



نشریه علمی، ترویجی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

شماره ۱۳، زمستان ۱۳۹۳
صص: ۳۹-۴۶

فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی

کاهش میزان آفلاتوکسین در خوراک دام با استفاده از اسانس گیاه مرزه

• لاله یزدانپناه گوهرریزی (نویسنده مسئول)

عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۳۴۱-۲۱۱۲۳۹۱-۳

Email: l_yazdanpanah@yahoo.com

چکیده:

این آزمایش با هدف بررسی اثر استفاده از اسانس مرزه بر میزان آفلاتوکسین تولیدی در خوراک دام توسط قارچ آسپرژیلوس فلاووس در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. به این منظور نمونه‌های خوراک دام توسط دستگاه اتوکلاو استریل گردیدند. به هر نمونه ۳۰۰ گرمی خوراک دام مقدار ۲ میلی‌لیتر اسپور قارچ و ۳ میلی‌لیتر از اسانس مرزه با غلظت‌های صفر، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به هر یک از نمونه‌ها اضافه گردید و در شرایط یکسان از نظر دما، رطوبت و اکسیژن قرار داده شدند. پس از ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز از خوراک‌ها نمونه‌برداری شد و غلظت سموم آفلاتوکسین از انواع B_1 ، B_2 ، G_1 و G_2 در آن‌ها اندازه‌گیری گردید. اطلاعات به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم‌افزار SPSS تجزیه آماری گردید و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ($P < 0.01$) انجام شد. نتایج نشان داد که اسانس مرزه از غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و بالاتر دارای خاصیت ضدقارچی برای توقف رشد و فعالیت قارچ آسپرژیلوس فلاووس و کاهش آفلاتوکسین می‌باشد به طوری که غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم میزان تولید آفلاتوکسین را تا حد چشمگیری کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: گیاه مرزه، قارچ آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوکسین، خوراک دام.

Applied Animal Science Research Journal No 13 pp: 39-46

Reduction of aflatoxin in feed stuff with essential oil *Satureja hortensis* L

By: I.yazdanpanah goharrizi

Member of Science Group in Agriculture and Natural Resource Research Center in Kerman, email: I_yazdanpanah@yahoo.com, tel: +98341- 2112391

The present study was conducted to examine the effects of essential oil *Satureja hortensis* L. on antifungal properties in feed stuff using an *in vitro* system. For this purpose, the samples of feed stuff sterilized in an autoclave and then were added 2 ml of spore *Aspergillus flavus* to each sample (300 g of feed stuff). The amount 3 ml of different concentration of essential oil (0, 300, 400, 500, 600 mg/kg) were added to feed stuff samples and were exposed to the same conditions for temperature, humidity and oxygen. The samples were taken on days 20, 40 and 60 and were measured for aflatoxin type of B₁, B₂, G₁ and G₂. All variables were statistically analysed using SPSS software in a completely randomized design and the means were compared using Duncan multiple comparisons procedure. In general, these findings indicate that essential oil *Satureja hortensis* L. in higher concentration (≤ 400 mg/kg) had antifungal properties against *Aspergillus flavus*, So that the concentration of 600 mg/ kg significantly reduced the levels of toxin production.

Key words: *Satureja hortensis* L., *Aspergillus flavus*, Aflatoxin, Feed stuff**مقدمه**

می آیند. ترکیبات شاخص دیگر در این جنس پی‌سیمن^۵ است که مانند دو ترکیب یاد شده جزء منوترپن‌های حلقوی می‌باشد. از دیگر ترکیبات این گروه که در مرزه جز ترکیبات شاخص به حساب می‌آید گاما ترپین^۶ است که در تعدادی از گونه‌ها به مقدار بیش از ۱۰ درصد وجود دارد. لیمون^۷ و ۸-اوسینول^۸ از دیگر منوترپن‌های تک حلقه‌ای هستند که در تعدادی از گونه‌های این جنس حضور دارند (۵).

