View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۲/ خرداد و تیر ۱۳۹۴/ ۹۲-۸۴

مقاله پژوهشی

بررسی اثر اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا بر رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس و تولید آفلاتوکسین B1

امید فانی مکی[1*]، آرش امیدی[2]، سید احمد هاشمی نژاد[3]

[1]گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران؛ [2] گروه مدیریت بهداشت دام، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران؛ [3]گروه باغبانی- گیاهان دارویی، دانشگاه جامع علمی کاربردی، جهاد دانشگاهی، کاشمر، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۰

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017

چکیده:

زمینه و هدف: آسپرژیلوس فلاووس (***Aspergillus flavus***) مهم ترین قارچ تولید کننده آفلاتوکسین B1 است. این توکسین می تواند از طریق زنجیره غذایی وارد بدن انسان شده و مسمومیت ایجاد کند. این مطالعه با هدف بررسی اثر اسانس آویشن (***Thymus vulgaris*** L.)، خارمریم (***Silybum marianum*** L.) و صبر زرد (***Aloe vera***) بر رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس و تولید آفلاتوکسین **B1** انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی غلظت‌های صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ قسمت در میلیون (**ppm**) از اسانس گیاهان مورد مطالعه در چهار تکرار استفاده شدند. برای سنجش حداقل غلظت مهار کنندگی (**MIC**) و حداقل غلظت کشندگی (**MFC**) کلنی قارچ، از محیط کشت غنی (**Yeast Extract Sucrose**) استفاده شد. غلظت آفلاتوکسین **B1** و اجزای عمده اسانس ها به ترتیب با استفاده از روش های کروماتوگرافی لایه نازک (**TLC**) و گاز کروماتوگرافی جرمی (**GC-Mass**) اندازه گیری شدند.

یافته ها: مهمترین اجزای تشکیل دهنده اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا به ترتیب کارواکرول، سیلی دیانین و گلوکومانان ها بودند. کمترین بازده تولید آفلاتوکسین **B1** متعلق به غلظت **۲۰۰ppm** از اسانس آویشن بود، (**P=۰/۰۰۱**). در مقابل، بیشترین بازده تولید توکسین در تیمار حاوی **۱۰۰ppm** اسانس آلوئه ورا مشاهده شد، (**P=۰/۰۱۳**). بدین ترتیب، حداقل غلظت مهار کنندگی اسانس آویشن **۲۰۰ppm** و حداقل غلظت کشندگی آن **۴۰۰ppm** برآورد شد.

نتیجه گیری: هر سه اسانس آویشن، خارمریم و آلوئه ورا دارای اثر ضد قارچی بر روی آسپرژیلوس فلاووس بودند. احتمالاً ترکیبات فنولیک موجود در اسانس آویشن بیشترین فعالیت ضد قارچی را بر علیه تولید آفلاتوکسین **B1** در مقایسه با دو اسانس دیگر موجب شده است. با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد، افزودن اسانس آویشن به مواد خوراکی می تواند از رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین ممانعت کند.

واژه های کلیدی: آویشن، خارمریم، صبر زرد، آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوکسین **B1**.

مقدمه:

آفلاتوکسین B_1 (AFB_1) از نظر اقتصادی یکی از شایع ترین و با اهمیت ترین مایکوتوکسین های تهدید کننده بهداشت و سلامت انسان است. آفلاتوکسین شامل چهار نوع B_1، B_2، G_1 و G_2 می باشد که نوع B_1 آن از همه سمی تر است. AFB_1 به وسیله قارچ‌های مختلفی نظیر؛ آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) و پارازیتیکوس (*A. parasiticus*) تولید می‌شود (۳-۱). مهم ترین قارچ تولید کننده AFB_1 در طبیعت همان آسپرژیلوس فلاووس است که دارای انتشار بسیار وسیع می باشد (۲). دانه غلات یکی از مناسب ترین محیط های کشت برای رشد این قارچ محسوب می‌شوند (۴). با توجه به آسیب های شناخته شده ناشی

نویسنده مسئول: بیرجند-دانشگاه بیرجند- گروه علوم دامی- تلفن:۰۵۱-۵۵۲۶۷۱۳۷، *E-mail: ofanimakki@birjand.ac.ir*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017

از مصرف محصولات آلوده با سموم قارچی در انسان و حیوانات، همواره روش های مختلف بیولوژیکی (نظیر استفاده از گیاهان دارویی) جهت کنترل این قارچ ها در مواد غذایی مطرح بوده است (۵،۱).

