Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

اثر ضد آفلاتوکسین اسانس‌های زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه

محمدحسن مینوئیان حقیقی[1*](Ph.D)،علیرضا خسروی[2](Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی گناباد، دانشکده پزشکی، گروه علوم پایه

۲- دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه قارچ‌شناسی

چکیده

سابقه و هدف: آفلاتوکسین‌ها گروه بزرگی از مایکوتوکسین‌ها(سموم قارچی) می‌باشند که به وسیله گونه‌های خاصی از جنس قارچ آسپرژیلوس شامل آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس نومیوس تولید می‌شوند. این گروه از سموم قارچی به عنوان سردسته تمامی مایکوتوکسین‌ها محسوب می‌شوند. به همین دلیل، کوشش‌های فراوانی در راستای حذف یا غیر فعال‌سازی این ترکیبات در زنجیره غذایی انسا ن و حیوان به عمل آمده است. اهداف این مطالعه تعیین اثر ضد آفلاتوکسین و ضد قارچ روغن‌های اساسی زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه رویشیافته در استان خراسان رضوی بود.

مواد و روش‌ها:این مطالعه از نوع تجربی است و مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل زیره‌ی سبز، کاکوتی، و سیا ه‌دانه، بر اساس اطلاعات حاصل از طب سنتی و با توجه به مناطق رویش آن‌ها انتخاب و جمع‌آوری گردیدند و به روش تقطیر با آب اسانس آن‌ها تهیه شد. سپس با استفاده از روش فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با بهره‌دهی عالی(RP-HPLC) و ۳ بار تکرار آزمایش غلظت انواع آفلاتوکسین تولیدی(Total, G2, G1, B2, B1) توسط کپک آسپرژیلوس پارازیتیکوس، برحسب نانوگرم در میلی‌لیتر(ppb) اندازه‌گیری شدند. این عمل پس از تاثیر اسانس‌های زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه، به ترتیب با رقت‌های ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر انجام شد.

یافته‌ها:توانایی اسانس‌های مورد مطالعه در مهار تولید انواع آفلاتوکسین به ترتیب به صورت اسانس زیره‌ی سبز، اسانس سیاه‌دانه و اسانس کاکوتی بود. هم‌چنین بین وزن خشک قارچ و مقدار آفلاتوکسین تام، هم‌بستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (r=۰/۸۹۶, p=۰/۰۰۰۵)

نتیجه‌گیری:یافته‌های این تحقیق نشان داد که اسانس‌های زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه دارای توانایی مهار رشد و تولید آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس پارازیتیکوس بودند. هم‌چنین این مطالعه کاربرد سنتی این گیاهان در برابر عفونت‌های میکروبی را تایید نمود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، زیره‌ی سبز، کاکوتی، سیاه‌دانه، آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آفلاتوکسین،RP-HPLC

مقدمه

روغن‌های اساسی (اسانس‌ها)، محصولات معطر، فرار و متابولیت‌های ثانویه گیاه هستند که موارد استفاده وسیعی در طب سنتی و در صنایع غذایی دارند. این روغن‌ها دارای اثرات داروئی متعددی مانند مسکن، آرام‌بخش، ضدالتهاب، ضد اسپاسم، بی‌حسی موضعی، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان و آنتی‌آفلاتوکسین می‌باشند و هم‌چنین علیه طیف وسیعی از ارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها، تک‌یاخته‌ها و

* نویسنده مسئول، تلفن:۰۵۳۳-۷۲۲۳۰۲۸ نمابر:۰۵۳۳-۷۲۲۳۸۱۴ Email: drminooeian@gmu.ac.ir

تاریخ دریافت:۱۳۹۱/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۵

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

حشرات عمل می‌کنند. اسانس‌ها توسط تقطیر آبی یا بخار به وسیله عمل فشردن و یا سایر روش‌ها به دست می‌آیند. آن‌ها ترکیبات طبیعی بسیار پیچیده متشکل از اجزاء مختلف با غلظت‌های متفاوت می‌باشند [۱]. قارچ کپکی آسپرژیلوس جنس بزرگی را با بیش از ۲۰۰ گونه تشکیل می‌دهد که انسان و محصولات مورد استفاده او به طوردائم در مواجهه با آن‌ها قرار دارند. آفلاتوکسین‌ها گروه بزرگی از سموم قارچی می‌باشند که به وسیله گونه‌های خاصی از جنس قارچ آسپرژیلوس شامل آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس نومیوس، تولید می‌شوند. این گروه به عنوان سردسته تمامی مایکوتوکسین‌ها محسوب می‌شوند به همین دلیل بیش از سایر سموم قارچی مورد توجه محققین و مراجع بهداشتی قرار گرفته‌اند. این سموم می‌توانند سبب بروز اثراتی مانند سمیت حاد و مزمن، سمیت عصبی، اثرات سرکوب‌کننده سیستم ایمنی، نا قص‌الخلقه‌زایی، جهش‌زایی و سرطان‌زایی بشوند که به نام مایکوتوکسیکوزیس خوانده می‌شوند [۲]. به همین دلیل، کوشش‌های فراوانی در راستای حذف یا غیر فعال‌سازی این ترکیبات در زنجیره غذایی انسان و حیوان به عمل آمده است. تاکنون حدود ۲۰ نوع آفلاتوکسین مورد شناسایی قرارگرفته‌اند که از این میان انواع G1, B1 و M1 بیش‌ترین اهمیت را دارند [۳].

