بسم الله الرحمن الرحیم

اللهم صل علی محمد و آل محمد و عجل فرجهم

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین
دانشکده بهداشت

دفاع پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی

عنوان:

تعیین اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه خارمشک (Echinophora orientalis) بر استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت آزمایشگاهی و مدل غذایی

استاد راهنما:دکتر پیمان قجر بیگی

استاد مشاور:دکتر رزاق محمودی

دانشجو:عفت فرزانه نیا

مهرماه ۹۵

مقدمه

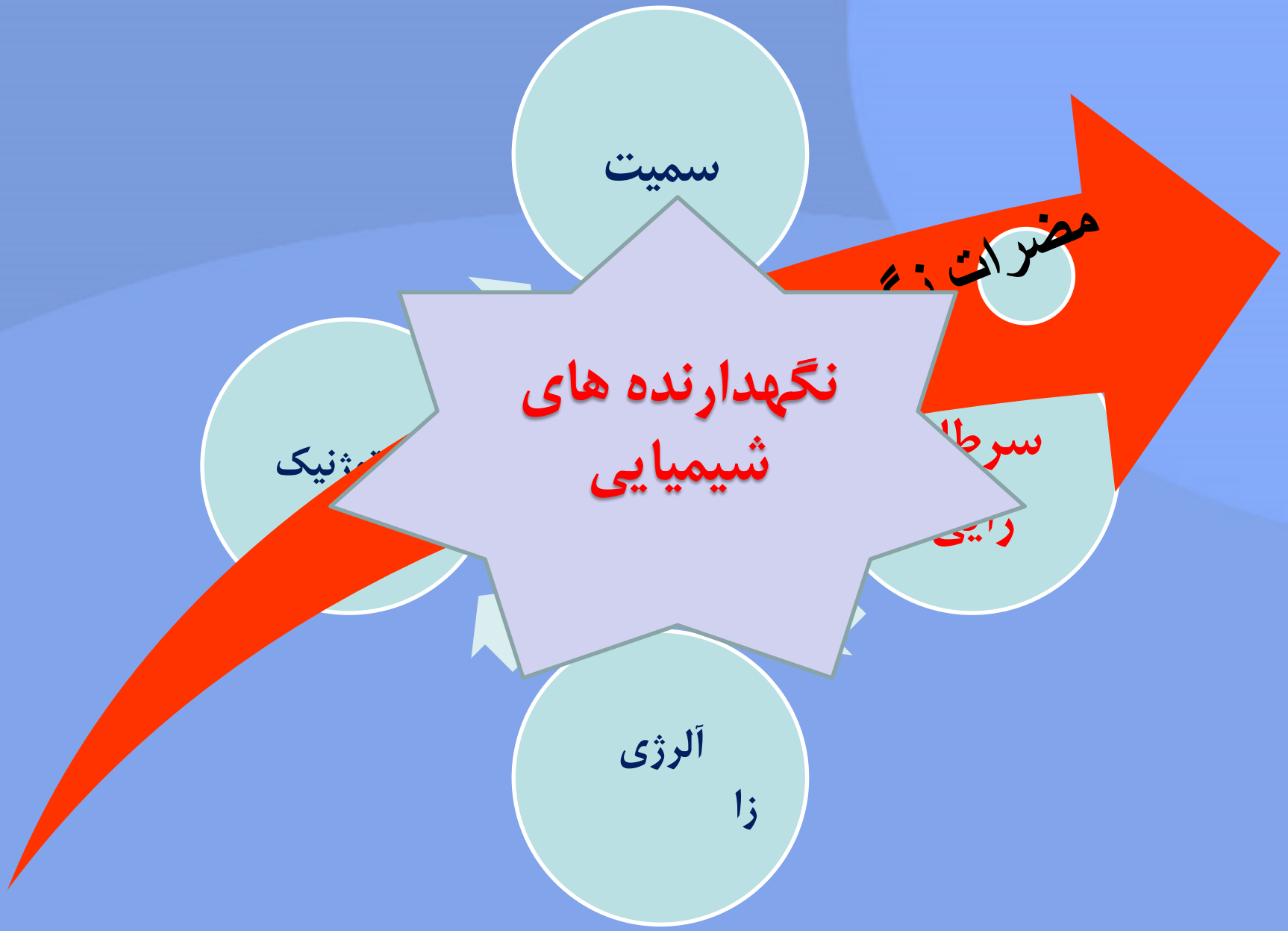
شایع ترین و مهمترین مسمومیت غذایی

استافیلوکوکوس اورئوس

التهاب معده ای – روده ای استافیلوکوکی

ازنظر وقوع در لیست سه مسمومیت درجه اول

مقدمه



گیاه خارمشک

نام علمی
Echinophora Orientalis

گل های کوچک سفید یکپارچه ، محکم و خاردار

خواص ضد قارچی و ضد باکتری

ضد سرطان ، مقوی معده ، مدر

اهداف و فرضیات

هدف اصلی

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

اهداف فرعی

- ✓ تعیین ترکیبات مؤثره شیمیایی اسانس گیاه خارمشک
- ✓ ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی اسانس گیاه خارمشک علیه استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت آزمایشگاهی
- ✓ ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی اسانس گیاه خارمشک علیه استافیلوکوکوس اورئوس درمدل غذایی

