تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
ازکمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

ارزیابی ترکیبات شیمیایی، خواص ضدباکتریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی

محمد هاشمی
استادیار، بهداشت مواد غذایی، گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران
مجید امین زارع
استادیار، بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، ایران
سمانه نقیبی
دانشجوی دکترای بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران
مجتبی رئیسی
استادیار بهداشت مواد غذایی، مرکز تحقیقات سلامت غلات، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
حسن حسن زاد آذر
استادیار، بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، ایران
نویسنده مسئول: مجتبی رئیسی
پست الکترونیک: drmraeisi@goums.ac.ir
تلفن : ۰۹۱۱۱۷۵۳۳۹۵
آدرس: مرکز تحقیقات سلامت غلات، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

دریافت: ۹۴/۲/۱۶
ویرایش پایانی: ۹۴/۵/۵
پذیرش: ۹۴/۵/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: *هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی، ضد قارچی و خصوصیات آنتی اکسیدانی گیاهان مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی بود.*

روش بررسی: *در مرحله اول، آنالیز ترکیبات اسانس ها با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی صورت پذیرفت. سپس اثر ضد میکروبی و ضد قارچی اسانس های مورد مطالعه بر روی لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تلیفی موریوم و اشریشیاکلی و دو سویه قارچی شامل آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فلاووس بوسیله روش های انتشار از دیسک و میکرودایلوشن بررسی شد. خصوصیت آنتی اکسیدانی اسانس های مورد مطالعه بوسیله روش DPPH تعیین گردید.*

یافته ها: *لینالول (۱۴/۳۸٪)، ۱- منتون (۱۹/۰۳٪) و گاما ترپینن (۲۱/۷۸٪) به ترتیب عمده ترین ترکیبات اسانس های مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی بودند. همه اسانس های مورد مطالعه دارای اثر ضد میکروبی بر روی باکتری های با منشا مواد غذایی بودند که این اثر با اثر ناشی از تتراسایکلین بر روی این باکتری ها قابل مقایسه بود. همه اسانس های مورد مطالعه دارای دارای اثر مناسب آنتی اکسیدانی در مقایسه با BHT بودند.*

نتیجه گیری: *گیاهان مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی دارای توان مناسب برای استفاده به عنوان نگهدارنده های طبیعی می باشند.*

واژه های کلیدی: *مریم گلی، نعناع فلفلی، پونه کوهی، اثر ضد باکتریایی*

آدرس مقاله
هاشمی م، زارع م م، نقیبی س، رئیسی م، حسن زاد آذر ح" ارزیابی ترکیبات شیمیایی، خواص ضدباکتریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی: مجله علوم آزمایشگاهی، مرداد و شهریور۹۴، دوره نهم (شماره ۳): ۴۷-۵۵

مقدمه

کاربردهای وسیع اسانس های گیاهی به منظور کنترل رشد باکتریهای بیماری زای غذایی، باکتریهای عامل فساد و کپک ها موجب بکارگیری آنها بعنوان نگهدارنده های غذایی شده است. گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) متعلق به خانواده نعناعیان و شامل ۷۰۰ تا ۹۰۰ گونه در سرتاسر جهان می باشد. در ایران ۵۸ گونه از این جنس گیاه علفی یک ساله و چند ساله دارد که در سراسر کشور پراکنده اند و ۱۷ گونه آن انحصاری ایران می باشند (۲،۱). امروزه اسانس مریم گلی یکی از مهمترین طعم دهنده های غذایی محسوب میشود و ترکیبات موجود در عصاره آن نیز اثر آنتی اکسیدانی دارند (۳). نعناع فلفلی با نام رایج Peppermint و نام علمی *Mentha piperita* گیاهی است که از قدیم به عنوان یک گیاه آروماتیک و اشتهاآور به کارمی رفته است. از خواص دارویی این گیاه می توان به خاصیت ضد اسپاسم، پیشگیری کننده از استفراغ، ضد نفخ و خنک کنندگی آن اشاره کرد (۵،۴). گیاه پونه کوهی (*Mentha Longifolia*) از اعضاء خانواده لامیناسه بوده و به صورت یک گیاه چند ساله می باشد. این گیاه دارای گل های کوچک (به طول ۳ میلی متر) به رنگ سفید متمایل به ارغوانی روشن می باشد. خصوصیات درمانی این گیاه در برطرف کردن اختلالات گوارشی، استفراغ، بی اشتهایی، کولیت اولسراتیو و اختلالات کبدی به اثبات رسیده است(۷،۶). تاکنون مطالعاتی در زمینه اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس های گیاهی صورت پذیرفته است. Chao و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی ۴۵ اسانس گیاهی را بررسی نمودند و پس از انجام آزمایشات، اسانس دارچین را به عنوان مناسب ترین اسانس در این زمینه در میان اسانس های مورد مطالعه معرفی نمودند(۸). اثر ضد میکروبی میخک، رزماری، زنجبیل بر روی برخی باکتری های گرم منفی مانند اشریشیاکولای، سالمونلا تیفی موریوم و یرسینیا انتروکولیتیکا، برخی باکتری های گرم مثبت مانند باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوکوس فکالیس و همچنین قارچ های پنی سیلیوم و آسپرژیلوس توسط لوپز و همکاران تعیین گردید(۹). Ozcan و Arsalan در سال ۲۰۱۱ اثر آنتی اکسیدانی اسانس های دارچین، رزماری و میخک را بررسی و اثر آنتی اکسیدانی اسانس دارچین را مناسب تر از سایر اسانس های مورد مطالعه ذکر نمودند (۱۰). در این مطالعه ترکیبات شیمیایی، اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی گیاهان مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