در بسیاری از مطالعات اخیر، توجه محققان به یافتن ترکیبات ضد قارچی طبیعی با منشأ گیاهی معطوف شده است (۶،۵). اثرات ضد قارچی گیاهان دارویی تا حدودی به حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در آن ها نسبت داده می شود (۷). اگرچه تاکنون مطالعاتی مبنی بر مقایسه اثرات ضد قارچی گیاهان آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، خارمریم (*Silybum marianum* L.) و صبر زرد یا آلوئه ورا (*Aloe vera*) وجود ندارد؛ ولی پژوهش هایی در خصوص اثرات انفرادی این گیاهان بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس ارائه شده است (۸،۷). احتمالاً فراوانی پژوهش های ضد قارچی گیاهان دارویی آویشن و خارمریم نسبت به آلوئه ورا، نشان دهنده تأثیر بیشتر این گیاهان بوده است.

حضور ترکیبات فنولی نظیر تیمول (Thymol) و کارواکرول (Carvacrol) به عنوان ترکیبات عمده اسانسی موجود در آویشن، می تواند در حصول نتایجی بر ضد آسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس مؤثر باشد (۱۱-۹)؛ همچنین در بذر گیاه خارمریم ماده ای به نام سیلی مارین شناسایی شده است که خود شامل سه ایزومر اصلی به نام های سیلی بین (Silybin= SBN)، سیلی دیانین (Silydianin= SDN)، و سیلی کریستین (Silychristin= SCN) می باشد (۱۲). از برگ های تازه آلوئه ورا دو ماده به دست می آید که شامل؛ یک جزء آبی و یک قسمت گوشتی که حاوی مغز موسیلاژی از بافت های پارانشیمی (گلوکومانانی (Glucomanan) است (۱۳). مهم ترین قسمت فعال عصاره آلوئه ورا، گلوکومانان های موجود در آن می باشند که همانند گلوکومانان های موجود در دیواره سلولی مخمر خاصیت ضد قارچی دارد (۱۴،۱۳). گروهی از محققان مشاهده کردند که عصاره آبی - الکلی آلوئه ورا اثر مهار کنندگی (MIC) قابل ملاحظه ای بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس دارد (۱۵). در این مطالعه اثرات اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا بر قابلیت رشد و تولید آفلاتوکسین B_1 ناشی از قارچ آسپرژیلوس فلاووس سویه (IR 111) مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی، گیاهان آویشن، خارمریم و آلوئه ورا در فصل تابستان از شهرستان زابل و بیرجند جمع آوری شدند. این گیاهان با کدهای F-8-4-21، F-1-2-17-3-1 و F-1-3-10-1 در هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند شناسایی و ثبت شدند. اسانس این گیاهان دارویی به روش تقطیر بوسیله بخار آب جمع آوری شد (۱۶)؛ همچنین، جهت رقیق سازی اسانس ها از حلال دی متیل سولفوکساید (dimethyl solfoxide = DMSO) که بر قارچ مورد مطالعه هیچ اثری ندارد، استفاده شد (۱۰).

قارچ آسپرژیلوی فلاووس از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران (PTCC NO: 5004, IR111) تهیه شد. جهت کشت قارچ در شرایط آزمایشگاهی (*In vitro*) از محیط کشت (Potato dexterose agar= PDA) استفاده و قارچ ها به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۶°C تکثیر شدند (۲). غلظت سوسپانسیون قارچ جهت کشت خطی (Linear culture) در حضور اسانس های گیاهی، بر اساس استاندارد ۰/۵ مک فارلند (Mc-farland) معادل با $1/5\times10^8$ CFU/ml تنظیم گردید (۹/۹۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۰/۰۱ و ۰/۰۵ میلی لیتر کلرید باریوم) (۱۶). در این مرحله، به ازاء هر کدام از اسانس ها پنج تیمار غلظتی (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ppm) در چهار تکرار در نظر گرفته شد. اسانس های مربوط به هرکدام از ترکیبات گیاهی مورد آزمایش، در پلیت های هشت سانتی متری حاوی محیط کشت PDA (قبل از اینکه محیط کشت سرد شده و ببندد) تزریق شدند. در نتیجه، به منظور کشت خطی قارچ در محیط کشت حاوی اسانس،