فرضیات پژوهش

فرضیات
پژوهش

- گیاه خارمشک از بازده اسانس خوبی برخوردار است.
- اسانس ازفعالیت مهاری مناسبی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس درمحیط کشت آزمایشگاهی برخوردار است
- اسانس مذکور از فعالیت مهاری مناسبی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مدل غذایی برخوردار است.
- اسانس خارمشک بر افزایش مدت ماندگاری سوپ مؤثر است.

اهداف کاربردی

- ✓استفاده از اسانس خارمشک جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی.
- ✓ کاهش مسمومیت های غذایی با بکارگیری اسانس خارمشک به عنوان یک عامل ضد باکتریایی.
- ✓ جایگزینی اسانس به جای نگهدارنده های شیمیایی و کاهش آسیب های ناشی از آن.

روش کار

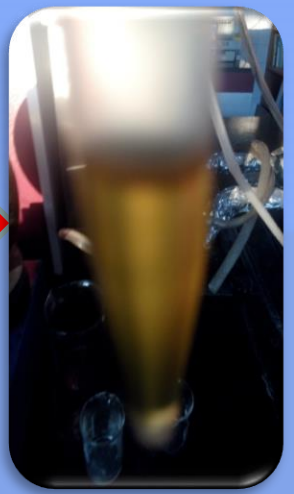
روش کار

تهیه اسانس

جمع آوری و خشک کردن گیاه

آسیاب کردن گیاه

اسانس گیری توسط کلونجر

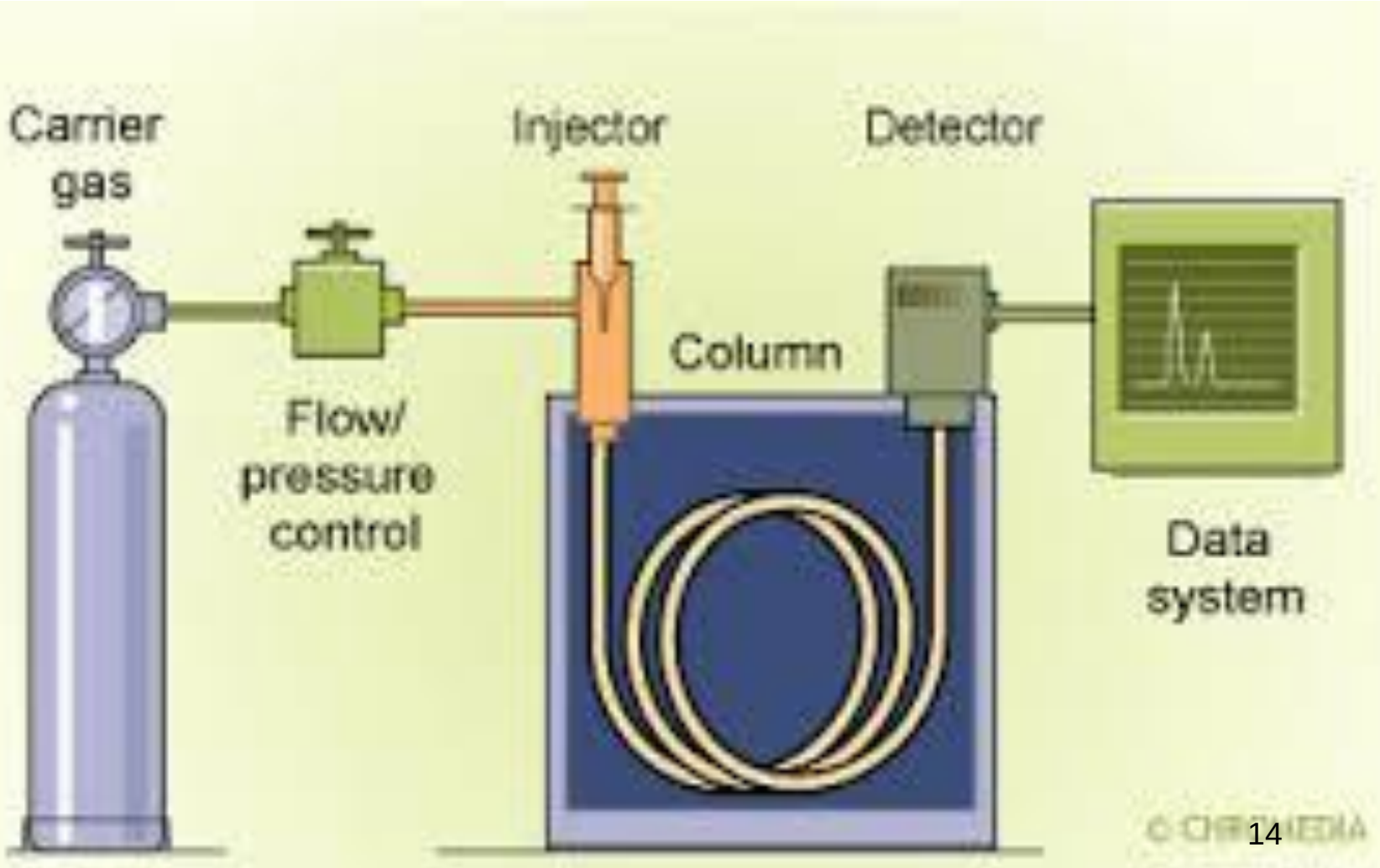


اسانس خارمشک

روش کار

آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس توسط GC-MAS

GC-MS

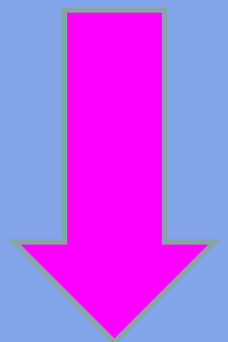


روش کار

مراحل تعیین MIC وMBC در محیط کشت آزمایشگاهی

MIC= minimum inhibitory concentration

MBC= minimum bactericidal concentration



روش کار

آماده سازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

مرحله اول

انکوباسیون ← کشت سطحی روی محیط برد پارکر آگار ← انکوباسیون

تجدید کشت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت BHI Broth و انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتیگراد به مدت 24 ساعت