جمع آوری گیاهان در مرحله گلدهی در فصل تابستان انجام شد و توسط بخش گیاه شناسی مرکز جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی مورد تایید قرار گرفت. سپس اسانس گیاهان خشک شده به روش تقطیر با بخار آب و به وسیله دستگاه کلونجر تهیه شد (۱۱). آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد. از دستگاه GC/MS نوع ۶۸۹۰ GC/MS Agilent با ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتیگراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتیگراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد و گاز حامل، هلیم با سرعت ۱/۵ میلی متر در دقیقه بود. شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتیگراد بود. شناسایی ترکیبات به کمک شاخص بازداری آن ها و مقایسه ی آن با شاخص های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفته از و نرم افزار Wiley استفاده شد (Wiley-VCH 2001). فعالیت ضدباکتریایی اسانس های فوق بر علیه چهار باکتری لیستریا مونوسایتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی موریوم و اشریشیاکلی با دو روش انتشار از دیسک و میکرودایلوشن مورد بررسی قرار گرفت. باکتری های اشریشیاکلی (PTCC۱۵۳۳)، لیستریا مونوسایتوژنز (PTCC۱۲۹۸)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC۱۰۱۵) و سالمونلا تیفی موریوم (PTCC۱۷۳۰) از کلکسیون میکروبی گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه

ارومیه تهیه شد. باکتری‌ها قبل از استفاده بطور متوالی دو بار تجدید کشت گردیدند. سپس از کشت دوم رقت لازم تهیه و تعداد باکتری با مقایسه شدت جذب نوری با لوله نیم مک فارلند که کدورتی معادل با $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$عدد باکتری را دارا می باشد، تنظیم گردید (۱۲). بعد از تنظیم باکتری با نیم مک فارلند، دو بار در محیط کشت BHI براث (۱ میلی‌لیتر از باکتری در ۹ میلی‌لیتر از BHI براث) رقیق گردید تا مقدار باکتری به $۱/۵ \times ۱۰^{۶}$ CFU/ml رسید و ۱۰۰ میکرولیتر از کشت مایع هر باکتری، بر روی محیط کشتBHI آگار کشت داده شد. سپس روی آن دیسک های کاغذی با قطر ۶ mm قرار داده شد. از غلظت ۱۰ mg/ml اسانس های فوق روی دیسک‌ها ریخته شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد و هاله های ایجاد شده در اطراف دیسک ها اندازه گیری شد. از دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک جهت کنترل مثبت استفاده شد و آزمایش در سه تکرار انجام گرفت (۱۲).

بعد از تنظیم تعداد باکتری در حد $۱/۵ \times ۱۰^{۶}$ CFU/ml، اسانس های مورد مطالعه در محدوده غلظتی ۱۵۶۲/۵ تا ۱۰۰۰۰۰ppm تهیه شد و سپس مطابق دستور زیر در میکروپلیت های ۹۶ خانه ای ریخته شد: (۱۲)

۱۶۰ میکرولیتر BHI براث، ۲۰ میکرولیتر باکتری و ۲۰ میکرولیتر اسانس (جمعا ۲۰۰ میکرولیتر) کنترل اسانس (بدون افزودن باکتری) و کنترل باکتری‌ها (بدون افزودن اسانس) هم قرار داده شدند. در آخر میکروپلیت ها به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شد وبه مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس MIC به روش چشمی و مشاهده کدورت تعیین گردید. آخرین چاهک فاقد کدورت (کمترین غلظت از اسانس ها که مانع رشد باکتری شد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC، ۵ میکرولیتر از چاهک های فاقد کدورت بر روی محیط BHI آگار کشت داده شد و کمترین غلظتی از اسانس ها که اثر باکتری‌کشی داشته (عدم رشد در پلیت حاوی محیط BHI آگار) به عنوان MBC در نظر گرفته شد. آزمایش در سه تکرار انجام گرفت. (۱۳،۱۲).

