

اثرات ضد لیستریایی عصاره روغنی نعناع (*Mentha spicata* L.) در یک مدل غذایی

حمدالله مشتاقی^{۱*} و مجتبی بنیادیان^۲

*۱- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه کنترل کیفی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، پست الکترونیک: moshtaghi@vet.sku.ac.ir

۲- استادیار، گروه کنترل کیفی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۷

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۸۷

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۶

چکیده

در این بررسی، اثر عصاره نعناع (*Mentha spicata* L.) در غلظت‌های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ بر باکتری لیستریا مونوسیتوژنز (*Listeria monocytogenes*) در پنیر نرم پاستوریزه که به هر گرم آن ۱۰^۶ سلول باکتری اضافه شده بود، در دماهای ۷ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد و در یک دوره زمانی ۱۵ روزه مطالعه شد. در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد، لیستریا مونوسیتوژنز پس از ۱۵ روز در تمام غلظت‌های بکار برده شده، کاهش ۲ و ۳ لگاریتمی را در پی داشت، ولی در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد عصاره با غلظت ۰/۵٪ تنها یک لگاریتم کاهش در تعداد جمعیت باکتری نشان داد. اثر آنتی لیستریایی عصاره ۱٪ و ۲٪ نعناع در ۱۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر از ۷ درجه سانتی‌گراد بود. نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که *Mentha spicata* دارای خاصیت ضد لیستریایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: لیستریا مونوسیتوژنز، *Mentha spicata* L.، عصاره، پنیر.

مقدمه

که در غالب نواحی کره زمین یافت می‌شود اما بیشترین انتشار آن در منطقه مدیترانه است (زرگری، ۱۳۷۳). در بین جنسهای مختلف این گیاه، منتا (*Mentha*) از جنسهای مهم تیره نعناع است. گونه *Mentha spicata* از لحاظ ترکیب اسانس تفاوتی با دیگر گونه‌های نعناع دارد که اصلی‌ترین این تفاوتها عدم وجود منتول و تشکیل شدن ترکیبی به نام کاروون (*Carvon*) است که درصد بالایی (۷۳٪) از اسانس را شامل می‌شود (Feo et al., 1998). در مطالعاتی که روی شناسایی ترکیبهای مختلف تشکیل دهنده عصاره نعناع سبز (*Mentha spicata*) انجام گرفته است، مشخص شده است که میزان ترکیبهای این گونه در دو یا چند منطقه مجاور نیز تفاوتی وجود دارد (Feo et

تاکنون مطالعات بسیار گسترده‌ای در مورد اثرهای درمانی گونه‌های مختلف نعناع صورت گرفته است که برخی از این اثرها در گذشته نیز شناخته شده بوده و در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. در تحقیقات دو دهه اخیر به صورت علمی اثرهای نعناع بر بسیاری از بیماریها و عوامل بیماری‌زا مانند ویروسها (Hermann & Kusera, 1967)، قارچها (Ela kady et al., 1993) و اثرات ضد باکتریایی آن (Bending, 1989; Naiger et al., 1996) مورد بررسی قرار گرفته است. طبق بررسیهای بعمل آمده گیاه نعناع دارای ۴۰۰۰ گونه است که در ۲۰۰ جنس جای داده شده است. پراکندگی آن به صورتی است

کارخانجات غذایی، بهداشتی و دارویی باریج اسانس کاشان تهیه گردید و پیش از استفاده مورد آزمایش میکروبی قرار گرفت. باکتری لیستریا مونوسیتوژنز از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد (جدا شده از شیر خام) مورد استفاده قرار گرفت. باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در محیط آبگوشت تریپتوز سوی برات (TSB) کشت داده شد و با استفاده از کشت سطحی در محیط شمارش شد. سوسپانسیون حاوی 10^6 سلول باکتری در هر میلی لیتر تهیه شد. به لوله های آزمایش حاوی ۲۰ گرم پنیر به ترتیب 10^7 و 10^8 سلول باکتری لیستریا مونوسیتوژنز به صورتی که هر گرم پنیر حاوی 10^6 سلول باکتری باشد و غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد اسانس نعناع که به وسیله آب مقطر رقیق شده بود، اضافه گردید. سپس برای هر غلظت در گروه کنترل، محیط پنیر حاوی باکتری و فاقد اسانس نعناع در نظر گرفته شد. برای هر گروه سه تکرار قرار داده شد (Imai et al., 2001). کلیه گروه های مورد آزمایش در دو درجه حرارت ۷ و ۱۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ از گروه های مورد آزمایش نمونه گیری و تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز روی محیط پالکام (PALCAM) شمارش گردید. میانگین نتایج حاصل از ۳ تکرار هر گروه با استفاده از نرم افزار Sigma stat₂ و روش آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

