effects of ethanolic extract of Mentha piperita leaves in adult mice. Iranian Journal of Biology 2009; 23(4): 613-21.
34. Chauhan SS, Prakash O, Padalia RC, Vivekanand, Pant AK, Mathela CS. Chemical diversity in mentha spicata: antioxidant and potato sprout inhibition activity of its essential oils. Nat Prod Commun 2011; 6(9): 1373-8.
35. Kizil S, Tonçer Ö. Influence of different harvest times on the yield and oil composition of spearmint (Mentha spicata L. var. spicata) J Food Agri Environ 2006: 4(3&4):135-7.
36. Oumzil H, Ghoulami S, Rhajaoui M, Ilidrissi A, Fkih-Tetouani S, Faid M, et al. Antibacterial and antifungal activity of essential oils of Mentha suaveolens. Phytother Res 2002; 16(8): 727-31.
37. Beuchat L, Golden D. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food technol 1998; 43(11): 134-42.
38. Alvandi KR, Sharifan A, Aghazadeh Meshghi M. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. Comprative pathobiology 2010; 7(4): 355-64.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

39. Ruth N, Kalck p, Roques C, Roux I, Michel G. Comparsion of antimicrobial properties of monoterpenes and their carbonylated products. Planta Med 1996; 62(3): 275-7.
40. Flamini G, Cioni P, Puleio R, Morelli L, Pannizi 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.
41. Badet C, Quero F. The in vitro effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria. Anaerobe 2011; 17(1): 19-22.
42. Alviano WS, Alviano DS, Diniz CG, Antoniolli AR, Alviano CS, Farias LM, et al. In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. Archives of Oral Biology 2008; 53(6): 545-52.
43. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Res Int 2006; 39(5): 639-44.

Archive of SID

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

The composition and concentration of Menthe spicata essential oil and its effect on Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum and Lactobacillus rhamnous

Zahra Golestannejad, Hazhir Yousefshahi *, Azadeh Afshari, Mona Bazazzadeh

Abstract

Introduction: *Dental caries is one of the most common diseases all over the world. Several bacteria are involved in this process; one of them is lactobacillus spices. The aim of this study was to evaluate the effect of Mentha spicata essential oil on three spices of Lactobacillus, including Lactobacillus casei (PTCC 1608), Lactobacillus plantarum (PTCC 1058) and Lactobacillus rhamnosus (PTCC 1637).*
Materials and Methods: *In this in vitro cohort study Mentha spicata essential oil was extracted using a Clevenger type apparatus with hydro distillation method. Gas chromatography (GC) in association with GC/MS (mass spectrophotometry) analysis was performed. Disk diffusion and dilution of well methods were used to evaluate the antibacterial effect of the extract. Data were analyzed with one-way ANOVA and post hoc Tukey tests, using SPSS 20 (α=0.05).*
Results: *Mentha spicata essential oil was affected all the three bacterial species. MIC (minimum inhibitory concentration) for all the three species was 222.5 µg/mL. MBCs (minimum bactericidal concentrations) for 1608 and 1058 species and 1637 species were 445 µg/mL and 890 µg/mL, respectively. At concentrations less than 890 µg/mL, no significant differences were observed in inhibition zones between the three species (p value < 0.001).*
Conclusion: *Under the limitations of the present study, Mentha spicata extract had antibacterial properties on oral pathogens. Further studies are recommended in this respect.*

Key words: *Essential oil, Lactobacillus, Mentha spicata*

Received: 10 Jun, 2014 **Accepted:** 8 Jul, 2014

Address: Dental Student, Dental Students Research Center, School Of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Email: h.yshahi@yahoo.com

Citation: Golestannejad Z, Yousefshahi H, Afshari A, Bazazzadeh M. **The composition and concentration of Menthe spicata essential oil and its effect on Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum and Lactobacillus rhamnous**. J Isfahan Dent Sch 2014; 10(5): 322-334.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir