مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۰ شماره ۴/ سال ۱۳۹۹/ صفحات ۱۹۹ تا ۲۱۰

DOI: 10.22034/fr.2021.35122.1688

# ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی و تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه اوجی جمع‌آوری شده از شمال ایران

**نفیسه محدثی[۱] و هادی کوهساری*[۲]**

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم وصنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی آزادشهر

[۲] استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی آزادشهر

* مسئول مکاتبه: hadikoohsari@yahoo.com Email:

تاریخ دریافت: ۹۸/۶/۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۱۷

## چکیده

**زمینه مطالعاتی**: اعضای جنس نعناع از مهمترین گیاهان تولید کننده اسانس می‌باشند. نعناع آبی با نام علمی *Mentha aquatica* که در مناطق شمال ایران به‌نام محلی *اوجی* معروف است از گیاهان ادویه‌ای رایج محسوب می‌شود. **هدف**: این مطالعه با هدف ارزیابی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه *اوجی* علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* انجام شد. **روش کار**: به‌این منظور اسانس برگ‌های این گیاه با استفاده از دستگاه تقطیر با آب طرح کلونجر استخراج شد. جهت شناسایی ترکیبات اسانس از کروماتوگرافی گازی–طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) استفاده شد. کمترین غلظت مهارکنندگی(MIC) و کمترین غلظت باکتری‌کشی(MBC) اسانس مذکور علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* با روش میکرودایلوشن تعیین شد. **نتایج**: آنالیز کروماتوگرافی گازی، ۲۷ نوع ترکیب شیمیایی را مشخص کرد که بیش از ۹۸ درصد ترکیبات اسانس را تشکیل دادند. ۳- کارن با ٦١/٢٤ درصد بیشترین ترکیب شناسایی شده در اسانس گیاه اوجی بود. سینئول و لیمونن از دیگر ترکیبات شناخته شده این گیاه بودند که در مقادیر جزئی‌تر سنجش شدند. نتایج آزمون‌های ضدباکتریایی حاکی از حساسیت بیشتر *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به *اشریشیا کلی* به اسانس این گیاه بود به طوریکه MIC و MBC این اسانس برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ١/٥٦ ١/٥٦ میلی گرم بر میلی‌لیتر و علیه *اشریشیا کلی* ۳/۱۲ و ٦/٢٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. **نتیجه‌گیری نهایی**: فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه اوجی (*Mentha aquatica*) را می‌توان به وجود مونوترپن‌های هیدروکربنی مانند ۳- کارن در کنار ترکیباتی همچون سینئول، لیمونن، آگاروسپیرول، یوکالیپتول و منتون نسبت داد که پتانسیل استفاده از این اسانس را به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی مطرح می‌سازد.

**واژگان کلیدی**: استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی، ترکیبات شیمیایی، فعالیت ضدباکتریایی، گیاه اوجی

**مقدمه**

امروزه بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در میکروارگانیسم‌های مختلف و اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتزی به‌عنوان یک چالش اساسی در حوزه بهداشت و درمان تبدیل شده است. بنابراین شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی با منشاء طبیعی جهت به‌حداقل رسانیدن این دغدغه‌ها به‌شدت احساس می‌شود (سلیکیت و همکاران ۲۰۰۷).

اسانس‌ها ترکیبات روغنی گیاهی هستند که از مخلوط ترکیبات شیمیایی آلی فرار سنگین و چربی تشکیل شده‌اند که از اندام‌های مختلف گیاه نظیر: دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، برگ، غنچه و گل به‌دست می‌آیند. با توجه به فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی همچون فعالیت‌های ضدمیکروبی، ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی و... که به اسانس‌ها نسبت می‌دهند، این ترکیبات می‌توانند انتخاب بسیار مناسبی جهت بکارگیری به‌عنوان نگهدارنده های طبیعی و جایگزینی برای ترکیبات شیمیایی و سنتزی باشند (حسین و همکاران ۲۰۰۸).

به‌طور عمده، ترکیبات فنلی، مسئول خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها هستند. اسانس‌ها می‌توانند تا بیش از ٦٠ نوع ترکیب داشته باشند و ترکیبات اصلی، ممکن است تا ٨٥ درصد اسانس را تشکیل دهند .نتیجه بعضی از بررسی‌ها نشانگر این موضوع است که اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها به‌صورت کامل نسبت به اثرات تک تک اجزا بیشتر است (آیفر و تورگای ۲۰۰۳).

اهمیت اسانس‌های گیاهی در این است که علاوه بر ایجاد عطر و طعم در موادغذایی، ماده مؤثر اصلی آنها دارای اثرات ضدمیکروبی می‌باشد که به دلیل طبیعی بودن مصرف کنندگان نسبت به مواد شیمیایی ترجیح می‌دهند. خانواده نعناعیان تیره‌ی بزرگی از گیاهان گل‌دار بوده که از این خانواده حدود ٤٠٠٠ گونه گیاه وجود دارند و در ۲۰۰ جنس جای داده شده‌اند که معمولا دارای اسانس هستند. این گیاه بومی مدیترانه است ولی امروزه در اغلب نقاط دنیا از جمله ایران یافت می‌شود. گیاهان معروفی چون نعناع، مرزه، آویشن، اسطوخودوس، پونه ریحان، بادرنجبویه، مریم گلی و مزرزنجوش در این خانواده قرار دارند (زرگری ۱۹۹۵).