حل کردن کلنی داخل آب مقطر

نیم مک فارلند

10^6 g $ml^{-1}\mu$

روش کار

مرحله دوم

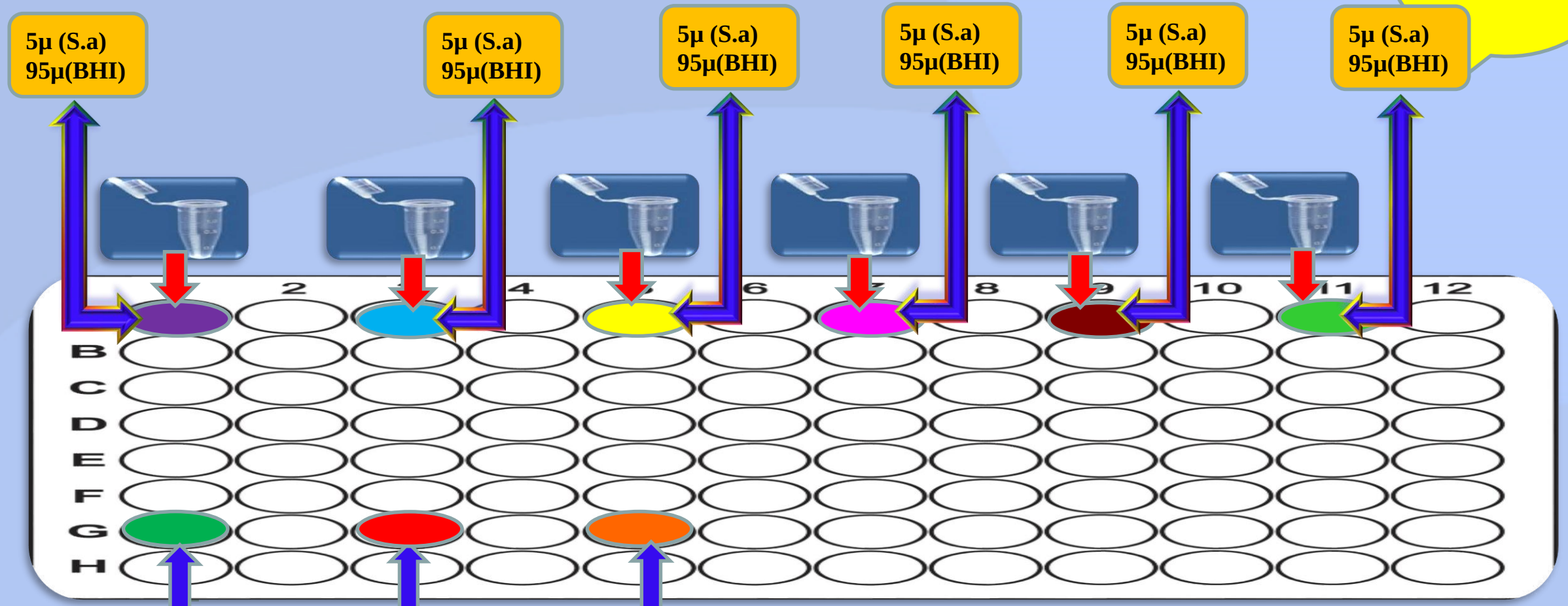
تهیه رقت های اسانس

محیط کشت
اسانس
حلال

روش کار

انتقال رقت ها به چاهک های میکروپلیت

مرحله سوم



A: Positive control (+): No essential oil

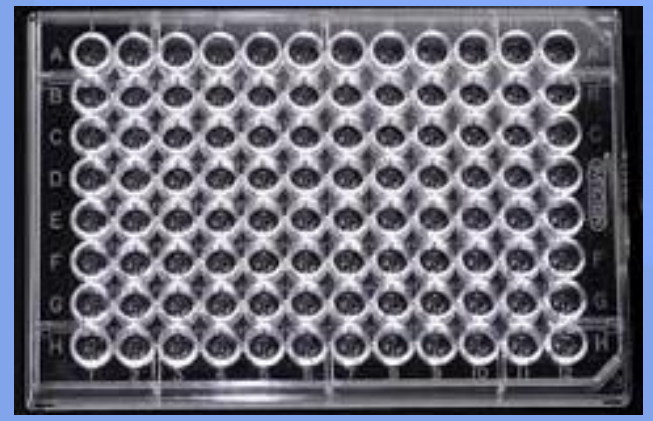
B: Negative control (_): No bacteria

C:Essential Oil

روش کار

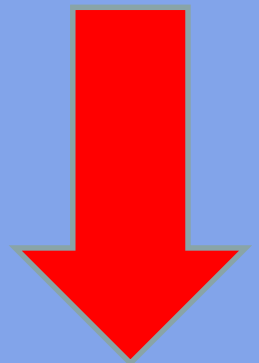
مرحله
چهارم

گرمخانه گذاری میکروپلیت در ۳۷°C به مدت ۲۴ h – ۱۸



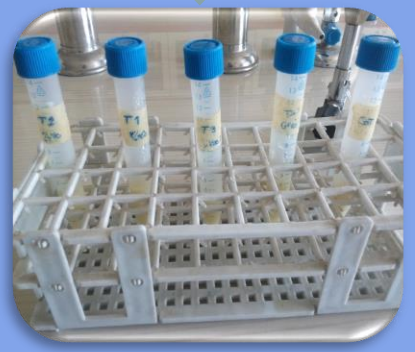
روش کار

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی اسانس علیه استافیلوکوکوس اورئوس در مدل غذایی



روش کار

مرحله اول



اتوکلاو
۱۲۱°C,۱۵ min

T1- 6.25µ

T2- 12.5µ

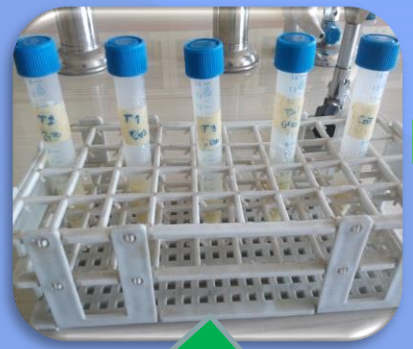
T3- 25µ

$10^3 \mu g\ ml^{-1}$

مرحله دوم

تزریق 10 µ به داخل 4 لوله فالکون حاوی 5cc سوپ

مرحله سوم



یخچال

روش کار

ارزیابی حسی

بسمه تعالی

پانلیست محترم .....

با سلام

نمونه های سوپ تهیه شده حاوی اسانس خارمشک برای ارزیابی حسی در اختیار شما قرار می گیرد. لطفا بعد از خوردن نمونه ها، نظرتان را در خصوص پذیرش حسی طبق مقیاس زیر اعلام نمایید.

اعلام نمره بر اساس مقیاس زیر می باشد:

در این مقیاس نمره ۹ خیلی عالی، نمره ۸عالی، نمره ۷ خوب، نمره ۶ نسبتاً خوب، نمره ۵ نه خوب نه بد، نمره ۴ نسبتاً بد، نمره ۳ بد، نمره ۲ خیلی بد و نهایتاً نمره ۱ فوق العاده بد،

نمونه سوپ	بو	مزه	رنگ
A			
B			
C			
D			

نتایج

نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس با استفاده از GC-MS

✓میزان بازده استخراج اسانس خارمشک ٪ ۵۷/. بر اساس وزن خشک نمونه بود.