امکان وجود آفلاتوکسین‌ها نیز در طیف وسیعی از مواد غذایی نظیر خوراک دام و طیور، شیر، آرد گندم، آرد سویا و سایر مواد غذایی می‌باشد. در صورت کپک‌زدگی خوراک دام و تولید آفلاتوکسین B₁ در آن، مشتق هیدروکسی آن یعنی آفلاتوکسین M₁ در شیر مشاهده می‌شود که قدرت سرطان‌زایی آن از B₁ کمتر است. با توجه به این که در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران، حجم قابل توجهی از خوراک دام آلوده به کپک و در

مرزه گیاهی معطر متعلق به خانواده نعنا از تیره *Lamiaceae* با نام علمی *Satureja hortensis* L. و نام انگلیسی *Summer savory* بوده که بومی مدیترانه شرقی و جنوب غربی آسیاست (۷). اسانس مرزه به علت داشتن ترکیبات فنلی و ترکیبات تانی در برگ دارای خاصیت ضدقارچ، ضد میکروب و ضداسپاسم می‌باشد (۵). اسانس مرزه از تقطیر با بخار آب از برگ‌ها و سرشاخه‌های برگ‌دار حاصل می‌شود. این گیاه دارای ۸-۵/۱ درصد اسانس به همراه تانن، رزین و موسیلاژ می‌باشد. اسانس مرزه در صنایع غذایی کاربرد دارد.

گونه‌های مختلف جنس مرزه به دلیل خواص دارویی و کاربرد در طب سنتی در کشورهای مختلف جهان مورد توجه بوده و مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی موجود در این جنس می‌توان به ترپنوئیدها^۱ و فلاونوئیدها^۲ اشاره کرد که از میان آنها دو ترکیب فنلی تیمول^۳ و کارواکرول^۴ جز ترکیبات شاخص به حساب

5-P-Cymene

6- γ - Terpinene

7- limonene

8- 1,8 cyneol

1- Terpenoid

2- Flavonoid

3- Thymol

4-Carvacrol

اسانس گیر با بخار آب تهیه گردید. قارچ پاتوژن اسپرژیلوس فلاووس PTCC5006، که ایزوله‌ای از مغز پسته شهرستان رفسنجان در استان کرمان بود و در بخش کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران نگهداری می‌شد توسط متدهای مورفولوژیکی استاندارد شناسایی و تحت عنوان قارچ با توکسین‌زایی بالا به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. قارچ جهت تولید اسپور در محیط کشت^۹ PDA به مدت ۷ تا ۱۰ روز در حرارت 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. سپس در 4 ± 300 ، 400 و 500 میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس مرزه افزوده شد. یک قطعه از محیط کشت حاوی قارچ رشد یافته اسپرژیلوس فلاووس به ابعاد نیم سانتی‌متر توسط کرک‌بر (چوب‌پنبه سوراخ‌کن) در مرکز محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس قرار گرفت و با اندازه‌گیری قطر هاله رشد، میزان تاثیرگذاری غلظت مختلف اسانس بر روی میزان رشد قارچ در شرایط *In vitro* بررسی گردید. هم‌چنین میزان اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس بر رشد قارچ و یا کشندگی قارچ توسط اسانس مرزه نیز مورد مطالعه قرار گرفت. پس از انجام آزمایش در محیط کشت و به‌دست آوردن بهترین غلظت ضدقارچی اسانس مرزه، مرحله بعدی تحقیق که بررسی خاصیت ضدقارچی اسانس مرزه در خوراک دام و کاهش میزان آفلاتوکسین بود، انجام گردید. به این منظور نمونه‌های خوراک دام که از کارخانه خوراک دام توانمهرتهیه شده بود توسط دستگاه اتوکلاو استریل گردید و به هر نمونه 300 گرمی خوراک دام مقدار 2 میلی‌لیتر اسپور قارچ اضافه گردید. مقدار 3 میلی‌لیتر از اسانس با غلظت‌های صفر، 300 ، 400 ، 500 و 600 میلی‌گرم در کیلوگرم به هر یک از نمونه‌ها اضافه شده و در شرایط یکسان از نظر دما، رطوبت و اکسیژن قرار گرفتند.

