Archive of SID

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه نعناع فلفلی بر تعدادی از سویه‌های میکروبی

زهرا ایزدی [*]
دکتر محمود اثنی‌عشری [**]
دکتر گودرز احمدوند [***]
دکتر پوراندخت داودی [****]
دکتر خسرو پیری [*****]

[*] کارشناس ارشد زراعت، دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت
[**] دکترای علوم باغبانی، دانشیار دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی
[***] دکترای زراعت، استادیار دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت
[****] متخصص بیماری‌های دهان، استادیار دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده دندانپزشکی، گروه بیماری‌های دهان
[*****] دکترای بیوتکنولوژی، استادیار دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی

تاریخ وصول: ۱۳۸۸/۵/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۷/۱۳

مولف مسئول: دکتر محمود اثنی‌عشری
پست الکترونیک: M.esnaashari@Basu.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: نعناع فلفلی، گیاهی علفی، چند ساله و متعلق به خانواده نعناعیان می‌باشد. این گیاه از جمله گیاهان دارویی ارزشمند است که طبق تحقیقات اخیر اثرات مصرف آن در پیشگیری و معالجه سندرم روده تحریک‌پذیربه اثبات رسیده است. گیاه مذکور دارای اثرات ضد التهاب، ضد درد، قاعده‌آور، تب‌بر و ضدعفونی کننده نیز می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی با تعیین قبلی بازده و درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس مورد آزمایش است.

مواد و روش‌ها: این یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی همدان به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه نعناع فلفلی انجام گرفت. استخراج اسانس از اندام‌های هوایی در مرحله گلدهی کامل، با روش تقطیر با آب و به کارگیری دستگاه کلونجر انجام شد. جداسازی و شناسایی ترکیب‌های متشکله اسانس با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی صورت گرفت. خواص ضد باکتریایی اسانس گیاه با استفاده از روش رقت در براث و ول دیفیوژن آگار بر چهار باکتری بیماری‌زا آزمایش شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری تی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که بازده اسانس گیاه مورد مطالعه ۰/۶۹ درصد است که حدود ۵۰ درصد آن را ترکیب ضدعفونی کننده منتول تشکیل داد. اسانس گیاه بیشترین اثر ضد باکتریایی را بر باکتری اشرشیاکلی و کمترین اثر را بر باکتری‌های پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس این گیاه می‌تواند به عنوان یک ماده آنتی‌سپتیک در صنایع داروسازی و غذایی مورد توجه و بررسی بیشتری قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: نعناع فلفلی، اسانس، منتول، اثر ضد باکتریایی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نعناع فلفلی[1]، گیاهی علفی، چند ساله با کرک‌های پراکنده و ریشه کوتاه است. ساقه این گیاه، چهار گوش و به رنگ قرمز مایل به بنفش یا مایل به ارغوانی است و در محل هر یک از گره‌های آن دو برگ متقابل دیده می‌شود(۱). برگ‌های آن بیضی شکل، متقابل، نوک‌تیز، دندانه‌دار، کمی پوشیده از کرک، به درازای ۴ تا ۷ سانتی‌متر و عرض ۲ تا ۳ سانتی‌متر می‌باشد(۲). گل‌های این گیاه نامنظم، اکثراً دو جنس یا هرمافرودیت است که در ماه‌های مرداد و شهریور ظاهر می‌شوند (۳ و۲). این گیاه از جمله گیاهان بسیار مهم دارویی است که مصارف گسترده‌ای در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی دارد. نعناع فلفلی از منطقه مدیترانه منشأ گرفته است و دامنه انتشار وسیعی در ایالت متحده آمریکا و هندوستان دارد(۵ و۴).