✓ در مجموع ۴۳ ترکیب شناسایی شد. عمده ترین آنها شامل:

No	Compound	RT(min)	Percentage
1	(R)-γ -decalactone	15.62	21.15
2	β-trans-Ocimene	6.68	15.27
3	β -Spathulenol	17.73	7.74
4	Eugenol methyl ether	13.69	6.61
5	α– Terpineol	9.44	3.68

نتایج MIC , MBC

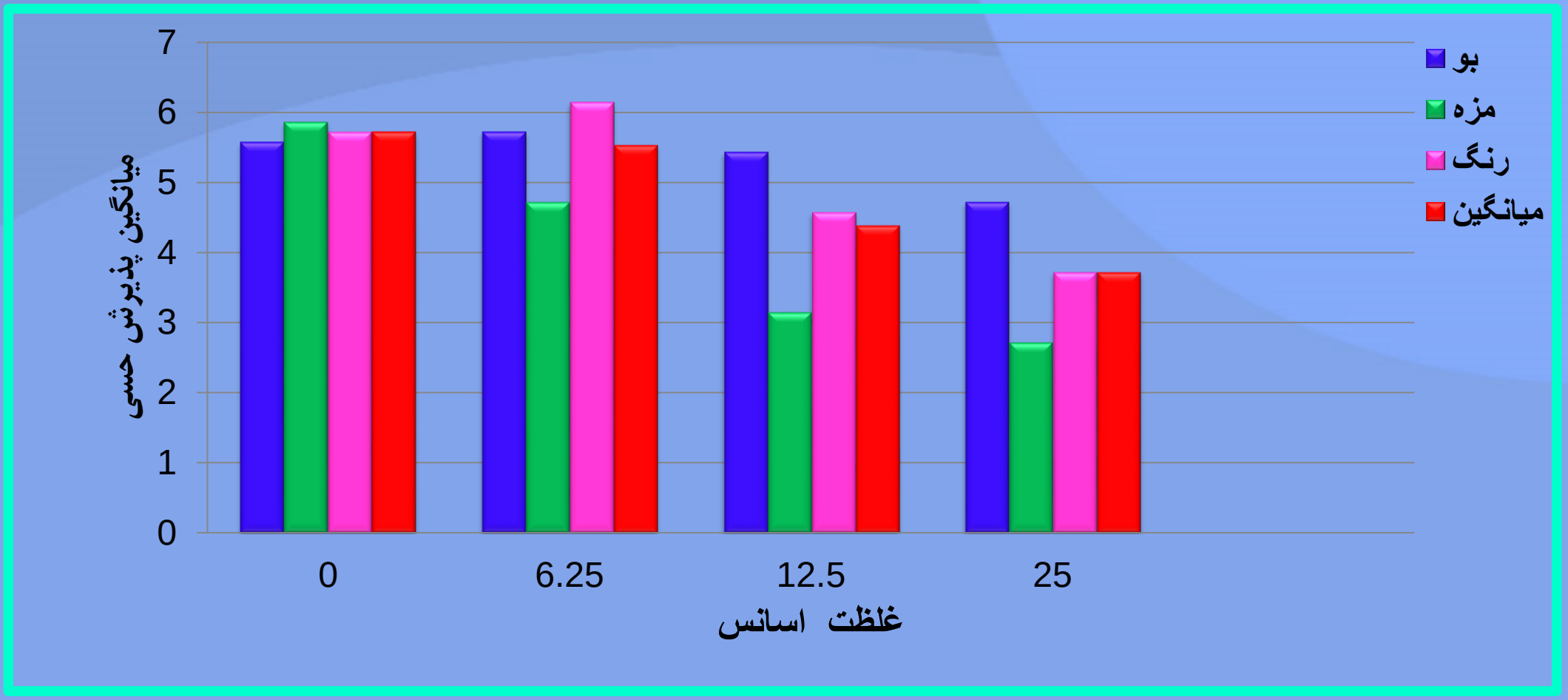
فعالیت ضدباکتریایی	غلظت اسانس خارشک ($\mu g\ ml^{-1}$)									
	۳/۱۲۵	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	۱۲۵	۱۵۰	۱۷۵	۲۰۰
MIC	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
MBC	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-

روزها/غلظت	۰	۶/۲۵	۱۲/۵ NS	۲۵ NS
اول	۲۴۸/۳۳^{a}±۶/۲۳	۶۲/۳۳^{d}±۴/۰۷	۰	۰
دوم	۵۴۵^{b}±۱۲/۲۴	۴۲/۶۶^{c}±۳/۰۲	۰	۰
سوم	۶۷۶/۶۷^{c}±۱/۳۱	۱۶^{b}±۰/۸۱	۰	۰
چهارم	۸۳۰^{d}±۱/۳۳	۱/۳۳^{a}±۰/۶۵	۰	۰
پنجم	۱۰۷۴^{e}±۱/۹۴	۰^{a}	۰	۰

-NS= Not Significant

-میانگین اعداد نشان داده شده در هر ستون با حروف متفاوت از نظر آماری تفاوت معنی داری را نشان می دهد ($P<0.05$).

