مقایسه تأثیر عصاره مریم گلی و زیره سبز در جلوگیری از توکسین زایی قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مغز پسته

حمید توکلی پور[1] لیلا زبرجانی[2] مجید جوانمرد داخلی[3]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی ،واحد سبزوار ، دانشگاه آزاد اسلامی ، سبزوار ، ایران
۲-دانش آموخته کارشناسی ارشد ،گروه علوم و صنایع غذایی ،واحد سبزوار ، دانشگاه آزاد اسلامی ، سبزوار ، ایران
۳-پژوهشکده شیمی و صنایع غذایی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران ، تهران ، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش:۹۵/۰۴/۱۵

چکیده

در این پژوهش از پلیمر طبیعی بر پایه کنسانتره پروتئین خوراکی آب پنیر،برای پوشش دهی مغز پسته استفاده گردید. مغز پسته با عصاره مریم گلی در مقادیر ۳۵۰۰، ۴۵۰۰ و ۵۰۰۰ پی پی ام و زیره سبز در مقادیر ۳۰۰۰، ۵۰۰۰، ۵۵۰۰، ۶۰۰۰ و ۶۵۰۰ پی پی ام به پوشش افزوده شد و علاوه بر آن نمونه شاهد نیز در نظر گرفته شد، گروه شاهد شامل مغز پسته بدون پوشش و بدون عصاره و مغز پسته پوشش دیده و بدون عصاره بودند. سپس گروههای تیمار و شاهد جهت بررسی اثرات ضد قارچی در مدل واقعی، در پلیت های استریل قرا داده شده و کشت هفت روزه قارچ آسپرژیلوس فلاووس را به مرکز هندسی پلیت‌ها تلقیح کرده و بعد از آن به شکل روزانه رشد دیسک تلقیحی اندازه گیری شد. تمامی پلیت ها دردمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ده روز گرمخانه گذاری شدند. افزایش میزان غلظت عصاره در پوشش خوراکی بر پایه آب پنیر منجر به کاهش معنی دار رشد قارچ تلقیح شده گردید.در بررسی تأثیر مقادیر مختلف عصاره در ترکیب پوشش میزان ممانعت کنندگی بر روی تولید آفلاتوکسین از اهداف اصلی طرح بوده که نتایج در قالب نمودار های اندازه گیری سموم B_1، B_2، G_1 و G_2 ارایه شده است. نتایج نشان داد که برای عصاره مریم گلی مقادیر بالاتر از غلظت ۴۵۰۰پی پی ام و برای عصاره زیره سبز غلظت های بیشتر از ۶۰۰۰ پی پی ام باعث جلوگیری از تولید آفلاتوکسین در مغز پسته گردید.