فعالیت ضد قارچی اسانس های گیاهان فوق بر علیه کپک های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس نایجر با دو روش انتشار از دیسک و میکرودایلوشن مورد بررسی قرار گرفت. کپک های آسپرژیلوس فلاووس (PTCC ۵۰۰۶) و آسپرژیلوس نایجر (ATCC ۲۰۴۶۶) از بخش قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی ارومیه تهیه گردید. سپس کپک های مورد آزمایش در محیط PDA به مدت ۵-۷ روز در ۲۸ درجه سانتی گراد کشت داده شد (۱۴).

ارزیابی فعالیت ضد قارچی اسانس ها به روش انتشار از دیسک به مانند روش مورد استفاده در مورد باکتری ها صورت پذیرفت با این تفاوت که محیط ها در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و به مدت ۷۲ ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفتند(۱۵).

بعد از تنظیم تعداد اسپور کپک ها، اسانس های فوق در محدوده غلظتی ۱۵۶۲/۵ تا ۱۰۰۰۰۰ppm تهیه شد و سپس مطابق دستور زیر در میکروپلیت های ۹۶ خانه ای ریخته شد: ۱۶۰ میکرولیتر PD براث، ۲۰ میکرولیتر اسپور کپک و ۲۰ میکرولیتر اسانس (جمعا ۲۰۰ میکرولیتر)ادامه مراحل به مانند روش مورد استفاده بر روی باکتری ها بود با این تفاوت که میکروپلیت ها به مدت ۷۲ ساعت و در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد قرار داده شدند(۱۶). ارزیابی خصوصیات آنتی اکسیدانی به روش DPPH: محلول DPPH در متانول (۲۴ میکروگرم/ میلی‌لیتر) تهیه شد و ۲ میلی لیتر از این محلول به ۵۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف اسانس اضافه شد. پس از گذشت یک ساعت نگهداری در دمای اتاق میزان جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. از هر غلظت سه تکرار گذاشته شد. جهت صفر کردن دستگاه از متانول و از محلول DPPH به عنوان شاهد استفاده گردید و فعالیت جاروب کنندگی اسانس طبق فرمول زیر محاسبه گردید(۱۷).

$$RSA\% = [(A_{Blank} - A_{Sample}) / A_{Blank}] \times 100$$

جهت تجزیه و تحلیل داده های حاصل از این مطالعه از روش آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و آزمون T-test، نرم افزار SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. در تمامی بررسی ها سطح معنی دار آزمون ها ۰/۰۰۵ در نظر گرفته شد و کلیه آزمون ها در ۳ تکرار انجام شد.

یافته ها

آنالیز کمی ترکیبات اسانس های مورد استفاده در این مطالعه منجر به شناسایی ۱۸ ترکیب در اسانس مریم گلی برابر با ۸۲/۱۲ درصد از ترکیبات تشکیل دهنده آن، ۲۱ ترکیب برابر با ۸۰/۲۹ درصد از کل ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پونه کوهی و ۱۸ ترکیب در مجموع ۷۳/۰۷ درصد از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نعناع فلفلی گردید(جدول۱). بر اساس این نتایج، لینالول (۱۴/۳۸٪) و آلفا- ترپینن (۹/۸۸٪)، ال- منتون (۱۹/۰۳٪) و منتون (۱۴/۶۶٪)، گاما- ترپینن (۲۱/۸۷٪) و آلفا- ترپینن (۱۸/۴۹٪) به ترتیب از عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی بودند.