زیره‌ی سبز میوه‌ی خشک‌شده‌ی گیاه *Cuminum cyminum* از خانواده‌ی چتریان است که واجد حد اقل ۲/۵ درصد اسانس می‌باشد. این گیاه دارای خواص مختلف ضد کرم، ضد سم حشرات، درمان اسهال (آمیبی)، ضد باکتریایی و ضدقارچی است. اندام دارویی گیاه زیره سبز میوه آن می‌باشد [۶،۵،۴].

کاکوتی (*Ziziphora clinopodioeides*) جزو خانواده نعناعیان می‌باشد و به نام آنوخ یا آویشن برگ باریک ودر بعضی جوامع به پونه کوهی معروف است. حد اقل دارای ۱/۲ درصد اسانس است. اندام دارویی گیاه شامل قسمت‌های هوایی آن و به طورعمده برگ‌ها می‌باشد [۷]. کاکوتی دارایاثرات ضد میکروبی و ضد قارچی است [۱۰،۹،۸].

سیاه‌دانه، دانه‌های خشک شده‌ی گیاه *Nigella sativa* از خانواده آلاله است و به نام‌های سیاه‌تخمه، شونیز، حبه‌البرکه، کمون‌اسود، حبه‌السوداء، شانوخ و کمون‌اکحل خوانده می‌شود. دانه‌ها بخش دارویی این گیاه را تشکیل می‌دهند. دانه‌ی گیاه حاوی ۰/۵تا۱/۵ درصد اسانس است [۱۱]. سیاه‌دانه دارای اثرات ضد باکتری، ضد پلاک دندان، ضد قارچی، ضد کرم، ضد تب، ضد مسمومیت، ضد سرطان و آنتی‌اکسیدان است. این گیاه یکی از داروهای طب نبوی است [۱۲،۱۱]. اهداف این مطالعه تعیین اثر ضد آفلاتوکسین و ضد قارچ اسانس‌های زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه رویش‌یافته در منطقه خراسان بود.

مواد و روش‌ها

اسانس‌های مورد مطالعه: دراین پژوهش از روغن‌های اساسی گیاهان زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه که توسط محقق در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد از گیاهان مزبور استحصال شده بودند بهره‌برداری شد.

قارچ مورد آزمایش: در این تحقیق از گونه آسپرژیلوس پارازیتیکوس (ATCC 115201) به عنوان میکروارگانیسم تحت آزمایش استفاده شد.

آماده‌سازی مواد گیاهی و اسانس‌ها: گیاهان مورد استفاده در این پژوهش از مناطق مختلف استان خراسان رضوی جمع‌آوری و به روش صحیح خشک شدند. برگ‌های کاکوتی، از کوه‌های بینالود شهرستان نیشابور، میوه‌های زیره‌ی سبز از شهرستان سبزوار و دانه‌های سیاه‌دانه از شهرستان تربت‌حیدریه تهیه گردیدند. سپس توسط کارشناس ارشد "سیستماتیک اکولوژی گیاهی" مرکز تحقیقات گیاهان دارویی جهاد کشاورزی مشهد و به طریقه علمی شناسایی و جنس و گونه آن‌ها مشخص گردید. این گیاهان بر اساس اطلاعات حاصل از طب سنتی و با توجه به مناطق رویش آنان انتخاب گردیدند [۱۵،۱۴،۱۳]. پس از آسیاب نمودن مواد گیاهی مذکوراسانس آن‌ها با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب تهیه شد و پس از آب‌گیری با سولفات‌سدیم (بدون آب) در

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

ویال‌های قهوه‌ای با حجم ۱۰میلی‌لیتر جمع‌آوری گردیدند. پس از اندود درب ویال‌ها و ذکر مشخصات اسانس مربوطه(نام اسانس، تاریخ تهیه و مقدار اسانس حاصل بر مبنای نسبت وزنی، حجمی) تا هنگام استفاده در یخچال نگه‌داری می‌شدند.

کشت قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس سم‌زا: به منظور تحریک و تشدید اسپورزایی قارچ مذکور به این ترتیب عمل می‌شد که در شرایط استریل و درکنار شعله و توسط انس‌استریل اسپورهای قارچ آسپرژیلوس‌پارازیتیکوس توکسیژنیک به محیط کشت ژلوزسیب‌زمینیبا پوتیتو دکستروز آگار (PDA) که داخل لوله به صورت شیب‌دار تهیه شده بود کشت داده شد و به مدت ۱۲روز درگرم‌خانه و در درجه حرارت ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت که پس از این مدت اسپورهای قارچ به تعداد فراوان تشکیل شده بودند. ساخت محیط PDA مطابق دستور کارخانه سازنده (MERK-Germany) و در شرایط استریل انجام شد.