واژه‌های کلیدی: مغز پسته، آفلاتوکسین، پوشش خوراکی ، زیره سبز، مریم گلی

مسؤول مکاتبات:javanmard @ irost.ir

۱-مقدمه

پسته درختی است از خانواده آناکاردیاسه که با شرایط تابستانهای گرم و خشک استان هایفارس، یزد، خراسان و سمنان سازش یافته است.کاشت پسته در ایران قدمت تاریخیدارد و در حال حاضر بزرگترین تولید کننده و صادر کننده پسته در جهان به شمار می آید.بعد از ایران ،امریکا،ترکیه و یونان در جایگاه بعدی قرار دارند. پسته در صادرات غیر نفتی کشور سهم عمده ای را به خود اختصاص داده است، حفظ خواص کیفی پسته در شرایط مطلوب، یکی از راه های حفظ قدرت رقابت در بازارهای بین المللی است.از سال ۱۳۷۶ که اتحادیه اروپاپسته ایران را به دلیل ادعای آلودگی به سم آفلاتوکسین تحریمکرد ، موضوع آلودگی مواد غذایی به مایکوتوکسین ها به ویژه آفلاتوکسین در پسته مورد توجه قرار گرفته و پژوهش های دامنه داری بوسیله مراکز پژوهشی کشور در این زمینه انجام می‌گیرد. آب پنیر یکی از فرآورده های جانبی فرآورش و تولید پنیر محسوب می کردد که به عنوان یک فرآورده با ارزش کاربردهای زیادی در فن آوری غذایی و سایر صنایع پیدا کرده است ولی بخش قابل توجهی از آن دفع و به عنوان پساب موجب آلودگی محیط زیست می شود. افزایش مصرف اکسیژن زیستی (BOD)و سایر مشکلات زیست محیطی،فراوری یا دفع آب پنیر را به یکی از دغدغه های صنایع لبنیات تبدیل کرده است(۸).از سوی دیگر دارا بودن مقادیر بالای پروتئین، مواد معدنی و سایر ریزمغذی ها، آب پنیر را در زمره یکی از با ارزش ترین ضایعات صنایع غذایی تبدیل نموده است. هرگونه استفاده از این ماده و استفاده از آن در صنایع غذایی و بسته بندی علاوه بر ایجاد ارزش افزوده مشکلات زیست محیطی ناشی از دفع آنرا نیز مرتفع می سازد. در سالهای اخیر امکان استفاده از پروتئین آب پنیر در ساخت پوشش های خوراکی موضوع پژوهشهای بسیاری بوده است.پایه فیلمهای خوراکی می تواند یکی از چهار ترکیب اصلی یعنی لیپیدها، رزین ها، پلی ساکارید ها و پروتئین ها باشد. انتخاب نهایی بر مبنای خواص بازدارندگی فیلم مانند نفوذ رطوبت، انتقال گازها به ویژه اکسیژن و نگهداری ترکیبات موجود طعم و بو در مواد غذایی انجام می گیرد. بسته بندی ضد میکربی[4]نوعی بسته بندی فعال[5] محسوب می شود که مدت زمان ماندگاری محصولات غذایی را افزایش و ایمنی مواد خوراکی را از نظر میکربی تامین می کند(۱۰،۱۲).این بسته بندی باعث کاهش، مهار و یا به تعویق انداختن رشد میکرو ارگانیسم ها در مواد غذایی می گردد. تاکنون تحقیقات اندکی در زمینه استفاده از فیلم ها و پوششش های خوراکی ضد قارچی صورت گرفته است. که در این رابطه می توان به مطالعات انجام شده در زمینه تاثیر عصاره‌های گیاهی و اسانس های روغنی و برخی مواد شیمیایی که غالباً در پوشش های خوراکی ضد باکتریایی به کار رفته اند،اشاره نمود. در بررسیهای انجام شده توسط Han(۲۰۰۰) اثرات بازدارندگی رشد بوسیله فیلم های ایزوله پروتئینی آب پنیر که حاوی لیزوزیم، نیسین، EDTA و پروپیل –P- بنزوئیک اسید هستند را در برابر لیستریامونوسیتوژنز، اشرشیا کلی O157:H7، بروکوتریکس ترموسفاکتا ، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلاتیفی موریوم نشان دادند (۱۱). فیلم های حامل لیزوزیم و نیسین اساساً از رشد بروکوتریکس ترموسفاکتا و به‌طور مؤثر از رشد استافیلوکوکوس اورئوس ممانعت کردند. فیلم های حاوی EDTA بازدارندگی خوبی در برابر لیستر یا مونوسیتوژنز و سالمونلاتیفی موریوم نشان داده اند و یک تأثیر نهایی روی اشرشیاکلی O157:H7 داشت. پروپیل –P- بنزوئیک اسید تأثیر چشمگیری بر روی باکتری های آزمایش شده نداشت.در همین زمینه مطالعه صورت گرفته توسط Min و همکاران (۲۰۰۵) که به بررسی اثرات ضد میکروبی لاکتو فرین، لیزوزیم، سیستم لاکتو پراکسیداز و فیلم های خوراکی ایزوله پروتئینی آب پنیر که حاوی سیستم لاکتو پراکسیداز هستند، برای جلوگیری از رشد سالمونلا انتریکا و اشرشیا کلی O157:H7 پرداختند. فیلم های ایزوله پروتئینی آب پنیر که حاوی سیستم لاکتو پراکسیداز هستند پتانسیل خوبی از خود برای کنترل رشد سالمونلا انتریکا و اشرشیا کلی

