



بررسی ترکیبات شیمیایی و ضد میکروبی عصاره گیاه پونه (*Mentha pulegium*) بومی

مشگین شهر و نمین

سیده معصومه هاشمی نیا^{۱*}، منیژه جمشیدی^۲

۱- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران.

۲- استادیار، گروه گیاه پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۳	در این پژوهش، ترکیبات شیمیایی عصاره ان-هگزانی گیاه پونه بومی مناطق مشگین شهر و نمینو همچنین اثر ضد میکروبی آن بر باکتری های <i>سودوموناس آئروجینوزا</i> (ATCC 27853) و <i>باسیلوس سرئوس</i> (ATCC 11778) با دو روش تکنیک رقت در لوله (ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت باکتری کشی) و روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج، مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره های مذکور سیس-پیپریتون اپوکسید، پیپریتون اکسید و پولگون شناسایی شدند. علاوه بر این حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت باکتری کشی عصاره های ان-هگزانی گیاه پونه مربوط به مناطق مختلف علیه باکتری <i>سودوموناس آئروجینوزا</i> مشابه هم و به میزان ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش گردید. از سوی دیگر حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت باکتری کشی عصاره ان-هگزانی گیاه پونه مشگین شهر علیه باکتری <i>باسیلوس سرئوس</i> به ترتیب برابر ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر در حالی که علیه باکتری <i>باسیلوس سرئوس</i> مشابه هم و به میزان ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر اندازه گیری گردیدند. همچنین نتایج ارزیابی آزمون دیسک دیفیوژن نشان داد که هاله عدم رشد عصاره ان-هگزانی نمونه های به دست آمده از منطقه مشگین شهر علیه هر دو باکتری بیشتر از هاله عدم رشد نمونه های به دست آمده از منطقه نمین بودند.
کلمات کلیدی: باسیلوس سرئوس، پونه، سودوموناس آئروجینوزا، عصاره، ضد باکتریایی.	
* مسئول مکاتبات: mhasheminia@riau.ac.ir	
DOI: 10.22034/FSCT.19.130.97 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.9.8	

۱- مقدمه

افزایش روزافزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، منجر به ایجاد سیستم‌های مدیریت جایگزین برای استفاده از ترکیبات طبیعی ضدباکتریایی برای کنترل عوامل بیماری‌زا شده است [۱]. امروزه به دلیل خاصیت سمی و سرطان‌زایی ترکیبات شیمیایی و سنتزی، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌های مزمن توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده و از این رو، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌تواند جایگزینی مناسب و ایمن در مواد غذایی باشند [۲]. به عبارت دیگر عصاره‌های گیاهی و اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی مانند فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت‌های دیگر را از خود نشان داده و نقش مهمی در درمان برخی بیماری‌های عفونی ایفای نمایند. علاوه بر موارد مذکور، امروزه با افزایش سطح آگاهی و نگرانی‌های موجود پیرامون عوارض جانبی ترکیبات شیمیایی و ایجاد مقاومت‌های دارویی، نگرش جدیدی نسبت به استفاده از نگهدارنده‌های گیاهی در مواد غذایی پدیدار گردیده است و تمایل به مصرف محصولات فاقد نگهدارنده و یا با نگهدارنده‌های طبیعی رو به افزایش می‌باشد [۳]. گزارش‌های زیادی در رابطه با خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی بر روی باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا وجود دارد. ثابت شده است که برخی از فراورده‌های گیاهی نظیر عصاره‌ها دارای اثرات بیولوژیک و فارماکولوژیک متعددی بوده و دارای اثرات ضد میکروبی و ضد عفونی هستند [۴ و ۵]. از سوی دیگر در سال‌های اخیر فناوری‌های جدید و متنوعی به منظور کاهش مدت‌زمان عصاره‌گیری، کاهش میزان حلال مصرفی، افزایش بازده استخراج و بهبود کیفیت عصاره‌های حاصله توسعه یافته‌اند. در این راستا توجه به مواردی از جمله خصوصیات ماده گیاهی، انتخاب حلال مناسب و دقت در مراحل عصاره‌گیری ضروری می‌باشد [۶]. یکی از گیاهان دارویی پر مصرف در ایران، گیاه پونه *Mentha longifolia* از تیره *Lamiaceae* بوده که

به صورت خودرو در زیستگاه‌های مرطوب، زمین‌های جنگلی و حتی مکان‌های خشک، در امتداد جاده‌ها و زمین‌های زراعی و نواحی کوهستانی رشد می‌کند. برگ‌ها و جوانه‌های تازه آن به دلیل داشتن ترکیبات بیوشیمیایی مختلفی از جمله اسید سینامیک، اگلیکون، گلیکوزاید یا فلاونوئیدهای استیل‌ه شده، استرادیول‌های گلیکوزایدی و روغن‌های ضروری نظیر ۸ و ۱-کینول، منتول، کاروون، لیمونن، اکسید پیپتریتون و پولگون دارای خاصیت ضدقارچی، ضدالتهابی، ضد میکروبی، گندزدایی، ضد عفونی‌کنندگی و آنتی‌اکسیدانی است. همچنین این گیاه دارای اثر کشندگی و بازدارندگی روی باکتری‌ها و مخمرها است و اثرات ضدقارچی آن نیز اثبات شده است [۷]. باسیلوس سرئوس، باسیل گرم مثبت، اسپوردار، هوازی و یا بی‌هوازی اختیاری از خانواده باسیلاسه است و اکثراً به شکل زنجیر به دنبال یکدیگر قرار می‌گیرند. این باکتری متحرک، همولیتیک فعال، کاتالاز مثبت، مقاوم به پنی‌سیلین، فاقد رشد ریزوئید است. دمای مناسب رشد این باکتری ۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس است ولی تا دمای ۴۸ درجه سلسیوس و در دمای پایین‌تر از ۷ درجه سلسیوس نیز قادر به رشد می‌باشد. همچنین pH مناسب برای رشد آن ۴/۹ تا ۹/۳ است. باسیلوس سرئوس یک پاتوژن غذازاد است که از شایع‌ترین عوامل مسمومیت غذایی به شمار می‌رود. این باکتری انواع مختلفی توکسین تولید می‌کند که در میان آن‌ها دو نوع آن با مسمومیت غذایی همراه هستند. یکی انتروتوکسین حساس به حرارت، مسئول سندرم اسهالی، دیگری توکسین مقاوم به حرارت که با سندرم استفراغی همراه است. این باکتری از مهم‌ترین بیماری‌زاهای مواد غذایی مختلف همچون لبنیات، غلات، برنج و نیز مواد گوشتی می‌باشد [۸]. سودوموناس آئروجینوزا باکتری گرم منفی، میله‌ای شکل، متحرک، کاتالاز مثبت و هوازی است که در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و pH ۵/۸ تا ۸ به خوبی رشد می‌کند. این باکتری گستردگی زیادی در محیط‌های طبیعی داشته و بیماری‌زای فرصت‌طلب محسوب می‌شود [۸]. سودوموناس آئروجینوزا بخشی از فلور طبیعی گلو، غشاهای مخاطی و پوست بدن انسان بوده و در محیط‌های گرم و مرطوب به خوبی رشد و