نتایج ارزیابی حسی



میزان میانگین پذیرش خصوصیات حسی سوپ جو تجارتی حاوی غلظت های مختلف اسانس خارمشک

بحث و نتیجه گیری

Name plant species	Main components	Region collect plants	References
E. orientalis	**γ-decalactone (21.15%)** β-cis-Ocimene (15.27%) Linalool L (8.82%) Spathulenol (7.74 %)E	**Binalud mountains in Nishapur ,Iran**	**The present study**
E. platyloba			aei-Dehkordi, Fallah et al. 2012)
E. platyloba			Hashemi, Ehsani et al. 2013)
E. tenuifolia	**α-phellandrene (43.8%)** methyleugenol (28.6%) p-cymene (9.5%)	Greece	(Georgiou, Koutsaviti et al. 2010)
E. tenuifolia	**methyl eugenol (60.40%)** p-cymene (11.18%)	Serbia	(Mileski, Dzamic et al. 2014)

بحث آنالیز اسانس توسط GC

Name plant species	Main components	Region collect	References
E. platyloba	**(Z)-β-ocimene (26.71%)** δ^3-carene (16.16%) Limonene (6.59 %)	Isphahan, Iran	(Rahimi, Gholivand et al. 2010)
E. lamondiana	**δ3-carene (65.9%)** α-Phellandrene (12.8%)	Malatya, Turkey	(Ali, Tabanca et al. 2015)
E. platyloba	(Z)-β-ocimene (38.9%) α-phellandrene (24.2%) P-cymene (7.4%)	Northwest Iran (Maragheh district)	(Hassanpouraghdam, Shalamzari et al. 2009)
E. Platyloba	**trans-β – ocimene (67.9%)** 2-furanone (6.2%)	Tehran, Iran	(Entezari, Hashemi et al. 2009)
E.orientalis	**β-myrcene (32.1%)** α-pinene (16.7%) p-cymene (14.34%)	Eastern Azerbaijan, Iran	(Baniebrahim and Razavi 2013)
Echinophora platyloba	**P-cymene (22.15%)** α-pinene (18.52%) β-phellandrene (14.40%)	Iran	(Moghaddam, Taheri et al. 2015)

مطالعات انجام شده در محیط آزمایشگاهی	گونه مورد مطالعه	میکروارگانیسم مورد بررسی	نتایج	
			MIC(µg ml^{-1})	MBC(µg ml^{-1})
مطالعه حاضر (۲۰۱۶)	E.orentalis	استافیلوکوکوس اورئوس	۷۵	۱۲۵
میلسکی (۲۰۱۴)			۶	۲۷۰۰
			۱	۱۰۷۸۰
			۱	۱۳۵۰
			۶	۱۳۵۰
هاشمی (۲۰۱۳)			۶	–
		استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲۵۰	–
جاسمین (۲۰۱۱)	E.spinosa	استافیلوکوکوس اورئوس	۲۵۰۰	۱۰۰۰۰
		اشریشیاکلی	۶۲۵	۵۰۰۰
		سالمونلا تیفی موریوم	۱۰۰	۲۵۰۰
		باسیلوس سرئوس	۵۰۰	۱۰۰۰
سیتین (۲۰۱۶)	E.tenuifolia	استافیلوکوکوس اورئوس	۷/۸	۲۵۰
		سالمونلا تیفی موریوم	۷/۸	۵۰۰

بحث ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی در محیط کشت آزمایشگاهی

مطالعات انجام شده در مدل غذایی	اسانس	مدل غذایی	میکروارگانیسم مورد بررسی	نتایج
مطالعه حاضر (۲۰۱۶)	خارمشک	سوپ تجاری	استافیلوکوکوس اورئوس	کاهش رشد S.a ماندگاری سوپ
حجتی (۲۰۱۵)	خارمشک چای کوه			افزایش رشد L.B , S.t کاهش رشد کپک و مخمر
دیگرمنشیاقلو (۲۰۰۵)	خارمشک	ترخینه	اسیدلاکتیک باکتریها	افزایش رشد L.B افزایش رشد مخمرها
احسانی (۲۰۱۵)	خارمشک + لیکوپن	خامه	سودوموناس	کاهش رشد سودوموناس افزایش قوام و مدت ماندگاری