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017

از یک پلاک آگار (آنس) آغشته به قارچ آسپرژیلوس استفاده شد. تشتک های پتری کشت شده، در دمای ۲۶°C به مدت ۱۴ روز گرمخانه گذاری شدند (۲،۱). در پایان دوره کشت قارچ (۱۴ روز) قطر کلونی مربوط به محیط های کشت متعلق به هر تیمار، جداگانه بوسیله ریز سنج بر حسب میلی متر (mm) اندازه گیری شد. جهت سنجش حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimum Inhibitory concentration = MIC) و حداقل غلظت کشندگی کلنی قارچ (Minimum fungicidal concentration = MFC)، از محیط کشت غنی (Yeast Extract Sucrose = YES) استفاده شد (۱۷). حداقل غلظت بازدارندگی (Fungistatic) و کشندگی (Fungicidal) اسانس های مورد آزمایش بر قابلیت تولید آفلاتوکسین، بر اساس تحقیقات Bakkali و همکاران بیان شد (۶). برای سنجش اثر بازدارندگی اسانس های موجود در هر کدام از گروه های حاوی محیط کشت (PDA)، بر توانایی تولید AFB_1، از محیط کشت برنج استفاده شد (۱). پس از گذشت یک هفته غلظت AFB_1 تولید شده بر روی برنج توسط روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) اندازه گیری شد (۲،۱).

جهت بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های گیاهان دارویی موجود در این پژوهش از تکنیک GC-MS و دستگاه مدل شیمادزو، سری 9A، مجهز به دتکتور (FID – یونیزاسیون با اشعه هیدروژن) و داده پرداز Euro Chrom 2000، از شرکت Knauer آلمان استفاده شد. گاز کروماتوگرافی دستگاه GC-MS، متصل به طیف سنج جرمی Varian-3400/Saturn II، حاوی سیستم تله یونی و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. ستون استفاده شده برای GC ستون نیمه قطبی DB-5 ساخت (Scientific J & W Inc., Rancho Cordova, CA, USA) به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. همچنین، برنامه ریزی حرارتی ستون، در دامنه دمایی ۲۵۰°C-۴۰ بود. در این مرحله، ۱µl از هر نمونه در اتانول ۱٪ به دستگاه تزریق شد. در مرحله ای که دمای انژکتور به ۲۵۰°C رسید، درجه حرارت ستون بین °C ۲۶۵-۶۰ تنظیم شده بود و در هر دقیقه ۳ درجه سانتی گراد به آن اضافه می گردید. همچنین، درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب، در دامنه °C ۲۶۵-۲۵۰ تنظیم گردید. مدت زمان انجام آنالیز '۳۰ (دقیقه) به طول انجامید. در نهایت نتایج به صورت نمودار تنظیم شد. مقایسه بین زمان نگهداری (Retention time) و نمودار استاندارد، محتوی مواد تشکیل دهنده هر اسانس را نشان می دهد (۱۸). با آزمون کوملوگروف اسمیرنوف وضعیت نرمال بودن داده ها مشخص شد و سپس از آزمون کروسکال والیس و چند دامنه ای دانکن در سطح معنی داری ($P\leq$۰/۰۵) جهت تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد.

یافته ها:

کارواکرول (Carvacrol, methyl ether) (۳۴/۴۴ درصد)، سیلی دیانین (Silydianin) (۳۳/۴۶ درصد) و گلوکومانان ها (Glucomannans) (۴۴/۲۱ درصد) به ترتیب مهمترین اجزای تشکیل دهنده اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا را تشکیل دادند (جدول شماره ۱).

اندازه گیری قطر کلونی قارچ و بررسی میزان AFB_1 تولید شده نشان داد که با افزایش غلظت اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا قدرت قارچ کشی (Fungicidal) آن ها افزایش می یابد. بیشترین و کمترین میزان قطر کلنی به ترتیب در گروه شاهد (۷۸±۱/۲۲ mm) و گروه دریافت کننده ۲۰۰ ppm اسانس آویشن (۱۹/۷۵±۱/۵۴ mm) مشاهده گردید (P= ۰/۰۰۱، جدول شماره ۲).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017

جدول شماره ۱: ترکیبات عمده مؤثر موجود در اسانس گیاهان آویشن، خارمریم و آلوئه ورای شناسایی شده به روش کروماتوگرافی گازی با کارایی بالا (GC-MS)