[4]Antimicrobial Packaging
[5]Active Packaging

O157:H7 نشان دادند(۱۳).Sedyim وSarikus(۲۰۰۶) ویژگی‌های ضد میکروبی فیلم‌های ایزوله پروتئینی آب پنیر که حاوی نسبت های ۱تا ۴ درصد (وزنی/حجمی) از اسانس روغنی پونه کوهی، رزماری وسیر می باشند را در برابر اشرشیاکلی O157:H7، استافیلو کوکوس اورئوس، سالمونلا انتریدیس، لیستریا مونوسیتوژنز و لاکتو باسیلوس پلانتاروم مورد مطالعه قرار دادند.فیلم های ایزوله پروتئینی آب پنیر که حاوی اسانس روغن پونه کوهی درسطح ۲ درصد هستند، بیشترین تاثیر را داشتند و در درجات بعد فیلم هایی که حاوی اسانس روغنی سیر ورزماری بودند (۲۰).Min و همکاران (۲۰۰۷) پژوهشی با استفاده از لیزوزیم اضافه شده به فیلم های ایزوله پروتئینی آب پنیر توانستند میزان باکتری لیستریا مونوسیتوژنز که در تماس با این فیلم بود را کاهش داده و از این فیلم ضد میکروبی جهت بسته‌بندی ماهی سالمون دودی شده استفاده کنند(۱۶). در مطالعه دیگریکه توسطMin و همکاران(۲۰۰۶)انجام گرفت، آنهاتوانستند اثرات ضد میکروبی فیلم‌ها و پوشش های ایزوله پروتئینی آب پنیر که لیزوزیم یا سیستم لاکتو پراکسیداز به آن افزوده شده بود در برابر لیستریا مونوسیتوژنز را بوسیله بخش های مهار کننده رشد بر روی محیط کشت آگار تلقیح شده ارزیابی کنند. در ضمن در این مطالعه از ماهی سالمون دودی شده به عنوان مدل غذایی استفاده شده بود (۱۴). در پژوهش دیگری از پوشش کربوکسی متیل سلولز حاوی سوربات پتاسیم برای بازدارندگی رشد گونه های آسپرژیلوس در پسته تازه استفاده گردید . نتایج نشان داد که رشد قارچ ها متوقف گردید ولی سوربات پتاسیم بر روی خواص فیزیکی و مکانیکی پوشش تاثیر داشت (۱۹).توجه و علاقه فزاینده به جایگزینی نگهدارنده های شیمیایی (ضد میکروبی و پاد اکسیداسیون) با انواع طبیعی موجب مطالعات زیادی در مورد منابع گیاهی و جستجوی انواع عصاره‌ها و اسانس های گیاهی شده استتا بتوان جایگزین مناسب و طبیعی برای نگهدارنده های شیمیایی پیدا کرد.مریم گلی (*Salvia officinalis*)از زمره گیاهان دارویی است که بدین منظور استفاده می شود، قسمت مورد استفاده داروی مریم‌گلی برگهای تازه و یا خشک و سرشاخه‌های گلدار آن است که در موقع گل دادن‌از اواسط اردیبهشت جمع آوری شده و در سایه تحتدمای کمتر از ۳۵ درجه‌سانتیگراد خشک می‌شود. مریم گلی حاوی اسانس‌های ساپونین و یک مادهٔ تلخ به نام پیکروسالوین، مقداری تانن، لعاب، ساپونوزید، آسیاراژین، مواد صمغی و دیترین است. مریم گلی در موارد عفونتهای مجاری تنفسی، سوءهاضمه، ضعف‌اعصاب، خستگی مفرط، التیام زخم‌ها، قطع شیر، تنظیم قاعدگی، نقرس،رماتیسم، استسقاء، تب نوبه، دردهای عادت ماهیانه، کم خونی، افسردگی، ورم‌کلیه، عوارض یائسگی، ترشحات قاعدگی زنان و لاغری به‌کار می‌رود.همچنین عمل معده را تحریک و به هاضمه یاری می‌رساند و خون راسریعتر به‌جریان می‌اندازد.در استعمال خارجی به شکل لوسیون یا کمپرس برای‌ترمیم زخم وسرمازدگی، خراش‌پوست و بندآوردن شیر استفاده می‌شود. برخی ترکیبهای موجود در عصاره این گیاه خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و سرطانی، کرم کشی، ضداسپاسم، ضدعفونی کننده، آنتی بیوتیک، آرام‌بخش، محرک کبد و بهبود دهنده هضم غذا است. گیاه دارویی دیگری که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفته است، زیره سبز است.سجادی و قنادی (۲۰۰۵) ترکیبات شیمیایی مریم گلی ایرانی را توسط کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتر جرمی آنالیز کردند و دریافتند که هیدروکربن ها و مونوترپن های اکسیژن دار بالاترین میزان ترکیبات اسانس را تشکیل می دهند (۱۸).

زیره سبز(Cuminumcyminum L.) گیاه ارزنده ای است که کاربردهای فراوانی در صنایع دارویی ، غذایی و آرایشی دارد.زیره سبز دارای تانن ، روغن زرین و اسانس است .ترکیبات موثر اسانس کارون ، فلاندرن ، کومینول و سمین هستند. کومینول ، آلدئیدی است که مسئول آرومای خاص زیره است و مقدار آن بسته به محل کشت زیره بین ۳۰ تا ۵۰ درصد است . اسانس زیره را در روش سنتی از تقطیر گیاه با بخار آب بدست می آورند . این اسانس مایعی