دادند که عصاره متانولی ریشه و اندام هوایی گیاه گل میمونی سازی، اثر ضد میکروبی بر روی باکتری باسیلوس سرئوس دارد [۱۶]. در پژوهشی دیگر، خسروی و همکاران (۱۳۹۴) اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی بره موم را علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و سودوموناس آئروجینوزا مورد ارزیابی قراردادند و خاصیت بازدارندگی و ضدباکتریایی آن را گزارش نمودند [۱۷].

حال با توجه به اثر بازدارندگی عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی بر رشد باکتری‌ها و خوراکی بودن آن‌ها و افزایش شیوع سوش‌های مقاوم باکتریایی، مطالعه حاضر با هدف بررسی و شناسایی ترکیبات عصاره‌های ان-هگزانی گیاه پونه بومی مشکین شهر (کد: ۳۵۷۴۰) و نمین (کد: ۳۷۰۰۷) و همچنین بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های استخراج شده از گیاه مذکور علیه باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا و باسیلوس سرئوس با دو تکنیک رقت در لوله^۱ (ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) و همچنین روش دیسک دیفیوژن انجام پذیرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

سویه‌های استاندارد لیوفلیزه شده سودوموناس آئروجینوزا (ATCC 27853) و باسیلوس سرئوس (ATCC 11778) که از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تهیه شده بودند و در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری می‌شدند، از فریزر خارج و در شرایط استریل، ۵۰ میکرولیتر از آن‌ها برای احیا به مدت ۱۶ ساعت در محیط تریپتون سوی براث (Tryptic soy broth: TSB) کشت داده شدند تا کلنی‌های باکتری روی آن ظاهر شوند و سپس به ترتیب در محیط‌های تریپتیک سوی آگار (Tryptic soy agar: TSA) و دکستروز کازئینپتون آگار (Dichloran

تکثیر می‌یابند. سودوموناس آئروجینوزا در مکان‌هایی نظیر استخرها و چشمه‌های آبگرم نیز که در تماس مداوم با پوست و ترشحات بدن می‌باشند رشد کرده و برای شناگران مشکلات بهداشتی از جمله التهاب و عفونت‌های پوستی ایجاد می‌نماید [۹]. باکتری‌های گرم منفی به خصوص سودوموناس آئروجینوزا مقاومت ذاتی به پنی‌سیلین و اکثر پادزیست‌های بتالاکتام دارند، ولی به آنتی‌بیوتیک‌های پی‌پراسیلین، سیپروفلوکساسین، تورامایسین و ایمپنم حساسیت نشان می‌دهند [۱۰]. درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط سودوموناس آئروجینوزا در افراد دچار سوختگی‌های شدید بسیار مشکل می‌باشد، زیرا این باکتری مقاومت بالایی به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های رایج دارد [۸]. پارک و همکاران (۲۰۰۰)، اثر عصاره آبی بره موم را بر باکتری سودوموناس آئروجینوزا و باسیلوس سرئوس بررسی کردند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد، عصاره آبی تأثیر یکسان بر این دو باکتری دارد [۱۱]. والرو و سالمرون (۲۰۰۳)، به بررسی اثرات ضد میکروبی یازده عصاره گیاهی علیه باکتری باسیلوس سرئوس پرداختند. نتایج نشان داد که به ترتیب عصاره‌های نعناع فلفلی، مریم‌گلی و آویشن در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۳۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌تواند رشد باکتری باسیلوس سرئوس را مهار کنند [۱۲]. گول و همکاران (۲۰۱۲) فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سیر را روی باکتری سودوموناس آئروجینوزا و تعدادی باکتری گرم مثبت و منفی مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که همه این باکتری‌های مورد آزمایش به عصاره‌های تحت مطالعه حساس هستند [۱۳]. ذاکرین و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی فعالیت ضد میکروبی گیاه زنیان منطقه فارس نشان دادند که بزرگ‌ترین قطر هاله ممانعت از رشد عصاره زنیان در خصوص باکتری سودوموناس آئروجینوزا /شریشیاکلی بوده است [۱۴]. در مطالعه دیگری که توسط طاهرپور و همکاران (۲۰۱۶)، انجام شد، گزارشی مبنی بر اثر ضد میکروبی بالاتر چای سبز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم، سفتازیدیم و آزترئونام بر روی سودوموناس آئروجینوزا منتشر گردید [۱۵]. صفوی و همکاران (۱۳۹۲) نشان

1. Broth microdilution test

شد. دستگاه مورد نظر مدل Agilent ۷۸۹۰B و مجهز به ستون HP-۵ MS به ابعاد ۳۰m، قطر داخلی ۲۵۰mm و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر بود. از گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌متر بر دقیقه استفاده شد. برنامه دمایی از ۵۰ تا ۲۸۰ درجه سلسیوس با افزایش ۳ درجه سلسیوس بر دقیقه تنظیم گردید [۱۸].