اسانس ها	شماره	ترکیبات اندازه گیری شده	شاخص بازدارندگی	درصد	مجموع
آویشن	۱	Carvacrol	۱۲۹۶	۳٤/٤٤	٦۹/۳
	۲	Thymol	۱۲۸۸	۳۱/٦٥	
	۳	Paracymen	۱۰۲٤	۳/۲۱	
خارمریم	۱	Silydianin (SDN)	۱۲۹٥	۳۳/٤٦	٦۸/٥
	۲	Silybin B (SBNB)	۱۲٦۱	۲٤/٦۱	
	۳	Isosilibin B (ISBNB)	۱۰۲٦	۱۰/٤۳	
آلوئه ورا	۱	Glucomannan	۱۲۹۳	٤٤/۲۱	۷۸/٥
	۲	Galactan	۱۲٤۱	۲۲/۱٦	
	۳	Acemanan	۱۲۱۲	۱۲/۱٦	

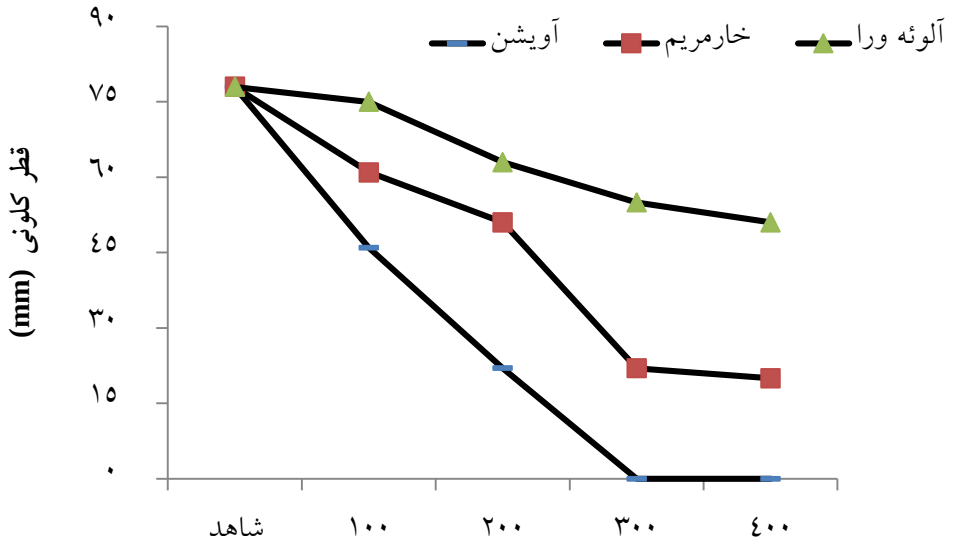
عصاره گیاهان آویشن (r^2=۰/۹۸۱۹) و آلوئه ورا (r^2=۰/۹۰٤٥) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان بازدارندگی (MIC) را بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس سویه IR111 دارند. غلظت های مختلف اسانس آویشن در این آزمایش دارای اثر مهار کنندگی (MIC) معنی داری بر روی قابلیت رشد قارچ مورد نظر بودند (P<۰/۰٥). یافته های حاصل از این پژوهش نشان داد که این اثر (MIC)، دارای الگوی وابسته به دوز بوده و با افزایش غلظت اسانس، اثر مهار کنندگی آن افزایش می یابد. به طوری که در غلظت ppm ۳۰۰ اسانس آویشن هیچ رشدی مشاهده نشد (نمودار شماره ۱). غلظت ppm ۴۰۰ اسانس حاوی آویشن دارای ۱۰۰٪ اثر مهار کنندگی بر روی رشد قارچ آسپرژیلوس بوده و این سطح از اسانس آویشن، نقطه شروع حداقل غلظت کشندگی (MFC) می باشد (جدول شماره ۲). بدین ترتیب حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) اسانس آویشن ppm ۲۰۰ و حداقل غلظت کشندگی آن (MFC) معادل ppm ۴۰۰ برآورد شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: مقایسه قطر کلونی قارچ آسپرژیلوس فلاووس در حضور غلظت های مختلف اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا در پایان دوره آزمایش (۱٤ روز)

گروه ها / نوع گیاه	شاهد	غلظت های مختلف اسانس (ppm) ۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	٤۰۰	P
آویشن	۷۸±۱/۲۲^{a}	٤٦±۰/۹۱^{b}	۱۹/۷٥±۱/٥٤^{c}	–	–	۰/۰۰۱
خارمریم	۷۸±۱/۲۲^{a}	٦۱/۲٥±۲/۲٥^{b}	٥۱±۱/٦۳^{c}	۲۲±۱/۲۲^{d}	۲۰±۱/۲۲^{d}	۰/۰۰۱
آلوئه ورا	۷۸±۱/۲۲^{a}	۷٥±۲/۰٤^{a}	٦۳±۰/۹۱^{b}	٥٥±۲/۰٤^{c}	٥۱±۱/٦۳^{c}	۰/۰۰۲