است بیرنگ که در اثر ماندن ابتدا به رنگ زرد و سپس قهو ه‌ای رنگ می‌شود. ولی در فناوریهای نوین از استخراج زیره سبز با دی اکسید کربن فوق بحرانی(SCFE) بدست می آید که نسبت به روش سنتی کیفیت اسانس بسیار بالاتر است. خواص درمانی آن شبیه به زیره سیاه و انیسون است. برخی خواص دارویی زیره سبز عبارتند از ضد نفخ، ضد تشنج و صرع ، مقوی معده ، مدر و بادشکن، قاعده آور و معرق ، درمان عفونت حاد و مزمن برونشیت.در یک تحقیق آزمایشگاهی اثر دو اسانس طبیعی آویشن و زنیان به ترتیب در مقادیر ۲۰۰ و ۳۰۰میکروگرم در لیتر بر روی کنترل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس رشد کرده بر روی دو وضعیت پسته، با پوست سبز و بدون پوست سبز، مورد مطالعه قرار گرفت .نتایج حاکی از آن بود که علیرغم وجود ترکیب ضدمیکروبی تیمول بیشتر در اسانس زنیان و نیز مقدار استفاده ۳۰۰میکروگرم در لیتر نسبت به اسانس آویشن با تیمول کمتر و مقدار بکار برده شده ۲۰۰میکروگرم در لیتر ، اسانس آویشن در مقدار یادشده بهتر توانست نسبت به کنترل رشد قارچ عمل نماید که به نظر می رسد ممکن است به علت وجود اثرات سینرژیستی دیگر ترکیبات فنلی نظیر کارواکرول باشد (۵). رسولی و رضایی (۱۳۷۹) تاثیر روغن اسانسی مریم گلی (بر روی باکتری های S.aureus و E.coli را با روش دیسک پلیت مطالعه و نتیجه گرفتند که اسانس گل مریم گلی تاثیر ضد میکربی بیشتری بر روی S.aureus دارد (۴). همچنین دانشمندی و همکاران (۱۳۸۹) تاثیر اسانس زیره سبز را بر روی چند باکتری گرم مثبت و منفی بررسی و نتیجه گرفتندکه اسانس زیره سبز بیشترین اثر ضد باکتریایی و کشندگی را بر روی E.coli دارد (۳).در پژوهش دیگری تاثیر ضد میکربی پوشش خوراکی بر پایه آب پنیر را برای مغز پسته در برابر رشد آسپرژیلوس فلاووس نشان داده شد(۲).فاراگ و همکاران (۱۹۸۹)اسانس های روغنی آویشن، زیره سبز،مریم گلی و چند گیاه دیگر را استخراج و اثرات ضد قارچی آنها را در برابر قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس بررسی نمودند.نتایج نشان داد که اسانس های روغنی باعث بازدارندگی رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین گردید و اثر بازدارندگی زیره سبز از مریم گلی بیشتر بود (۹). رزاقی آبیانه و همکاران (۲۰۰۹) از دوازده گونه گیاهان دارویی برای استخراج اسانس و بررسی تاثیر آن بر روی رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس در محیط کشت آزمایشگاهی و تولید آفلاتوکسین استفاده کردند که اسانس های آویشن، لیمو و زیره سیاه بیشترین بازدارندگی را در برابر آفلاتوکسین نشان داد(۱۷). تا جائیکه بررسی گردید در داخل و خارج کشور هنوزتحقیقی در مورد تاثیر روغن های اساسی گیاهی بر روی تولید آفلاتوکسین در مغز پسته پوشش یافته با ترکیب خوراکی صورت نگرفته است .اهداف اصلی پژوهش حاضر عبارت بودند از بررسی اثرات ضد قارچی پوشش کنسانتره پروتئینی آب پنیر و اسانس های مریم گلی ویا زیره سبز، ارزیابی تاثیر پوشش مذکور بر روی مغز پسته تلقیح داده شده با آسپرژیلوس فلاووس در دمای C ۲۵ به مدت ده روز ، بررسی و اندازه گیری توانایی تولید آفلاتوکسین در مغز پسته ای که با قارچ آسپرژیلوس فلاووس تلقیح شده وسپس با کنسانتره پروتئینی آب پنیر پوشش داده شده و اسانس های مریم گلی ویا زیره سبز به پوشش افزوده شدند.

۲-مواد و روشها

۱-۲-مواد

در این پژوهش از پستهٔ تازه رقم اکبری محصول دامغان استفاده گردید.برای اطمینان از عدم آلودگی قبلی پسته به قارچهای مولد آفلاتوکسین از پسته دهان بسته استفاده شد. مریم گلی (Salvia officinalis) مورد نیاز از پژوهشکده صنایع شیمیایی گروه گیاهان دارویی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران و زیره سبز(Cuminumcyminum L.) از شهرستان سبزوار تهیه گردید. قارچ آسپرژیلوس فلاووس (PTCC5006) از مرکز کلکسیون قارچ های سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران خریداری گردید.

۲-۲-عصاره گیاهی

جهت تهیه عصاره الکلی مریم گلی و زیره سبز،آنها را با آسیاب به شکل پودر درآورده سپس به نسبت ۱ به ۶ با حلال الکلی مخلوط شد. حلال مورد استفاده در این تحقیق مخلوطی از اتا نول ۹۶٪ وآب مقطر است، که نسبت اختلاط این دو با هم به صورت(٪۷۵ اتانول ۹۶٪ + ۲۵٪ آب مقطر) است. بعد از مخلوط کردن پودر با حلال الکلی آنرا به مدت ۳ ساعت در حمام آب گرم ارتعاشی در دمای ۴۵°C قرار داده و سپس با استفاده از فیلتر تحت خلاء عصاره به‌دست آمده صاف شد . سپس عصاره بدست آمده را وارد دستگاه تبخیر کننده گردان کرده تا الکل موجود در عصاره جدا گردد در نهایت ماده بدست آمده را مجدداً با حلال الکلی مخلوط کرده و تا انجام آزمایشات بعدی در یخچال نگهداری می گردد(۷).