تهیه محیط کشت عصاره مخمر ۲ درصد همراه با ساکارز ۱۵ درصد (YES): به منظور حفظ و تشدید قابلیت کونیدی‌زایی قارچ و برای ساخت ۱۰۰ میلی‌لیتر از این محیط ابتدا ۲ گرم از محیطییست اکستراکت گرانوله با ۱۵ گرم ساکارز داخل ارلن ریخته می‌شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده می‌گردید و پس از دادن حرارت توسط اتوکلاو در۱۲۱درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵دقیقه استریل می‌شد. اسپورهای قارچ تحت آزمایش در ۱×۱۰^{۶} اسپور در هر میلی‌لیتر استاندارد گردید. سپس یک میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به هرکدام از ارلن‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت YES افزوده شد [۱۶].

انتخاب غلظت اسانس‌های مورد آزمایش: به منظور تعیین میزان توکسین‌زایی قارچ مزبور در هنگام مواجهه با اسانس‌های تحت آزمایش و هم‌چنین سنجش میزان آفلاتوکسین تولیدی توسط این قارچ و بررسی فعالیت مهار رشد و تولید توکسین توسط این اسانس‌ها در ابتدا رقت‌های انتخابی برای هر اسانس بر مبنای حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC90)آن که پیش از این توسط پژوهشگر و دریک مطالعه آزمایشی (Pilot study)مشخص شده بود، تعیین گردید. بر این اساس از رقت‌های ۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای هر یک از اسانس‌های زیره‌ی سبز و کاکوتی و از رقت ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای اسانس سیاه‌دانه در محیط کشت YES استفاده شد. به طور معمول، غلظت محلول استاندارد اسانس مورد نظر دو برابر اولین غلظت مورد آزمایش ساخته می‌شد. برای این منظور ابتدا از حلال دی‌متیل‌سولفوکساید که با محیط کشتRPMI-1640 مایع به میزان ۰/۱ رقیق شده بود استفاده شد به عنوان مثال برای ساخت استوک ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از اسانس مورد نظر ۱۰ میکرولیتر از اسانس خالص حاصل از تقطیر را به ۰/۵ میلی‌لیتر ازDMSO رقیق شده افزوده و سپس ۴/۵ میلی‌لیتر RPMI-1640مایع را به آن اضافه نموده تا حجم استوک به ۵ میلی‌لیتربرسد زیرا غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مساوی با ۲ میکرولیتر در میلی‌لیتر و برابر با ۱۰ میکرولیتر در ۵ میلی‌لیتر است. پس از رقیق‌سازی اسانس‌ها به میزان مورد نظر که با توجه به غلظت اسانس مورد آزمایش و حجم محیط کشت محاسبه می‌شد مقدار لازم از آن به ارلن حاوی محیط کشت YESاضافه می‌گردیدسپسبا درج و ثبت مشخصات مربوطه ارلن‌ها به گرم‌خانه ۲۸ درجه سانتی‌گراد مجهز به هم‌زن با حرکت آرام منتقل گردیده و به مدت ده روزگرم‌خانه‌گذاری می‌شدند. برای آماده‌سازی نمونه‌ها و به منظور سنجش مقدار سم تولیدی پس از صاف کردن عصاره کشت قارچ به وسیله صا فی‌های واتمن شماره ۱ به ۲۵ میلی‌لیتر از عصاره مزبور ۱۰۰ میلی‌لیتر از متانول ۸۰ درصد (MERK)افزوده و به مدت ۲ تا ۳ دقیقه با دستگاه هم‌زن به خوبی مخلوط می‌شدند سپس به لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری استریل منتقل شده و جهت تعیین میزان آفلاتوکسین تولیدی به روش RP-HPLC مورد آزمایش قرارمی‌گرفتند [۱۷]. به دلیل عدم ایجاد تورش در نتایج، نمونه‌های مورد آزمایش قبل از عصاره‌گیری و سنجش میزان سم تولیدی اتوکلاو نشدند ولی در حین و پس از پایان آزمایشات به دلیل خطرات بهداشتیناشی از مایکوتوکسین‌ها

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

نکات ایمنی از جمله پوشیدن دستکش و ماسک هنگام کار، انجام آزمایشات در زیر هود، اتوکلاو نمودن وسایل و مواد پس از پایان کار، قراردادن وسایل و مواد مورد استفاده در محلول هیپوکلریت‌سدیم غلیظ به مدت حداقل ۱ تا ۲ ساعت و گندزدایی سطوح آلوده آزمایشگاه با این محلول به دقت رعایت می‌شد.

نمونه‌های مورد آزمایشRP-HPLC: این نمونه‌ها که سنجش سم درمورد آن‌ها انجام شد شامل۱- ۲۵ میلی‌لیتر از نمونه شاهد منفی ۱(محیط کشتYES)۲ - ۲۵میلی‌لیتر از نمونه شاهد منفی ۲ (محیط کشت YES که به آن ۱۲۵ میکرولیتر از سم AFLA-Mssss-032, 1000 ng/ ml MeoH به عنوان سم استاندارد آفلاتوکسین برای کروماتوگرافی مایع و مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۶۸۷۲، اضافه شده بود [۱۷]). ۳- ۲۵ میلی‌لیتر از نمونه شاهد مثبت (محیط کشت YESو قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس سم‌زا). ۴- ۲۵ میلی‌لیتر از نمونه حاوی اسانس گیاه زیره‌ی سبز به غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر. ۵- ۲۵ میلی‌لیتر از نمونه حاوی اسانس گیاه کاکوتی به غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر. ۶- ۲۵ میلی‌لیتر از نمونه حاوی اسانس گیاه سیاه‌دانه به غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بودند که در تمامی نمونه‌های حاوی اسانس رشد قارچ مشهود بود ولی کند یا متوقف شده بود.