اثر عصاره نعناع (*Mentha spicata*) در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ بر لیستریا مونوسیتوژنز در یک محیط

(al., 1998). از سوی دیگر باکتری لیستریا مونوسیتوژنز (*Listeria monocytogenes*) یک باکتری بیماری زاست که به طور گسترده در طبیعت پراکنده است و عامل سببی لیستریوز در انسان و حیوانات است. انتقال این باکتری از طریق مواد غذایی به انسان از اوایل دهه ۸۰ مورد توجه محققان قرار گرفت و تاکنون گزارش های متعددی از آلودگی مواد غذایی مختلف به این باکتری منتشر گردیده است (Gunaseua et Fuchs, 1989). به دلیل (Cordano & rocourt, 2001 al., 1995). به دلیل گزارش های متعدد در ارتباط با آلودگی پنیر به این باکتری و همچنین ایجاد عفونت لیستریایی در اثر مصرف پنیر آلوده به لیستریا مونوسیتوژنز (Rudol & Scherer, 2001) و از آنجایی که در حال حاضر استفاده از عصاره های گیاهی جهت حفظ مواد غذایی در برابر فساد توسط عوامل بیماری زا مورد توجه قرار گرفته است، در این میان خاصیت طعم دهندگی برخی از این عصاره ها مورد توجه مصرف کنندگان این گونه مواد غذایی قرار گرفته است، اثر این عصاره گیاهی بر باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در یک مدل غذایی مثل پنیر مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گرفت. از آنجایی که باکتری لیستریا مونوسیتوژنز یک باکتری سرما دوست است درجه حرارت های ۷ و ۱۵ درجه سانتی گراد برای این مطالعه انتخاب شد.

مواد و روشها

برای انجام این بررسی از پنیر سفید ایرانی پاستوریزه استفاده شد. پنیر مورد استفاده پس از انجام آزمایش جهت وجود لیستریا مونوسیتوژنز در آن، توسط مخلوط کن هموژنیزه شد و در هر لوله آزمایش حدود ۲۰ گرم پنیر قرار گرفت. عصاره روغنی نعناع از بخش پژوهش

هر گرم پنیر به حدود $3/5 \times 10^4$ باکتری در هر گرم در روز پانزدهم رسید. هر چند کاهش آن در مقایسه با روز اول معنی‌دار بود ($P < 0.05$) اما در مقایسه با غلظت ۰/۵ درصد عصاره نعناع تفاوت معنی‌دار نبود. در گروه پنیر با عصاره ۲٪ نعناع تعداد جمعیت $1/1 \times 10^6$ باکتری لیستریا در هر گرم پنیر در روز اول پس از ۳ روز با $1 \log$ کاهش به حدود $3/4 \times 10^0$ باکتری در هر گرم رسید و پس از ۹ روز با $1 \log$ کاهش دیگر به حدود $9/6 \times 10^4$ باکتری در هر گرم رسید. در روز پانزدهم نگهداری در مجموع با $3 \log$ کاهش، حدود $1/9 \times 10^3$ باکتری لیستریا در هر گرم پنیر شمارش شد ($P < 0.05$) (شکل ۱).

کشت و پنیر نرم پاستوریزه که به هر گرم آن 10^6 سلول باکتری اضافه شده بود، در دماهای ۷ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و در یک دوره زمانی ۱۵ روزه مطالعه گردید. نتایج تأثیر غلظتهای ۰/۵، ۱ و ۲ درصد عصاره روغنی نعناع بر لیستریا مونوسیتوزنز در پنیر در حرارت ۷ درجه سانتی‌گراد در جدول ۱ و شکل ۱ قابل مشاهده است. در پنیر مخلوط با عصاره ۰/۵٪ نعناع، تعداد $1/2 \times 10^6$ سلول باکتری لیستریا در هر گرم پس از ۱۵ روز با $2 \log$ کاهش به حدود $6/2 \times 10^4$ باکتری در هر گرم رسید ($P < 0.05$). تأثیر عصاره ۱٪ نعناع تقریباً مشابه غلظت ۰/۵٪ بود و از حدود $1/3 \times 10^6$ باکتری لیستریا در