۳-۲-پوشش خوراکی

جهت تهیه پوشش ضد میکروبی برای پوشش دهی پسته ابتدا یک محلول ۱۰٪ از کنسانتره پروتئین آب پنیر در آب مقطر تهیه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد تا پروتئین ها دناتوره شوند و سپس تا دمای اتاق خنک شده و بوسیله سود ۱ نرمال pH آن روی ۷ تنظیم شد. پس از آن گلیسرول به عنوان نرم کننده به محلول پوشش به گونه ای اضافه شد که نسبت گلیسرول/پروتئین برابر ۰/۶ (وزنی/وزنی) حاصل شود(۲).تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش مغزپسته به عنوان نمونه شاهد ، پسته پوشش داده بدون عصاره و پسته پوشش داده همراه با مقادیر مختلف عصاره الکلی مریم گلی و زیره سبز می باشند.

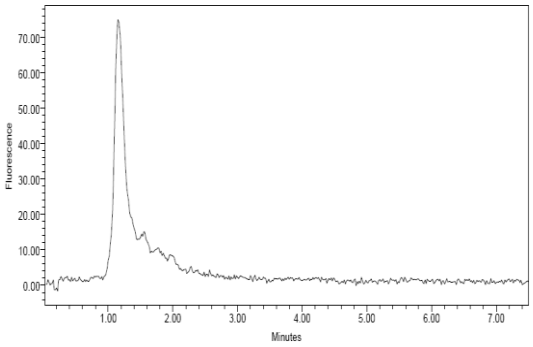
۴-۲-تلقیح قارچ

پس از تهیه محلول پوشش ضد میکروبی و پوشش دادن مغز پسته با این محلول‌ها و خشک شدن آن ها در شرایط مناسب از جهت رطوبت و دما، تحت شرایط مناسب و در زیر هود پسته‌ها را در پلیت‌های استریل که دارای قطر ۹۰ میلی متر است، قرار داده شد . پس از اتمام این مرحله با استفاده از خط کش مرکز هندسی پلیت مشخص و با استفاده از پانچری که قطر دهانه اش در حدود پنج میلی متر است از کشت هفت روزه تهیه شده از آسپرژیلوس فلاووس دایره های ۵ میلی متری تهیه گردید و بعد از اتمام کلیه مراحل ، پلیت هایی که حاوی پسته‌ها و قارچ آسپرژیلوس فلاووس بود در کیسه های پلاستیکی زیپ دار قرار داده شد. قارچ آسپرژیلوس فلاووس پس از تطبیق شرایط خود با محیط پس از سپری شدن یکروز و برحسب غلظت های مختلف عصاره شروع به رشد کرد و قطر پرگنه توسط کولیس در هر روز اندازه گیری گردید. از محیط های کشت SDAو SDB ساخت شرکت HEMEDI (M063,RM027-500G) استفاده شد. چون رشد آسپرژیلوس فلاووس ممکن است به شکل یک دایره کامل نباشد در دو جهت قائم و افقی، شعاع پرگنه قارچی را اندازه گیری کرده سپس حاصل جمع شعاع ها را از قطر آسپرژیلوس تلقیح شده اولیه که ۵ میلی متر است کم و به صورت روزانه تا ده روز یادداشت می شود (۶).در ضمن برای کلیه تیمارها ۴ تکرار در این آزمون منظور شده است. علاوه بر این در این بررسی از نمونه‌هایی که عصاره از رشد قارچ آسپرژیلوس بر روی مغز پسته پوشش دیده با کنسانتره پروتئین آب پنیر برای ارزیابی میزان آفلاتوکسین تولیدی جهت آزمون کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC،واترز،امریکا) استفاده شد. آزمون ها در آزمایشگاه اکریدیته مورد تائید وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران صورت گرفت. میزان آفلاتوکسین در نمونه‌های پسته پوشش داده شده بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۶۸۷۲ با استفاده از دستگاه HPLC تعیین گردید (۱).

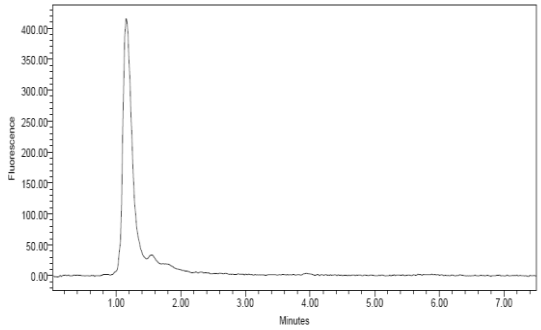
۳-نتایج و بحث

بررسی تاثیر اسانس روغنی مریم گلی و زیره سبز بر جلوگیری از تولید آفلاتوکسین در مغز پسته. نتایج آزمون اندازه گیری آفلاتوکسین بوسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با راندمان بالا (HPLC) در نمونه شاهد و نمونه‌هایی