جدول ۱- درصد ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس های مریم گلی، پونه کوهی و نعناع فلفلی

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس	مریم گلی	نعناع فلفلی	پونه کوهی
α-thujene	۰/۱۲	-	۳/۱
α-pinene	۳/۴۸	۰/۳۴	۰/۸۵
Camphene	۵/۱۰	-	۰/۱
Sabinene	-	۰/۵۶	۰/۱۳
2-β-pinene	۰/۵۵	-	-
β-pinene	-	۰/۶۹	-
Limonene	-	۴/۷۸	۴/۷۵
α-terpinolene	-	-	۰/۷۶
Linalool	۱۴/۳۸	-	-
β-myrcene	۱/۰۷	-	-
α-terpinene	۹/۸۸	۰/۲۱	۱۸/۴۹
Terpinene-4-ol	-	۰/۸۲	-
1,8-cineole	۰/۷۱	۳/۳۱	۸/۵۹
β-pinene	-	-	۰/۱۷
Menthone	-	۱۴/۶۶	-
α-phellandrene	-	-	۴/۳۵
δ-terpinene	۵/۰۲	-	۲۱/۸۷
Menthofuran	-	۱/۴۹	۵/۱۱
Myrecene	-	-	۳/۱۹
α-thujene	۸/۰۵	-	-
Isomenthone	-	۵/۵۱	-
Camphor	۶/۱۶	-	-
Menthol	-	۱۲/۳	-
1-borneol	۴/۲	-	-
Carvon	-	۰/۶۴	-
Cis-ocimene	-	-	۰/۷۱
1,4-terpineol	۰/۸	-	-
Menthyl acetate	-	۳/۷۱	-
Endobornyl acetate	۲/۷۳	-	-
β-cariyophyllene	-	۳/۱۴	-
Transe-ocimene	-	-	۰/۸۱
Caryophyllene	۰/۸۳	-	-
Germacrene	-	۱/۷۳	-
1-methyl-cyclohexane	-	-	۰/۱۴
β-selinene	۳/۹۵	-	-
3-hexen-1-ol	-	۰/۰۸	-
P-cymene	-	-	۶/۱۸
Veridiflorol	۷/۶۲	-	-
Manool	۳/۴۷	-	-
3-methylcyelohexanone	-	۰/۰۷	-
β-ocimene	-	-	۰/۱۳
L-menthone	-	۱۹/۰۳	-
Methylbenzene	-	-	۰/۳۶
Acetic acid	-	-	۰/۳۱
Total	۸۲/۱۲	۷۳/۰۷	۸۰/۲۹

فعالیت مهاری اسانس ها براساس قطر ناحیه عدم رشد بصورت: بی اثر (قطر کمتر از ۸ میلیمتر)، ضعیف (قطر بین ۱۱-۸ میلیمتر)، متوسط (قطر بین ۱۶-۱۱ میلیمتر) و قوی (قطر بیشتر از ۱۶ میلیمتر) طبقه بندی گردید. بر اساس نتایج حاصل از آزمون دیسک دیفیوژن، اثر مهارکنندگی اسانس پونه کوهی بر علیه باکتری اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم مشابه آنتی بیوتیک تتراسایکلین بود (جدول۲). اسانس مریم گلی دارای اثر مهاری قوی بر علیه باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی و اثر مهاری متوسط در برابر سایر باکتری های مورد بررسی بود. همچنین اسانس پونه کوهی نیز دارای اثر مهاری قوی بر روی باکتری های اشریشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس و اثر مهاری متوسط بر علیه باکتری لیستریا مونوسایتوژنز بود. بر همین اساس، اسانس نعناع فلفلی نیز اثر مهاری قوی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اثر مهارکنندگی متوسط در برابر باکتریهای اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم و اثر ضعیفی بر علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز نشان داد. نتایج MIC اسانس های مورد مطالعه نشان داد که اسانس های مریم گلی و نعناع فلفلی دارای بیشترین میزان ممانعت کنندگی رشد بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس میباشد (جدول ۳). در حالیکه اسانس پونه کوهی حتی در غلظت‌های پایین در برابر سویه های اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم (باکتری‌های گرم منفی) اثر باکتری کشی قابل توجهی داشت. با افزایش غلظت اسانس ها تاثیر ضد میکروبی آن نیز افزایش یافت. اسانس نعناع فلفلی سبب توقف رشد گونه های قارچی مورد آزمایش شد. حداقل غلظت مهارکننده رشد قارچ برای اسانس های مختلف در محدوده ۱۰-۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر قرار داشت. بیشترین حساسیت آسپرژیلوس نیجر نسبت به اسانس های مورد مطالعه مربوط به اسانس نعناع فلفلی و با میزان حداقل غلظت ممانعت از رشد ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. نتایج حاصل از ارزیابی اثر ضدقارچی اسانس های مورد مطالعه به روش دیسک دیفیوژن نتایج حاصل به روش میکرودایلوشن را در این مطالعه مورد تایید قرار داد به این ترتیب که اسانس های پونه کوهی و نعناع فلفی در هر دو روش اثر بیشتری نسبت به اسانس مریم گلی بر روی قارچ های مورد مطالعه داشتند. همچنین آسپرژیلوس نیجردر مقابل اسانس های مورد مطالعه حساسیت بیشتری را نسبت به آسپرژیلوس فلاووس نشان داد. ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهان انتخاب شده بر اساس روش DPPH تعیین شد (جدول ۴) اسانس های مورد بررسی دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی مطلوبی نسبت به BHT بودند، اما بین فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس ها در غلظت های مختلف اختلاف زیادی مشاهده نگردید. همچنین اسانس پونه کوهی به نسبت دو اسانس دیگر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را نشان داد.