^{a,b,c,d} حروف نامشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار است. به ترتیب غلظت های ۳۰۰ و ٤۰۰ قسمت در میلیون (ppm)، برابر با غلظت معادل MIC و غلظت معادل MFC رشد قارچ هستند. تعداد نمونه در هر گروه ۵ عدد بود و داده ها به صورت "میانگین ± انحراف معیار" ذکر شده اند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017



نمودار شماره ۱: مقایسه میزان قطر کلونی قارچ آسپرژیلوس فلاووس تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا

به ترتیب غلظت های ۳۰۰ و ۴۰۰ قسمت در میلیون (ppm) اسانس آویشن، برابر با غلظت معادل مهار کنندگی (MIC) و بازدارندگی (MFC) در میزان رشد کلونی قارچ هستند. ضریب رگرسیون (r^2) بیانگر تغییرات لگاریتمی در مجموع غلظت های اسانسی متعلق به هر یک از گیاهان دارویی، بر قطر کلنی قارچ آسپرژیلوس فلاووس می باشد.

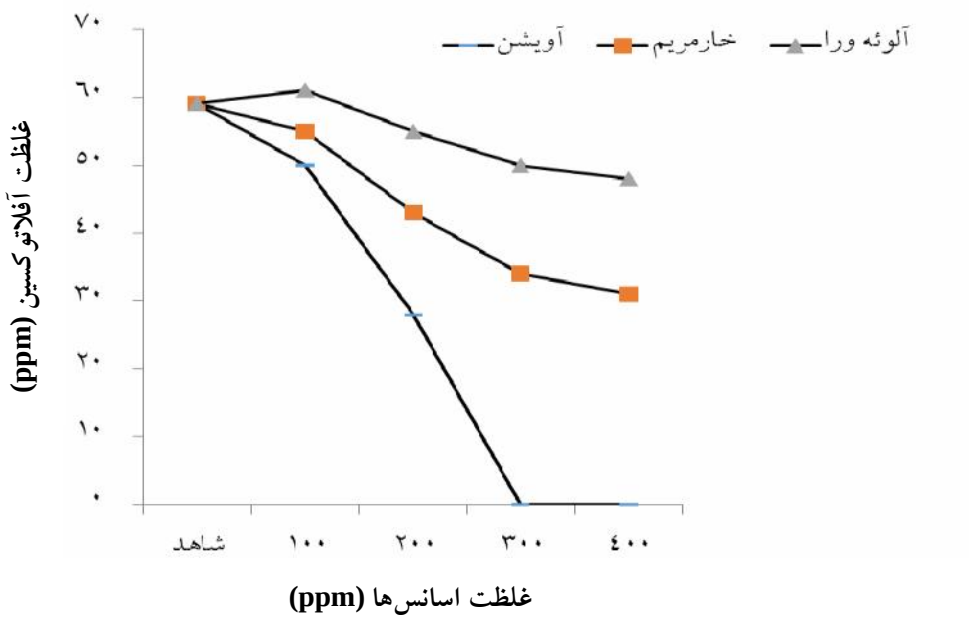
با افزایش غلظت اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا میزان تولید AFB_1 به کمترین میزان ممکن رسید (جدول شماره ۳). در این خصوص، کمترین و بیشترین اثر بازدارندگی و کشندگی تولید AFB_1، به ترتیب متعلق به غلظت حاوی (ppm ۴۰۰-۳۰۰) اسانس آویشن بود (نمودار شماره ۲).

جدول شماره ۳: مقایسه غلظت آفلاتوکسین (AFB_1)، ناشی از قارچ آسپرژیلوس فلاووس در حضور غلظت های مختلف اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا بر حسب ppm

گروه ها / نوع گیاه	شاهد	غلظت های مختلف اسانس (ppm)				P
		۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	۴۰۰	
آویشن	۵۹/۹±۲/۰۴^{a}	۵۰±۱/۰۷^{b}	۲۸/۲۷±۱/۳۳^{c}	–	–	۰/۰۰۱
خارمریم	۵۹/۹±۲/۰۴^{a}	۵۵/۳±۱/۳۹^{b}	۴۳/۳۷±۱/۲۳^{c}	۳۴/۵۵±۱/۰۴^{d}	۳۱/۶۷±۱/۲^{d}	۰/۰۰۲
آلوئه ورا	۵۹/۹±۲/۰۴^{a}	۶۱/۱۷±۱/۴۶^{a}	۵۵/۸±۲/۰۵^{b}	۵۰/۸۷±۲/۱^{c}	۴۸/۵۷±۱/۸^{c}	۰/۰۱۳