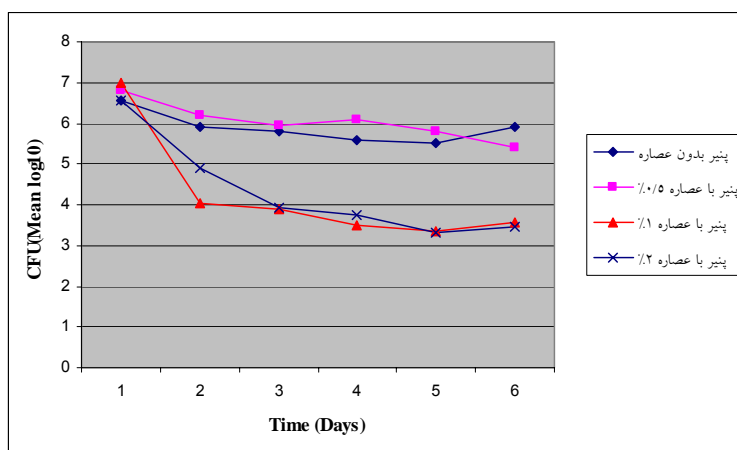
جدول ۱- شاخصهای توصیفی شمارش باکتری لیستریا در غلظتهای ۰/۵، ۱ و ۲ درصد عصاره نعناع

در ۷ درجه سانتی‌گراد بر حسب میانگین لگاریتم ۱۰

شاهد	۰/۵٪ عصاره	۱٪ عصاره	۲٪ عصاره
Mean	۵/۱۷	۵/۱۸	۵/۱۴
SD	۰/۵۲۳	۰/۵۹	۰/۶۱۸
SE	۰/۲۱۴	۰/۲۴۱	۰/۲۵۲
Min.	۴/۷۵	۴/۵۴	۴/۲۶
Max.	۶/۰۹	۶/۱۱	۶/۰۵

کاهش در روز چهارم به حدود $7/7 \times 10^3$ در هر گرم رسید. در روز پانزدهم آزمایش حدود $3/7 \times 10^3$ باکتری لیستریا در هر گرم پنیر شمارش گردید و در مجموع در پایان آزمایش نسبت به تعداد اولیه لیستریا در روز اول آزمایش حدود $3 \log$ کاهش نشان داد ($P < 0.05$). تأثیر غلظت ۲٪ عصاره روغنی نعناع بر لیستریا مونوسیتوزنز تقریباً مشابه غلظت ۱٪ آن بود. به صورتی که در پایان روز ۱۵ پس از آزمایش، حدود $2/9 \times 10^3$ باکتری لیستریا یعنی با $3 \log$ کاهش نسبت روز ابتدای آزمایش شمارش گردید ($P < 0.05$) (شکل ۲).

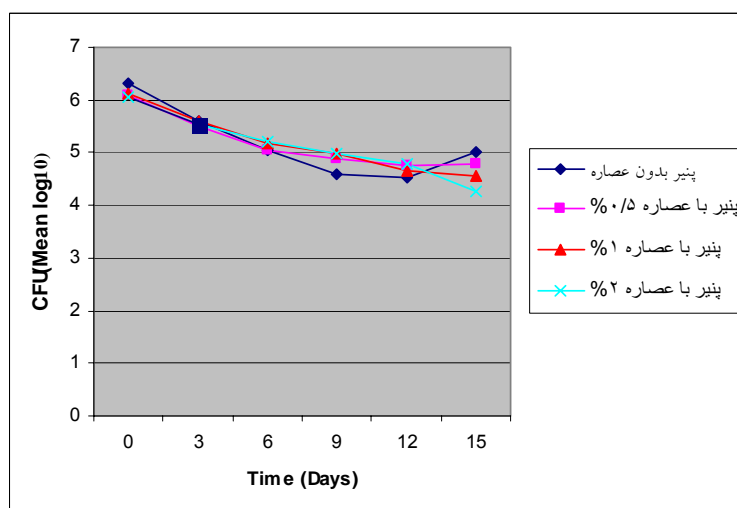
چگونگی اثر غلظتهای مختلف عصاره روغنی نعناع بر لیستریا مونوسیتوزنز در حرارت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در جدول ۲ و شکل ۲ آمده است. در پنیر با عصاره ۰/۵٪ نعناع تعداد $6/3 \times 10^6$ باکتری لیستریا مونوسیتوزنز در هر گرم پس از ۳ روز به حدود $1/1 \times 10^6$ باکتری در هر گرم رسید و در روز ششم آزمایش با $1 \log$ کاهش به حدود $8/6 \times 10^0$ باکتری در هر گرم پنیر رسید. این تعداد در روز پانزدهم آزمایش حدود $2/5 \times 10^0$ باکتری در هر گرم شمارش شد ($P < 0.05$) (شکل ۲). در پنیر با غلظت ۱٪ عصاره نعناع، تعداد $9/6 \times 10^3$ لیستریا در هر گرم با $2 \log$