اولین نمونه‌برداری پس از گذشت زمان 20 روز به صورت تصادفی انجام شد و هر ظرف به صورت سر بسته سریعاً به آزمایشگاه مرجع خاتم جهت اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین ارسال گردید. دومین و سومین نمونه‌برداری پس از گذشت 40 و 60 روز انجام

نتیجه آفلاتوکسین‌های متنوع است، وجود آفلاتوکسین M_1 در شیر دام‌ها امری طبیعی می‌باشد، حتی در کشورهای توسعه یافته نظیر آمریکا نیز گاهی اوقات شیوع گسترده AFM_1 در شیرهای تولیدی گزارش شده است (او۷). ثابت شده است که سمیت آفلاتوکسین در حیوانات جوان و جنس نر بیشتر است. توکسین‌های موجود در غذای دام و طیور با مکانیزم‌های متعددی باعث ایجاد ناراحتی‌های مختلف می‌گردند، از جمله با تداخل در چرخه تولید انرژی در سلول، باعث ایجاد مرگ سلولی می‌شوند. هم‌چنین می‌توانند باعث تداخل در سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها شوند و یا با تداخل در اسیدهای نوکلئیک سلول، باعث عدم تولید پروتئین‌های مورد نیاز سلول شوند و به این ترتیب عوارض مختلفی از جمله ایجاد سرطان، ایجاد ناقص‌الخلقه‌زائی، نکروز کلیوی، نکروز بافت کبد، عوارض عصبی، تداخل در روند خون‌سازی و کاهش فعالیت سیستم ایمنی را باعث گردند. تأثیرات آفلاتوکسین‌ها بر حیوانات بسته به غلظت و طول مدت تماس، گونه، نژاد و جیره متفاوت خواهد بود. مقادیر بالای این سموم کشنده و مقادیر متوسط آن مسمومیت مزمن و تماس مکرر و مداوم با مقادیر پائین آن، می‌تواند به بروز سرطان کبد، منجر گردد (او۱۷). آفلاتوکسیکوز حاد در گاو کاملاً شناخته شده است و علائم درمانگاهی آن از جمله کاهش اشتها، کاهش شدید تولید در حیوانات و مصرف جیره‌های آلوده به این توکسین‌ها منجر به پائین آمدن دامنه رشد، اختلالات سیستم عصبی، تحریک و خون‌ریزی دستگاه گوارش مشخص می‌شود. هم‌چنین نازائی در برخی حیوانات گزارش شده است. میزان مصرف کم آن‌ها در طولانی مدت، تضعیف سیستم ایمنی میزبان را به همراه دارد و کمبود شیر، کاهش وزن و آسیب‌های کبدی را به دنبال خواهد داشت. هم‌چنین آفلاتوکسیکوز مزمن در گاوهای شیری و گوشتی باعث کاهش بهره‌وری جیره، تضعیف ایمنی و کاهش توان تولید مثل می‌گردد که اثرات اقتصادی زیان‌باری را به همراه دارد (او۲۸).

مواد و روش‌ها:

گیاه مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* از باغ کشاورزی شرکت گلکاران کاشان تهیه و اسانس مرزه، توسط دستگاه

1- Potato dexteros agar

جدول ۱- نتایج آنالیز GC/MS اسانس مرزه

شماره	نام ترکیبات	درصد میزان مواد موثره
۱	آلفا تیوژن	۱/۰۰۸
۲	آلفا پینن	۱/۴۸۰
۳	بتا پینن	۰/۵۸۸
۴	میرسن	۱/۷۸۸
۵	آلفا فلاندرن	۰/۲۸۷
۶	آلفا ترپینن	۴/۴۹۸
۷	پی سیمن	۱۰/۰۸۲
۸	لیمونن	۰/۷۵۵
۹	گاما ترپینن	۳۶/۴۹۸
۱۰	تیمول	۰/۷۱۸
۱۱	کارواکرول	۴۱/۲۳۹
۱۲	ای کاریوفیلن	۰/۵۳۸
۱۳	بتا بیسابولن	۰/۵۲۷