توزین توده قارچی: بعد از۱۰ روز که از کشت محتویات ارلن‌های حاوی نمونه قارچی و اسانس سپری شد و رشد قارچ انجام گرفت توده حاصل از رشد هریک از محتویات ارلن‌ها روی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرارمی‌گرفت سپس کاغذهای صافی حاوی توده قارچی و کاغذ صافی خالی (به عنوان شاهد) جهت خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت داخل گرم‌خانه ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شدند. این عمل برای هرکدام از نمونه‌ها ۳ بار تکرار شد که در هر بار کاغذ صافی خالی و کاغذهای صافی حاوی توده قارچی با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین می‌شد و نتایجیادداشت می‌گردید. قابل ذکر این که کاغذهای صافی به کار برده شده هم‌وزن بودند.

ارزیابی مهار تولید آفلاتوکسین: اثر ضد آفلاتوکسین اسانس‌های گیاهی زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه مورد آزمایش به روش فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با کارآیی عالی (RP-HPLC) و خالص‌سازی با ستون ایمونوافینیتی و برابر استاندارد ملی ایران شماره ۶۸۷۲ (سال۱۳۷۱) انجامیافت. در انتخاب نوع توکسین هدف از تدوین این استاندارد تعیین روش معتبر برای تعیین مقدارمهم‌ترین آفلاتوکسین‌های گروه‌های B و G شامل B1، B2، G1و G2 است. منظور ازمجموع آفلاتوکسین‌ها، تمام انواع B1، B2، G1 و G2می‌باشد [۱۷]. این آزمایشات برای هریک از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

محاسبه درصد مهاررشد قارچ، درصد مهار آفلاتوکسین و مقدار آفلاتوکسین: درصد مهار رشد قارچ، درصد مهار آفلاتوکسین و مقدار آفلاتوکسین به ترتیب با استفاده از فرمول‌های زیر تعیین شدند [۲۴].

الف) $\frac{W_c - W_s}{W_c} \times 100$ = درصد مهار رشد قارچ

ب) $\frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$ = درصد مهار آفلا توکسین

وزن توده قارچی در نمونه کنترل= Wc

وزن توده قارچی در نمونه مورد آزمایش=Ws

مقدارآفلاتوکسین در نمونه کنترل= Ac

مقدارآفلاتوکسین در نمونه مورد آزمایش=As

ج) $\frac{D_s}{W_s} \times 100$ $Da_{ngr/mgr}$=mlit

$Da_{ngr/mg}$= مقدار آفلاتوکسین تولیدی بر حسب نانوگرم در میلی‌گرم وزن قارچ

Ds= مقدار آفلاتوکسین در نمونه بر حسب نانوگرم در میلی‌لیتر

Ws= وزن میسلیوم خالص قارچ بر حسب میلی‌گرم

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

نتایج

بـا اسـتفاده از روش RP-HPLC غلظـت آفلاتوکسـین تولیـدی(Total, G2, G1, B2, B1) کپـک آسـپرژیلوس پـارازیتیکوس برحسـب نـانوگرم در میلـی‌لیتـر(part per billion=ppb) بـه دسـت آمـد. هـم‌چنـین غلظـت نهـایی آفلاتوکسین پس از تا ثیر اسانس‌های زیره‌ی سبز، کـاکوتی و سیاه‌دانه به ترتیب با رقت‌های ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۱/۵ میلی‌گـرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شدند(جدول ۱).

مقایسه اثر اسانس‌های زیره‌ی سبز، کـاکوتی و سـیاه‌دانـه روی رشد میسیلیوم و تولید آفلاتوکسین توسـط آسـپرژیلوس پارازیتیکوس در محیط کشت YES broth در جدول ۲ نشـان داده شده است.

جدول ۳ اثر اسانس‌های زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه به ترتیـب بـا غلظـت‌هـای ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۱/۵ میلـی‌گـرم در میلی‌لیتر را بر مهار انواع آفلاتوکسین(ngr/mgr)و مهـار رشـد آسپرژیلوس پارازیتیکوس بـا ۳ بـار تکـرار(درصـد) مقایسـه می‌نماید. شـکل ۱ مقـدار آفلاتوکسـین‌هـای تولیـدی توسـط آسپرژیلوسپارازیتیکوس را پس از مواجهـه بـا اسـانس‌هـای مذکور مشخص می‌کند.

جدول ۱- میانگین غلظت نهایی انواع آفلاتوکسین تولیدی توسط آسپرژیلوس پارازیتیکوس در نمونه های مورد آزمایش به روش Reverse phase-high performance liquid chromatography (RP-HPLC) ، بر حسب نانوگرم در میلی لیتر(ppb)با ۳ بار تکرار.