طبق تحقیقات اخیر اثرات مصرف آن در پیشگیری و درمان سندرم روده تحریک‌پذیر به اثبات رسیده است، همچنین در درمان بیماری‌های التهابی روده، نارسایی‌های کیسه صفراوی و مشکلات کبدی نیز استفاده می‌شود (۷ و۶). مطابق پژوهش‌های انجام شده عمده‌ترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس نعناع فلفلی را منتول تشکیل می‌دهد. از منتول به عنوان مقوی معده، پایین آوردن دمای بدن در موارد تب، ضد سرفه و استفراغ و ضدعفونی کننده‌ای اثر بخش در التهاب ریه‌ها استفاده می‌شود(۸). منتول در تهیه لیکور، انواع شیرینی، صنایع غذایی، لوازم آرایشی، عطرسازی، تولید خمیر دندان‌ها، دهان شویه‌ها و فرآورده‌های دارویی (قرص مکیدنی آلتادین، قرص روکش‌دار آلیکوم، گرانول پلانتاژل و ژل منتاژل) نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد(۷). همچنین منتول به عنوان یک ترکیب ضدعفونی کننده مهم بوده که دارای اثرات آنتی‌بیوتیکی بسیار مؤثری است (۱۰ و ۹). گزارش‌ها حاکی از آن است که بسیاری از اسانس‌های گیاهی دارای اثر بازدارندگی قابل توجهی بر میکروارگانیزم‌های عامل آلودگی در مواد غذایی هستند (۱۲و۱۱). بنابراین، امروزه با توجه به مقاومت روزافزونی که باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مشتق از میکروارگانیسم‌ها از خود نشان می‌دهند، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان به عنوان ترکیب‌هایی طبیعی که اثرات کشندگی و بازدارندگی بر عوامل بیماری‌زا دارند، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است.

هدف از مطالعه حاضر بررسی دقیق ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس گیاه نعناع فلفلی در شرایط اقلیمی محل انجام تحقیق و آگاهی از میزان منتول و سایر ترکیب‌های موجود در اسانس و خواص ضد باکتریایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۸۸ در گروه بیماری‌های دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد.

1-Mentha piperita L

www.SID.ir

Archive of SID

به منظور تأمین مواد گیاهی مورد نیاز، گیاه نعناع فلفلی از ارتفاع پنج سانتی‌متری سطح زمین و در مرحله گلدهی کامل از مزرعه آموزشی ـ پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینای همدان جمع‌آوری شد و سپس در سایه خشک گردید تا در مرحله بعد عمل اسانس‌گیری انجام پذیرد. عمل اسانس‌گیری سرشاخه‌های گلدار نعناع فلفلی، ۶ مرتبه انجام و در هر مرتبه ۵۰ گرم از گیاهان خشک شده وزن گردید و در شرایط یکسان با استفاده از روش تقطیر با آب و به کارگیری دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت با توجه به دارونامه اروپا اسانس‌گیری انجام گردید. نمونه اسانس‌های به دست آمده جدا و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد و پس از آب‌گیری به وسیله سولفات سدیم خشک و تعیین بازده اسانس، نمونه‌ها با یکدیگر مخلوط گردیدند و نمونه به دست آمده تا هنگام تعیین خواص ضد باکتریایی آن و هم‌چنین تعیین میزان منتول و سایر ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس در ظرف شیشه‌ای تیره و در دمای یخچال نگهداری گردید(۱۳).

قبل از انجام آزمایش‌های مربوط به تعیین خواص ضد باکتریایی، به منظور جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس که دارای خواص ضدعفونی کننده می‌باشند از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده شد. ابتدا نمونه‌های آماده شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و مناسب‌ترین برنامه‌ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس به دست آمد. درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده هر نمونه اسانس محاسبه گردید. سری آلکان‌های نرمال C_8–C_{28} نیز تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس، برای محاسبه شاخص بازداری[1] اجزاء اسانس به دستگاه تزریق شد. شاخص بازداری اجزاء نمونه با استفاده از برنامه رایانه‌ای محاسبه شد. سپس اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌نگار جرمی نیز تزریق شده و طیف جرمی ترکیب‌ها به دست آمد. در نهایت اجزاء اسانس با استفاده از مقایسه طیف‌های جرمی به دست آمده با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه الکترونیک ویلی[2] ۲۰۰۰ موجود در نرم‌افزار لابسولوشن[3] دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی [4] و محاسبه شاخص بازداری استاندارد سری آلکانهای C_8–C_{28} و مقایسه آن‌ها با اعداد استاندارد موجود در مراجع شناسایی شدند(۱۴).