۲-۳- ارزیابی ویژگی ضد میکروبی

۲-۳-۱- ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی^۲ (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی^۳ (MBC)

منظور از MIC، غلظتی از یک ترکیب است که می‌تواند رشد باکتری را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند و منظور از MBC، حداقل غلظتی از آن است که باکتری را از بین می‌برد [۱۹]. جهت بررسی تعیین حداقل غلظت‌های بازدارنده یا MIC از روش رقت در لوله استفاده شد. بدین منظور ۱۰ لوله آزمایش استریل از یک تا ۱۰ شماره گذاری شدند. در شرایط استریل، ۳/۲ میلی‌گرم از عصاره مورد نظر با ۱۶/۸ میلی‌لیتر از محیط مولر هیتون براث حل شد (غلظت ۰/۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و یک میلی‌لیتر از آن وارد لوله شماره یک و شماره دو گردید. سپس از محیط کشت مولر هیتون براث استریل به میزان یک میلی‌لیتر در لوله‌های شماره دو (غلظت عصاره در لوله شماره دو به ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید) تا ۱۰ اضافه شد. جهت تهیه سری رقت، محتویات لوله شماره ۲ خوب مخلوط شده و یک میلی‌لیتر از آن به لوله شماره سه (غلظت عصاره در لوله شماره سه به ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید) اضافه شد. سپس از لوله سه به لوله چهار و به همین ترتیب تا لوله شماره نه ادامه یافت. در پایان از لوله نه یک میلی‌لیتر برداشته و دور ریخته شد (غلظت عصاره در لوله شماره ۹ به ۰/۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید). از سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند به هر لوله یک میلی‌لیتر اضافه شد. حجم نهایی هر لوله دو میلی‌لیتر بود. لوله ۱۰ به عنوان کنترل مثبت و حاوی یک میلی‌لیتر محیط کشت

(chloramphenicol peptone agar: DCPA) خالص‌سازی شدند. همچنین سویه‌های مقاوم هر دو باکتری از نمونه‌های بیمارستانی ارجاع شده به آزمایشگاه توسط تهیه شدند. از سوی دیگر به منظور انجام تست آنتی‌بیوگرام از محیط کشت‌های مولر هیتون آگار (Muller Hinton Agar: MHA) و محیط کشت مولر هیتون براث (Mueller Hinton Broth: MHB)، دیسک‌های آنتی‌بیوگرام شامل تراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، اریترومیسین (۳۰ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۳۰ میکروگرم)، استرپتومایسین (۳۰ میکروگرم)، ریفامپین (۱۰ میکروگرم) و انکومایسین (۳۰ میکروگرم) و آمیکاسین (۳۰ میکروگرم) استفاده شد.

۲-۲- عصاره‌گیری از گیاه پونه و شناسایی

ترکیبات عصاره‌ها

عصاره‌های ان-هگزان نهایی با روش سوکسله (سه‌ساعت) به صورت شیره غلیظ (تقریباً جامد) با رنگ و بوی غلیظ آماده شدند. میزان عصاره و در واقع غلظت نهایی (استوک) برای نمونه‌های جمع‌آوری شده از مشکین شهر ۰/۲۸ میلی‌لیتر بر گرم و برای نمونه‌های جمع‌آوری شده از نمین ۰/۲۹ میلی‌لیتر بر گرم بودند. عصاره‌های تهیه‌شده در میکروتیوب‌های تیره‌رنگ ریخته و در فویل آلومینیومی پیچیده شدند و درب آن‌ها محکم موم اندود گردید. برای اطمینان از آب‌گیری عصاره‌ها مقداری سولفات سدیم به آن‌ها اضافه شد و تا هنگام تعیین ویژگی ضدباکتریایی در دمای یخچال نگهداری شدند. به منظور شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، عصاره‌های تهیه شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی تزریق شد و مناسب‌ترین برنامه‌ریزی برای تعیین نوع، درصد ترکیبات تشکیل دهنده عصاره و همچنین ترتیب زمان خروج و طیف جرمی به دست آمد. شناسایی ترکیبات به وسیله مطابقت با طیف‌های مرجع موجود در بخش کتابخانه دستگاه متصل به رایانه انجام

2. Minimum inhibitory concentration (MIC)

3. Minimum Bactericidal concentration (MBC)

حداکثر ۱۵ دقیقه بعد از گذاشتن دیسک‌ها در سطوح محیط، پلیت‌ها به شکل وارونه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و بهمدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. هرکدام از این آزمایشات برای هر رقت و هر باکتری، سه بار تکرارگردید. بعد از این مدت، قطر هاله‌های عدم رشد تشکیل شده با استفاده از خط‌کش مناسب اندازه‌گیری و ثبت شد و نتایج به صورت حساس^۶ و حد واسط^۷ و مقاوم^۸ تفسیر شدند [۱۹]. برای تهیه دیسک‌های آغشته به عصاره‌ها نیز از رقت نهایی به دست آمده برای MBC استفاده گردید. برای تهیه دیسک‌های حاوی عصاره، ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های رقیق شده جذب دیسک‌های بلانک شده و سپس دیسک‌های آغشته به عصاره به مدت ۲۴ ساعت داخل فور با دمای ۴۰°C قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. از یک دیسک آغشته به حلال نیز به عنوان شاهد استفاده شد.

۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این پژوهش، از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵٪ و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی عصاره‌های ان-هگزانی پونه نمونه‌های مشکین شهر و نمین در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به داده‌ها و نتایج به دست آمده از طیف GC/MS، ترکیبات تشکیل دهنده عصاره ان-هگزانی نمونه‌های مشکین شهر و نمین به ترتیب شامل ۲۱ و ۲۰ ترکیب بودند. ترکیبات اصلی عصاره ان-هگزانی پونه نمونه مشکین شهر شامل سیس-پیریتنون اپوکسید (۴۶/۳۱٪)، پیریتنون اکسید (۳۱/۶۴٪)، پولگون (۱۴/۹۷٪) و متون (۱٪) و ترکیبات اصلی عصاره ان-هگزانی پونه نمونه نمین حاوی پیریتنون اپوکسید (۶۷/۷۸٪)، پیریتنون اکسید (۲۲/۶۵٪)، پولگون (۲/۶۴٪) گزارش گردیدند.