جدول ۲- فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌های مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی (۱۰mg/ml) به روش انتشار از دیسک

		ناحیه مهاری بر حسب میلی‌متر				
		مریم گلی	نعناع فلفلی	پونه کوهی	تتراسایکلین	متانول (فاقد اسانس)
سویه باکتری	استافیلوکوکوس اورئوس	۱۹/۰۹±۰/۰۷^{Aa}	۲۱/۳±۲/۳^{Aa}	۱۹/٦±۰/۱۷^{Aa}	۲۷/۸±۱^{Ab}	----------
	اشرشیاکلی	۱۷/۱۲±۱/۰۳^{Ba}	۱۳/۵±۱/۷^{Bb}	۲٤/۱۳±۰/۰۲^{Bc}	۲۵/٦±۱/۳^{Ac}	----------
	سالمونلا تیفی‌موریوم	۱٦/۰۸±۰/۱^{Ba}	۱۲±۰/٦^{Bb}	۲۲/۷±۱/٤^{Bc}	۱۹/۷±۰/۲^{Bd}	----------
	لیستریا مونوسیتوژنز	۱٦/۲۳±۰/٤۲^{Ba}	۷/۸±۰/۲۷^{Cb}	۱٤/۲۵±۱/۰۳^{Ca}	۳۲/۹±۲/٤^{Cc}	----------
گونه قارچ	آسپرژیلوس فلاووس	۹/۵±۰/۱٤^{Aa}	۱٦/٦±۰/۸^{Aa}	۱۵/۵±۰/۳^{Aa}	----------	۰
	آسپرژیلوس نیجر	۱۳/۰٤±۰/۵۷^{Ba}	۱۷/۰۳±۰/۲۲^{Ab}	۱٦±۰/۵^{Ab}	----------	۰

جدول ۳- فعالیت ضد باکتریایی اسانس های مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی به روش میکرودایلوشن

		MIC (mg/ml)			MBC (mg/ml)		
		مریم گلی	نعناع فلفلی	پونه کوهی	مریم گلی	نعناع فلفلی	پونه کوهی
سویه باکتری	اشرشیاکلی	۱۰	۱۰	۲/۵	۱۰	>۱۰	۵
	استافیلوکوکوس اورئوس	۵	۲/۵	۵	۱۰	۵	۵
	سالمونلا تیفی‌موریوم	۱۰	۱۰	۲/۵	>۱۰	>۱۰	۵
	لیستریا مونوسیتوژنز	۱۰	>۱۰	۱۰	>۱۰	>۱۰	۱۰
گونه قارچ	آسپرژیلوس فلاووس	۱۰	۵	۱۰	>۱۰	۱۰	۱۰
	آسپرژیلوس نیجر	۵	۲/۵	۵	>۱۰	۵	۱۰

جدول ۲- فعالیت ضد قارچی اسانس‌های مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی (۱۰mg/ml) به روش انتشار از دیسک

گونه قارچ	ناحیه مهاری بر حسب میلی‌متر			
	متانول (فاقد اسانس)	مریم گلی	نعناع فلفلی	پونه کوهی
آسپرژیلوس فلاووس	۰	$۹/۵\pm۰/۱۴^{Aa}$	$۱۶/۶\pm۰/۸^{Aa}$	$۱۵/۵\pm۰/۳^{Aa}$
آسپرژیلوس نیجر	۰	$۱۳/۰۴\pm۰/۵۷^{Ba}$	$۱۷/۰۳\pm۰/۲۲^{Ab}$	$۱۶\pm۰/۵^{Ab}$

جدول ٤- ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس‌های مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی به روش DPPH