شکل ۱- اثر غلظت‌های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ عصاره روغنی نعناع بر لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد

جدول ۲- شاخص‌های توصیفی شمارش باکتری لیستریا در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد عصاره نعناع در ۱۵ درجه سانتی‌گراد بر حسب میانگین لگاریتم ۱۰

شاهد	عصاره ۰/۵٪	عصاره ۱٪	عصاره ۲٪
Mean	۵/۸۶	۴/۲۲	۴/۳۲
SD	۰/۳۲۸	۱/۳۷۶	۱/۲۳۴
SE	۰/۱۳۴	۰/۵۶۲	۰/۵۰۴
Min.	۵/۵۳	۳/۳۶	۳/۳۲
Max.	۶/۴۵	۶/۹۸	۶/۵۶



شکل ۲- اثر غلظت‌های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ عصاره روغنی نعناع بر لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد

بحث

اثرهای ضد میکروبی نعناع روی برخی از عوامل عفونی ویروسی، قارچی و باکتریایی مورد بررسی محققان قرار گرفته است. در بررسی اثر ضد ویروسی عصاره نعناع، گزارش شده که منتون (Menthone) روی ویروسهای آنفولانزا، هرپس، نیوکاسل و چند ویروس دیگر مؤثر است (Hermann & Kusera, 1967). در چندین تحقیق که به صورت جداگانه صورت گرفته است اثرهای ضد قارچی عصاره نعناع مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده است که این ماده دارای اثرهای ضد قارچی روی کاندیدا آلبیکانس، اسپرژیلوس آلبوس و قارچهای درمانوفیت است (Flamin et al., 1999; Ela kady et al., 1993). از مجموع این مطالعاتی که در ارتباط با اثرهای ضد باکتری نعناع صورت گرفته است، می توان استنباط نمود که ترکیبهایی چون کارون، لیمون و پولگون، در این گیاه دارای اثر مشخص ضد باکتری هستند (Agrawal et al., 2002; Naire et al., 1996). Flamin و همکاران (۱۹۹۹) نیز، اثر ضد باکتریایی لیمون، منتول، پولگون و منتون بر باکتریایی چون سالمونلا و لیستریا را مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که پولگون دارای بیشترین اثر روی سالمونلاست. در عین حال در تحقیقی، اثر مقایسه‌ای عصاره گیاه *Mehtha spicata* با چند گیاه دیگر بر استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که عصاره *Mehtha spicata* دارای اثر شدیدتری نسبت به عصاره سایر گیاهان مورد آزمایش دارد (Ela kady et al., 1993). به طور کلی اثرهای ضد باکتریایی عصاره و اسانس نعناع بر میکروارگانیسمهای

مختلف به غلظت نعناع، ترکیب ماده غذایی، درجه حرارت نگهداری ماده غذایی و سرشت و طبیعت ارگانیسم بستگی دارد (Imai et al., 2001). متابولیت‌های فنلی موجود در گیاهانی چون نعناع توانایی این را دارند که یک هیدروژن از گروه هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک خود رها کرده و باعث اکسیداسیون رادیکالهای آزاد چربیها و دیگر بیومولکولهای غشاء سلولی و تخریب آن شوند و به این صورت خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی خود را اعمال می‌کنند (Strycharz & Shetty, 2002). مقایسه نتایج بدست آمده از تأثیر غلظتهای مختلف عصاره نعناع بر باکتری لیستریا مونوسی‌توزنز در دو درجه حرارت ۷ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد در این مطالعه مؤید نظرات بالاست. بررسی نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که ویژگی مهارکنندگی عصاره نعناع به‌ویژه در غلظتهای ۱٪ و ۲٪ در حرارت ۱۵ درجه سانتی‌گراد سریع‌تر و مؤثرتر از ۷ درجه سانتی‌گراد بوده و از نظر آماری معنی‌دار است. از آنجایی که لیستریا مونوسی‌توزنز یک باکتری سرمادوست است، وقتی در درجه حرارت پایین قرار می‌گیرد پس از اینکه مدت زمانی را جهت سازگاری با محیط جدید خود طی نمود وارد فاز لگاریتمی شده و در این مرحله رشد، تأثیر عصاره نعناع افزایش می‌یابد. در این شرایط نگهداری، عصاره نعناع نه تنها از رشد باکتری لیستریا جلوگیری نموده بلکه تعداد آن را به میزان قابل توجهی (log ۲-۳) کاهش داد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله به این وسیله تشکر و سپاس خود را

oil of *Calamintha nepta* and its constituent pulegon against bacteria and fungi. *Phytotherapy Research*, 13(4): 349-351.