با توجه به نتایج جدول اثرات متقابل، اثر غلظت اسانس مرزه و زمان نگهداری بر میزان آفلاتوکسین B به شرح ذیل می‌باشد: بیشترین میزان آفلاتوکسین B مربوط به نمونه شاهد است که فاقد اسانس مرزه است و بر طبق جدول اثر متقابل به دست آمده از غلظت اسانس مرزه و مدت زمان نگهداری، هر چه غلظت اسانس مرزه و مدت زمان بیشتر گردد میزان آفلاتوکسین موجود در خوراک کاهش چشمگیرتری را نشان می‌دهد که این میزان در جدول ۴ نشان داده شده است. شایان ذکر است در صورتی پرورش دهنده‌ای در مدت زمان کمتری (مثلا ۲۰ روز) از خوراک جهت دام استفاده نماید نیز مشکلی ایجاد نمی‌گردد به این شرط که غلظت اسانس مرزه بیشتری را در خوراک به کار ببرد (۵۰۰ یا ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) و اگر پرورش دهنده‌ای از نظر قیمت اسانس و میزان هزینه کرد با مشکل روبرو گردد می‌تواند غلظت اسانس کمتری استفاده نماید (مثلا ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) ولی مدت زمان بیشتری یعنی تا ۶۰ روز خوراک را نگهداری کند که با توجه به این جدول می‌توان هم مدت زمان مصرف و هم میزان غلظت اسانس را تغییر داد.

گردید و نمونه‌ها جهت تعیین میزان آفلاتوکسین به آزمایشگاه منتقل و نتایج دریافت گردید. داده‌ها به صورت جداول در قسمت نتایج آمده است. روش اندازه‌گیری آفلاتوکسین با استفاده از دستگاه HPLC (مدل Well chrom ۲۰۰۰ از شرکت Knuer آلمان ستون Eurospher ۱۰۰ C18 به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴ میلی‌متر) و با روش آزمون ISIRI6872 می‌باشد. برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه GC (گاز کروماتوگرافی) متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده گردید (۹).

نتایج:

همان‌طور که مطالعات دیگر نشان داده بود، نتایج این تحقیق نیز نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی اسانس گیاه مرزه دارای خاصیت ضدقارچی قوی بر علیه قارچ آسپرژیلوس فلاووس می‌باشد. هم‌چنین مشخص شد که غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و بالاتر بیشترین تاثیر را در جهت کاهش میزان آفلاتوکسین در خوراک دام دارد تا جایی که غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس مرزه قادر به کاهش چشمگیر میزان آفلاتوکسین است. با توجه به این که میزان آفلاتوکسین G_1 و G_2 در نمونه‌های خوراک صفر گزارش شد از آوردن منحنی‌ها خودداری گردید. شایان ذکر است که پس از انجام مراحل تکمیلی این تحقیق که بر روی سایر فاکتورهای فیزیولوژیکی بدن دام انجام خواهد گرفت، میزان دقیق غلظت اسانس مرزه مورد استفاده در خوراک، مشخص خواهد گردید.

جدول ۱ نشان‌دهنده میزان مواد موثره اسانس مرزه است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بالاترین درصد ماده موثره مربوط به کارواکرول می‌باشد. تحقیقات نشان داده که اسانس مرزه دارای یک پتانسیل ممانعت‌کننده مهم بر روی تولید آفلاتوکسین B_1 و B_2 تولید شده از قارچ آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشد و در سایر تحقیقات نیز تائیدی بر اثرات مواد موثره کارواکرول بر قارچ دیده می‌شود (۲۴). سایر مواد موثره موجود در اسانس مرزه نیز همانند گاماترپینن از عوامل موثر بر کاهش میزان آفلاتوکسین می‌باشد.