^{a,b,c,d} حروف نامشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار است. به ترتیب غلظت های ۳۰۰ و ۴۰۰ قسمت در میلیون (ppm)، برابر با اثر بازدارندگی (Fungistatic) و کشندگی (Fungicidal) آفلاتوکسین هستند. تعداد نمونه در هر گروه ۵ عدد بود و داده ها به صورت "میانگین ± انحراف معیار" ذکر شده اند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017



نمودار شماره ۲: مقایسه میزان جذب آفلاتوکسین تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس های آویشن، خارمریم و آلوئه ورا

به ترتیب غلظت های ۳۰۰ و ۴۰۰ قسمت در میلیون (ppm) اسانس آویشن، برابر با اثر بازدارندگی (Fungistatic) و کشندگی (Fungicidal) آفلاتوکسین هستند. ضریب رگرسیون (r^2) بیانگر تغییرات لگاریتمی در مجموع غلظت های اسانسی متعلق به هر یک از گیاهان دارویی، بر مقدار آفلاتوکسین تولید شده می باشد.

بحث:

کارواکرول، سیلی دیانین و گلوکومانان ها به ترتیب مهمترین اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاهان آویشن، خارمریم و آلوئه ورا را تشکیل دادند. مطابق با گزارشات گروهی از محققان تیمول (۶۴/۳ gr/mg DM، برابر با ۳۰/۷ درصد) بیشترین اسانس موجود در آویشن را تشکیل می دهد (۱۹). دیگر محققان ترکیب فلاونوئیدی سیلی بینین (SBN) را بیشتر از سیلی دیانین (SDN) گزارش کردند؛ در نتیجه، بیشترین اثر ضد قارچی گیاه خارمریم را به این گروه از مواد نسبت داده شده است (۱۰). اختلاف در غلظت فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی موجود در گیاهان دارویی، علاوه بر نوع گونه گیاه، به شرایط اقلیمی و آب و هوایی بستگی دارد (۲۰). گیاهان مناطق گرمسیری از ترکیبات فلاونوئیدی و ضد قارچی بیشتری برخودار هستند (۲۰). نتایج تحقیق حاضر در این مورد با یافته های Rahnama و همکاران، مطابقت دارد (۲۱)؛ این محققان بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی موجود در ریشه گیاه خارمریم را از نوع سیلی دیانین آلوئه ورا بیشتر از سایر عصاره های گیاهی مورد آزمایش بود. اطلاعات زیادی در مورد اثرات متقابل گیاهان دارویی فوق بر قابلیت جذب AFB_1 وجود ندارد. مطابق با گزارش گروهی از محققان، اسانس گیاه دارویی آویشن از خاصت قارچ کشی بیشتری نسبت به مرزنجوش برخوردار بود (۲۲)؛ همچنین، مشاهدات Kumar و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیانگر این بود که بالاترین فعالیت ضد قارچی در بین اسانس سایر گیاهان دارویی، متعلق به آویشن است (۱۱).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017

Nguefack و همکاران در سال ۲۰۰۴، حداقل غلظت کشندگی آسپرژیلوس فلاووس (MFC) را توسط اسانس آویشن در غلظت ppm ۶۰۰ گزارش کردند که با یافته های حاصل از پژوهش حاضر (ppm ۶۰۰) مغایرت دارد (۲۳). این وجه تمایز، با توجه به متفاوت بودن شرایط آب و هوایی گونه های گیاهی در مناطق مختلف ایران، قابل توجیه است. ترکیباتی نظیر تیمول، سینامالدئید (cinnalmaldehyde) و کارواکرول موجود در آویشن شیرازی (*Zataria multiflor*a Boiss) بر بازدارندگی (MFC) و سنتز قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس اثر دارند؛ در حالی که، این ترکیب به میزان کمتری در آویشن معمولی (Thymus vulgaris L.) شناسایی شده است (۲۴). گروهی از محققان، گزارش کردند که عصاره فنولی از جنس تیمول (µl/ml ۱) موجود در اسانس گیاه آویشن بیشترین اثر مهار کنندگی (MIC) را بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس دارد (۱۲).