جنس نعناع متشکل از بیش ۲۰-۳۰ گونه است که در سراسر مناطق مختلف جهان به طور گسترده‌ای رشد می‌کنند (گولوس و همکاران ۲۰۰۷). اعضای این جنس از مهمترین گیاهان تولید کننده اسانس می‌باشند به‌طوریکه تخمین زده می‌شود اسانس تولید شده از سه گونه این جنس یعنی *M. spicata*، *M. arvensis* و *M. piperita* در سال ۲۰۰۷ بیش از ۲۳ هزار تن با ارزش بیش از ٤٠٠ میلیون دلار بود (گتاهون و همکاران ۲۰۰۸). جنس نعناع تنوع بسیار زیادی در ترکیبات اسانس در گونه‌های مختلف را داراست. این تنوع در تعدد ترکیبات فرار تجاری این جنس همچون منتول، منتون، کاروون، لیمونن، لینالول، منتیل استات، پیپرتون و پولگون دیده می‌شود. همچون دیگر گیاهان متعلق به خانواده نعناعیان گونه‌های جنس نعناع در ترکیبات پلی‌فنلی بسیار غنی می‌باشند که ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی را باعث می شوند (دیفی و همکاران ۲۰۱۱). یکی از این گونه‌ها، گونه‌ی منتا آکواتیکا[1] با نام محلی *اوجی* و نام فارسی نعناع آبی یا پونه آبی است. همانطور که از اسمش پیداست این گیاه در آب و به‌ویژه کناره جوی، رودخانه و کانال‌های آب و در مرداب‌ها و محل‌های مرطوب نیز رشد می‌کند. این گونه بومی اروپا و شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا می‌باشد اما در شمال و جنوب آمریکا، استرالیا و برخی جزایر آتلانتیک نیز تولید می‌شود. فرهنگستان زبان فارسی این گیاه را نعناع جویباری معرفی کرده است. اوجی گونه‌ای از نعناع با ساقه‌های رونده و ایستاده به ارتفاع ۲۰ تا ۹۰ سانتی‌متر و با پهنک تخم‌مرغی مستطیلی سه‌گوش یا دایره‌ای و گل‌آذین کروی در انتهای ساقه‌ها یا شاخه‌های کوتاه و گل‌های بنفش و ارغوانی که در سراسر ایران به خصوص در شمال ایران به صورت خودرو می‌روید (گتاهون و همکاران ۲۰۰۸؛ دیفی و همکاران ۲۰۱۱).

[1] *Mentha aquatica*

این گیاه چند ساله به واسطه نقش های ضد درد، ضد تب، ضد عفونی کننده، ضد اسپاسم، ضد احتقان، برطرف کننده بوی بد، عرق آور، هضم غذا، ادرار آور، ضد میکروبی، حشره کش، آرام بخش، تحریک کننده و ضد کرم شناخته می شود (Gruenwald et al., 2002).

*منتا اکواتیکا* در شمال ایران و به‌خصوص استان مازندران با نام محلی اوجی توسط بومیان منطقه به عنوان یک گیاه ادویه‌ای مصرف بسیار زیادی دارد. از نظر طب سنتی این گیاه بدن را گرم و ترشح مخاط را کم می کندو باعث افزایش تنفس می شود. همچنین ادرار را زیاد می کند و تعریق را افزایش می دهد واستفاده از آن در موارد ضعف سیستم گوارشی و معده و شیوع بیماری وبا توصیه می‌شود. همچنین دم‌کرده آن برای بیماری‌های تنفسی مثل آسم، برونشیت، زکام، انواع حساسیت ها، خارش‌ها و دردهای شکمی بسیار مفید است. اگر این گیاه با آویشن و گل گاوزبان جوشانده شود داروی ضدافسردگی های عصبی نیز محسوب می‌شود (صفری و همکاران ۲۰۱۷).

با توجه به اهمیت مسمومیت‌های ناشی از *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* که از مهمترین عوامل مسمومیت‌های غذایی شناخته شده‌اند (موریرا و همکاران ۲۰۰۵)، مطالعه حاضر با هدف بررسی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه *اوجی* علیه دو باکتری پاتوژن *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### استخراج اسانس

گیاه *اوجی* از بازار محلی شهرستان ساری واقع در استان مازندران تهیه گردید و در آزمایشگاه دانشگاه آزاد گرگان مورد تایید علمی قرار گرفت. برگ های این گیاه پس از شستشو، ابتدا در شرایط مناسب در سایه خشک و با آسیاب برقی (پاناسونیک، ژاپن) خرد شدند.

جهت استخراج اسانس ۳۰ گرم از برگ‌های خشک شده و آسیاب شده گیاه اوجی در یک بالن ۵۰۰ میلی لیتری به‌همراه ۲۵۰ میلی‌لیتر آب حرارت داده شد و به منظور افزایش نقطه جوش و خروج کامل اسانس، ۱ گرم کلریدسدیم اضافه گردید. برای استخراج از روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر و به مدت ۳ ساعت استفاده شد. در اثر حرارت فشار بخار آب افزایش یافته و غدد حاوی اسانس شکسته شده و اسانس به همراه بخار آب وارد سرد کننده می‌شود. در سرد کننده، میعان صورت گرفته و قطرات اسانس درون آب به صورت ۲ فاز مشخص به طرف لوله ی مدرج حرکت می‌کند و در آنجا به دلیل سبک‌تر بودن روی آب تجمع می‌یابد. این روش در صورتی که در لوله‌های سردکن اثری از اسانس مشاهده نگردد پایان مرحله اسانس‌گیری می‌باشد. اسانس حاصله توسط سولفات سدیم بدون آب، آبگیری شده و در ظرف در بسته تیره رنگ، دور از نور در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (کاظم‌الوندی و همکاران ۲۰۱۱).

### شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه *اوجی*

پس از تهیه اسانس، آنالیز ترکیبات شیمیایی آن توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد. به این منظور از دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع Agilent 6890 با ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه‌ی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS استفاده شد. برنامه‌ی دمایی به شرح زیر تنظیم شد:

دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، توقف در این دما ۵ دقیقه و دمای انتهایی آون ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و توقف در این دما به مدت ۳ دقیقه. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد. طیف‌سنج جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. شناسایی طیف‌ها به کمک

شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی کامپیوتری صورت گرفت و نرم افزار Wiley مورد استفاده قرار گرفت (کاظم الوندی و همکاران ۲۰۱۱؛ آدامز ۲۰۰۱).

**فعالیت ضد باکتریایی**

**تهیه سوسپانسیون باکتریایی**

باکتری‌های مورد استفاده یعنی *اشریشیا کلی* (PTCC 1338) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) به صورت آمپول لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و این کشت های لیوفیلیزه در محیط BHI[1] براث (مرک، آلمان) احیاء شدند. پس از احیاء، باکتری‌ها در محیط نوترینت آگار (هایمدیا، هندوستان) کشت داده شدند و از کشت جوان ۲٤ساعته هر یک از آنها ۲-۳ کلنی در سه میلی‌لیتر محیط کشت مایع BHI براث تلقیح شد و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید تا کدورت معادل نیم مک‌فارلند ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU/ml) حاصل شود.

**تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC[2]) و کمترین غلظت باکتری‌کشی (MBC[3])**

تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی اسانس گیاه *اوجی* بر اساس کدورت سنجی و با استفاده از روش میکرودایلوشن براث انجام شد. رقت‌های مختلف اسانس در میکروپلیت ۹٦ چاهکی استریل و با محیط کشت مولر هینتون براث (هایمدیا، هندوستان) تهیه شد. به این‌منظور ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف اسانس (محلول ذخیره در حلال دی‌متیل‌سولفوکسید[4] تهیه شد) در مجاورت ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی معادل $۵ \times ۱۰^{۵}$ CFU/ml از هریک از باکتری‌های پاتوژن مورد آزمون به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در کنار این لوله‌ها لوله کنترل مثبت (سوسپانسیون باکتری معادل $۵ \times ۱۰^{۵}$ CFU/ml و دی‌متیل‌سولفوکسید) و لوله کنترل منفی (مولر هینتون براث و اسانس بدون باکتری) نیز قرار داده شد. پس از این مدت نتایج به‌صورت کدورت میکروبی قابل مشاهده و ثبت گردید.

آخرین رقتی که در آن کدورت میکروبی مشاهده نشد به‌عنوان کمترین غلظت مهارکنندگی(MIC) تعیین شد. به‌منظور تعیین کمترین غلظت باکتری‌کشی (MBC) از هریک از لوله‌های فوق در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و آخرین رقتی که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان کمترین غلظت باکتری‌کشی تعیین شد (کوکریل و همکاران ۲۰۱۲).

کلیه مراحل آزمایش، سه بار تکرار شد و نتایج به‌صورت میانگین آنها ارائه گردید. تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۵) انجام شد.

## نتایج

نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی، ۲۷ نوع ترکیب شیمیایی را مشخص کرد که بیش از ۹۸ درصد ترکیبات اسانس را تشکیل دادند. ۳-کارن با ٦۱/۲٤ درصد بیشترین ترکیبات اسانس گیاه *اوجی* را به‌خود اختصاص داد. از دیگر ترکیبات شناخته شده این اسانس سینئول، لیمونن و آگاروسپیرول بودند که به ترتیب ۹/٤، ٦/۸۱ و ٤/۷۸ درصد ترکیبات اسانس را به خود اختصاص دادند. همچنین یوکالیپتول و منتون در مقادیر جزئی‌تر در اسانس گیاه اوجی در مطالعه حاضر شناخته شدند (جدول۱).

[1] Brain Heart Infusion
[2] Minimum inhibition concentration
[3] Minimum bactericidal concentration
[4] Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

**جدول۱- ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه اوجی**

**Table 1 - Chemical compounds of essential oil from *Mentha aquatica***

| Compound | Content (%) |
|---|---|
| 3-Carene | 61.24 |
| p-Cineole | 9.4 |
| Limonene | 6.81 |
| Agarospirol | 4.78 |
| Eucalyptol | 1.98 |
| 3-p-Menthone | 1.92 |
| Caryophyllene oxide | 1.88 |
| α-Thujene | 1.84 |
| β-Mircene | 0.92 |
| Pulegone | 0.87 |
| Sabinene | 0.84 |
| Benzofuranon | 0.65 |
| Chlorpyrifos | 0.64 |
| Menthol | 0.59 |
| p-Cymene | 0.55 |
| Linalool | 0.49 |
| Terpinene | 0.46 |
| γ-Terpinene | 0.45 |
| Pinene | 0.38 |
| Caryophyllene oxide | 0.36 |
| Cyclohexane | 0.3 |
| Cyclohexen | 0.28 |
| Heptylfuran | 0.27 |
| Thymol | 0.24 |
| Naphtho pyran | 0.2 |
| Copaene | 0.12 |
| Menthofuran | 0.1 |
| **Total** | **98.56** |

نتایج آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) اسانس برگ‌های گیاه *اوجی* علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* در جدول ۲ آمده است.