در این تحقیق از گاز کروماتوگراف شیمادزو مدل 9A مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد، استفاده شد. برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۵۰ تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۳ درجه در دقیقه تنظیم شد. نوع آشکارساز FID با دمای ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و از گاز حامل

1-Retention Index (RI)
2-Wiley
3-Labsolution
4-Gas Chromatography Coupled Mass Spectrometry(GC-MS)

www.SID.ir

Archive of SID

هلیم به عنوان گاز حامل با فشار ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع استفاده شد.

جهت آنالیز و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع ستورن[1] مدل ۳۴۰۰ استفاده شد. شرایط آنالیز و مشخصات این دستگاه به این صورت بود؛ ستون DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. گاز حامل هلیم و سرعت حرکت آن ۰/۹ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. دمای منبع یونیزاسیون ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود.

در این تحقیق از چهار سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس[2]، اشرشیاکلی[3]، پسودوموناس آئروژینوزا[4] و سالمونلا تیفی‌موریوم[5] استفاده شد. سویه‌های فوق از مرکز رفرانس بیمارستان بوعلی تهران تهیه گردید، سپس تمام سویه‌ها به وسیله آزمون‌های بیوشیمیایی تعیین هویت نهایی شدند. جهت انجام آزمایش‌های حساسیتی و رسیدن باکتری‌ها به تعداد استاندارد و فاز رشد لگاریتمی، از سویه‌های فوق، سوسپانسیون‌های باکتریایی در محیط مولر ـ هینتون براث تهیه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. انکوباسیون تا زمانی ادامه پیدا کرد که کدورت ناشی از رشد باکتری‌ها با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند یکسان گردد. سپس حجم مشخصی از هر لوله روی محیط جامد کشت داده شد تا تعداد باکتری‌های زنده و فعال در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون‌های فوق مشخص گردید (۱۵).

برای غربالگری و تعیین قطر هاله‌های عدم رشد ناشی از تأثیر اسانس گیاه روی باکتری‌های مورد آزمایش، از روش ول دیفیوژن آگار استفاده شد. برای انجام این آزمایش چهار پلیت حاوی محیط مولر ـ هینتون آگار (قطر ۴ میلی‌متر) در نظر گرفته شد و بر روی هر پلیت ۲ چاهک، هر کدام به حجم ۲۰ میکرولیتر حفر گردید و با حفظ شرایط استاندارد در انجام آزمون‌های حساسیتی، از سوسپانسیون باکتریایی معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند هر سویه به طور جداگانه، به روش کشت سفره‌ای بر روی هر کدام از پلیت‌ها کشت داده شد. سپس حجم ۱۰ میکرولیتر از اسانس حل شده در حلال (۵۰ میکرولیتر اسانس خالص، ۴۹ میکرولیتر الکل اتیلیک ۹۸ درجه و ۱ میکرولیتر توئین ۲۰) در درون یکی از چاهک‌ها و در چاهک‌های دوم به عنوان کنترل ۱۰ میکرولیتر حلال بدون اسانس (۴۹ میکرولیتر الکل اتیلیک و ۱ میکرولیتر توئین ۲۰) ریخته شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد میانگین قطر هاله‌های عدم رشد باکتری در اطراف چاهک‌ها به

1-Saturn
2-Staphylococcus aureus
3-Escherichia coli
4-Pseudomonas aeuroginosa
5-Salmonella typhimurium

www.SID.ir

Archive of SID

طور دقیق برای هر کدام از سویه‌ها اندازه‌گیری شد(۱۶). جهت حصول اطمینان از نتایج به دست آمده برای اسانس مورد نظر، آزمایش‌های بالا برای هر سویه سه بار تکرار شد.