گیاه	غلظت	۱۰ (mg/ml)	۵ (mg/ml)	۲/۵ (mg/ml)	۱/۲۵ (mg/ml)
	مریم گلی	۵۳/٤۱	۵۲/۳۸	۵۱/۳۵	۵۰/۱۵
	نعناع فلفلی	۵۲/۹۳	۵۱/۲۷	۵۰/٦۳	٤۷/۹۳
	پونه کوهی	۵٤/۳٦	۵۳/۸۸	۵۳/۰۱	۵۲/۰٦
	BHT	٦٤/۸۹	٦۱/٦۷	۵۹/۷	۵۸/۱۹

بحث

محققین زیادی در سال های اخیر به مطالعه اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و حشره کشی اسانس ها و عصاره های گیاهی پرداخته اند(۱۸). نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات اسانس های مورد مطالعه نشان داد لینالول و آلفا- ترپینن، ال- منتون و منتون، گاما- ترپینن و آلفا- ترپینن به ترتیب بیشترین ترکیبات موجود در اسانس های مریم گلی، نعناع فلفلی و پونه کوهی بودند. Bozin و همکاران و همچنین Couladis و همکاران آلفا-توژن، کامفور را ترکیبات غالب در اسانس مریم گلی گزارش نمودند (۲۰،۱۹). Sokovic و همکاران منتون را ترکیب غالب در اسانس نعناع فلفلی مورد استفاده در مطالعه خود عنوان نمودند که با نتیجه حاصل در این مطالعه تطابق داشت (۲۰). در مطالعه Gulluce و همکاران، پیپریتون اپوکساید و پولگون را به عنوان ترکیبات غالب در اسانس پونه کوهی تعیین گردید که با نتایج حاصل از این مطالعه مشابه نبود(۱۳). اختلاف مشاهده شده در مورد ترکیب شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس ها در مطالعات مختلف می تواند به دلیل تفاوت در فصل برداشت گیاه، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی رویش، روش و مدت زمان استخراج اسانس و گونه میکروبی مورد آزمایش باشد (۲۱). نتایج آزمون فعالیت ضد میکروبی اسانس ها در مطالعه حاضر نشان داد که هر سه اسانس دارای اثر مهاری بر روی رشد باکتری ها و قارچ های مهم بیماریزای غذازاد می باشند که اثر ضد باکتریایی اسانس ها قابل مقایسه با اثر تتراسایکلین بر روی سویه های باکتریایی مورد آزمایش است. نتایج گزارش شده در خصوص فعالیت ضد میکروبی اسانس ها در مطالعات مختلف تا حدودی به دلیل روش ها، سویه ها و همچنین محیط کشت

های مختلف متفاوت می باشد. Gulluce و همکاران گزارش کردند اسانس پونه کوهی می تواند بصورت کاملا موثری از رشد گونه های سودوموناس، پروتئوس، سالمونلا، باسیلوس و استافیلوکوکوس اورئوس ممانعت به عمل آورد (۱۳). Sokovic و همکاران پس از بررسی اثر ضد قارچی اسانس نعناع فلفلی گزارش نمودند این اسانس دارای اثر ضد قارچی مناسب و حتی بهتر از بیفونازول بوده است که به عنوان داروی ضد قارچی تجاری مورد استفاده قرار می گیرد(۲۰). Bozin و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه خود بیشترین اثر ضد باکتریایی اسانس مریم گلی را بر علیه اشریشیاکلای، سالمونلا تیفی و شیگلا سونئی و بیشترین اثر ضد قارچی این اسانس را بر علیه تریکوفایتون رابروم و تریکوفایتون تنسورانس تعیین نمودند (۲۲). یکی از مهم ترین دلایل اثر ضد میکروبی اسانس های گیاهی وجود خاصیت آبگریزی در آن ها می باشد که باعث نفوذ آن ها به لیپیدهای غشا و میتوکندری باکتری ها می شود و باعث ایجاد اختلال در عملکرد آن ها می شود. این اختلال می تواند سبب ایجاد نفوذ پذیری بیشتر غشا و در نهایت خروج یون ها و سایر محتویات داخل سلولی باکتری ها گردد (۲۱). در این مطالعه برای بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس های مورد مطالعه از آزمایش DPPH که نشان دهنده ی قدرت آنتی اکسیدانی می باشد، استفاده شد که در این روش، ظرفیت اسانس ها و عصاره ها در حذف رادیکال‌های آزاد ایجاد شده توسط مادهDPPH سنجیده می شود(۲۳). نتایج حاصل در این مطالعه نشان دهنده اثر آنتی اکسیدانی نسبتا مناسب اسانس های مورد مطالعه بود. در مطالعات دیگر نیز اثر آنتی اکسیدانی اسانس های گیاهی مورد بررسی قرار گرفته است. Hamdy Roby و همکاران پس از بررسی و مقایسه اثر آنتی اکسیدانی سه گیاه مریم گلی، پونه و مرزنجوش با اســتفاده از روش DPPH اثر آنتی اکسیدانی اسانس مریم گلی را بیشتر از مرزنجوش و کمتر از پونه گزارش نمودند (۲۴). همــچنین یادگارنیا و همکاران فعالیت بیوشیمیایی نعناع و مورد را بررسی نموده و با مقایسه میزان توانایی آن ها در مهار رادیکال های آزاد، اثر آنتی اکسیدانی نعناع را بیشتر گزارش نمودند (۲۵). اثر آنتی اکسیدانی اسانس های گیاهی به حضور ترکیبات فنولی موجود در آن ها نسبت داده شده است که این ترکیبات در اسانس های مورد مطالعه نیز وجود دارد.