جدول ۴- اثر متقابل زمان و غلظت اسانس مرزه بر میزان آفاتوکسین در خوراک دام

میزان آفاتوکسین	زمان	غلظت اسانس
۰/۱۵ cde	۲۰	
۰/۲۵ bcde	۴۰	۳۰۰
۰/۳۳ bcd	۶۰	
۰/۰۵ e	۲۰	
۰/۰۳ e	۴۰	۴۰۰
۰/۰۵ e	۶۰	
۰/۱۳ de	۲۰	
۰/۰۵ e	۴۰	۵۰۰
۰ e	۶۰	
۰/۰۳ e	۲۰	
۰/۰۸ de	۴۰	۶۰۰
۰ e	۶۰	
۰/۴۶ b	۲۰	
۰/۴۰ bc	۴۰	(شاهد)۰
۱/۱۰ a	۶۰	

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات تاثیر زمان و غلظت اسانس مرزه بر میزان آفاتوکسین B₁

منابع تغییرات	درجه آزادی	آفاتوکسین B ₁
غلظت	۴	۶/۳۹۱**
زمان	۲	۰/۲۴۵*
غلظت در زمان	۸	۰/۲۴۵**
خطا	۳۰	۰/۱۳۲
کل	۴۴	

*** به ترتیب یعنی معنی دار در سطح ۱ درصد و ۵ درصد

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات تاثیر زمان و غلظت اسانس مرزه بر میزان آفاتوکسین B₂

منابع تغییرات	درجه آزادی	آفاتوکسین B ₂
غلظت	۴	۰/۶۲۸**
زمان	۲	۰/۰۸۵*
غلظت در زمان	۸	۰/۱۰۱**
خطا	۳۰	۰/۰۲
کل	۴۴	

*** به ترتیب یعنی معنی دار در سطح ۱ درصد و ۵ درصد

بحث:

چندانی با نمونه شاهد از نظر رشد قارچ نشان نمی‌دهد، ولی غلظت از ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس مرزه و بالاتر تفاوت معنی‌داری دارد (جدول ۴).

ترکیبات موثره اسانس مرزه که مورد بررسی قرار گرفتند دارای خاصیت ضدقارچی می‌باشند و بهترین ترکیبات ضدقارچی موادی هستند که هم رشد قارچ و هم تولید توکسین را متوقف کنند. در تحقیقی که بر روی اثرات ممانعت‌کنندگی اسانس مرزه روی رشد و تولید آفاتوکسین توسط قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس انجام گردید این نتیجه به دست آمد که اسانس مرزه دارای یک پتانسیل ممانعت‌کننده مهم بر روی تولید آفاتوکسین B₁ و G₁ تولید شده از قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشد و در جداسازی مواد موثره که توسط کروماتوگرافی ستونی انجام دادند آن‌ها نیز تأییدی بر اثرات مواد موثره تیمول و کارواکرول بر قارچ

امروزه رویکردهای جدیدی نسبت به استفاده از گیاهان دارویی از جمله اثرات ضد میکروبی آن‌ها ایجاد شده است، به طوری که مطالعات بسیار زیادی بر روی اثرات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهان مختلف صورت می‌گیرد (۱۸). نتایج بر روی محیط کشت در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که اسانس گیاه مرزه دارای اثرات ضدقارچی قوی بر علیه اسپرژیلوس فلاووس می‌باشد. در تحقیق انجام شده حداقل غلظت بازدارندگی از رشد قارچ اسپرژیلوس فلاووس توسط اسانس مرزه ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که بین نمونه شاهد و غلظت ۳۰۰ با غلظت‌های ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس مرزه و بالاتر تفاوت معنی‌داری وجود دارد و اثر مهارکنندگی بر روی رشد قارچ اسپرژیلوس فلاووس^۱ معنی‌دار می‌شود به طوری که غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تفاوت