از آنجایی که اسانس گیاهان به تنهایی فرار می‌باشد و حلالیت آن در محیط‌های آبی کم است، بنابراین جهت رفع این نقیصه، ۵۰ میکرولیتر از اسانس گیاه در حلالی حاوی ۴۹ میکرولیتر اتانول ۹۸ درجه و ۱ میکرولیتر توئین ۲۰ حل گردید و برای انجام آزمایش‌های غربالگری و کمی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تعیین حداقل غلظت اسانس که باعث مهار رشد باکتری‌ها[۱] و حداقل غلظتی که باعث مرگ باکتری‌ها[۲] می‌گردد، از اسانس مورد نظر، چهار مجموعه سریال رقتی ۱:۱۰، ۱:۲۰، ۱:۴۰، ۱:۸۰، ۱:۱۶۰، ۱:۳۲۰ و ۱:۶۴۰ در لوله‌های حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط مولر هینتون براث تهیه شد. سپس برای هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش یک سری از سریال‌های رقتی تهیه شده به کار برده شد و به هر کدام از رقت‌ها به ازای هر میلی‌لیتر محیط مایع درون لوله 5×10^5 باکتری فعال اضافه گردید. در کنار هر سریال رقتی از کنترل مثبت (محیط کشت + باکتری + ۱ درصد حلال بدون اسانس) و کنترل منفی (محیط کشت فاقد باکتری) استفاده گردید. در نهایت، لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس نتایج قرائت گردید. برای هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش، آخرین رقتی که در آن هیچ گونه کدورت ناشی از رشد مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت مهار کنندگی در نظر گرفته شد و از تمام لوله‌های بدون کدورت حجم مشخصی روی محیط مولر- هینتون آگار کشت داده شد. آخرین رقتی از اسانس که قادر به مرگ ۹۹/۹ درصد از باکتری‌های زنده اولیه بود به عنوان غلظت کشنده در نظر گرفته شد(۱۷ و۱۵).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزارSPSS[۳] و آزمون آماری تی[۴] تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از غربالگری خواص ضد باکتریایی نشان داد که اسانس گیاه مورد آزمایش بیشترین اثر ضد باکتریایی را بر باکتری اشرشیاکلی و کمترین اثر را بر باکتری‌های پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد(جدول ۱). همچنین در ارزیابی حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی سویه‌های مورد آزمایش، بیشترین غلظت مورد نیاز برای مهار رشد و مرگ باکتری‌ها، مربوط به پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین آن مربوط به اشرشیاکلی بود(جدول ۲).

بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه اسانس، ۲۷ ترکیب از اسانس استخراج شده به وسیله

1-Minimum inhibitory concentration (MIC)
2-Minimum bactericidal concentration (MBC)
3-Statistical Package for Social Sciences
4-T-Test

www.SID.ir

Archive of SID

تقطیر با آب جدا شد که ۹۸/۷ درصد اسانس را شامل گردید. ترکیب‌های منتول (۴۷/۹ درصد) ، منتون (۱۸/۲۸ درصد) و پیپریتون (۶/۰۷ درصد) سه ترکیب عمده اسانس نعناع فلفلی بودند که بخش اعظم اسانس گیاه را ترکیب ضدعفونی کننده منتول تشکیل داد. همچنین میانگین میزان اسانس اندام‌های هوایی گیاه در مرحله گلدهی کامل به روش تقطیر با آب برابر با ۰/۶۹ درصد بود.

بحث و نتیجه‌گیری

کشور ایران از نظر پراکندگی وسیع گیاهان دارویی و هم‌چنین به لحاظ شرایط آب و هوایی، موقعیت جغرافیایی و زمینه رشد این گیاهان از جمله غنی‌ترین مناطق جهان محسوب می‌گردد(۲)، بررسی‌ها روی این گیاهان از نظر خواص ضد باکتریایی آن‌ها زمینه مناسبی را فراهم می‌کند که از نتایج آن‌ها می‌توان جهت جایگزین نمودن داروهایی با منشأ طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده نمود و این امر می‌تواند موجب کاهش مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آن‌ها گردد. همچنین مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، تهدید جدی برای سلامتی انسان‌ها به ویژه افراد با ایمنی ضعیف می‌باشد، لذا نیاز برای یافتن مواد ضد میکروبی ارزان و مؤثر ضروری است. گیاهان دارای اثرات ضد میکروبی با مکانیسم‌های مختلف از آنتی‌بیوتیک‌ها رشد باکتری را مهار می‌کنند و این امر لزوم تحقیقات جامع‌تر در حیطه گیاهان دارویی را ضروری می‌سازد(۱۸). مطالعه حاضر با هدف شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه نعناع فلفلی بر تعدادی از سویه‌های میکروبی انجام گرفت.