نتیجه گیری

اسانس های مریم گلی، پونه کوهی و نعناع فلفلی دارای اثرات مناسب ضد قارچی و ضد باکتریایی و همچنین آنتی اکسیدانی می باشند که آن ها را برای استفاده در مواد غذایی برای جلوگیری از ایجاد مخاطرات میکروبی موثر می سازد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدرانی خود را از دانشگاه ارومیه به دلیل حمایت های اجرایی از این مطالعه اعلام می دارند.

References

1. Basti AA, Misaghi A, Khaschabi D. *Growth response and modelling of the effects of Zataria multiflora Boiss. essential oil, pH and temperature on Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus*. LWT. 2007; 40(6): 973-981. doi:10.1016/j.lwt.2006.07.007.

2. Bakhshi Khaniki GL, Lari Yazdi H. *The survey of essential oils composition in Salvia limbata & Salvia macrosipho*. Biology J Garmsar Azad Islamic university. 2009; 4(1): 33-42.[Persian]

3. Hosseini N, Malekirad A, Changizi Ashtiani S, Nazemi M. *Free radicals scavenging activity of essential oils and different fractions of methanol extract of zataria multiflora, salvia officinalis, rosmarinus officinalis, mentha pulegium and cinnamomum zeylanicum*. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2012; 20(1): 28-38.[Persian]

4. Kazem alvandi R, Sharifan A, Aghazeh Meshgi M. *Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil*. J Com Pathobiology. 2010; 7(4): 355-364.[Persian]

5. Azizkhani M, Ataei M. *Antioxidant and antibacterial activity of the essential oil and methanol extract from Mentha longifolia Hudson*. J Food Res. 2012; 22(1): 29-38. [Persian]

6. Pajohi Alamoti MR, Tajik H, Akhondzade A, Gandomi H, Ehsani A. *A Study on chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Mentha longifolia L. and Cuminum cyminum L. in soup*. J Food Sci Tech. 2012; 36(9): 33-45.[Persian]

7. Kamkar A, Shariati far N, Jamshidi AH, Jebelli Javan A, Sadeghi T, Zeigham Monfared MM. *In vitro Evaluation of Antioxidant Activity of Iranian Mentha longifolia Essential Oil and Extracts*. J Med Plants. 2012; 1 (41): 185-194.[Persian]

8. Chao SC, Gary-Young D, Oberg CJ. *Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses*. J Essen Oil Res. 2000; 12(5): 639-649. DOI:10.1080/10412905.2000.9712177.

9. Lopez P, Sanchez C, Batlle R, Nerin C. *Solid- and vaporphase antimicrobial activities of six essential oils:*

Susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. J Agric Food Chem. 2005; 53(17): 6939-6946.

10. Ozcan MM, Arsalan D. *Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils*. Food Chem. 2011; 129: 171-174. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.055.

11. Akgül A, Chialva F. Constituents of the essential oil of Echinophora tenuifolia L. subsp. sibthorpiana (Guss.) Tutin from Turkey. Flav Fragr J. 1989; 4(2): 67-68. DOI: 10.1002/ffj.2730040206.

12. Weerakkody NS, Caffin N, Turner MS, Dykes GA. *In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria*. Food Control. 2010; 21: 1408-1414.

13. Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, et al. *Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. longifolia*. Food Chem. 2007; 103: 1449-1456. doi:10.1016/j.foodchem.2006.10.061.