ممانعتی اسانس گیاه مرزه بر روی رشد و تولید آفلاتوکسین توسط قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس انجام داده‌اند (۲۰). نتایج به دست آمده موید این مطلب است که اسانس گیاه مرزه دارای اثرات ممانعتی قوی بر روی تولید آفلاتوکسین B₁ و G₁ توسط قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشد. هم‌چنین این نتیجه به دست آمد که کارواکرول و تیمول موجود در اسانس مرزه از عوامل مهمی است که در کنترل آفلاتوکسین ایفای نقش می‌کنند. دیکباس^{۱۲} و همکاران در سال ۲۰۰۸ در بررسی اثر عصاره متانولی گیاه مرزه بر رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس به این نتیجه رسیدند که اسانس گیاه مرزه اثرات ضدقارچی قوی دارد (۱۳). طبق نتایجی نیز که از تحقیق روی قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط دوسانی^{۱۳} و همکاران در سال ۲۰۰۷ به دست آمد، اسانس مرزه در غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بیشترین اثر ضدقارچی را از خود نشان داد، به طوری که بر روی هر دو سویه مورد آزمایش (شامل آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس فومیگاتوس^{۱۴}) اثر بازدارندگی بسیار خوبی داشت (۱۴). این اثر بازدارندگی به وسیله اندازه‌گیری رشد محوری قارچ در محیط کشت به دست آمده است. در این تحقیق اسانس گیاه مرزه به میزان ۷۰ تا ۸۱ درصد از رشد این دو سویه قارچ جلوگیری نموده، به شکلی که اثر ضدقارچی این اسانس در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به حداکثر میزان خود رسید. براساس تحقیقات انجام شده در مطالعات گذشته، اثر بازدارندگی و ضدقارچی اسانس این گیاه به وجود ترکیب‌های فنلی کارواکرول نسبت داده شده است.

لاکمن^{۱۵} نیز در سال ۲۰۱۰ بر روی اثرات ممانعتی اسانس بر روی فعالیت آفلاتوکسین تحقیق کرد و به این نتیجه رسید که فعالیت‌های ضدقارچی اسانس‌های گیاهان دارویی می‌تواند مربوط به عوامل کارواکرول و تیمول باشد (۱۶). هم‌چنین دریافت که بیوستن آفلاتوکسین‌ها، تولید آفلاتوکسین‌ها و در کل رشد قارچ آسپرژیلوس رابطه معکوسی با وجود اسانس‌های گیاهی دارد که این اثرات متقابل قابل اندازه‌گیری می‌باشند.

آسپرژیلوس داشتند (۱۴). در طی انجام تحقیقی دیگر محققین به این نتیجه رسیدند که اثرات قارچ‌کشی اسانس مرزه از اثرات ضدباکتریایی آن بیشتر است. نتایج این تحقیق محققین نشان داد که اسانس مرزه تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$) نسبت به دیگر اسانس‌های مورد استفاده در تحقیقشان، در قطر هاله عدم رشد دارد و بیشترین قطر هاله عدم رشد (۴۵ میلی‌متر) مربوط به ترکیبات مرزه و آویشن می‌باشد (۸). به طور کلی هدف از انجام این تحقیقات، توصیه اقداماتی برای جلوگیری از ایجاد سموم قارچی در مواد غذایی انسان و خوراک آبزیان، دام، طیور و محصولات آن‌ها می‌باشد. در تحقیق اخیر این نتیجه به دست آمد که با استفاده از غلظت‌های مختلف اسانس مرزه می‌توان از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس (مولد آلودگی قارچی در گیاهان، خوراک انسان، دام و آبزیان) و کنترل تولید آفلاتوکسین توسط این قارچ جلوگیری به عمل آورد. در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی استفاده از ترکیبات طبیعی به ویژه اسانس‌ها جهت جلوگیری از رشد قارچ‌ها و تولید توکسین متمرکز شده است. عوامل بالقوه موجود در اسانس گیاهان دارویی در تغذیه حیوانات مورد بحث می‌باشد. اسانس گیاهان دارویی با اثرات متقابل بر روی تولید آنزیم‌های درونی و هم‌چنین تاثیر روی فلور میکروبی دستگاه گوارش باعث بالا رفتن و بهبود عملکرد حیوانات می‌گردد (۱).