- Fuchs, R.S. 1989. Incidence of *Listeria* in tropical fish and fishery products. *Journal of Applied Microbiology*, 9: 49-51.
- Gunaseua, D.K., Kodikara, C.P., Ganepola, K., Widanapathriana, S., 1995. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Sri Lanka. *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*, 23(3): 107-114.
- Hermann, E.C. and Kusera, L.S., 1967. Antiviral substances in plants of the mint family labiatae. Peppermint (*Mentha Piperita*) and other mint plants. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 124: 874-878.
- Imai, H., Osawa, K., Yasuda, H., Hamashima, H., Arai, T. and Sasatsu, M., 2001. Inhibition by the essential oils of peppermint and spearmint of the growth on pathogenic bacteria. *Microbes Journal*, 106(1): 31-39.
- Naigre, R., Kalck, P., Paques, C., Roux, I. and Michel, G., 1996. Comparison of the antimicrobial properties of monoterpenes and their carbonylated products. *Journal of Plant Medicine*, 62(3): 275-277.
- Rudol, M. and Scherer, S., 2001. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 63(1-2): 91-98.
- Strycharz, S. and Shetty, K. 2002. Peroxidase activity and phenolic content in elite clonal lines of *Mentha pulegium* in response to polymeric dye R-478 and *Agrobacterium rhizogenes*. *Process Biochemistry*, 37: 805-812.

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد و شرکت دارویی باریج اسانس کاشان که در انجام این تحقیق یاری کردند، اعلام می‌دارند.

منابع مورد استفاده

- زرگری، ع.، ۱۳۷۳. گیاهان دارویی. جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، ۹۷۰ صفحه.
- Agrawal, K.K., Khanuja, S.P.S., Ateeque, A., Santha Kumar, T.R., Gupta, V.K. and Kumar, S., 2002. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anthum sowa*. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(1): 59-63.
- Bending, J., 1989. A *Listeria* in hospital. *Journal of Lancet*, 6: 616-617.
- Cordano, A.M. and rocourt, J., 2001. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile. *International Journal of Food Microbiology*, 70(1-2): 175-178.
- Ela Kady, I.A., El Maraghy, S.S.M. and Mostafa, M.E., 1993. Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices. *Qatar University Science Journal*, 13: 63-69.
- Feo, V.D., Ricciardi, A.I., Biscardi, D. and Senatore, F., 1998. Chemical composition and antimicrobial screening of the essential oil of *Minthostachys verticillate* (Griseb) Ep1 (Lamiaceae). *Journal of Essential oil Research*, 10(1): 61-65.
- Flamin, G., Cioni, P.L., Pleio, R., Morlli, I. and Panizzi, L., 1999. Antimicrobial activity of essential

The effects of oil extract of *Mentha spicata* L. on *Listeria* in a food model

H. Moshtaghi^{1*} and M. Boniadian²

1* - Corresponding Author, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, E-mail: moshtaghi@vet.sku.ac.ir

2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: January 2008

Revised: August 2008

Accepted: August 2008

Abstract

Natural preservatives usage in food has attracted more consumers nowadays. In this investigation, the effect of mint (*Mentha spicata* L.) essential oil (0.5%, 1%, 2% v/w) on *Listeria monocytogenes* in pasteurized soft cheese inoculated at 10^6 cfug⁻¹, at 7°C and 15°C for a period of 15 days was studied. At 7°C *listeria monocytogenes* after 15 days in all concentrations declined 2 to 3 log, but at 15°C with 0.5% extract only 1 log decline was observed. Concentrations of 1% and 2% *Mentha spicata* had more bactericidal effect on *Listeria monocytogenes* at 15°C. The results obtained in this study showed that *Mentha spicata* has antilisterial activity.

Key words: *Listeria monocytogenes*, *Mentha spicata*, extract, cheese.