نام نمونه	نوع وغلظت نهایی آفلاتوکسین (ppb)				
	B1	B2	G1	G2	Total
*شاهد منفی۲	۵	۱	۵	۱	۱۲
شاهد مثبت	۴۹/۳۷	۲/۹۴	۱۰۹/۹۶	۳/۳۸	۱۶۵/۶۶
زیره سبز	۲/۸۵	ND	۱/۲۲	ND	۴/۰۷
کاکوتی	۴/۶۰	ND	۱/۸۰	۲/۰۷	۸/۴۷
سیاه دانه	۴/۲۵	ND	۱/۶۹	۰/۴۳	۶/۳۶

* ۵ میکرولیتر در میلی لیتر از سم AFLA-Mssss-032, 1000ng/ml MeoHبه عنوان سم استاندارد آفلا توکسین برای کروماتو گرافی مایع به محیط کشتYeast extract sucrose (YES)اضافه شده بود.

ND=شناسایی نشد

شکل ۲ درصد مهار رشد کپک آسپرژیلوس پارازیتیکوس و مهار تولید آفلاتوکسین توسط اسانس‌های مـورد مطالعـه را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از اقـدامات مـذکور بـا نـرم‌افـزار SPSS-16 و آزمون‌های آماری"کروسکا ل-والیس" و "من-ویتنی"، باسطح معنی‌داری$p\leq ۰/۰۵$، مورد تجزیه وتحلیل، قرار گرفت.

جدول ۲-مقایسه اثر اسانس های زیره ی سبز، کاکوتی و سیاه دانه، روی رشد میسیلیوم و تولید آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس پارازیتیکوس، در محیط کشت Yeast extract sucrose broth.

نام نمونه	غلظت اسانس mg/ml	* وزن خشک توده قارچی در فلاسک (میلیگرم)	* نوع وغلظت آفلاتوکسین(ppb)				
			B1	B2	G1	G2	Total
شاهد مثبت	۰	A ۳۴۰۶/۱±۲۵/۵	a ۴۹/۳±۰/۰۲	a ۲/۹۴±۰/۰۴	A ۱۱۰±۰/۰۴	a ۳/۳۸±۰/۰۵	a ۱۶۵±۰/۰۴
زیره سبز	۰/۲۵	B ۱۰۷۹/۴±۱۹/۶	b ۲/۸۵±۰/۰۲	b ND	B ۱/۲۲±۰/۰۴	b ND	b ۴±۰/۰۵
کاکوتی	۰/۲۵	C ۸۵۵/۳± ۱۷	c ۴/۶±۰/۰۷	B ND	C ۱/۸±۰/۰۶	c ۲±۰/۰۳	c ۰/۵± ۰/۱۱
سیاه دانه	۱/۵	D ۱۱۰۹± ۱۲/۸	d ۴/۲۵±۰/۰۲	B ND	D ۱/۶۹±۰/۰۲	d ۰/۴۳±۰/۰۳	d ۶/۴± ۰/۰۴

۱- * میانگین ± انحراف معیار حاصل از ۳ بار تکرار آزمایش.

۲- مقادیر مشخص شده با حروف لاتین مختلف(a, b, c, d)، در هر ستون، بیانگر اختلاف آماری معنی دار($P\leq 0.05$) می باشد.

۳- شناسایی نشد(ND).

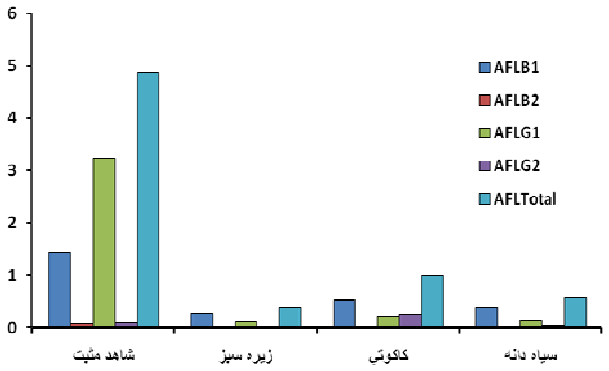
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

جدول۳.مقایسه اثر اسا نس های زیره ی سبز، کاکوتی و سیاه دانه، به ترتیب با غلظت های ۰/۲۵ ، ۰/۲۵ و ۱/۵ میلی گرم در میلی لیتر، بر مهار انواع آفلاتوکسین(ngr/mgr) و مهار رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس، با ۳ بار تکرار(درصد).