جدول ۱: نتایج حاصل از بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه نعناع فلفلی بر سویه‌های مورد آزمایش

متغیر	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)		
سویه	اسانس گیاه	کنترل	سطح معنی‌داری
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۱	۰/۱۸	NS*
پسودوموناس آئروژینوزا	۰/۱۵	۰/۱۳	NS*
اشرشیاکلی	۷	۳/۸	۰/۰۱
سالمونلا تیفی‌موریوم	۶	۴/۹	۰/۰۵

*NS: Not Significant

جدول ۲: مقایسه حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گیاه نعناع فلفلی بر سویه‌های مورد آزمایش

سویه / متغیر	استافیلوکوکوس اورئوس	پسودوموناس آئروژینوزا	اشرشیاکلی	سالمونلا تیفی‌موریوم
حداقل غلظت مهار کنندگی (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)	مقاوم	مقاوم	۰/۳۹	۰/۷۸
حداقل غلظت کشندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	مقاوم	مقاوم	۰/۷۸	۰/۷۸

www.SID.ir

Archive of SID

خواص ضد میکروبی اسانس‌های روغنی و عصاره گیاهان دارویی بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است(۱۹). در پژوهش‌های پیشین نیز اثرهای ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی (۴۵ و ۹۰ درجه) اندام‌های هوایی گیاه ریحان بر شماری از باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفته بود. نتایج این پژوهش‌ها نشان داد که هر دو عصاره مورد آزمایش دارای اثر قابل توجهی بر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد مطالعه هستند، اما عصاره دوم (عصاره اتانولی ۹۰ درجه) دارای اثر قوی‌تری نسبت به عصاره اول (عصاره اتانولی ۴۵ درجه) بود (۲۰).

نجفی و همکاران (۲۰۰۸) خواص ضد میکروبی اسانس سه گیاه نعناع، مریم گلی و مرزه را روی باکتری اشرشیاکلی بررسی کردند که نتایج حاصل نشان داد که گیاه نعناع دارای بالاترین اثر ضد میکروبی بود (۲۱). در بررسی کاپادیا و تالیب[1] (۲۰۰۰) اثر ضد میکروبی اسانس ریحان بر ۶ باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت و از آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، اریترومایسین و کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت استفاده شد و مشخص گردید که اسانس این گیاه بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باکتری‌های گرم منفی سراشیا مارسنس و سوش‌های اشرشیاکلی به شماره‌های ۲۵۹۲۳ و ۱۵۷ دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی در مقایسه با جنتامایسین بود، در حالی که در مقایسه با اریترومایسین و کلرامفنیکل اثرات بسیار ضعیفی داشت (۲۲).

داوودی و همکاران(۲۰۰۷) نیز در مقایسه اسانس نعناع فلفلی با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر سه سویه پسودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم گزارش کردند که اسانس این گیاه دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی بر دو سویه اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم در مقایسه با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بر دو سویه فوق می‌باشد(۲۳).

در تحقیق دیگری، اثر ضد میکروبی اسانس نعناع بر سوش‌های استاندارد اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اپیدرمیس به اثبات رسید (۲۴). همچنین در تحقیقات فابری[2] (۲۰۰۱) به اثرات مفید ضد میکروبی رزماری بر باکتری پروتئوس ولگاریس اشاره شده است (۲۵).

