

پروپوزال پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بهداشت و
ایمنی مواد غذایی

عنوان پروپوزال: تعیین اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه خارمشک بر
استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت آزمایشگاهی و مدل غذایی

استاد راهنما: دکتر پیمان قجربیگی

استاد مشاور: دکتر رزاق محمودی

مجری طرح: عفت فرزانه نیا

دی ماه ۹۴

مقدمه

- مواد نگهدارنده : طبیعی یا مصنوعی

فواید مواد نگهدارنده :

- ✓ جلوگیری از فساد ناشی از رشد باکتری‌ها
 - ✓ جلوگیری از تجزیه ماده غذایی توسط میکروارگانیسم‌ها
 - ✓ محافظت ماده غذایی از فساد ناشی از تغییرات شیمیایی (از دست دادن کیفیت یا ارزش غذایی)
 - ✓ طولانی شدن عمر نگهداری مواد غذایی
 - ✓ کاهش ضایعات
 - ✓ بهبود بافت ، رنگ ، طعم ،...
- (۱).

مقدمه

مضرات نگهدارنده های شیمیایی

✓ سمیت

✓ سرطان زایی

✓ آلرژی

✓ تراژونیک

✓ ... (۱).

نگهدارنده های طبیعی :

برچسب های "Clean" یا "all-natural" که نشان دهنده طبیعی بودن همه اجزای ترکیبات .

مقدمه

محدودیت های استفاده از نگهدارنده های طبیعی

✓ سطوح بالای استفاده از آنها

✓ ایجاد طعم و رنگ نامطلوب

✓ کاهش پایداری به دلیل کم بودن کارایی مواد ضد باکتریایی طبیعی است

(۲).

یکی از روش های جایگزینی مواد نگهدارنده شیمیایی استفاده از گیاهان دارویی با خواص ضد باکتریایی است. استفاده از گیاهان دارویی، تاریخی به قدمت عمر انسان دارد (۳).

با توجه به اینکه ترکیبات ضد باکتری شیمیایی در مقادیر میکروگرم بر روی مواد غذایی موثر می باشند، در مورد گیاهان نیز سعی میگردد که با غربالگری آنها، گیاهانی که دارای اثر ضد باکتریایی قوی تری هستند، مشخص گردد (۴).

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس

✓ باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت

✓ متابولیسم کربوهیدراتی اکسیداتیو - فرمانتاتیو

✓ التهاب معده ای - روده ای استافیلوکوکی مصرف ماده غذایی که حاوی

یک یا چند نوع آنزیم توکسین

✓ مهمترین مسمومیت غذایی

✓ از مجموع حدود ۲۴ میلیون مورد مسمومیت گزارش شده ، ۹/۸ میلیون

متعلق به کشور ایالات متحده امریکا (۵).



مقدمه

معرفی گیاه خارمشک



✓ نام علمی *Echinophora Orientalis*

✓ نام های محلی : فیاله، کراوی، خوشاریزه

✓ خانواده چتریان (*umbelliferae*) متشکل از ۱۰ گونه از منطقه مدیترانه

به ایران و افغانستان توزیع شده (۵).

✓ گیاهان مرتعی خوراکی خودرو در ایران

✓ گیاهی پایا، سبزماات متمایل به زرد، محکم و خاردار، ساقه منفرد و از پایین منشعب، دارای شاخه های شیار دار ضخیم، محکم و سفت و بسیار منشعب با شاخکهای درهم شده است.

✓ ارتفاع این گیاه به ۳۰ سانتی متر تا ۱۰۰ سانتی متر میرسد (۶).

✓ این گیاه دارای گل های کوچک سفید یکپارچه، دوره گلدهی از ماه ژوئن تا جولای می باشد (۷).

مقدمه

اسانس خارمشک دارای ترکیباتی از جمله آلکالوئیدها و فلاونوئیدها است. این گیاه دارای خاصیت ضد قارچی و همچنین ضد باکتری، مقوی معده، مدر، ضد سرطان می باشد (۹). اندامهای هوایی این گیاه در اغلب نقاط بصورت تر و خشک جهت معطر کردن لبنیات (ماست و دوغ) مصرف می شود، عرق حاصل از این گیاه جهت معطر کردن محیط خانه و به عنوان ضد سردی مصرف می شود (۸).

مقدمه

مدل غذایی

سوپ از غذاهای ایرانی است که تنوع بسیاری دارد. سوپ، زودهضم و در عین حال خوشمزه و مغذی (بویژه به دلیل استفاده از سبزی و گوشت در ترکیب آن) و این روزها با زیاد شدن مشغله‌های کاری و نداشتن فرصت کافی، در صنعت غذایی انواع سوپ‌های آماده‌ای تولید می‌شود که به صورت پودر درآمده اند و در بسته‌بندی‌های مختلف و با عناوین گوناگون در سوپرمارکت‌ها و مغازه‌ها به فروش می‌رسند.

به همین جهت افزایش کیفیت و بهبود خصوصیات این فرآورده‌ها بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است.