آفلاتوکسین / نام نمونه	B1		B2		G1		G2		Total		درصد مهاررشدارچ
	مقدارسم ng/mg	درصد مهارسم	مقدار سم ng/mg	درصد مهارسم	مقدارسم ng/mg	درصد مهارسم	مقدارسم ng/mg	درصد مهارسم	مقدارسم ng/mg	درصد مهارسم	
شاهد مثبت	۱/۴۴۹	۰	۰/۰۸۶	۰	۳/۲۲۸	۰	۰/۰۹۹	۰	۴/۸۶۳	۰	۰
اسانس زیره سبز	۰/۲۶۴	۹۴/۲۲	ND	۱۰۰	۰/۱۱۳	۹۸/۸۹	ND	۱۰۰	۰/۳۷۷	۹۷/۵۴	۶۸/۳۲
اسانس کاکوتی	۰/۵۳۷	۹۰/۶۸	ND	۱۰۰	۰/۲۱۰	۹۸/۳۶	۰/۲۴۲	۳۸/۷۵	۰/۹۹۰	۹۴/۸۸	۷۴/۸۹
اسانس سیاه دانه	۰/۳۸۳	۹۱/۳۹	ND	۱۰۰	۰/۱۵۲	۹۸/۴۶	۰/۰۳۸	۸۷/۲۷	۰/۵۷۳	۹۶/۱۶	۶۷/۴۳
مجموع اسانس‌ها	۰/۳۹۴	۹۲/۰۹	ND	۱۰۰	۰/۱۵۸	۹۸/۵۷	۰/۰۹۳	۷۵/۳۴	۰/۶۴۶	۹۶/۱۹	۷۰/۲۱

ND =شناخته نشد

شکل ۱. مقدار آفلاتوکسین های تولیدی(ng/mg)، توسط آسپرژیلوس پارازیتیکوس در محیط Yeast extract sucrose broth ، پس از مواجهه با اسا نس های زیرهی سبز، کاکوتی و سیاه دانه، به ترتیب در غلظت های ۰/۲۵ ، ۰/۲۵ و ۱/۵ میلی گرم در میلی لیتر با ۳ بار تکرار.



شکل ۲. مقایسه درصد مهار رشد کپک آسپرژیلوس پارازیتیکوس و مهار تولید آفلاتوکسین توسط اسانس های زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه دانه به ترتیب در غلظت های ۰/۲۵ ، ۰/۲۵ و ۱/۵ میلی گرم در میلی لیتر با ۳ بار تکرار.

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش با توجه به نتایج حاصل از مقایسه دو به دو اسانس‌های مورد آزمایش با یک‌دیگر مشخص گردید که اسانس‌های زیره‌ی سبز و کاکوتی، زیره‌ی سبز و سیاه‌دانه، کاکوتی و سیاه‌دانه، در جلوگیری از تولید آفلاتوکسین‌های Total,G2,G1,B1 به وسیله آسپرژیلوس پارازیتیکوس دارای قدرت مهاری متفاوتی می‌باشند ولی در مهار آفلاتوکسین B2 اختلافی نداشتند که آن هم به علت این است که B2 در آزمایشات مربوط مورد شناسایی قرار نگرفت و مقدار صفر را به خود اختصاص داده است. توانایی اسانس‌های مورد مطالعه در مهار تولید انواع آفلاتوکسین به ترتیب به صورت اسانس زیره‌ی سبز، اسانس سیاه‌دانه و اسانس کاکوتی، می‌باشد.

قدرت مهار G1 توسط هرسه اسانس تقریباً مشابه است. هم‌چنین با مقایسه دو به دوی هر کدام از آفلاتوکسین‌ها مشخص شد که بین آن‌ها رابطه آماری معنی‌دار برقرار است و هر یک از اسانس‌های مورد مطالعه در مقایسه با شاهد مثبت به طور قابل توجهی تولید انواع آفلاتوکسین‌ها