با توجه به این که حدود ۵۰ درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی را منتول تشکیل می‌دهد که دارای اثرات ضدعفونی کننده می‌باشد (۱۲ و ۵)، بنابراین به نظر می‌رسد اثر بازدارندگی و کشندگی اسانس گیاه مورد مطالعه بر باکتری‌های مورد آزمایش بیشتر مربوط به این ترکیب است. در عین حال نباید از اثر سینرژیستی سایر ترکیب‌های اسانس در بروز خواص ضد باکتریایی آن غافل بود، چرا که پژوهش‌ها نشان

1-Kapadia & Talib
2-Fabry

www.SID.ir

Archive of SID

داده‌اند که خواص ضد باکتریایی اسانس در گیاهانی مانند؛ مریم گلی، آویشن و مرزنجوش به دلیل نقش سینرژیستی که ترکیب‌های جزئی اسانس با سایر ترکیب‌های آن دارند، افزایش می‌یابد (۱۱). در مورد نحوه عمل اسانس‌ها در مرگ باکتری‌های بیماری‌زا چنین اظهار نظر شده است که یکی از ویژگی‌های مهم این مواد و ترکیب‌های آن خاصیت آب‌گریزی است که سبب می‌شود در بخش‌های لیپیدی دیواره سلولی و میتوکندریایی باکتری توزیع شده و موجب تغییر و تخریب ساختمان و نفوذپذیری بیشتر آنها گردد(۲۶). سپس بخش زیادی از یون‌ها و دیگر محتویات حیاتی سلول به بیرون تراوش می‌نماید که در نهایت منجر به مرگ باکتری می‌شود (۲۷).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان از قدرت مهار کنندگی و ضد باکتریایی بالای اسانس گیاه نعناع فلفلی کشت شده در شرایط اکولوژیکی همدان بر دو میکروارگانیسم سالمونلا تیفی‌موریوم و اشرشیاکلی دارد. اثر ضد باکتریایی اسانس این گیاه را می‌توان به منتول و منتون موجود در ترکیبات شیمیایی این گیاه نسبت داد که اثر ضد باکتریایی این ترکیب‌ها به اثبات رسیده است (۱۲ و ۵). بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و محدودیت‌های روز افزون استفاده از مواد شیمیایی ضد باکتریایی نظیر عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی نیاز به جایگزینی این مواد با مواد طبیعی و اسانس‌های گیاهی احساس می‌شود که این مسئله می‌تواند زمینه‌ساز بررسی‌ها برای جایگزینی مواد فوق در جهت حفظ مواد خوراکی و کنترل بیماری‌ها باشد. ضمناً پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی از چندین آنتی‌بیوتیک استاندارد و هم‌چنین از گیاهان دیگر جهت مقایسه با اسانس این گیاه استفاده شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از مسئولان محترم دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان و دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا که امکان انجام پژوهش حاضر را فراهم نمودند، سپاس‌گزاری می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essence oil of Peppermint (Mentha piperita L)

Izadi Z[*], Esna-Ashari M[**], Ahmadvand G[***], Davoodi P[****], Piri KH[*****].

*MSc in Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

**Associate Professor of Horticultural Sciences, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

***Assistant Professor of Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

****Assistant Professor Oval Medicine, Department of Oval Medicine, Dental Faculty, Medical University, Hamedan, Iran.

*****Assistant Professor of Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Received:10/08/2009
Accepted:05/10/2009

Corresponding Author:Esna-Ashari M
Email:M.esnaashari@Basu.ac.ir

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Peppermint (*Mentha piperita* L.) is a perennial herbaceous essence oil bearing plant which belongs to the Lamiaceae family. This plant is a valuable and important herb which has many therapeutic properties. Recent investigations have shown its excellent anti-irritable bowel syndrome effects. Other properties of this plant are anti-inflammatory, analgesic, promote menstrual flow, antipyretic, antiseptic and anti-rheumatoid effects. This investigation was conducted to study the antibacterial properties of peppermint essence oil, as well as determining the content and composition of essential oil.

Materials & Methods: In order to study the effect of the antibacterial activity of the essence oil of peppermint, this experimental study was conducted in 2009 at Hamedan University of Medical Sciences. The aerial parts of the peppermint were harvested in summer when it was in the full blooming stage of the plant. The collected aerial parts were then dried in the shade. The essence oil of the aerial parts was extracted by hydro-distillation technique using Clevenger apparatus and was analyzed by the capillary GC and GC/MS method. Anti bacterial properties of the essence oil on four pathogenic bacteria were determined by using broth dilution and well diffusion agar methods. The collected data were analyzed by the SPSS version 11.5 software, using the independent t-test.