**جدول۲ کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) و کمترین غلظت باکتری‌کشی (MBC) اسانس گیاه *اوجی* (mg/ml)**

**Table 2- Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the essential oil of *Mentha aquatica* (mg/ml)**

| Concentration of essential oil (mg/ml) | | 100 | 50 | 25 | 12.5 | 6.25 | 3.12 | 1.56 | 0.78 | 0.39 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *S.aureus* | MIC | - | - | - | - | - | - | -* | **+ | + |
| | MBC | - | - | - | - | - | - | ***- | +**** | + |
| *E. coli* | MIC | - | - | - | - | - | - | + | + | + |
| | MBC | - | - | - | - | - | + | + | + | + |

*: No Turbidity **: Turbidity ***: No Colony Formation ****: Colony Formation

با توجه به نتایج ثبت شده در این جدول بر اساس ایجاد یا عدم ایجاد کدورت نتایج مربوط به MIC به دست آمد

و بر اساس تشکیل یا عدم تشکیل کلنی پس از کشت نتایج MBC به دست آمد. در نتیجه کمترین غلظت مهارکنندگی اسانس این گیاه علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱/۵٦ و۱/۵٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای *اشریشیا کلی* ۳/۱۲ و ٦/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد که بیانگر حساسیت بیشتر *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با *اشریشیا کلی* نسبت به اسانس *گیاه اوجی* است.

**بحث**

استان‌های شمالی ایران از نظر پراکندگی وسیع گیاهان دارویی و همچنین از لحاظ شرایط آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی و زمینه رشد این گیاهان از جمله غنی ترین مناطق ایران محسوب می‌شوند. از طرفی افزایش روز افزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و عوارض ناشی از مصرف ترکیبات شیمیایی، ضرورت شناسایی و معرفی ترکیبات با منشاء طبیعی از جمله اسانس‌های گیاهی را بیش از پیش مطرح می سازد.

همان‌طور که نتایج مطالعه حاضر نشان داد ۳- کارن بیشترین ترکیب اسانس گیاه *اوجی* را به خود اختصاص داد. ترکیب مذکور یک مونوترپن هیدروکربنی محسوب می‌شود. لذا فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه اوجی را می‌توان به وجود مونوترپن‌های هیدروکربنی نسبت داد. مطالعات مشابه به غالب بودن ترکیبات مونوترپنی در گیاهان تیره نعناعیان اشاره داشته‌اند (زارع ده‌آبادی و همکاران ۲۰۱۰).

ابریشم‌چی و همکاران (۲۰۱٦) در مطالعه بررسی فعالیت ضدباکتریایی و ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه نوروزک از تیره نعناعیان به این نتیجه رسیدند که مونوترپن‌های هیدورکربنی بیشترین ترکیبات اسانس این گیاه را به خود اختصاص دادند (ابریشم‌چی وهمکاران ۲۰۱٦).

ترکیبات ثانویه گیاهی شامل ترکیبات تولید شده در شرایط خاص مانند تنش می‌باشد. ترپن‌ها، آلکالوئیدها و ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه اساسی گیاهان هستند. در این بین ترپن‌ها، مولکول‌های آلی نسبتا کوچکی با ساختار لیپیدی هستند که تنوع ساختاری گسترده‌ای دارند. تاکنون هزاران ترپن مختلف شناخته شده است. بعضی از آنها هیدروکربن هستند و برخی دیگر در ساختارشان اکسیژن هم دارند. تعدادی از آنها مولکول های راست‌زنجیرند و برخی ترکیبات هم دارای یک یا چند حلقه می‌باشند. بسیاری از ترپن‌های بزرگ مولکول، فعالیت بیولوژیکی مهمی دارند. ترپنوئیدها با وجود داشتن ساختار و عملکرد پیچیده، پلیمر ساده‌ای از واحدهای ایزوپرن پنج کربنه و ایزوپنتیل دی‌فسفات می‌باشد. خواص ضدمیکروبی اسانس گیاهان را به مونوترپن‌ها و تا حدودی به دی‌ترپنوئیدها نسبت می‌دهند (آگاروال و همکاران ۲۰۰۷؛ فیلیپسون ۲۰۰۷؛ فریرا و همکاران ۲۰۱۰).

سینئول، لیمونن و آگاروسپیرول از دیگر ترکیبات شناخته شده‌ای بود که در ترکیب شیمیایی اسانس *اوجی* در مطالعه حاضر شناخته شد.

ترکیب سینئول از مونوترپن‌های اکسیژن‌دار می‌باشد. مونوترپن‌های اکسیژن‌دار از اجزاء ارزشمند اسانسی هستند که بسیاری از خواص فیزیکی شامل رنگ، عطر و طعم و همچنین خواص شیمیایی و بیولوژیک اسانس گونه های مختلف نعنا، بیش از همه به این ترکیبات مربوط می‌شود (اخباری و همکاران ۲۰۱٦).

فعالیت ضدباکتریایی ترکیب سینئول که از مونوترپن‌های اکسیژن‌دار می‌باشد گزارش شده است (یادگارنیا و همکاران ۲۰۰٦). لذا می‌توان فعالیت ضدباکتریایی اسانس اوجی در مطالعه حاضر را به وجود این ترکیبات با مقادیر کم نیز مرتبط دانست.