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

(Total, G2, G1, B2, B1)را مهار می‌کنند(جدول۲). بسیاری از مواد مختلف از قبیل روغن‌های اساسی و فلاوونوئیدها می‌توانند تولید آفلاتوکسین و رشد آسپرژیلوس را مهار نمایند [۱۸]. ابراهیم‌زاده و همکاران در بررسی خود روی روغن اساسی زاتاریا مولتی‌فلورا ترکیباتی را که سبب کاهش ۵۰ درصدی آفلاتوکسین شوند به عنوان مهارکننده مثبت آفلاتوکسین در نظر گرفتند [۱۹]. فرگ(Farag) و همکاران اثر اسانس‌های چندین گیاه و مواد موثره آن‌ها را بر روی رشد و تولید آفلاتوکسین در آسپرژیلوس پارازیتیکوس بررسی نمودند که در نتیجه آن مشخص شد اسانس آویشن در مقایسه با اسانس‌های زیره، میخک، رزماری و مریم‌گلی اثر ممانعت‌کنندگی قوی‌تری داشت و اثر اجزاء موثر تمامی اسانس‌های مورد مطالعه با اثر اسانس مربوطه مشابهت کامل داشت [۲۰]. در مطالعه دیگری که بر روی تیموکینون به عنوان یک ماده فعال موجود در سیاه‌دانه انجام شده است تاثیر مهار صد درصدی این ماده روی آسپرژیلوس نیجر در غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمده است [۲۱]. در بررسی ما اسانس‌های زیره‌ی سبز و سیاه‌دانه به ترتیب از نظر مهار تولید آفلاتوکسین تام قوی‌تر از کاکوتی بودند. در این پژوهش بین وزن توده قارچی، مهار رشد قارچ و مقدار آفلاتوکسین تام همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت (r=۰/۸۹۶, p=۰/۰۰۰۵)هم‌چنین بین مقدار وزن توده قارچی و مقدار آفلاتوکسین‌های G2, G1, B2, B1 نیز رابطه معنی‌داری وجود داشت. در مجموع می‌شود اظهار نمود که اثر اسانس‌های مورد مطالعه بر قارچ‌های مذکور را می‌توان از روی کاهش توده میسیلیومی قارچ و کاهش مقدار تولید سم به وسیله قارچ ارزیابی کرد. یحیی رعیت، درسال ۱۳۸۷ شمسی با ارزیابی اثرات اسانس‌های آویشن شیرازی و گل شمعدانی عطری بر روی برخی ژن‌های ساختمانی و تنظیم‌کننده مسیر بیوسنتز آفلاتوکسین‌ها و بر اساس نتایج حاصل از سنجش وزن توده قارچی و تولید توکسین مشاهده نمود که اثر اسانس روی کاهش رشد و ساخت توکسین همیشه هم گام پیش نمی‌رود و نتایج حاصل حاکی از اهمیت غلظت، نحوه و مدت زمان به‌کارگیری اسانس در کارآیی مهار رشد و مهار تولید توکسین توسط آن می‌باشد. در بررسی وی و نیز مطالعات دیگر مشاهده شد که هر چه از مدت زمان تماس اسانس با قارچ سپری شود به تدریج از کارآیی آن در ممانعت از رشد و تولید سموم قارچی کاسته می‌شود [۲۲]. در مطالعات مختلف ازروش‌هایTLC، فلورومتری، آگار پلاگ و غیره برای سنجش توکسین استفاده شده است ولی بر اساس منابع موجود آزمایشHPLC از حساسیت و ویژگی بسیار بالایی برخوردار است و قادر به تفکیکیک میکروگرم در لیتر از توکسین مورد سنجش می‌باشد. بنابراین تفاوت در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند تا حد زیادی معطوف به تفاوت‌های موجود در روش سنجش و آنالیز توکسین باشد [۲۲]. در مطالعه ما تفاوت در درصد مهار آفلاتوکسینG2 به وسیله اسانس‌های مورد آزمایش قابل توجه است به گونه‌ای که درصد مهار این آفلاتوکسین توسط اسانس کاکوتی ۳۸/۷۵ درصد است درحالی که اسانس‌های زیره‌ی سبز و سیاه‌دانه آفلاتوکسینG2 را به ترتیب به میزان ۱۰۰ و۸۷/۲۷ درصد مهارکرده‌اند از طرفی اسانس کاکوتی سایر آفلاتوکسین‌ها ازجمله Total, G1, B2, B1 را به ترتیب به میزان ۹۰/۶۸، ۱۰۰، ۹۸/۳۶ و۹۴/۸۸ درصد مهارنمود. هم‌چنین، سایرآفلاتوکسین‌ها (Total, G1, B2, B1) به طور متوسط به ترتیب به میزان ۹۲/۰۹، ۱۰۰، ۹۸/۵۷، ۹۶/۱۹ درصد توسط مجموع اسانس‌های مورد مطالعه مهار شدند. با توجه به این که شرایط آزمایش و شرایط مهار تولید توکسین توسط اسانس‌های مورد بررسی برای تمامی آفلاتوکسین‌ها مشابه بوده است دلیل تاثیر کم‌تر اسانس کاکوتی در مهار آفلاتوکسینG2 را می‌توان به ترکیبات این اسانس که در مهار این سم موثرند مربوط دانست به طوری که این اجزاءقادر به مهار مناسب مسیر بیوسنتزی ژن‌های تولیدکننده این آفلاتوکسین نمی‌باشند. در مطالعه دیگری روغن اساسی سیاه‌دانه در ۳ درصد حجمی/ حجمی، تولید انواع چهار گانه آفلاتوکسین تولیدی توسط آسپرژیلوس فلاووس را مهار نمود[۲۳]. از دیگر تفاوت‌های مشاهده شده در تحقیق ما اختلاف در درصد مهار سم و درصد مهار رشد