و یک میلی‌لیتر باکتری اما لوله یک به عنوان کنترل منفی و حاوی یک میلی‌لیتر ماده ضد میکروبی و یک میلی‌لیتر باکتری بودند. لوله‌ها به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه گردیدند. سپس لوله‌ها از نظر وجود کدورت بررسی شدند. در نهایت غلظت اولین لوله فاقد کدورت، MIC یا حداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری (باکتریواستاتیک) در نظر گرفته شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره، از لوله‌های شفاف که رشد در آن‌ها مهار شده بود به کمک سوآپ استریل روی سطح محیط کشت جامد مولر هیتون آگار کشت داده شد و پلیت‌ها ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. کم‌ترین غلظت عصاره که در آن غلظت هیچ باکتری زنده نمانده بود بیان کننده میزان حداقل باکتری‌کشی یا MBC آن عصاره در نظر گرفته شد [۱۹].

۲-۳- روش دیسک دیفیوژن^۴

برای انجام آزمایش دیسک دیفیوژن کربی بائر با توجه به دستورالعمل‌ها و جدول پیشنهادی رفرنس CLSI^۵ بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مختلف به عنوان شاهد برای سودوموناس آئروجینوزا و باسیلوس سرئوس به شرح زیر انجام شد: الف) پس از تهیه نمونه تلقیحی معادل ۰/۵ مک فارلند، حداکثر تا ۱۵ دقیقه، یک سوآپ استریل پنبه‌ای وارد آن گردید و به خوبی با سوسپانسیون باکتری آغشته شد و سپس رطوبت اضافی سر سوآپ با فشردن بر لبه دیواره لوله مذکور گرفته شد. ب) سوآپ آغشته به سوسپانسیون باکتریایی روی سطح محیط کشت جامد مولر هیتون ۳ بار در سه جهت مختلف تلقیح شد (پس از هر بار تلقیح، پلیت در حدود ۶۰ درجه چرخانده شد و عمل کشت تکرار گردید). ج) در نهایت حداکثر تا ۱۵ دقیقه پس از تلقیح، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی و همچنین دیسک‌های حاوی عصاره‌ها، در کنار شعله، به کمک یک پنس استریل برداشته و با رعایت فاصله از همدیگر در پلیت و در سطح محیط کشت قرار داده شدند و با ایجاد فشار کم با نوک پنس، روی محیط کشت ثابت گردیدند.

6. Susceptible
7. Intermediate
8. Resistant

4. The disc diffusion method
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

Table 1 The chemical constituents of n-hexane extract of wild mint in Meshginshahr and Namin

Row	Chemical compounds	Meshginshahr samples	Namin samples	Row	Chemical compounds	Meshginshahr samples	Namin samples
1	<i>trans</i> -2-hexenal	-	-	19	DL-Isoborneol	-	-
2	2,5-diethyltoluene	0.03	0.03	20	Borneol	-	-
3	α -Pinene	0.29	0.5	21	p-Menth-8-en-3-one	-	-
4	Camphene	0.1	-	22	Pulegone	14.97	2.64
5	Sabinene	0.17	0.29	23	Piperitenone oxide	31.64	22.65
6	β -Pinene	0.39	0.59	24	1,1-Bicyclopentyl	0.19	-
7	β -Myrcene	0.14	0.36	25	Isopiperitenone	0.12	-
8	3-Octanol	0.12	0.38	26	Acetic acid	-	-
9	Limonene	0.45	0.53	27	Piperitenone	-	0.1
10	1,8-Cineole	1	0.29	28	Cis Piperitenone oxide	46.31	67.78
11	γ -Terpinene	-	-	29	Caryophyllene	-	1.59
12	p-Mentha-3,8-diene	-	-	30	α -Caryophyllene	-	0.06
13	α -Terpinolene	-	-	31	β -Caryophyllene	0.59	-
14	Butanoic acid	0.03	-	32	<i>trans</i> - β -farnesene	0.03	0.07
15	Menthone	1.88	0.38	33	Germacrene D	0.12	0.16
16	Menthofuran	-	-	34	Germacrene B	-	-
17	Isopulegone	0.25	0.18	35	9,10-dehydro, Isolongifolene	-	-
18	Benihinal	-	0.08	36	Caryophyllene oxide	0.17	0.23

(1778) نشان می‌دهند. مطابق جدول ۲، میزان MIC عصاره‌های ان-هگزانی گیاه پونه نمونه‌های مشکین شهر و نمین در برابر باکتری استاندارد سودوموناس آئروجینوزا مشابه همدیگر و به مقدار ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان MIC عصاره ان-هگزانی هر دو نمونه مذکور در برابر باکتری مقاوم سودوموناس آئروجینوزا ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردیدند. همچنین میزان MBC هر دو نمونه عصاره بر باکتری استاندارد سودوموناس آئروجینوزا مشابه یکدیگر و به میزان ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اما میزان MBC هر دو نمونه در برابر باکتری مقاوم سودوموناس آئروجینوزا ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شدند. مطابق جدول ۳، میزان MIC عصاره‌های ان-هگزانی گیاه پونه نمونه‌های مشکین شهر و نمین در برابر باکتری استاندارد باسیلوس سرئوس به ترتیب ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان MIC عصاره ان-هگزانی هر دو نمونه مذکور در برابر باکتری مقاوم باسیلوس سرئوس ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردیدند. همچنین میزان MBC هر دو نمونه عصاره بر باکتری استاندارد باسیلوس سرئوس ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اما میزان MBC هر دو نمونه در برابر باکتری مقاوم باسیلوس سرئوس ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شدند.

در پژوهش‌های مشابه، ترکیبات شیمیایی اسانس پونه مورد ارزیابی قرار گرفته است. محمودی و همکاران (۲۰۱۱)، ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس پونه کوهی بومی اردبیل را پولگون (۳۱/۵۴٪) و سینولون (۱۵/۸۹٪) معرفی نمودند [۱۸]. گلوچ و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهشی دیگر ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس پونه کوهی بومی ترکیه را سیس-پیریتون اپوکسید (۱۸/۴٪)، پولگون (۱۵/۵٪)، پیریتون اکسید (۱۴/۷٪) و تیمول (۶/۶٪) معرفی کردند [۲۰]. بررسی نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که تفاوت‌هایی در ترکیبات سازنده اسانس و عصاره‌های مناطق مختلف وجود دارد. سن گیاه، شرایط کشت، منطقه جغرافیایی، دما، طول روز، زمان برداشت، اندام مورد اسانس و عصاره‌گیری، تکنیک‌های اسانس و عصاره‌گیری و شرایط آب و هوایی نقش مهمی در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و عصاره‌ها دارند. به عبارت دیگر عوامل مذکور بر بیوسنتز مسیرهای گیاهی و متعاقب آن بر مقادیر ترکیبات اصلی تاثیر گذارند [۳].