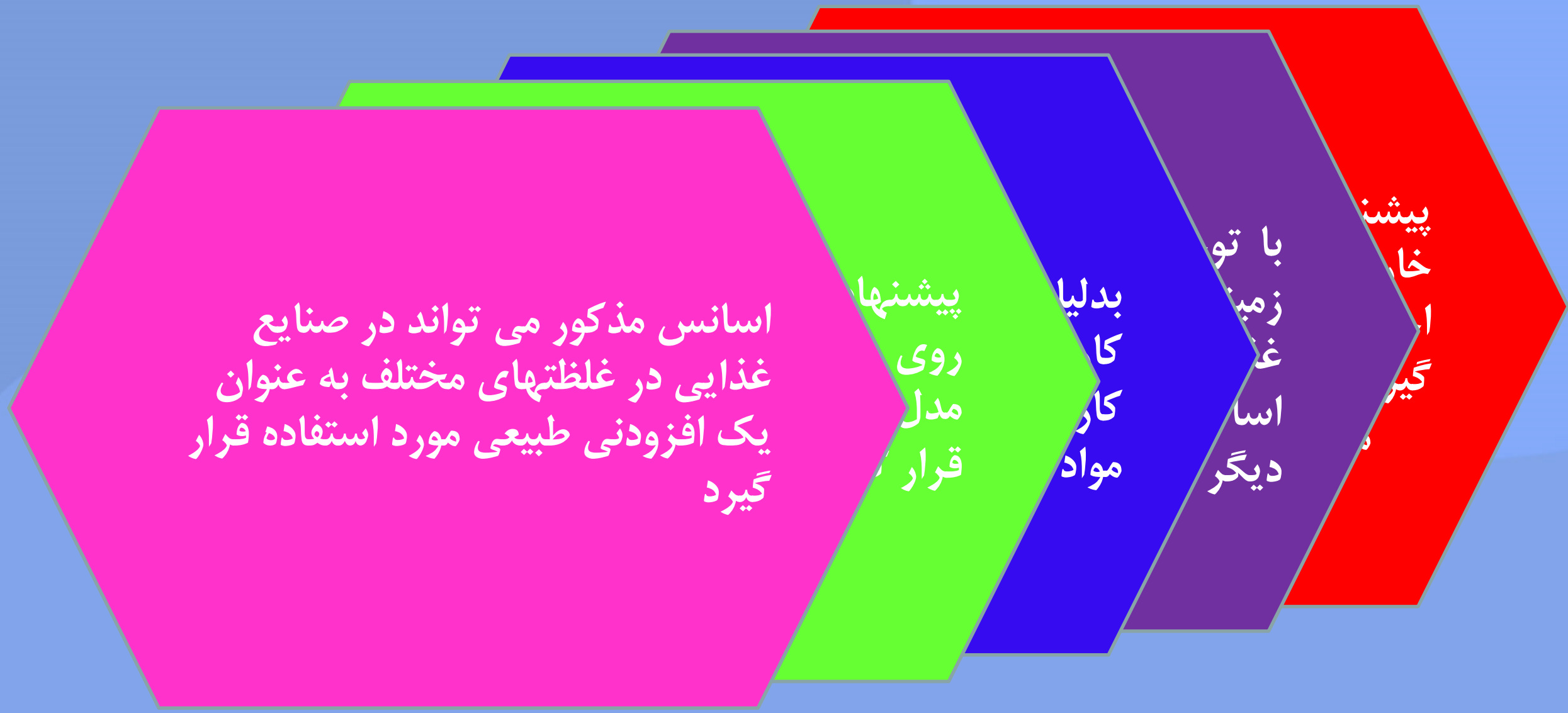
بحث ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی در مدل غذایی

نتیجه گیری کلی

- نتایج این مطالعه مبین اثر ضد باکتریایی اسانس خار مشک علیه استافیلوکوکوس اورئوس بود.

- مطالعه حاضر نشان داد اسانس مذکور در مدل غذایی مؤثر بر خواص ارگانولپتیک بود.

پیشنهادات


اسانس مذکور می تواند در صنایع غذایی در غلظتهای مختلف به عنوان یک افزودنی طبیعی مورد استفاده قرار گیرد

منابع

1. Andogan, B. C., H. Baydar, S. Kaya, M. Demirci, D. Ozbaşar and E. Mumcu (2002) ."Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils." Archives of pharmacal research 25(6): 860-864.

2. Asghari, G. R., S. E. Sajjadi, H. Sadraei and K. Yaghobi (2010). "Essential oil constituents of Echinophora platyloba DC." Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2(3): 185-186.

3. Avijgan, M., M. Hafizi, M. Saadat and M. A. Nilforoushzadeh (2010). "Antifungal effect of Echinophora Platyloba's extract against Candida albicans." Iranian Journal of Pharmaceutical Research 5(4): 285-289.

4. Bagamboula, C., M. Uyttendaele and J. Debevere (2004). "Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri." Food microbiology 21(1): 33-42.

5. Bahraminejad, S., S .Abbasi and M. Fazlali (2011). "In vitro antifungal activity of 63 Iranian plant species against three different plant pathogenic fungi." African Journal of Biotechnology 10(72): 16193-16201.

6. Baniebrahim, S. and S. M. Razavi (2013). "Essential Oil Composition ofEch1'n0ph0ra oriemfalis Hedge and Lamond Leaves from Iran." pharmacologia 4(8): 507-510.

7. Cetin, B., Y. Kaya, A. Cakır, H. Ozer, O. Aksakal and E. Mete (2016). "Antimicrobial Activities of Essential Oils and Hexane Extracts of Two Turkish Spice Plants, Cymbocarpum erythraeum (DC.) Boiss. and Echinophora tenuifolia L. Against Foodborne Microorganisms." Records of Natural Products 10(4): 426-436.

8. Chalchat, J., M. Ozcan, A. Dagdelen and A .Akgul (2007). "Variability of essential oil composition of Echinophora tenuifolia subsp. sibthorpiana Tutin by harvest location and year and oil storage." Chemistry of Natural Compounds 43(2): 225-227.