در این پژوهش، AFB_1 موجود در سطوح ۳۰۰ و ppm ۴۰۰ از اسانس های خارمریم و آلوئه ورا با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند؛ همچنین، خواص ضد قارچی اسانس خارمریم جهت جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مقایسه با دیگر بازدارنده های مورد مطالعه متوسط بود. نتایج تحقیق حاضر با نتایج پژوهش های دیگر محققان در خصوص اثرات ضد قارچی و ضد توکسینی اسانس ها مطابقت دارد.

نتیجه گیری:

هر سه اسانس آویشن، خارمریم و آلوئه ورا دارای اثر ضد قارچی بر روی آسپرژیلوس فلاووس بودند. احتمالاً ترکیبات فنولیک موجود در اسانس آویشن بیشترین فعالیت ضد قارچی را بر علیه تولید AFB_1 در مقایسه با دو اسانس دیگر موجب شده است. با توجه به نتایج بدست آمده، به نظر می رسد افزودن اسانس آویشن به مواد خوراکی بتواند از رشد قارچ آسپرژیلوس و تولید آفلاتوکسین به میزان قابل توجهی ممانعت نماید.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از همکاری آقایان دکتر نظر افضلی، دکتر هادی سریر، مهندس علی اله رسانی، سید مرتضی حسینی سنجدک و سرکار خانم مهندس یوسفی در اجرای این پروژه سپاسگزاری می شود.

منابع:

1. Fani makki O, Afzali N, Omidi A, Shibak A. Comparison of Aflatoxin B1 production by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus under various conditions of temperature, light and pH. Armaghane-danesh. 2013; 18(3): 210-8.
2. Amiri Dumari H, Sarir H, Afzali N, Fani Makki O. Effects of milk thistle seed against aflatoxin B1 in broiler model. J Res Med Sci. 2013; 18(9): 786-790.
3. Fani makki O, Afzali N, Omidi A, Sarir H, Frouzanmehr M, Shibak A. Efficacy of *Silybum Marianum* seeds in ameliorating the toxic effects of aflatoxin B1 in broilers. Iran J Toxicol. 2014; 8(24): 977-82.
4. Jafari NA, Falahzadeh M, Hosseini TS, Vazifehshenas M, Jafari A. Paper: in vitro susceptibility testing of wheat lines used for cultivation in yazd province against an aflatoxicogen aspergillus flovus. J Shahrekord Univ Med Sci. 2008; 10(3): 76-82.
5. Ghaderi S, Sarailoo MH, Ghanbari V. Investigation of the components and antibacterial effects of three plant's essential oil Coriandrum sativum, Achilleh millefolium, Anethum graveolens in vitro. J Shahrekord Univ Med Sci. 2012; 14(5): 74-82.
6. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. Food Chem Toxicol. 2008; 46(2): 446-75.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017