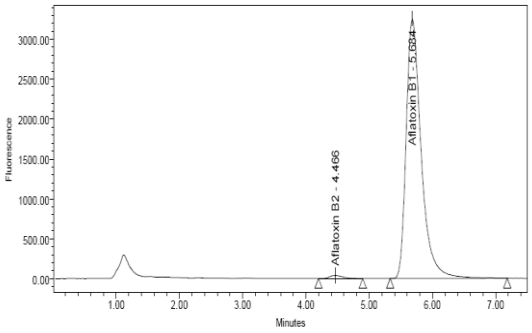
که از عصاره‌های مریم گلی و زیره سبز در فرمولاسیون آنها استفاده شده است در شکل های ۱ تا ۸نشان داده شده است.



شکل۱. کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۵۰۰۰ پی پی ام عصاره مریم گلی

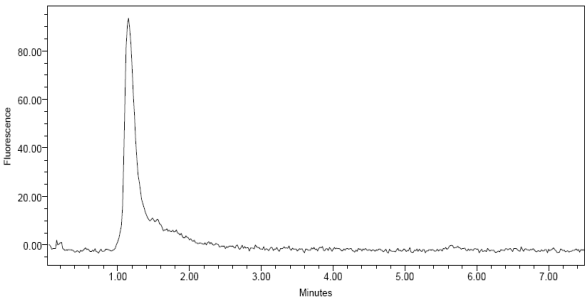


شکل۲. **کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۴۵۰۰ پی پی ام عصاره مریم گلی**

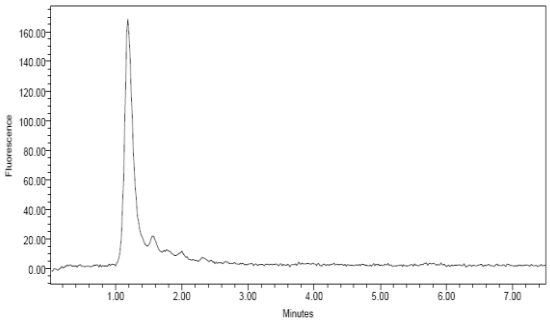


شکل۳. کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۳۵۰۰ پی پی امعصاره مریم گلی

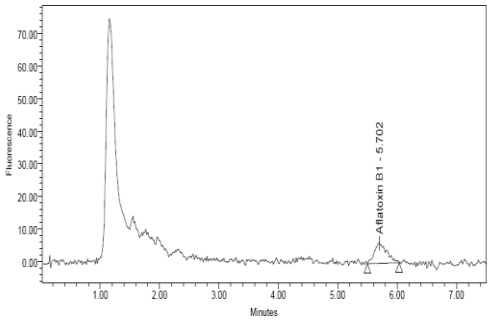
بررسی کروماتوگرامها برای غلظتهای مختلف عصاره مریم گلی نشان می دهد که در غلظتهای ۴۵۰۰و ۵۰۰۰ پی پی امفقط یک پیک دیده می شود که مربوط به حلال است اما در غلظت ۳۵۰۰ پی پی ام دو پیک دیگر که مربوط به آفلاتوکسین B_1 و B_2 هستند مشخص شده که مقدار آفلاتوکسین B_1 بیشتر از B_2 است و نشان می دهد که در غلظتهای بالاتر از۳۵۰۰ پی پی ام عصاره مریم گلی باعث جلوگیری از تولید آفلاتوکسین در مغز پسته شده است. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود ، پوشش مغز پسته با اسانس مریم گلی ۳۵۰۰ پی پی ام توانسته میزان آفلاتوکسین کل (AFT) را در پائینتر از حداکثر غلظت مجاز (۱۵ پی پی ام) نگهدارد در حالیکه میزان آفلاتوکسین B1 (AFB1)اندکی از حداکثر غلظت مجاز (۵ پی پی ام)بیشتر است.در حالیکه اسانس مریم گلی در غلظت های ۴۵۰۰ پی پی ام و بیشتر تولید آفلاتوکسین کاملا مهار شده است.



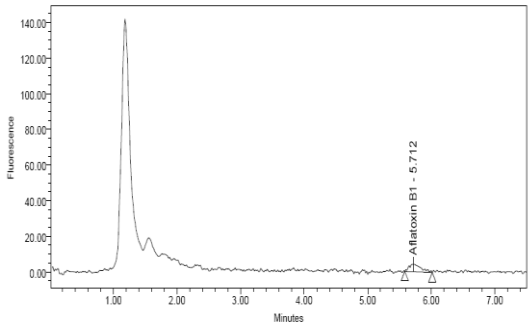
شکل۴. **کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۶۵۰۰ پی پی ام عصاره زیره سبز**