بعضی از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ترکیبات جزئی موجود در بعضی اسانس‌های گیاهی خانواده نعناعیان در فعالیت ضدباکتریایی آنها با ترکیبات غالب اثراتی سینرژیستی دارند و باعث افزایش فعالیت ضدباکتریایی می‌شوند (بورت ۲۰۰٤). لذا وجود ترکیباتی همچون سینئول و لیمونن در مقادیر ۹/٤ و ٦/۸۱ درصد و یوکالیپتول و منتون در مقادیر کمتر در اسانس اوجی

می‌تواند در فعالیت ضد باکتریایی آن موثر باشد. ترکیبات مذکور جزء ترکیبات اصلی اسانس این گیاه در مطالعات مشابه گزارش شده اند (اسماعیلی و همکاران ۲۰۰٦، سناتور و همکاران ۲۰۰۵، مرتضی سمنانی و همکاران ۲۰۰٦).

نکته قابل توجه در خصوص مطالعات انجام شده جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس *منتا اکواتیکا* در نقاط مختلف جهان حاکی از گزارشات متفاوت از حضور ترکیبات مختلف در این اسانس می‌باشد.

فانسلو و همکاران (۲۰۱۷) در مقایسه ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی سه گونه از تیره نعناعیان یعنی *منتا اکواتیکا*، *منتا پولگیوم* و *منتا رکوئنی* نتیجه گرفتند که ترکیبات *منتا اکواتیکا* با دوگونه دیگر نعناع کاملا متفاوت است و تفاوت قابل توجهی در ترکیبات گونه مورد بررسی با مطالعات مشابه نشان دادند. به‌طوریکه  استات ترپینیل و یوکالیپتول بیشترین ترکیبات اسانس *منتا اکواتیکا* در این مطالعه بود (فانسلو وهمکاران ۲۰۱۷).

آگوستینی و همکاران (۲۰۰۹) نیز در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس *منتا اکواتیکا* جمع‌آوری شده از جنوب کشور برزیل،  منتوفوران را به عنوان ترکیب غالب شیمیایی در کنار ترکیبات جزئی دیگر گزارش کردند (آگوستینی و همکاران ۲۰۰۹).

ژرکوویچ و ماستلیک ( ۲۰۰۱) در مطالعه ترکیبات اسانس *منتا اکواتیکا* جمع‌آوری شده از رویشگاه جنوب کرواسی مونوترپن‌های اکسیژنه را با ٦٨/٤٢ درصد، سس‌کوئی‌ترپن‌ها را با ۲۰/۰۹ درصد و مونوترپن‌های هیدروکربنی را با ۱۰/٤۷ درصد گزارش کردند. در این میان منتافوران ،۱و۸ سینئولو کاریوفیلن بیشترین ترکیبات این اسانس بودند (ژرکوویچ و ماستلیک ۲۰۰۱). دیفی و همکاران (۲۰۱۱) مونوترپن‌های اکسیژنی را با ۹۱/٤ درصد بیشترین ترکیبات اسانس *منتا اکواتیکا* از رویشگاه‌های کشور تونس گزارش کردند. در این بین پولگون (۳۹/۳٦ درصد)  و منتون ( ۲۷/٦۹ درصد) بیشترین ترکیبات این اسانس بودند. همچنین فعالیت ضدباکتریایی این اسانس علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* و *باسیلوس سوبتیلیس* به اثبات رسید. ولی این اسانس علیه *کاندیدا* اثرات مهاری نشان نداد (دیفی و همکاران ۲۰۱۱).

مرتضی سمنانی و همکاران (۲۰۰٦) در مطالعه‌ای سینئول (۲۷/۲ درصد)، منتافوران (۲۳/۲ درصد)، کاریوفیلن (۱۲/۸ درصد) و لیمونن (۵/۲ درصد) را بیشترین ترکیبات اسانس *منتا اکواتیکا* گزارش کردند  (مرتضی سمنانی و همکاران ۲۰۰٦).

اسماعیلی و همکاران (۲۰۰٦) نیز مهمترین ترکیبات برگ گیاه *منتا اکواتیکا* جمع‌آوری شده از شمال ایران را پیپریتینون (۲۵/۷ درصد)، کاریوفیلن (۱۲ درصد) و ۱و۸ سینئول (۱۰/۳ درصد) گزارش گردند (اسماعیلی و همکاران ۲۰۰٦).

سناتور و همکاران (۲۰۰۵) ، ۱و۸ سینئول (۵۵/۳ درصد) را بیشترین ترکیب اسانس *منتا اکواتیکا* جمع آوری شده از رویشگاه‌های آن در کشور ترکیه گزارش کردند. همچنین کارواکرول (۹/۳ درصد) و سابینین (٦/۷ درصد) از دیگر ترکیبات وافر این اسانس گزارش شدند. آنها فعالیت ضدباکتریایی این اسانس را علیه باکتری‌های گرم مثبت به اثبات رساندند (سناتور وهمکاران ۲۰۰۵).

تاچ و همکاران (۲۰۱۳) ترکیب روون دی فولون را به‌عنوان یک ترکیب جدید موجود در اسانس *منتا اکواتیکا* جمع‌آوری شده از رویشگاه در کشور ویتنام معرفی کردند. ویژگی‌های ضد میکروبی این اسانس علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *شیگلا فلکسنری* و *سودوموناس آئروژینوزا* در این مطالعه به اثبات رسید (تاچ و همکاران ۲۰۱۳).

آندرو و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای به بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس *منتا اکواتیکا* در مراحل مختلف رشد یعنی قبل از گل‌دهی، گل‌دهی و بعد از گل‌دهی پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که منتوفوران (۵۱/۲٦ تا ۵۸/۵۹ درصد ) با اختلاف بسیار زیاد بیشترین

ترکیب اسانس این گیاه بود. همچنین لیمونن (۵/۹۶ تا ۱۲/۰۶ درصد )، ترانس بتا سیمن (۵/۵۹ تا ٦/۱ درصد)، لدول (۳/۰۱ تا ٤/۰٦ درصد) و بتا کاریوفیلن (۲/۹۳ تا ۳/۵۵ درصد) در رده‌های بعدی قرار داشتند (آندرو و همکاران ۲۰۱۳).