مسکوکی و همکاران در سال ۱۳۸۵ بر روی کنترل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط اسانس‌های طبیعی در محیط کشت مصنوعی تحقیقاتی انجام داده‌اند (۹). اسانس‌های طبیعی شامل گیاهان آویشن، مرزه، نعنا، لیمو و اوکالیپتوس بود که در ۶ غلظت ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بر روی قارچ مورد بررسی قرار گرفت و ضمن تعیین بهترین اسانس، حداقل غلظت بازدارندگی آن نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که در بین اسانس‌های مورد آزمایش بر روی قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس^{۱۱} به ترتیب اسانس آویشن و مرزه بیشترین تاثیر را در جلوگیری از رشد داشته و حداقل غلظت بازدارندگی اسانس مرزه ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

رزاقی ایبانه و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ تحقیقاتی در زمینه اثرات

12. Dikbas

13. Dusanee

14. *Aspergillus fumigatus*

15. Lakman

11. *Aspergillus parasiticus*

سپاسگزاری:

با تشکر از زحمات آقای مهندس کدوری که با صبر و درایت بنده را در آنالیز داده‌های طرح یاری نمودند.

منابع:

- ۱- دارائی گرمه خانی، ا.، ح. ضیغمیان، م. راستی اردکانی، ر. سرهنگ‌پور کفرانی، س. امیری. ۱۳۸۶. بررسی آلودگی شیر استان‌های اصفهان و یزد به آفلاتوکسین M_1 . فصلنامه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، سال دوم، شماره ۳ (پیاپی ۷). ص ۳۱.
- ۲- دادار، م.، ه. میزان‌زاده، ر. مهرجردی. ۱۳۸۵. مقایسه سطوح مختلف عصاره مرزه و تاثیر آن بر جوجه‌های گوشتی. (www.plant.Mihanblog.com).
- ۳- رسولی، ا.، و همکاران. ۱۳۸۷. مهار تولید آفلاتوکسین قارچ *Aspergillus parasiticus* توسط روغن‌های اسانس. مجله پژوهش و سازندگی. ویژه‌نامه منابع طبیعی. جلد ۲۱: ۳۸-۴۴.
- ۴- زرگری، ع. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. جلد چهارم. ۱۳۶۸: ۴۲.
- ۵- سالمی، ا.، ف. بهارلو، ع. حیدری. ۱۳۸۷. قارچ‌شناسی و بیماری‌های قارچی در دامپزشکی انتشارات دانشگاه تهران.
- ۶- غلام‌پور، ع.، س. ح. خوشنویس. ۱۳۸۶. سنجش آفلاتوکسین در شیر پاستوریزه و استریلیزه مصرفی در شهر بابل. مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره ۶۵، ویژه‌نامه اول. جلد ۱: ۲۴-۲۰.
- ۷- مرتضوی، ع.، ف. طباطبایی. ۱۳۷۶. توکسین‌های قارچی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۸- محبوبی، م.، م. م.، فیض‌آبادی. ۱۳۸۸. بررسی اثر ضد میکروبی اسانس‌های آویشن، مرزنجوش، مرزه و اکالیپتوس بر باکتری‌های اشرشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم و قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فلاووس. فصلنامه گیاهان دارویی.
- ۹- مسکوکی، ع.، س. ع.، مرتضوی. ۱۳۸۵. کنترل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط اسانس‌های طبیعی در محیط کشت مصنوعی. فصلنامه گیاهان دارویی.

لیو^{۱۶} و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی کنترل بیولوژیکی آسپرژیلوس فلاووس و تولیدات آفلاتوکسین تحقیقاتی انجام داده‌اند و به این نتیجه رسیدند که آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه سرطان‌زا و موتاژن هستند که توسط دو قارچ آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در تعداد زیادی از مواد غذایی ایجاد می‌شوند که با بسیاری از عوامل بیولوژیک قابل کنترل می‌باشند (۱۵).

محبوبی و فیض‌آبادی نیز در سال ۱۳۸۸ بر روی اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی اسانس‌های مرزه و مرزنجوش و اکالیپتوس تحقیقاتی انجام داده‌اند و به این نتیجه رسیدند که اسانس‌های گیاهی بر روی رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس موثر است (۸).