7. Kareparamban JA, Nikam PH, Jadhav AP, Kadam VJ. Phytosome: a novel revolution in herbal drugs. Int J Res Phar Chem. 2012; 2: 299-310.
8. Joshi V, Sharma R, Kumar V. Antimicrobial activity of essential oils: A Review. Int J Food Ferm Technol. 2011; 1: 161-72.
9. Yahyaraeyat R, Khosravi AR, Shahbazzadeh D, Khalaj V. The potential effects of Zataria multiflora Boiss essential oil on growth, aflatoxin production and transcription of aflatoxin biosynthesis pathway genes of toxigenic Aspergillus parasiticus. Braz J Microbiol. 2013; 44(2): 643-9.
10. Kumar SA, Chandrabhan S, Shriram P. Isolation of Aspergillus flavus from stored food commodities and Thymus vulgaris (L.) essential oil used as a safe plant based preservative. Pharmacogn Mag J. 2009; 5(20): 343-49.
11. Mishra PK, Singh P, Prakash B, Kedia A, Dubey NK, Chanotiya C. Assessing essential oil components as plant-based preservatives against fungi that deteriorate herbal raw materials. Int Biodeterior Biodegrad. 2013; 80: 16-21.
12. Hasanloo T, Khavari-Nejad R, Majidi E, Ardakani MS. Flavonolignan production in cell suspension culture of Silybum marianum. Pharm Biol. 2008; 46(12): 876-82.
13. Saberian H, Hamidi-Esfahani Z, Abbasi S. Effect of pasteurization and storage on bioactive components of *Aloe vera* gel. Nut Food Sci. 2013; 43(2): 175-83.
14. Scala KD, Vega-Galvez A, Ah-Hen K, Nunez-Mancilla Y, Tabilo-Munizaga G, Perez-Won M, et al. Chemical and physical properties of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel stored after high hydrostatic pressure processing. Food Sci Technol. 2013; 33(1): 52-9.
15. Rosca-Casian O, Parvu M, Vlase L, Tamas M. Antifungal activity of *Aloe vera* leaves. Fitoterapia. 2007; 78(3): 219-22.
16. Noorbakhsh F, Rezaie S, Arab M. Evaluation the antifungal activity and chemical composition of essential oils of Petroselinum crispum, Acimum basilicum, Anethum graveolens, Mentha viridis on Aspergillus parasiticus. J Microb World. 2010; 3(2): 135.
17. Babaei A, Tavafi H, Manafi M, Fahimifar A. Comparing the in vitro antifungal activity of various *Aloe vera* leaf extracts on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin B1 production. Feyz. 2014; 17(6): 537-44.
18. Nogueira JH, Goncalez E, Galleti SR, Facanali R, Marques MO, Felicio JD. Ageratum conyzoides essential oil as aflatoxin suppressor of Aspergillus flavus. Int J Food Microbiol. 2010; 137(1): 55-60.
19. Rasooli I, Abyaneh MR. Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by Aspergillus parasiticus. Food Control. 2004; 15(6): 479-83.
20. Tosun H, Arslan R. Determination of aflatoxin B1 levels in organic spices and herbs. Sci World J. 2013; 874093.
21. Rahnama H, Hasanloo T, Shams MR, Sepehrifar R. Silymarin production by hairy root culture of Silybum marianum (L.) Gaertn. Iran J Biotechnol. 2008; 6(2): 113-8.
22. Bohme K, Barros-Velazquez J, Calo-Mata P, Aubourg SP. Antibacterial, antiviral and antifungal activity of essential oils: Mechanisms and applications. Antimicrobial compounds: USA: Springer Pub; 2014.
23. Nguefack J, Leth V, Amvam Zollo PH, Mathur SB. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. Int J Food Microbiol. 2004; 94(3): 329-34.
24. Skrinjar MM, Nemet NT. Antimicrobial effects of spices and herbs essential oils. Acta Periodica Technol. 2009; 40: 195-209.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Jun, Jul; 17(2): 84-92.

Original article

Comparison of thyme, milk thistle and cape aloe essences on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production

Fani-Makki O[1*], Omidi A[2], Hasheminejad SA[3]
[1]Animal Science Dept., Birjand University, Birjand, I.R. Iran; [2]Animal Health Management Dept., Shiraz University, Shiraz, I.R. Iran; [3]Horticultural Science & Pharmaceutical Dept., University of Applied Science and Technology, Jahad Daneshgahi, Kashmar, I.R. Iran.
Received: 7/Nov/2013 Accepted: 11/Sep/2014

Background and aims: *Aspergillus flavus* is the most important fungus for production of Aflatoxin B_1 (AFB_1). This toxin can be entered in the body through feed chain and ultimately leads to intoxications. The aim of this study was to investigate the effects of thyme (*Thymus vulgaris* L.), milk thistle (*Silybum marianum* L.) and cape aloe (*Aloe vera*) essences on the growth of *A. flavus* and AFB_1 production.
Methods: In this experimental study, concentrations of 0, 100, 200, 300 and 400 ppm of the studied plants essences were used in 4 replications. The AFB_1 and major components of each essence were measured by Thin Layer Chromatography (TLC) and Gas Chromatography– mass Spectrometry (GC-MS) method. A rich medium (Yeast Extract Sucrose) was used for measuring the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC).
Results: Carvacrol, silydianin, and glucomannan were the main constituents of the essential oil of thyme, milk thistle and cape aloe. The lowest yield of AFB_1 production belonged to the concentration of 200 ppm in thyme essence (P=0.001). In contrast, the maximum yield of toxin was observed in the concentration of 100 ppm in cape aloe (P=0.013). However, MIC for thyme essence was 200 ppm and MFC of this essence was estimated 400 ppm.
Conclusion: 300 and 400 ppm of thyme essences has the highest MIC and MFC on fungal colonies growth and AFB_1 production. Thyme essence may be added to food to prevent fungal growth and aflatoxin production.

***Keywords: Thymus vulgaris* L., *Silybum marianum* L., *Aloe vera*, *Aspergillus flavus*, Aflatoxin B1.**

Cite this article as: Fani-Makki O, Omidi A, Hasheminejad SA. Comparison of thyme, milk thistle and cape aloe essences on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(2): 84-92.

[*]**Corresponding author:**
Animal Science Dept., Birjand University, Birjand, I.R. Iran, Tel: 00985155267137, E-mail: ofanimakki@birjand.ac.ir

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:15 +0430 on Saturday August 26th 2017