همان‌طور که اشاره شد ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه *اوجی* (*Mentha aquatica*) در مطالعات انجام شده بسیار متنوع و مختلف گزارش شده است و این موضوع توجیه کننده تفاوت ترکیبات در مطالعه حاضر با مطالعات مشابه می‌باشد.

یافته های متفاوت ممکن است ناشی از خصوصیات ذاتی اسانس‌ها از قبیل فاکتورهای قبل از برداشت مانند واریته، شرایط محیطی عوامل اکولوژیکی و تفاوت‌های در روش استخراج اسانس باشد. تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی اگر چه تحت تاثیر فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند اما تولید آنها تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند (هیوود ۲۰۰۲).

از مهمترین عوامل محیطی که تاثیر قابل توجهی بر رشد گیاهان دارویی و کمیت و کیفیت مواد موثره آنها می‌گذارد می‌توان به شرایط رشدی، اقلیم و عناصر غذایی اشاره نمود (استریت ۲۰۱۲). ماروتی و همکاران (۱۹۹۷)، حتی شرایط زراعی همچون تاریخ برداشت و تراکم کشت را در این زمینه موثر می دانند (ماروتی و همکاران ۱۹۹۷).

در بخش بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه*اوجی* در مطالعه حاضر، نتایج حاکی از اثرات ضدباکتریایی این اسانس در محدوده ۱/٥٦ تا ٦/۲٥ میلی‌گرم بر میلی لیتربود و *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان یک باکتری گرم مثبت در مقایسه با *اشریشیا کلی* به عنوان یک باکتری گرم منفی حساسیت بیشتری نسبت به اسانس گیاه اوجی نشان داد. گتاهون و همکاران (۲۰۰۸) نیز فعالیت ضدباکتریایی قابل توجه اسانس *Mentha aquatica* را علیه باکتری های گرم مثبت گزارش نمودند (گتاهون و همکاران ۲۰۰۸). در مورد نحوه عمل اسانس ها در مورد مرگ باکتری‌ها، چنین اظهار نظر شده است که 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 غشای سلولی و تخریب آن شوند و به‌این ترتیب، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضد التهابی خود را اعمال کنند (استریچارز و شتی ۲۰۰۲).

فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها به خاصیت آبگریزی آنها نیز نسبت داده می شود. این خاصیت باعث توزیع اسانس در بخش‌های لیپیدی دیواره سلولی و تغییر و تخریب ساختمان و نفوذپذیری بیشتر این بخش‌ها می‌گردد (سیکما و همکاران ۱۹۹٤). سپس بخش زیادی از یون‌ها و دیگر محتویات حیاتی سلول به بیرون تراوش می‌نماید که در نهایت منجر به مرگ باکتری می‌شود (کارسون وهمکاران ۲۰۰۲).

اغلب مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس‌های گیاهی علیه باکتری‌ها نشان از حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی است که در مطالعه حاضر نیز به چشم می‌خورد. علت حساسیت کمتر گرم منفی‌ها شاید به علت وجود غشاء خارجی در باکتری‌های گرم منفی است که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپوپلی‌ساکارید می‌شوند (دانس و همکاران ۱۹۹۷؛ بورت ۲۰۰٤).

**نتیجه گیری کلی**

با توجه به غالب بودن ترکیب شیمیایی ۳-کارن به عنوان یک مونوترپن هیدروکربنی، فعالیت ضدباکتریایی اسانس *اوجی* (*Mentha aquatica*) را می‌توان به وجود این ترکیب نسبت داد. البته در این بین نمی‌توان از نقش ترکیباتی همچون سینئول، لیمونن، آگاروسپیرول، یوکالیپتول و منتون که در مقادیر کمتر از ۳-کارن در اسانس موجود بودند چشم‌پوشی کرد. لذا جداسازی، تخلیص و بررسی فعالیت ضدمیکروبی هر یک از ترکیبات

مذکور به منظور تایید اثرات بیولوژیک و معرفی به‌عنوان
یک افزودنی طبیعی در موادغذایی پیشنهاد می‌شود.

**منابع مورد استفاده**


Abrishamchi P, Khaje Karamadini M, Houshyar-Sarjami R, Zaker A, Asili J, Porsa H and Zarif R, 2016. Antibacterial effect of essential oils from *Salvia leriifolia* Benth against some oral pathogens. Journal of Microbial World 9(3): 215-225.

Adams RP, 2001. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, 469.

Aggarwal B, Sundaram C, Malani N and Ichikawa H, 2007. Curcumin: the india solid gold. Advance in Experimental Medicine and Biology 59: 31-38.

Agostini F, Dos Santos ACA, Rossato M, Pansera MR, Dos Santos PL, Serafini LA, Molon R and Moyna P, 2009. Essential Oil Yield and Composition of *Lamiaceae* Species Growing in Southern Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology 52: 473–478.

Akhbari M, Aghajani Z, Karimi E and Mazoochi A, 2016. Composition analysis of essential oil and biological activity of oily compounds of *Mentha longifolia*. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal 6(21): 59-66.