بویراز^{۱۷} و ازکان^{۱۸} در سال ۲۰۰۶ در طی تحقیقی نشان دادند که اسانس مرزه اثرات ممانعتی قوی بر رشد قارچ آسپرژیلوس داشته است (۱۱). اسکویک^{۱۹} و همکاران نیز در سال ۲۰۰۲ در بررسی چند گیاه معطر که یکی از آن‌ها گیاه مرزه بود نشان دادند که اسانس گیاه مرزه بر روی برخی قارچ‌ها خاصیت ضد قارچی دارد (۲۳). سفیدکن و همکاران در سال ۲۰۰۶ در تحقیقی موفق به بررسی ترکیبات و مواد موثره موجود در اسانس مرزه (کارواکرول، تیمول، ترپینن و سیمن) گردیدند (۲۴).

دادار و همکاران نیز در سال ۱۳۸۵ با مقایسه سطوح مختلف عصاره گیاه مرزه و تاثیر آن بر عملکرد جوجه‌های گوشتی به این نتیجه رسیدند که مصرف اسانس گیاه مرزه نه تنها مشکلی در روند رشد ایجاد نکرد، بلکه مصرف آن در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی در زمانی که سرعت رشد طیور بالاست تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشت و ضریب تبدیل را کاهش داد (۲).

با توجه به منابع بررسی شده تاکنون هیچ‌گونه تحقیقی بر روی اسانس مرزه و کنترل آفلاتوکسین در خوراک دام انجام نگردیده است.

16. Liu
17. Boyraz
18. Ozcan
19. Skovic

- 10-Adams, P.R.,1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Allured Publishing Corp., Carol Stream, New York. 456 p.
- 11-Boyraz, N., Ozcan, M. 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil , hydrosol, ground material and extract of summer savory(*satureja hortensis l.*) growing wild in Turkey. Int. J. food Mic.107,238-242.
- 12-David M.,Wilson.A and Edward, J. 1975. Influence of Modified Atmosphere Storage on Aflatoxin Production in High Moisture Corn. Mic;224-228.
- 13-Dikbas,N.,Kotan, R.,Dadasoglu,F.,and Sahin,f. 2008. Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol of food microbiology,124,179-182.
- 14-Dusanee, Th., Yaowapa. S., Prapaporn. S., Saowalak. S., Oraphan, P., Sittichai. Ch. 2007. Inhibitory effect of essential oils on the growth of *Aspergillus flavus*.Kmitl. Science of Technology Journal. Vol. 7 No. 1
- 15-Liu. R., Yang. Q.,Dusanee. Th., Prapimpuk Th. 2010. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and Aflatoxin production. Journal of Agriculture and Food chemistry;12:1467-1473
- 16-Lokman. A. 2010. Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities. African Journal of biotechnology vol. 9 (17) .2474-2481.
- 17-Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control. foodcont.12.003.
- 18-Rasooli I, Rezaei MB and Allameh A. 2006. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x porlok*. Food Control; 17: 359 - 64.
- 19-Rasooli, I and Owlia, P. 2005. Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. Phytochemistry; 66:2851 - 6.
- 20-Razzaghi-Abyaneh,M.,Ghahfarokhi,sh., Yoshinari,T.,Rezaee,M.B.,Jaimand,S.,Nagasawa, H., and Sakuda, S. 2008. Inhibitory effects of *Satureja hortensis L.* essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Journal of food Microbiology, 123, 228-233.
- 21-Singh, G., Maurya, S., Lampasona, MP., and Catalan, C. 2006. Chemical constituent, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile and its acetone extract. Food Control; 17: 745 – 52
- 22-Sadeghi nejad,B. 2010. Antifungal activity of *satureja khuzestanica* leaves. Journal of Microbiology.20:87-92
- 23-Sokovic M, Tzakou O. Pitarokili D,Couladis M . 2002. Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece; 46:317-20
- 24-Sefidkon, F., Abbasi, K., Khaniki, G.B. 2006. Influence of drying and extraction method on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. Food Chemistry.99, 19–23.