Results: The essence oil of peppermint showed the maximum anti bacterial effect on E. *coli and* the minimum effect on S. *aureus* and P. *aeuroginosa*. The essence oil content of aerial parts was 0.69% (w/w) based on dry weight. The amount of menthol which is the main constituent of the oil and as an antiseptic component was 47.9%.

Conclusion: Results of this study revealed that the essential oil of peppermint is rich in menthol and can be considered as an anti-bacterial agent in drug and food industries.

Keywords: Peppermint, Essential oil, Menthol, Anti-bacterial properties

www.SID.ir

Archive of SID

REFERENCES:

1.Bernath J. Medicinal and Aromatic plants. Flavor and Fragrance Journal 2000; 4(18):85-9.
2.Zargari A. Medicinal Plants. 6th ed. Tehran: Tehran University; 1999; 200-5.
3.Brown L. Mint soil fertility research. Planta Medica 2006; 63(4): 356-9.
4.Foster S. Peppermint (Mentha piperita L). American Botancil Council Series 1999; 78(4): 3-8.
5.Chevallier A. The Encyclopedia of Medicinal Plants. 4th ed. London: WB Saundera Company; 2005; 33-41.
6.Fleming WC. The rewiew of natural products. 1th ed. USA: Facts and Comparosons; 2004; 702-9.
7.Keville K. Peppermint for irritable bowel syndrome. Better Nutrition 2000; 62(8): 21-3.
8.Clark IV, Cameron GC. An aroma chemical profile. Menthol Perfumer and Flavorist 2002; 23(4): 33-46.
9.Awang DVC. Prescribing therapeutic peppermint (Mentha piperita L). Integrative Medicine 1998; 1(1): 18-21.
10.Ernestt E, Pittler MH. The efficacy and safety peppermint (Mentha piperita L.): an update of a systemic review. Public Health Nutrition 2001; 3(4): 509-14.
11.Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiology 2004; 94(3): 223-35.
12.Marilena C, Bersani C, Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. International Journal of Food Microbiology 2005; 95(2): 187-95.
13.European pharmacopoeia. 1th ed. London: Sainte Ruffine; 1983; 4392.
14.Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy. 1th ed. Paris: Illinois Allured Publication; 2001; 400-51.
15.Baron E, Finegold S. Diagnostic Microbiology. International Journal of Food Microbiology 1990; 15(1): 451-6.
16.Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Journal of Medicinal Plants 2002: 3(3): 69-73.
17.Malecan M, Khosravi A. Effects of lavandula stoechas extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria. The Journal of Qazvin Unuversity of Medicine Sciences 2004; 29: 3-10.
18.Eloff JN. Which extractant should be used for the screening and isolation of antibicrobial components from plants. Journal of Ethnopharmacology 1998; 60: 1-8.
19.Perez C, Anesini C. In vitro antibacterial activity of Argentin folk medicinal plants against Salmonolla typhi. Journal of Ethnopharmacology 1994; 44: 41-6.
20.Kalodera Z, Pepeljnjak S, Petrak T. The antimicrobial activity of ocimum basilicum L extract. Pharmazie 1996; 51(11): 996-7.
21.Nagafi A, Ghasemzadeh N, Razavi S. 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 2008; 33: 15-20.
22.Kapedia L, Talib B. Antibacterial activity of the essential oil of (Ocimum basilicum L). Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research 2000; 85: 116-20.
23.Davoodi P, Sharifi B, Mohamadi S. Antimicrobial activity studies of (*Mentha piperita* L). Journal of Scientific and Industrial Research 2007: 99:125-32.
24.Khaidrov K, Sadykov V, Ismaailov M. Composition and pharmacological activity of essential oil from (Mentha spicata L). Burdenko Fedsch Khimiko Farmatsevticheskii Zhurnal 1999; 32: 73-5.
25.Fabry W. Antibacterial activity of some of medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology 2001; 70: 79-84.
26.Sikkema J, De Bont JAM, Poolman B. Intractions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. Journal of Biological Chemistry 1994; 269(11): 80022-8.
27.Carson CF, Mee BJ, Riley TV. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2002; 46(6): 1914-20.

www.SID.ir