Andro AR, Boz I, Zamfirache MM and Burzo I, 2013. Chemical composition of essential oils from *Mentha aquatica L.* at different moments of the ontogenetic Cycle. Journal of Medicinal Plants Research 7(9): 470-473.

Ayfer D and Turgay O, 2003. Antimicrobil activities of various medicinal and commercial plant extracts. Turkish Journal of Biology 27: 157-62.

Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. International Journal of Food Microbiology 94(3): 223-253.

Carson CF, Mee BJ and Riley TV, 2002. 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 46(6): 1914-1920.

Celiktas OY, Kocabas EH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T and Baser KHC, 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry 14: 323-8.

Cockerill FR, Wikler MA, Alder J, Dudley MN, Eliopoulos GM, Ferraro MJ, Hardy DJ, Hecht DW, Hindler JA, Patel JB, Powell M, Swenson JM, Thomson RB, Traczewski MM, Turnidge JD, Weinstein MP and Zimmer BL 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. CLSI document M07-A9.9. 9 ed. *C.L.S.I. (Clinical and Laboratory Standard Institute),* Pennsylvania, PA, USA.

Deans SG and Ritchi G, 1997. Antibacterial properties of plant essential oils. International journal of food microbiology 5: 165-180.

Dhifi W, Litaiem M, Jelali N, Hamdi N and Mnif W, 2011. Identification of A New Chemotye of the Plant *Mentha aquatica* Grown in Tunisia: Chemical Composition, Antioxidant and Biological activities of its Essential Oil. Journal of Essential Oil Bearing Plants 14(3): 320-328.

Esmaeili A, Rustaiyan A, Masoudi S and Nadji K, 2006. Composition of the Essential Oils of *Mentha aquatica L.* and *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. Journal of Essential Oil Research 18(3): 263-265.

Fancello F, Zara S, Petretto GL, Chessa M, Addis R, Rourke JP and Pintore G, 2017. Essential oils from three species of *Mentha* harvested in Sardinia: chemical characterization and evaluation of their biological activity. International Journal of Food Properties 20(2): 1751-1761.

Ferreira FS, Davanad L, Luthria DL, Sasaki T and Heyerick A, 2010. Flavonids from *Artemisia annua L.* as Antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. Molecules 15: 3135-3170.

Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C, 2000. Physicians' Desk Reference (PDR) for Herbal Medicines pp.813-816.

Getahun Z, Asres K, Mazumder A and Bucar F, 2008. Essential Oil Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of *Mentha aquatica* Growing in Ethiopia. Ethiopian Pharmaceutical Journal 26: 9-16.

Gulluce M, Shain F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D and Ozkan H, 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and menthonal extract from *mentha longifolial L.spp*. Food chemistry 103: 1449-1456.

Heywood V, 2002. The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. In: Sener, B. (Ed.), Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiver sity and Innovative Utilization, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. PP.13-22

Hussain AI, Anwar F, Sherazi STH and Przybylski R, 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry 108: 986-95.

Jerkovic I and Mastelic J, 2001. Composition of Free and Glycosidically Bound Volatiles of *Mentha aquatica L.* Croatica Chemica Acta CCACAA 74(2): 431-439.

Kazem Alvandi R, Sharifan A and Aghazadeh Meshghi M, 2011. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. Journal of Comparative Pathobiology 7(4): 355-364.

Marotti M, Piccaglia R, Giovanelli E, Deans SG and Eaglesham E, 1994. Effects of planting time and mineral fertilization on peppermint (*Mentha piperita L.*) essential oil composition and its biological activity. Flavour and Fragrance Journal 9: 125-129.

Moreira MR, Ponce AG, Dell vella CE and Roura SI, 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT - Food Science and Technology 38(2005): 565-570.

Morteza-Semnani K, Saeedi M and Akbarzadeh M, 2006. The Essential Oil Composition of *Mentha aquatica L.* Journal of Essential Oil Bearing Plants 9(3): 283-286.

Phillipson JD, 2007. Phytochemistry and pharmacognosy. Phytochemistry 68: 2960-2972.

Safari F, Seyyed Alangi SZ and Alami H, 2017. Investigation of quantitative and qualitative parameters of dry *Mentha aquatica L.* by liquid and microwave substrate methods. Journal of Food Science and Technology 9(3): 129-141.

Senator F, Dalessio A, Formisano C and Ozcan M, 2005. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of a 1,8-Cineole Chemotype of *Mentha aquatica L.* Growing Wild in *Turkey.* Journal of Essential Oil Bearing Plants 8(2): 148-153.

Sikkema J, De Bont JAM and Poolman B, 1994. Intractions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. Journal of Biological Chemistry 269(11): 80022-80028.

Street RA, 2012. Heavy metals in medicinal plant products-An African perspective. South African Journal of Botany 82: 67-74.

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(8): 805-12.

Thach, L.N., Nhung, T.H., My, V.T.N. and Tran, H.A. (2013). The new rich source of rotundifolone: *Mentha aquatica* Linn. var. crispa oil from microwave-assisted hydrodistillation. Journal of Essential Oil Research 25(1): 39-43.

Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh S and Rosooli I 2006. Biochemical activity of Iranian *Mentha piperita L.* and *Myrtus communis L.* essential oils. Phytochemistry 67: 1249-1255.

Zare Dehabadi S, Asrar Z and Mehrabani M, 2010. Biochemical changes in terpenoid compounds of *Mentha spicata* essential oils in response to excess zinc supply. Iranian Journal of Plant Biology 2(1): 25-34.

Zargari A, 1995. Iranian medicinal plants. Tehran university press. Tehran. Iran 4: 2-38.