هدف اصلی طرح (General Objective)

تعیین اثرات ضد باکتریایی اسانس گیاه خارمشک (*Echinophora Orientalis*)

بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت آزمایشگاهی و مدل غذایی

اهداف فرعی (Specific Objectives)

- ۱- تهیه اسانس روغنی گیاه خارمشک
- ۲- تعیین بازده اسانس گیاه خارمشک
- ۳- تعیین ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه خارمشک
- ۴- ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی اسانس گیاه خارمشک علیه استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت
- ۵- ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی اسانس گیاه خارمشک علیه استافیلوکوکوس اورئوس در مدل غذایی

اهداف کاربردی (Applied Objectives)

بعد از اخذ تأییدهای لازم برای بلامانع بودن افزودن اسانس از ارگانهای ذی ربط ، افزودن این اسانس به عنوان جایگزین افزودنی های شیمیایی در فراورده های غذایی به عنوان عاملی جهت افزایش نگهداری و سلامت مصرف کننده پیشنهاد خواهد شد.

فرضیه ها (Hypothesis)

۱- گیاه خارمشک از بازده اسانس خوبی برخوردار باشد.

۲- اسانس مذکور از فعالیت مهاری مناسبی علیه باکتری استافیلوکوکوس

اورئوس در محیط آزمایشگاهی و مدل غذایی برخوردار باشد.

سوالات پژوهش

۱- آیا گیاه خارمشک از بازده اسانس خوبی برخوردار می باشد؟

۲- آیا اسانس مذکور از فعالیت مهاری مناسبی علیه باکتری استافیلوکوکوس

اورئوس در محیط آزمایشگاهی و مدل غذایی برخوردار می باشد؟

روش کار



- تهیه گیاه
- تایید از نظر صحت نام علمی



- خشک کردن
- آسیاب کردن



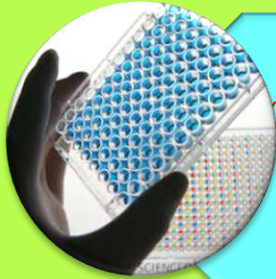
- اسانس گیری با کلونجر

روش کار



آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس

GC/MAS



ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی اسانس در محیط آزمایشگاهی

MIC –

MBC – (۱۱۰ و ۱۱)



ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس علیه استافیلوکوکوس اورئوس در مدل غذایی



ارزیابی حسی

–آزمون پذیرش حسی (۱۲)

بررسی منابع

در مطالعه ای که توسط انتظاری و همکاران انجام گرفت نتایج نشان داد که اثر ضد باکتری اسانس گیاه خارمشک بر رشد دو باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا) در غلظت بالا اسانس رشد به صفر برسد (۱۳).

در مطالعه حجتی و همکارانش نشان داد که اسانس گیاهان خارمشک دارای اثر ضد باکتریایی بوده و بیشترین تاثیر را بر استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب با قطر منطقه بازدارندگی ۲۲/۸ میلی متر و ۳۴/۵ میلی متر داشته است (۱۴).

بررسی منابع

در بررسی انجام شده توسط هاشمی و همکاران، حساس ترین باکتری نسبت به اسانس لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس بودند. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) اسانس بر روی لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس ۶۲۵۰ ppm و ۱۲۵۰۰ ppm بودند (۱۱).

در مطالعه رشیدپور و همکاران در آزمون باکتریایی نشان داد که حداقل غلظت مهار کنندگی MIC و حداقل غلظت کشندگی MBC باکتریایی اسانس ها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت مشخص و با گروه آنتی بیوتیک علیه استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، سودوموناس ایروژینوزا، اشرشیاکولی مقایسه گردید. اثر باکتریایی قوی اسانس خوشاریزه بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد مشاهده گردید، بطوریکه در $MIC=0.16\text{mg/ml}$ اثر مهار کنندگی و در رقت mg/ml $MBC=0.63$ اثر کشندگی را این باکتری بود (۱۵).

بررسی منابع

در مطالعه احسانی و همکاران نیز نشان دادند که اسانس اکینوفورا پلتي لوبا در برابر باکتری های مورد آزمایش اثر ضد باکتریایی نسبتاً قوی داشت. باکتری های لیستریا مونوسایتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس حساس ترین باکتری هادر مقابل اسانس بوده اند. حداقل میزان بازدارندگی اسانس در برابر لیستریا مونوسایتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۶۲۵۰ppm و ۱۲۵۰ppm می باشد (۱۳).

در مطالعه گاکبولوت و همکاران نیز خواص ضد باکتریایی قوی اسانس اکینوفورا تنیوفولیا در برابر استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده شد (۱۴).

بررسی منابع

در مطالعه سایه دهکردی و همکاران تاثیر اسانس اکینوفورا پلتي لوبا در مقابل باکتری های گرم مثبت از جمله لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، کپک و مخمرها مورد بررسی قرار گرفت. باکتری لیستریا مونوسیتوژنز و اشیرشیاکلی مقاوم ترین و استافیلوکوکوس اورئوس حساسترین باکتری در مقابل اسانس بودند (۱۵).