جدول‌های ۲ و ۳ مقادیر MIC و MBC عصاره‌های ان-هگزانی گیاه پونه نمونه‌های مشکین شهر و نمین را به ترتیب بر روی باکتری‌های استاندارد و مقاوم سودوموناس آئروجینوزا (ATCC 27853) و باسیلوس سرئوس (ATCC

Table 2 MICs and MBCs of the extracts against the standard strain of *P. aeruginosa*(ATCC 27853) and the resistant strains

Resistant		Standard		N-hexanic extracts of <i>Mentha pulegium</i> Meshginshahr Namin
MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	
80	40	20	10	
80	40	20	10	

Table 3 MICs and MBCs of the extracts against the standard strain of *B. cereus* (ATCC 11778) and the resistant strains

Resistant		Standard		N-hexanic extracts of <i>Mentha pulegium</i> Meshginshahr Namin
MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	
80	20	10	5	
80	20	10	10	

ان-هگزانی گیاه پونه بر روی باکتری استاندارد باسیلوس سرئوس، در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مشکین شهر در غلظت ۱۰ µg/ml به ترتیب در ۳ تکرار برابر با ۴۲، ۳۹ و ۳۹/۵ میلی‌متر و برای نمونه‌های جمع‌آوری شده از نمین و در همان غلظت معادل ۳۳/۳، ۲۹ و ۳۰/۹ تعیین گردید. همچنین قطر هاله عدم رشد عصاره ان-هگزانی گیاه دارویی پونه بر روی باکتری مقاوم باسیلوس سرئوس، در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مشکین شهر و در غلظت ۸۰ µg/ml به ترتیب در تکرار اول، دوم و سوم برابر با ۱۷/۸، ۱۸/۹ و ۱۸ میلی‌متر و در نمونه‌های جمع‌آوری شده از نمین و در همان غلظت برابر با ۱۴/۵، ۱۳/۷ و ۱۴/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

مطابق جدول ۴ قطر هاله عدم رشد عصاره ان-هگزانی گیاه پونه بر روی باکتری استاندارد سودوموناس آئروجینوزا، در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مشکین شهر و در غلظت ۲۰ µg/ml به ترتیب در ۳ تکرار برابر با ۳۲، ۳۰/۵ و ۳۰ میلی‌متر و برای نمونه‌های جمع‌آوری شده از نمین و در همان غلظت معادل ۲۲/۲۴، ۲۲/۱ و ۲۲ میلی‌متر تعیین گردید. همچنین قطر هاله عدم رشد عصاره ان-هگزانی، در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مشکین شهر در غلظت ۸۰ µg/ml بر روی باکتری سودوموناس آئروجینوزا مقاوم به ترتیب در تکرار اول، دوم و سوم برابر با ۱۸، ۱۸/۲ و ۱۶ میلی‌متر و در نمونه‌های جمع‌آوری شده از نمین و در همان غلظت برابر با ۱۲/۸، ۱۴ و ۱۱/۳ میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. از سوی دیگر و مطابق جدول ۵، قطر هاله عدم رشد عصاره

Table 4 IZDs of the extracts against the standard strain of *P. aeruginosa* (ATCC 27853) and the resistant strains

Resistant		Standard		Replication	N-hexanic extracts of <i>Mentha pulegium</i>
Inhibition Zone(S)(mm)	Concentration (µg/ml)	Inhibition Zone(S)(mm)	Concentration (µg/ml)		
18 ^a		30 ^a		First replication	Meshginshahr
18.2 ^a	80	30.5 ^a	20	Second replication	
16 ^a		31 ^a		Third replication	
12.8 ^b		24 ^b		First replication	Namin
14 ^b	80	22.1 ^b	20	Second replication	
12.3 ^b		22.7 ^b		Third replication	

In each column, mean that at least one letter in common, according to Duncan's test, not significant difference at 5%

Table 5 IZDs of the extracts against the standard strain of *B. cereus* (ATCC 11778) and the resistant strains

Resistant		Standard		Replication	N-hexanic extracts of <i>Mentha pulegium</i>
Inhibition Zone(S)(mm)	Concentration (µg/ml)	Inhibition Zone(S)(mm)	Concentration (µg/ml)		
17.8 ^a		42 ^a		First replication	Meshginshahr
18.9 ^a	80	39 ^a	10	Second replication	
18 ^a		39.5 ^a		Third replication	
14.5 ^b		33.3 ^b		First replication	Namin
13.7 ^b	80	29 ^b	10	Second replication	
14.1 ^b		30.9 ^b		Third replication	

In each column, mean that at least one letter in common, according to Duncan's test, not significant difference at 5%

پلاسمیک می‌باشند که هیچ‌کدام از آن‌ها در باکتری‌های گرم مثبت دیده نمی‌شود. غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی به‌عنوان یک سد برای نفوذ مولکول‌های آنتی‌بیوتیک گوناگون شناخته می‌شود. از طرف دیگر این غشا از نفوذ هیدروفیل به داخل باکتری جلوگیری می‌نماید. فضای پری پلاسمیک هم شامل آنزیم‌های زیادی می‌باشد که قادر به تجزیه‌ی مولکول‌های خارجی که از فضای بیرون وارد شده‌اند، می‌باشند [۲۳].