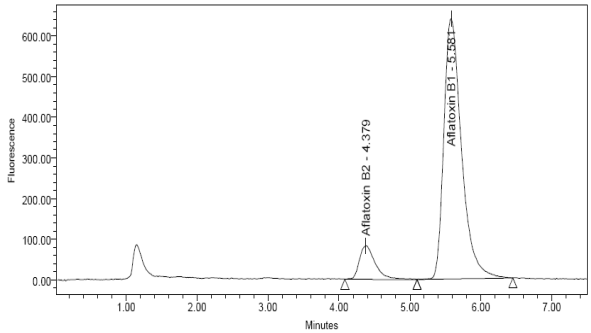
شکل۵. **کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۶۰۰۰ پی پی ام عصاره زیره سبز**



شکل۶. **کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۵۵۰۰ پی پی ام عصاره زیره سبز**



شکل۷. **کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۵۰۰۰ پی پی ام عصاره زیره سبز**



شکل۸ کروماتوگرام آنالیز آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 در مغز پسته حاوی ۳۰۰۰ پی پی ام عصاره زیره سبز

جدول ۱ . مقادیر آفلاتوکسین کل و B_1 در مغز پسته پوشش یافته با کنسانتره پروتئینی آب پنیر و غلظت های مختلف اسانس های مریم گلی و زیره سبز

غلظت عصاره (ppm)	آفلاتوکسین کل (ppb) AFT	آفلاتوکسین B1 (ppb) AFB1
مریم گلی ۳۵۰۰	۱۰/۱۵۰	۵/۶۸۴
مریم گلی ۴۵۰۰	۰	۰
مریم گلی ۵۰۰۰	۰	۰
زیره سبز ۳۰۰۰	۹/۹۶۰	۵/۵۸۱
زیره سبز ۵۰۰۰	۵/۷۱۲	۵/۷۱۲
زیره سبز ۵۵۰۰	۵/۷۰۲	۵/۷۰۲
زیره سبز ۶۰۰۰	۰	۰
زیره سبز ۶۵۰۰	۰	۰

کروماتوگرامهای آنالیز آفلاتوکسین در مغز پسته حاوی عصاره زیره سبز نشان می دهد که در غلظتهای ۶۰۰۰ پی پی ام و ۶۵۰۰ پی پی امفقط یک پیک که مربوط به حلال است دیده می شود اما در غلظتهای ۵۰۰۰ و ۵۵۰۰ پی پی اممقداری آفلاتوکسین B1 تولید شده و در غلظت ۳۰۰۰ پی پی ام پیک های مربوط به آفلاتوکسینهای B1 و B2 دیده می شود که مقدار B1خیلی بیشتر از B2 است. همانطور که مشاهده می شود اسانس زیره سبز در غلظت بیشتری نسبت به اسانس مریم گلی باعث اثر ضد آفلاتوکسین زایی در مغز پسته پوشش داده شده با کنسانتره پروتئینی آب پنیر گردیده است. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود ، پوشش مغز پسته با اسانس زیره سبز ۳۰۰۰ تا ۵۵۰۰ پی پی ام توانسته میزان آفلاتوکسین کل (AFT) را در پائینتر از حداکثر غلظت مجاز (۱۵ پی پی ام) نگهدارد در حالیکه میزان آفلاتوکسین B1 (AFB1)اندکی از حداکثر غلظت مجاز (۵ پی پی ام)بیشتر است. در غلظت های ۶۰۰۰ پی پی ام و بیشتر تولید آفلاتوکسین توسط قارچ آسپرژیلوس در مغز پسته کاملا مهار شده است. جوانمرد و رمضان (۱۳۸۸) نشان دادند که مقادیر بالاتر از ۲۵۰۰ پی پی ام از غلظت عصاره آویشن شیرازی باعث جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مغز پسته گردید (۲). درپژوهش حاضر حداقل غلظت مهاری برای جلوگیری از تولید سم آفلاتوکسین در مغز پسته پوشش یافته بر پایه آب پنیر درمورد عصاره مریم گلی ۴۵۰۰ پی پی ام و در مورد عصاره زیره سبز ۶۰۰۰پی پی ام تعیین گردید که روشن است برای جلوگیری از تولید آفلاتوکسین به مقادیر بیشتری از عصاره گیاهی نیاز است.همچنین رزاقی آبیانه و همکاران (۲۰۰۹) حداقل غلظت ممانعت کنندگی اسانس زیره سیاه را برای آفلاتوکسینB1 (AFB1)در سیستم مدل را ۶۲۱/۹ پی پی بی به دست آوردند (۱۷).

۵-منابع

۱- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران .۱۳۸۵. اندازه گیری آفلاتوکسین گروه های B و G در مواد غذایی مختلف.استاندارد ملی ایران، شماره ۶۸۷۲ ، چاپ اول.

۲- جوانمرد ، م و رمضان، ی. ۱۳۸۸. به کارگیری پوشش خوراکی حاوی عصاره الکلی آویشن شیرازی در جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر روی مغز پسته. . *فصلنامه گیاهان دارویی* ، جلد ۸ ، شماره ۳۰ ، ۶۱-۷۰ .