*Journal of Food Researches/vol.30 No.4/ 2021/pp 199-210*
*https://foodresearch.tabrizu.ac.ir*
DOI: 10.22034/fr.2021.35122.1688

# Evaluation of Antibacterial Activity and Chemical Composition Determination of Essential Oil of *Mentha aquatica* Collected from north of Iran

**N Mohaddesi[1] and H Koohsari[2*]**

Received: August 27, 2019 Accepted: January 7, 2020
[1]Graduated Student, Department of Food Science and technology, Azadshahr branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Azadshahr branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
*Corresponding author: E mail: hadikoohsari@yahoo.com

**Introduction:** The importance of herbal and spice essential oils is that in addition to creating flavor in foods, their main active ingredient has antimicrobial effects, for this reason, consumers prefer herbal oils to chemicals. The Lamiaceae are a family of flowering plants commonly known as the mint family. Many members of this family are aromatic herbs and are widely used as spices in the food industry. *Mentha* (also known as mint) is a genus of plants in the family Lamiaceae . The species that makes up the genus *Mentha* are widely distributed and can be found in many environments. Most grow best in wet environments and moist soils. The genus Mentha consists of over 20-30 species that grow widely throughout the world. Members of this genus are one of the most important plants producing essential oils. There are many varieties of essential oils in different species (Zargari, 1995). *Mentha aquatica L.* that known in the northern regions of Iran locally called *Ojji*, is a commonly spice herb has used. This plant grows in aquatic places throughout Iran, especially in northern Iran. One of the main habitats of this plant in Iran is Mazandaran province in northern Iran (Getahun et al., 2008). Food poisoning caused by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* are known as the most important causes of food poisoning. This study was caried out to evaluate the chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Mentha aquatica L.* against *S. aureus* and *E. coli*

**Material and methods:** Plant of *Ojji (Mentha aquatic)* was obtained from from local market in *Sari* township located in Mazandaran Province in northern Iran and was approved by the botany laboratory of Islamic Azad University, Gorgan branch. The essential oil of herb leafs was extracted by hydrodistillation method and Clevenger apparatus. Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) was used to identify essential oil chemical compounds. The gas chromatograph used was Agilent 6890 with a capillary column of 30 m in length and an internal diameter of 250 μm and a layer thickness of 0.25 μm HP-5MS. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the essential oil of this plant oil were determined using micro-dilution broth method or turbidimetric assay. The Bacterial strains used in this study were two species of *Escherichia coli PTCC 1338* and *Staphylococcus aureus PTCC 1112*. The bacteria were provided in lyophilized form from Biotechnology Institute in Iranian Research Organization for Sciences and Technology, Tehran. Different dilutions of essential oil in Mueller Hinton Broth were exposed with bacterial suspension of $5 \times 10^5$CFU/ml of each of the bacteria tested for 24 hours at 37 ° C. After this time the results were recorded as microbial turbidity of visible. The last dilution (lowest concentration) in which microbial turbidity was not observed, as the minimum inhibitory concentration (MIC) was considered. For the determination of MBC, from the tube that contained essential oil concentrations higher than the MIC were cultured onto the Nutrient agar medium. The

MBC was defined as the lowest concentration that allowed no visible growth on the agar (Cockerill et al., 2012).

**Results and discussion:** The results of the gas chromatography analysis were determined 27 chemical compounds that formed more than 98% of the essential oil compounds. 3-Carene were the highest concentrations chemical compound of *Mentha aquatica* essential oil with 61.24%. Cineol, Limonen and Agarospirol were other known compounds of the essential oil of this plant that were measured in quantities of 9.4%, 6.81% and 4.78%, respectively. 3-Carene is a hydrocarbon monoterpene. Therefore, the antibacterial activity of the essential oil of *Mentha aquatica* can be attributed to the presence of hydrocarbon monoterpens. Identification of the chemical constituents of the essential oil of *Mentha aquatica* in different parts of the world indicates different reports of the presence of different compounds in this essential oil. Different findings may be due to intrinsic properties of essential oils such as pre-harvest factors such as variety, environmental conditions, ecological factors and differences in extraction methods. Although production of secondary metabolites in plants are made by genetic processes, they are affected by environmental factors. The results of antibacterial tests indicated that *S. aureus* was more sensitive than *E. coli* to the essential oil of this plant as MIC and MBC of essential oil of this herb on the *S. aureus* 1.56 and 1.56 mg/ml and on the *E.coli* was 3.12 and 6.25 mg/ml respectively. The cause of the lower sensitivity of gram-negative bacteria may be due to the presence of an outer membrane in gram-negative bacteria that restricts the release of hydrophobic components of the essential oil into the lipopolysaccharide layer. One of the important properties of the essential oils is their hydrophobic properties, which distribute them in lipid portions of the cell wall, altering and destroying their structure and increasing their permeability. As a result, much of the ions and other vital contents of the cell leak out, eventually leading to bacterial death. Concerning the antibacterial activity of the essential oils, it has been suggested that phenolic metabolites in plants such as *Mentha aquatica* are capable of releasing a hydrogen from the hydroxyl group present in their aromatic ring and causing the oxidation of free radicals in lipids and other cellular membrane biomolecules and its destruction and thus produce their antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties.

**Conclusion:** The antibacterial activity of essential oil of *Mentha aquatica* can be attributed to the presence hydrocarbon monoterpene compounds such as 3-Carene along with compounds such as Cineol, Limonen, Agarospirol, Eucalyptol and Menthone that leads the potential for its use as a natural preservative in food.

**Keywords:** *Mentha aquatica*, Chemical composition, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*