جدول‌های ۶ و ۷، الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی (قطر هاله عدم رشد) آنتی‌بیوتیک‌ها را بر روی باکتری‌های استاندارد *سودوموناس آئروجینوزا* (ATCC 27853) و *باسیلوس سرئوس* (ATCC 11778) در تست آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش انتشار در آگار بر اساس جدول CLSI را نشان می‌دهند. در ارتباط با باکتری‌های استاندارد *سودوموناس آئروجینوزا* (ATCC 27853) مقادیر قطر هاله عدم رشد برای آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (TE)، جنتامایسین (GM)، سیپروفلوکساسین (CP)، کلرامفنیکل (C)، اریترومایسین (E)، نورفلوکساسین (NOR)، استرپتومایسین (S)، ریفامپین (RA)، وانکومایسین (V) و آمیکاسین (AN) به ترتیب - (R)، ۲۲/۵، (S)، ۲۳/۷، (S)، - (R)، ۹/۰، (R)، ۲۷/۲، (S)، - (R)، ۹/۵ (R) و ۲۱/۶ (S) و در ارتباط با باکتری‌های استاندارد *باسیلوس سرئوس* (ATCC 11778) مقادیر قطر هاله عدم رشد برای آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (TE)، جنتامایسین (GM)، سیپروفلوکساسین (CP)، کلرامفنیکل (C)، اریترومایسین (E)، نورفلوکساسین (NOR)، استرپتومایسین (S)، ریفامپین (RA)، وانکومایسین (V) و آمیکاسین (AN) به ترتیب ۲۴/۶ (S)، ۱۹/۲ (S)، ۲۶/۳ (S)، ۲۴/۱ (S)، ۱۷/۱ (I)، ۲۱/۱ (S)، ۱۳/۹ (I)، ۲۸/۳ (S)، ۱۳/۱ (I)، ۲۱/۵ (S) محاسبه گردیدند.

طبق نتایج، تأثیر ضدباکتریایی عصاره ان-هگزانی نمونه‌های مشگین شهر بیشتر از نمونه‌های نمین بود. به طور کلی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها به وجود اجزای فعال و سازنده آن‌ها نسبت داده می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط گلوچ و همکاران (۲۰۰۷) روی ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی عصار متانولی و اسانس پونه کوهیانجام شد، ویژگی ضد میکروبی اسانس به ترکیبات سیس-پیریتون اپوکسید، پیریتون اکسید و پولگون نسبت داده شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۰]. علاوه بر این، اثر ضدباکتریایی عصاره‌های استخراجی هر دو نمونه را می‌توان به حضور ترکیبات فنولی موجود در این عصاره‌ها نسبت داد که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد. فلاونوئیدها گروه گسترده‌ای از ترکیبات فنلی هستند که در پاسخ به عفونت‌های میکروبی در گیاه ساخته شده‌اند و علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها فعال هستند. اثر ضد میکروبی فلاونوئیدها از طریق تشکیل کمپلکس با غشای خارجی باکتری‌ها و پروتئین‌های محلول که به غشا متصل هستند، می‌باشد [۲۱]. علاوه بر این، ترکیبات مذکور بانفوذ در غشای سلولی و شکستن آن باعث اثر ضد میکروبی می‌گردند. از طرفی می‌توان احتمال داد که اثر هم‌افزایی مواد مؤثره گیاه پونه نیز در بروز ویژگی ضدباکتریایی تأثیرگذار باشد [۲۲]. از سوی دیگر مطابق جداول ۴ و ۵، تأثیر هر دو عصاره ان-هگزانی نمونه‌های به دست آمده از مشگین شهر و نمین بر روی *باسیلوس سرئوس* نسبت به *سودوموناس آئروجینوزا* بیشتر بود. دلیل حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره پونه ناشی از ایناست که این باکتری‌ها دارای دیواره سلولی تک لایه هستند درحالی‌که در باکتری‌های گرم منفی این دیواره‌ها از چندلایه تشکیل می‌گردد. به عبارت دیگر باکتری‌های گرم منفی دارای یک غشای بیرونی و یک فضای پری

Table 6 The antibiotic sensitivity patterns (IZDs) of the antibiotics on the standard strain of *P. aeruginosa* (ATCC 27853) in the antibiogram test using the agar diffusion method based on the CLSI tables with one replication

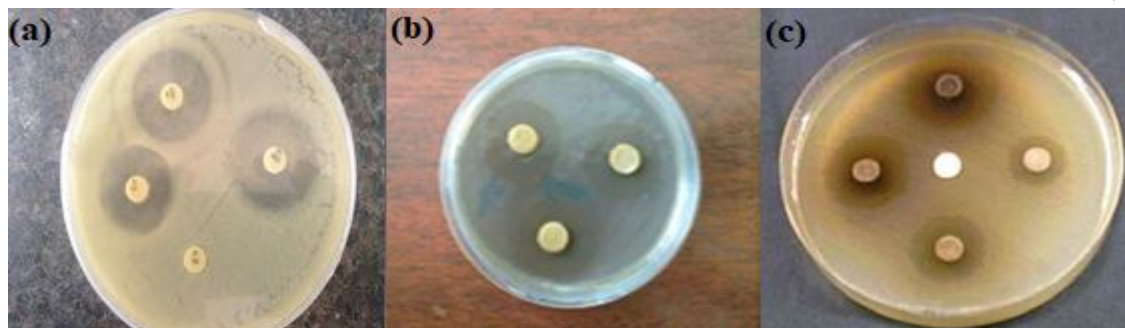
Inhibition Zone (mm)	Concentration(μ g)	Antibiotic	Row
(R) -	30	Tetracycline(TE)	1
(S)22.5	10	Gentamicin(GE)	2
(S)23.7	5	Ciprofloxacin(CP)	3
(R) -	30	Chloramphenicol(C)	4
(R)9	30	Erythromycin(E)	5
(S)27.2	30	Norfloxacin(NOR)	6
(R) -	30	Streptomycin(S)	7
(R) -	10	Rifampin(RA)	8
(R)9.5	30	Vancomycin(V)	9
(S)21.6	30	Amikacin(AN)	10

Table 7 The antibiotic sensitivity patterns (IZDs) of the antibiotics on the standard strain of *B. cereus* (ATCC 11778) in the antibiogram test using the agar diffusion method based on the CLSI tables with one replication

Inhibition Zone (mm)	Concentration(μ g)	Antibiotic	Row
(S) 24.6	30	Tetracycline(TE)	1
(S) 19.2	10	Gentamicin(GE)	2
(S) 26.3	5	Ciprofloxacin(CP)	3
(S) 24.1	30	Chloramphenicol(C)	4
(I) 17.1	30	Erythromycin(E)	5
(S) 21.1	30	Norfloxacin(NOR)	6
(I) 13.9	30	Streptomycin(S)	7
(S) 28.3	10	Rifampin(RA)	8
(I) 13.1	30	Vancomycin(V)	9
(S) 21.5	30	Amikacin(AN)	10

بودند. تصاویر مربوط به آزمون دیسکدیفیوژن آنتی بیوتیک‌ها (a)، عصاره ان-هگزانی نمونه مشگین شهر (b) و عصاره ان-هگزانی نمونه نمین (c) بر روی باکتری‌های استاندارد باسیلوس سرئوس (ATCC 11778) در شکل ۱ نشان داده شده است.