در مطالعه نسرين فياض و همکاران اثرات ضد میکروبی اکینوفورا پلتي لوبا بر استافیلوکوکوس اورئوس ثابت شد. نتایج نشان داد MIC این گیاه بر روی استافیلوکوکوس اورئوس ۹/۰ میلیگرم بر میلی لیتر است و حتی در غلظت های بالاتر رشد میکروارگانیسم را به صفر رساند (۱۶).

بررسی منابع

در مطالعه جی و همکاران میکروارکانیسم هایی مانند باسیلوس سوبتلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، ایشرشیا کلی، لیستریا مونو سیتوژنز مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که MIC برای استافیلوکوکوس اورئوس ۴۴۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود (۱۷).

در مطالعه شرافتی و همکاران نیز خواص ضد میکروبی اسانس اکینوفورا پلنتی لوبا مورد بررسی قرار گرفت MIC. در رنج ۲۵/۳۱ و ۵/۶۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود (۱۸).

References

1. Rokni N. principles of food Hygiene: World Health Organization; 2011.
2. Zare P, Mahmoudi R, Ehsani A. Biochemical and antibacterial properties of essential oil from *Teucrium polium* using resazurin as the indicator of bacterial cell growth. *Pharm Sci*.8-183:(3)17;2011 .
3. Darabpour I. to investigate the antimicrobial activity of plant leaves *Teucrium* (*Teucrium polium*) native province against some bacteria from clinical,. 1387.
4. Larson S, Young K, Cook A, Blake T, Raboy V. Linkage mapping of two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theoretical and Applied Genetics*. 1998;97(1-2):141-6.
5. Misaghi A, Moosavy M, Salehi T, karim G. Thyme essential effect on the growth of *Staphylococcus aureus* in the soup b

References

- 6 . Baniebrahim S, Razavi SM. Essential Oil Composition of *Echinophora orientalis* Hedge and Lamond Leaves from Iran. 2013.
7. .Georgiou C, Koutsaviti A, Bazos I, Tzakou O. Chemical composition of *Echinophora tenuifolia* subsp. *sibthorpiana* essential oil from Greece. *Rec Nat Prod*. 2010;4:167-70.
8. Ghavam.M, Mokhtari.A. A review of medicinal plant *platyloba* (*Echinophora platyloba*). The first international conference on new findings of Agriculture, Natural Resources and Environment. 2013.
9. Pass M, Rashidipour M, Talei G, Doosty B. Chemical compositions, antibacterial and antioxidant properties of *Echinophora cinerea* essential oil. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)*. 2012;3(2):67-74.

References

10. 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 chemistry*. 2007;103(4):1449-56 .
11. Hashemi M, Ehsani A, Jazani NH, Aliakbarlu J, Mahmoudi R, editors. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of essential oil and methanol extract of *Echinophora platyloba* DC against some of food-borne pathogenic bacteria. *Veterinary Research Forum*; 2013: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
12. Jafarzadeh Khalidi Kamran, Mehrzad AM. Rosemary oil effects on the growth of *Staphylococcus aureus* in bouillons business. *Comparative Pathobiology*. 2010;7:255-64.

References

13. Entezari M, Hashemi M, Ashki M, Ebrahimian S, Bayat M, Azizi Saraji A, et al. Studying the effect Echinophora platyloba extract on bacteria (Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa) and fungi (Candida albicans, Aspergillus flavus and Aspergillus niger) in vitro. World J Med Sci. 2009;4(2):89-92.
14. Zarali M, Hojjati M, Didehban ST, Jooineh H. Evaluation of chemical composition and antibacterial activities of Echinophora cinerea Boiss and Stachys lavandulifolia Vahl essential oils in vitro. Journal of Food Science & Technology (2008-8787). 2016;13(52).
15. Misaghi A, Moosavy M, Salehi T, Karim G. Thyme essential effect on the growth of Staphylococcus aureus in the soup business.

References

14. Gokbulut I, Bilenler T, Karabulut I. Determination of chemical composition, total phenolic, antimicrobial, and antioxidant activities of *Echinophora tenuifolia* essential oil. *International Journal of Food Properties*. 2013;16(7):1442-51.
15. Saei-Dehkordi SS, Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Kousha S. Chemical Composition and Antioxidative Activity of *Echinophora platyloba* DC. Essential Oil, and Its Interaction with Natural Antimicrobials against Food-Borne Pathogens and Spoilage Organisms. *Journal of food science*. 2012;77(11):M631-M7.
16. N f, AM S, M N. The antimicrobial properties of plant extracts on *Staphylococcus aureus* *Echinophora platyloba*.

References

17. Michielin EM, Salvador AA, Riehl CA, Smânia A, Smânia EF, Ferreira SR. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. *Bioresource technology*. 2009;100(24):6615-23.
18. Sharafati-chaeshtori R, Rafieian-kopaei M, Mortezaei S, Sharafati-chaeshtori A, Amini E. Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of *Echinophora platyloba* DC. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2012;6(37):2692-5.