9. Delaram, M. and Z. Sadeghiyan (2010). "The effect of echinophora-platyloba extract on primary of dysmenorrhea." Arak Medical University Journal 13(3): 61-67.

10. Ehsani, A., M. Hashemi, N. H. Jazani, J. Aliakbarlu, S. Shokri and S. S. Naghibi (2016). "Effect of Echinophora platyloba DC. essential oil and lycopene on the stability of pasteurized cream obtained from cow milk." Veterinary Research Forum 7(2):139-148

11. Entezari, M., M. Hashemi, M. Ashki, S. Ebrahimian, M. Bayat, A. Azizi Saraji and S. Rohani (2009). "Studying the effect Echinophora platyloba extract on bactira (Staphilococus aureus and Pseudomonas aeroginosa) and fungi (Candidia albicans, Aspergilus flavus and Aspergilus niger) in vitro." World J Med Sci 4(2): 89-92.

12. Fahimeh, P. c., M. Ali, S. e. Flora and B. Giti (2013). "Comparison of the antibacterial properties of essential oils of four species of medicinal plants sage. Salvia L." Research in Medicine 37(4): 205-210.

13. Farag, R., M .Ali and S. Taha (1990). "Use of some essential oils as natural preservatives for butter." Journal of the American Oil Chemists' Society 67(3): 188-191.

14. Fayyaz, N., A. MohamadiSani and M. N. Najafi (2015). "The study prickly parsnip extract effects on durability of heat treated Doogh." DAMA International 4(3): 2319–5037.

15. Georgiou, C., A. Koutsaviti, I. Bazos and O. Tzakou (2010). "Chemical composition of Echinophora tenuifolia subsp. sibthorpiana essential oil from Greece." Rec. Nat. Prod 4(3): 167-170.

16. Glamoclija, J. M., M. D. Sokovic, J. D. Siljegovic, M. S. Ristic, A. D. Ciric and D. V. Grubisic (2011). "Chemical composition and antimicrobial activity of Echinophora spinosa L. (Apiaceae) essential oil." Rec. Nat. Prod 5(4): 319-323.

17. Gokbulut, I., T. Bilenler and I. Karabulut (2013). "Determination of chemical composition, total phenolic, antimicrobial, and antioxidant activities of Echinophora tenuifolia essential oil." International Journal of Food Properties 16(7): 1442-1451.

18. Hashemi, M., A. Ehsani, N. H. Jazani, J. Aliakbarlu and R. Mahmoudi (2013). "Chemical composition and in vitro antibacterial activity of essential oil and methanol extract of Echinophora platyloba DC against some of food-borne pathogenic bacteria." In Veterinary Research Forum, 4(2): 123.

19. Keykavousi M, Tarzi B.,G., Mahmoudi R., Babakhoda H., Kabudari A., and S. F. R. P. Mahalleh (2016). "Study of antibacterial effect of Teucrium polium essential oil on bacillus cereus in cultural laboratory and commercial soup." Carpathian Journal of food science and technology 8(2): 176-183

20. Mendoza, C., F. E. Viteri, B. Lönnerdal, K. A. Young, V. Raboy and K. H. Brown (1998). "Effect of genetically modified, low-phytic acid maize on absorption of iron from tortillas." The American journal of clinical nutrition 68(5): 1123-1127.

21. Mileski, K., A. Dzamic, A. Ciric, S. Grujic, M. Ristic, V. Matevski and P. Marin (2014). "Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of Echinophora sibthorpiana Guss. from Macedonia." Archives of Biological Sciences 66(1): 401-413.

22. Moghaddam, M., P. Taheri, A. G. Pirbalouti and L. Mehdizadeh (2015). "Chemical composition and antifungal activity of essential oil from the seed of Echinophora platyloba DC. against phytopathogens fungi by two different screening methods." LWT-Food Science and Technology 61(2): 536-542

.

23. Rahimi, N. M., M. Gholivand, M .Niasari and A. Vatanara (2010). "Chemical composition of the essential oil from aerial parts of Echinophora platyloba DC. from Iran." journal of Medicinal Plants 1(33): 53-56.

24. Saei-Dehkordi, S. S., A. A. Fallah, S. S. Saei-Dehkordi and S. Kousha (2012). "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 77(11): 631-637.

25. Sharafati-chaleshtori, R ,.M. Rafieian-kopaei, S. Mortezaei, A. Sharafati-chaleshtori and E. Amini (2012). "Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of Echinophora platyloba DC." African Journal of Pharmacy and Pharmacology 6(37): 2692-2695.

DMSO= 25

EO=25

G.M(BHI)=50

DMSO= 25

EO=12.5

G.M(BHI)=62.5

DMSO= 25

EO=6.25

G.M(BHI)=68.87

DMSO= 25

EO=3.125

G.M(BHI)=71.44

DMSO= 25

EO=1.56

G.M(BHI)=73.44

DMSO= 25

EO=0.78

G.M(BHI)=74.42

G.M= Growth Medium