همچنین هاله عدم رشد عصاره‌های ان-هگزانی نمونه مشگین شهر (b) و نمونه نمین (c) در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر روی باکتری استاندارد باسیلوس سرئوس (ATCC 11778) به ترتیب ۴۰/۱۶ و ۳۱/۰۶ میلی‌متر اندازه‌گیری شدند که مقادیر مذکور در مقایسه با نمونه کنترل مثبت جتتامایسین (۱۰ میکروگرم) که به میزان ۱۹/۲ میلی‌متر گزارش گردید، بیشتر

**Fig 1** IZDs of the antibiotic disks (a) the n-hexane extract from the wild mint sample taken in Meshgin Shahr, (b) the n-hexane extract from the wild mint sample taken in Namin, (c) against the standard strain of *B. cereus* (ATCC 11778) using the disk diffusion method

عصاره‌های مورد مطالعه را می‌توان به حضور ترکیباتی مانند سیس-پیریتنون اپوکسید، پیریتنون اکسید و پولگون نسبت داد. حال با توجه به مقاومت‌های دارویی باکتری‌های مختلف در برابر آنتی‌بیوتیک‌های تجاری به نظر می‌رسد استفاده از این ترکیبات ممکن است در آینده جایگزین مناسبی جهت کنترل بیماری‌های عفونی باشد.

۵- منابع

- [1] Hanberger, H., Walther, S., Leone, M., Barie, P. S., Rello, J., and Lipman, J. 2011. Increased mortality associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in the Intensive Care unit: results from the EPIC II study. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 38(4): 331-335.
- [2] Negi, P. S. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*. 156(1): 7-17.
- [3] Hasheminya, S. M., and Dehghannya, J. 2020. Composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* hulls' essential oil. *Food Bioscience*. 34: 100510.
- [4] Haghghi, M., Sharif Rohani, M., Pourmoghim, H., Samadi, M., Tavoli, M., Eslami, M., and Yusefi, R. 2017. Enhancement of immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a diet supplemented with *Aloe vera* extract. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 16(3): 884-896.
- [5] Hasheminya, S. M., and Dehghannya, J. 2020. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Eryngium caucasicum* Trautv aqueous extracts and its antioxidant and antimicrobial properties. *Particular Science and Technology*. 38(8): 1019-1026.
- [6] Zolfaghari, B., and Yegdaneh, A. 2010. Recent advances in extraction methods of medicinal plant components. *Journal Herbal Drugs*. 1(1): 51-5.
- [7] Hassanpour Reyhani, K., Sofalian, O., Zare, N., Asghari, A., and Esmailpour, B. 2017.

مشابه چنین نتایجی توسط سایر پژوهشگران در ارتباط با اسانس‌ها و عصاره‌های استخراج شده از گیاه پونه بومی مناطق مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌های انجام شده اسانس استخراج شده از انواع *Mentha* اثرات ضدباکتریایی قوی از خود نشان داده‌اند [۲۴]. علاوه بر این عصاره متانولی استخراج شده از گیاه پونه نیز اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی علیه طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ‌ها نشان داده است [۲۰]. در پژوهشی دیگر اثر عصاره هیدرو الکلی نعناب روی *تریکوموناس واژینالیس* در محیط برون تنی بررسی گردید. نتایج این بررسی موید اثر مهارکنندگی این عصاره بر روی رشد *تریکوموناس واژینالیس* در محیط کشت بود [۲۵]. در مطالعه‌ای دیگر، نوری‌زاده و همکاران (۲۰۰۴)، با بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های نعناب، شیرین بیان، پونه، بابونه و آویشن بر *هلیکوباکتری پیلوری* اظهار داشتند که عصاره آبی و هیدرو الکلی نعناب بیشترین اثر ضد *هلیکوباکتری پیلوری* را دارد [۲۶]. همچنین در پژوهشی دیگر نجفی و همکاران (۲۰۰۸)، ویژگی ضد میکروبی سه گیاه نعناب، مریم‌گلی و مرزه را بر روی باکتری *اشرشیاکلی* مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از تاثیر ضد میکروبی قدرتمند گیاه نعناب بود [۲۷]. در پژوهش محمودی و همکاران (۲۰۱۲)، مشخص شد که اسانس پونه کوهی از توان ضد میکروبی بسیار بالایی برخوردار بوده و از ترکیب آن با سایر نگهدارنده‌ها جهت محافظت مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت می‌توان استفاده نمود [۲۸].

۴- نتیجه گیری

اجزاء اصلی تشکیل دهنده عصاره‌های ان-هگزانی گیاه پونه نمونه مشکین شهر و نمونه نمین، سیس-پیریتنون اپوکسید، پیریتنون اکسید و پولگون بودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره گیاه پونه بومی مشکین شهر و نمین از ویژگی‌های ضدباکتریایی مناسبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروجینوزا* برخوردار می‌باشند که این موضوع با استفاده از تکنیک رقت در لوله (ارزیابی MIC و MBC) و روش دیسک دیفیوژنتااید گردید. ویژگی ضد میکروبی