۳- دانشمندی،س.، سلیمانی، ن. ،ستاری، م. و پورفتح اله، ع.ا.۱۳۸۹ . اثرات متقابل دارویی و فعالیت باکتریایی اسانس زیره سبز. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک* ، جلد ۱۳ ، شماره ۲ ، ۸۲-۷۵ .

۴- رسولی،ا. و رضایی،م.ب.۱۳۷۹ . بررسی فعالیت ضد میکربی و ترکیبات شیمیایی اسانس گلهای اسطوخدوس و مریم گلی. *مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان* ، جلد هفتم ، شماره ۴ ، ۱۸۱-۱۷۳ .

۵- مهربان،م. ،پورآذرنگ،ه.،مرتضوی،ع.،مسکوکی،ع. و گوهری،آ.۱۳۸۴ . اثر اسانس های طبیعی آویشن و زنیان بر جلوگیری از رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس در پسته.*پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران*،جلد اول، شماره اول،۵۱-۴۵.

۶- گندمی نصرآبادی ،ح . آخوندزاده بستی،ا.، خسروی ، ع .، بکایی ، س . و عباسی فر ، آ .۱۳۸۷. اثر اسانس آویشن شیرازی روی آسپرژیلوس فلاووس. *فصلنامه گیا هان دارویی* ، جلد ۶۰ ، شماره ۲۷ ، ۵۱-۴۵.

7- Atanda, O.O., Akpan, I. and Oluwafemi, F. 2007. The potential of some spice essential oils in the control of A. parasiticusCFR 223 and aflatoxin production. Food Control 18:601–607.

8- Brody, A. L., Strupinsky, E. R. and Kline, L. R. (2001). Active packaging forfood applications. Technomic Publishing, Lancaster, PA, ,pp. 131-196.

9- Farag,R.S.,Daw,Z.Y. and Abo-Raya,S.H.1989.Influence some spice essential oils on Aspergillus parasiticus growth and

production of aflatoxins in synthetic medium. Journal of Food Science,54(1):74-76.

10- Floros, J. D., Dock, L. L. and Han, J. H. 1997. Active packaging technologies and applications. Food Cosm. Drug Packag. 20(1): 10-17.

11-Han, J. H. 2014. Innovations in food packaging, second edition. Academic Press,MA,USA.

12- Maté, J.I., Frankel, E.N. and Krochta, J.M. 1996. “Whey Protein Isolate Edible Coatings: Effect on the Rancidity Process of Dry Roasted Peanuts,” J. Agric. Food Chem., 44:1736–1740.

13- Min, S.C., Harris, L.G. and Krochta, J.M.2005b. Salmonella enterica and Escherichia coli O157:H7 inhibition by lactoferrin, lysozyme, and lactoperoxidase systems and by edible whey protein films incorporating lactoperoxidase systems. In: Book of Abstracts, 2005 IFT Annual Meeting, NewOrleans. Institute of Food Technologists, Chicago, IL.

14- Min, S.C., Rumsey, T.R. and Krochta, J.M.2006a. Lysozyme Diffusion in Smoked Salmon Coated with Whey Protein Films Incorporating Lysozyme. In: Book of Abstracts,2006 IFT Annual Meeting,Orlando. Institute of Food Technologists, Chicago, IL.

15-Min, S.C., Harris, L.G. Han, J. H. and Krochta, J.M.2005a. Listeria monocytogenes inhibition by whey protein films and coatings incorporating lysozyme or lactoperoxidase systems. In: Book of Abstracts,2005 IFT Annual Meeting, NewOrleans. Institute of Food Technologists, Chicago, IL.

16- Min, S.C., Rumsey, T.R., Harris, L.G. and Krochta, J.M.2007. Prediction of Listeria monocytogenes-Safe-Storage-Time for Smoked Salmon Coated with a Whey Protein Film Incorporating Lysozyme. In: Book of Abstracts, 2007 IFT Annual Meeting, July 28-August 1, Chicago. Institute of Food Technologists, Chicago, IL.

17- Razzaghi-Abyaneh et al.2009.Chemical composition and antialfatoxigenic activity of Carumcarvi L., Thymus vulgaris and Citrus aurantifolia essential oils. Food Control,20(11):1018-1024.

18 -Sajjadi,S.E .and hannadi,A.2005.Essential oil of Persian sage,salviarhytideaBenth.Acta Pharm.,55:321-326.

19- Sayanjali,S., Ghanbarzadeh ,B and Ghiassifar,S.2011. Evaluation of antimicrobial and physical properties of edible film based on carboxymethyl cellulose containing potassium sorbate on some mycotoxigenicAspergillus species in fresh pistachios .LWT-Food science and Technology,Article in Press.

20- Seydim,A.C.&Sarikus,G.2006 Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International, 39(5), 639-644.