14. Gandomi Nasrabadi H, Misaghi A, Akhoodzadeh Basti A, Khoshravi A, Bokaei S, Abbasi Far A. *Effects of Zataria multiflora Boiss. Essential Oil on Aspergillus flavus.* 2008; 3 (27) :45-51.[Persian]

15. Xing Y, Li X, Xu Q, Yun J, Lu Y. *Antifungal activities of cinnamon oil against Rhizopus nigricans, Aspergillus flavus and Penicillium expansum in vitro and in vivo fruit test*. Int J Food Sci Tech. 2010; 45(9): 1837-1842. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02342.x.

16. Simić A, Soković M, Ristić M, Grujić-Jovanović S, Vukojević J, Marin P. *The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities*. Phyt Res. 2004; 18(9): 713-717.

17. Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chem. 2008; 110: 76-82. doi:10.1016/j.foodchem.2008.01.058.

18. Abdolmaleki M, Bahrami Nezhad S, Salari M, Abbasi S, Panjehke N. *Antifungal Activity of Peppermint (Mentha piperita L.) on Phytopathogenic Fungi*. J Med Plants. 2011; 2 (38) :26-34.[Persian]

19. Couladis M, Tzakou O, Mimika-Dukic N, Jancie R, Stojanovic D. *Essential oil of Salvia officinalis L. from serbia and Montonegro*. Flav Fragr J. 2002; 17(2): 119-126. DOI: 10.1002/ffj.1065.

20. Sokovic M, Vukojevic J, Marin P, brkic D, Vajs V, Van Griensven L. *Chemical composition of essential oils of Thymus and Mentha species and their antifungal activities*. Molecules. 2009; 14(1): 238-49. doi: 10.3390/molecules14010238.

21. Burt S. *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. Int j food microbiol. 2004; 94(3): 223-253.

22. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E. *Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) essential oils*. J Agric Food Chem. 2007; 55(19): 7879-7885.

23. Chung YC, Chien CT, Teng KY, Chou ST. *Antioxidative and mutagenic properties of Zanthoxylum ailanthoides Sieb & zucc*. Food Chem. 2006; 97: 418-425.

24. Hamdy Roby MH, Sarhan MA, Selim KAH, Khalel KI. *Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (Thymus vulgaris L.), sage (Salvia officinalis L.), and marjoram (Origanum majorana L.) extracts.* Ind Crop Prod. 2013; 43:827- 831.

25. Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Alipoor Astaneh S, Rasooli I. *Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils.* Phytochemistry. 2006; 67(12): 1249-1255.

Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Effect of *Salvia Officinalis, Mentha Piperita* and *Mentha Longifolia*

Hashemi, M. (PhD)
Assistant Professor of Food Hygiene, Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Mashahd University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Amin Zare, M. (PhD)
Assistant Professor, PhD of Food Hygiene, Department of Food Hygiene, Faculty of Health, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Naghibi, S. (MSc)
PhD Student of Food Hygiene, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Raeisi, M. (PhD)
Assistant Professor of Food Hygiene, Cereal Health Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Hasanza Azar, H. (PhD)
Assistant Professor of Food Hygiene, Department of Food Hygiene, Faculty of Health, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Corresponding Author: Raeisi, M.

Email: drmraeisi@goums.ac.ir

Received: 6 May 2015
Revised: 27 Jul 2015
Accepted: 1 Aug 2015

Abstract

Background and Objective: The aim of this study was to evaluate chemical composition, antibacterial and antifungal effect and antioxidant property of *Salvia officinalis, Mentha piperita* and *Mentha Longifolia*.

Material and Methods: At first, chemical analysis of essential oils was determined using GC/MS. Then the antibacterial and antifungal effect of tested essential oils on *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. typhimurium* and *E. coli* and two fungal strains including *A. niger* and *A. flavus* were determined using disk diffusion agar and broth microdilution methods. The antioxidant property of essential oils was evaluated using DPPH assay.

Results: Linalool (14.38%), l. menthone (19.03%) and δ-terpinene (21.78%) were the major components of *Salvia officinalis*, *Mentha piperita* and *Mentha Longifolia*, respectively. all tested essential oils had antibacterial effect on foodborne pathogens, which was comparable with tetracycline's effect. In addition, all essences had appropriate antioxidant potential compared with BHT.

Conclusion: based on the results, *Salvia officinalis*, *Mentha piperita* and *Mentha Longifolia* can be introduced as appropriate natural preservatives.

Keywords: *Salvia officinalis*; *Mentha piperita*; *Mentha Longifolia*, Antibacterial Agents.

This paper should be cited as: Hashemi M, Amin Zare M, Naghibi S, Raeisi M, Hasanzad, Azar H. [Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Effect of Salvia Officinalis, Mentha Piperita and Mentha Longifolia]. mljgoums. 2015; 9(3): 47-55[Article in Persian]