- on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal. 18(8):603-614. [In Persian]
- [17] Khosravi, N., and Darvishi, K. 2016. Antimicrobial activity of aqueous and alcoholic extracts of Kurdistan propolis on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 20(6):97- 106. [In Persian]
- [18] Mahmoudi, R., Ehsani, A., Tajik, H., Akhonzade Basti, A., and Khosrowshahi, A. 2011. Antimicrobial effects of *Mentha Longifolia* L. Essential oil and *Lactobacillus casei* against *Staphylococcus aureus* in Iranian White Cheese. Journal of Food Research (University Of Tabriz). 3(1): 147-161.
- [19] Ghasemi, B., Najimi, M., and Ghasemi, J. 2015. Evaluation of Antibacterial Effects of Benzothiazole Derivatives on Bacterial Food Pathogens. Iranian Journal of Medical Microbiology. 9 (1):35-41.
- [20] Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozaer, H., Daferera, D., and Sokmen, A. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil and methanol extract from *Mentha longifolia*. ssp. *longifolia*. Food Chemistry. 103:1449-1456.
- [21] Shahidi, F., and Wanasundara, P. K. J. 1992. Phenolic antioxidant. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 32:67-103.
- [22] Deshpande, S. S. 2002. Handbook of food toxicology, Toxicants and Antinutrient in Plant foods, Marcel Dkkel, New York. 920.
- [23] Elgayyar, M., Draughon, F. A., and Golden, D. A. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. Journal of Food Protection. 64:1019-1024.
- [24] Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., Mihajlovic, B., and Matavul, J. M. 2007. Antimicrobial and antioxidant of three *Mentha* species Essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 19(55):7879-7885.
- [25] Yosefi, M., Taghipour, S., Arefkhah, N., Rahimian, N., and Davoodian, A. 2013. The effect of hydroalcoholic extract of mint and *Salvia officinalis* on *Trichomonas vaginalis* Evaluation of genetic and morpho-physiological diversity in Iranian *Mentha longifolia* ecotypes. Modern Genetic Journal. 12 (3): 617-625. [In Persian]
- [8] Jay, J. M., Loessner, M. J., and Golden DA. 2005. *Bacillus cereus* Gastroenteritis. In: Modern Food Microbiology, 7th ed. New York, Springer Science. 583-590.
- [9] Wingender, J., and Flemming, H. C. 2004. Contamination potential of drinking water distribution network biofilms. Water Science and Technology. 49(11-12): 277-286.
- [10] Rajat Rakesh, M., Ninama Govind, L., Mistry Kalpesh, Parmar, R., Patel, K., and Vegad, M. M. 2012. Antibiotic resistance pattern in *Pseudomonas aeruginosa* species isolated at a tertiary care hospital, Ahmadabad. National Journal of Medical Research. 2(2): 156-159.
- [11] Park, K.J., Vohnikova, Z., and Reis Brod, F. 2002. Evaluation of drying parameters and desorption isotherms of garden mint leaves (*Mentha crispa* L.). Journal of Food Engineering. 51: 193-199.
- [12] Valero, M., and Salmeron, M. C. 2003. Antibacterial Activity of 11 Essential oils against *Bacillus cereus* in Tyndallized Carrot Broth. International Journal of Food Microbiology. 85: 73-81.
- [13] Gull, I., Mariam, S., Halima, Sh., Shahbaz, M. A., Zahoor, Q. S., and Amin, M. A. 2012. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 11(8): 1-6.
- [14] Zakerin, A., Ahmadi, E., Fasihi-Ramandi, M., Abdollahi, S., Molazadeh, A., and Jafari, S. 2015. The Effect of ecologic condition on antimicrobial activity of endemic herbal extracts in fars province. Journal of Advanced Biomedical Sciences. 5(1): 111-9.
- [15] Taherpour, A., Hashemi, A., Erfanimesh, S., and Taki, E. 2016. Efficacy of methanolic extract of green and black teas against extended-spectrum beta-Lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 29(4): 1257-61.
- [16] Safavi, F., Ebrahimi, P., and Mighani, H. 2013. In Vitro Anti-Bacterial Activity of Root and Aerial Parts of *Scrophularia striata* Bioss

- (*Mentha spicata* L, *Salvia officinalis* L and *Satureja hortensis* L) on *Escherichia coli*. Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 33: 15-20. [In Persian].
- [28] Mahmoudi, R., Tajik, H., Farshid, A.A., Ehsani, A., Zare, P., and Moradi, M. 2012. Determination the chemical composition and antimicrobial activity of *Oregano* against *Staphylococcus aureus*. Armaghan e -danesh Journal. 16:400-412. [Persian].
- Invitro. Journal of Isfahan University of Medical Sciences. 31(240): 811-818.
- [26] Nurizadeh, E., Mirzapur, T., Ghasemi, K., Razavi, S. M., and Latifi, S. 2004. The antibacterial effects of chamomile extracts and thym, oregano, mint and licorice on *Helicobacter pylori*. Journal of Shahed University (Daneshvar Medicine). 11 (52): 67-72. [In Persian].
- [27] Nagafi, A., Ghasemzadeh, N., and Razavi, S. 2008. Study on antibacterial effects of



Investigation of chemical and antimicrobial compounds of native *Mentha pulegium* extract of Meshginshahr and Namin

Hasheminia, S. M. ^{1*}, Jamshidi, M. ²

1. Assistant Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

ABSTRACT

The chemical constituents of n-hexane extract of *Mentha arvensis* (wild mint) native to Meshginshahr and Namin region, and the antimicrobial effect of the extract against *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Bacillus cereus* (ATCC 11778) were studied in this research using broth and agar dilution methods (assessment of minimum inhibitory concentration, MIC, and minimum bactericidal concentration, MBC) and disk diffusion method. The results showed that cis-piperitone epoxide, piperitenone oxide and pulegone were the main components of the extracts. In addition, the MICs and MBCs of the n-hexane extracts of the wild mint in the various regions against *P. aeruginosa* were similar (20 mg/mL). Moreover, the MIC and MBC of the n-hexane extracts of the wild mint in Meshginshahr against *B. cereus* were 5 and 10 µg/mL, respectively, whereas the corresponding values against *B. cereus* were similar (10 mg/mL). Furthermore, the results of the disk diffusion test interpretation revealed that the inhibition zone diameters (IZDs) of the n-hexane extract in the samples obtained from Meshginshahr against both bacterial species were larger than those of the samples taken from Namin.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 08/ 07
Accepted 2022/ 10/ 15

Keywords:

Bacillus cereus,
Mentha pulegium,
Pseudomonas aeruginosa,
Extract,
Antibacterial.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.97

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.9.8

*Corresponding Author E-Mail:
mhasheminia@riau.ac.ir