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

قارچ می‌باشد. مطابق جدول۳ درصد مهار آفلاتوکسین تام(Total) توسط اسانس زیره‌ی سبز، کاکوتی و سیاه‌دانه به ترتیب ۹۷/۵۴، ۹۴/۸۸ و ۹۶/۱۶ درصد است در صورتی که درصد مهار رشد قارچ توسط این اسانس‌ها به ترتیب ۶۸/۳۲، ۷۴/۸۹ و ۶۷/۴۳ می‌باشد. هم‌چنین طبق نمودار ۲ با مقایسه درصد مهار سم و درصد مهار رشد قارچ می‌توان نتیجه گرفت که درصد مهار تولید سم بیش‌تر از درصد مهار رشد قارچ می‌باشد. این حالت شاید ناشی از تاثیر اسانس بر متابولیت‌های اولیه قارچ باشد که می‌تواند به صورت مستقیم باعث مهار رشد قارچ و به طور غیر مستقیم مانع تولید سموم قارچی بشود. چنان‌چه اسانس فقط از طریق مهار رشد بر قارچ تاثیر می‌گذاشت می‌بایست درصد مهار رشد و درصد مهار سم قارچ یکسان بود و از الگویمشابهی پیروی می‌کرد. ولی در این‌جا می‌توان حدس زد که متابولیت ثانویه گیاه (اسانس) از مسیر دیگری روی متابولیت ثانویه قارچ (آفلاتوکسین) تاثیر دارد و باعث مهار آن می‌شود و ژن‌های رشد قارچ با ژن‌های تولید آفلاتوکسین متفاوت است. در این جا تاثیر متابولیت ثانویهگیاه بر متابولیت ثانویه قارچ نیز آشکار می‌شود. گرچه مطابق نتایج حاصل از این پژوهش هم‌بستگی مثبت و معنی‌داری بین وزن توده قارچی و مهار رشد قارچ با انواع آفلاتوکسین‌های تولیدی وجود داشت(جدول ۳). ازاین خصوصیت اسانس‌ها می‌توان علاوه بر مهار سموم قارچی، به عنوان ضدمیکروب، ضد حشرات، ضدکرم، ضدآفات گیاهی، نگه‌دارنده‌های مواد غذایی، ضدپلاک دندانی و در امور درمانی، بهداشتی و آرایشی استفاده نمود. گندمی نصرآبادی در سال ۱۳۸۶ شمسیبه مطالعه اثر اسانس آویشن شیرازی روی رشد آسپرژیلوسفلاووس و تولید آفلاتوکسین در محیط کشت و پنیر پرداخت. در این بررسی علاوه بر تعیین حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت قارچ‌کشی اسانس مزبور مشخص نمود که در محیط کشت مایع اثر بازدارندگی اسانس روی تولید آفلاتوکسین توسط کپک مورد مطالعه بالاتر از اثر آن روی رشد میسیلیوم بود. هم‌چنین اسانس آویشن شیرازی اثر مهاری معنی‌داریروی رشد کپک و تولید آفلاتوکسین در پنیر داشت و این اثر ازالگوی وابسته به مقدار پیروی می‌کرد و اثر بازدارندگی اسانس روی تولید آفلاتوکسین در پنیر بالاتر از اثر آن روی رشد کپک بود [۲۴]. این نتایج تا حدود زیادی با یافته‌های پژوهش ما هماهنگی داشت. در سایر پژوهش‌های انجام شده تولید آفلاتوکسین B1 به عنوان مهم‌ترین سرطان‌زای آفلاتوکسین‌ها به طورکامل توسط ۰/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از روغن‌های لمون‌گرس و شمعدانی عطریمتوقف گردید. روغن آویشن، در ۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، روغن‌های میخک و زیره‌ی سبز در ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از تولید آفلاتوکسین به وسیله آسپرژیلوس پارازیتیکوس جلوگیری کردند [۲۵]. به نظر می‌رسد که مکانیسم اصلی اثر یک مایکوتوکسین تغییرDNA الگو، مختل‌سازی فرایند نسخه‌برداری و یا مهار مرحله ترجمه در تولید پروتئین باشد [۵،۴]. سویه‌های مولد سم معمولاً در شرایط خاص دو یا سه نوع آفلاتوکسین تولید می‌کنند که هم‌واره یکی ازآن‌ها نوع B1 می‌باشد. آفلاتوکسین‌های گروه G به طور معمول به میزان کم‌تری ازانواع گروه B تولید می‌شوند [۳]. ولی مطابق نتایج این پژوهش، آفلاتوکسینG1 به مقدار زیاد و بیش از سایر آفلاتوکسین‌ها تولید شده بود (جداول ۲ و ۳). آفلاتوکسین‌هایB2 و G2 که متابولیت‌های دی‌هیدروی آفلاتوکسین می‌باشند به طور معمول هم‌راه با آفلاتوکسین‌هایB1 و G1 حضوردارند و هم‌واره میزان آن‌ها کم‌تراست که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد. بنابراینمی‌توان اظهار نمود که اسانس‌ها با تاثیر بر ژن‌ها و یا آنزیم‌های مسیر بیوسنتز این سموم موجب مهار آفلاتوکسین‌ها می‌شوند. به منظور ارزیابی ناهماهنگی در مهار سنتز اجزای آفلاتوکسین و بررسی تفاوت آن‌ها بهتر است تحقیقاتی در سطح ژنتیکی انجام شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان نهایت تشکر و سپاس خود را از کلیه اساتید و همکاران محترم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد،آزمایشگاه‌های قارچ‌شناسی و مرکزی دانشکده

دام‌پزشکی دانشگاه تهران، آزمایشگاه پژوهشی فاروق تهران و دانشگاه علوم پزشکی گناباد اعلام می‌نمایند.

منابع

[1] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-a review. Food Chem Toxicol 2008; 46: 446-475.

[2] Razzaghi-Abyaneh M, Shams-Ghahfarokhi M, Yashinari T, Rezaee MB, Jaimand K, Nagasawa H, Sakuda S. Inhibitory effects of Satureja hortensis L. essential oil on growth and aflatoxin production by Aspergillus parasiticus. Int J Food Microbiol 2008; 123: 228-233.

[3] Allameh A, Razzaghi- Abyaneh M. Mycotoxins. Tehran, Imam Hossein Univ 2003: 40.(Persian).

[4] Kafi M, Rashed Mohassel MH, Koocheki A. Cuminum cyminum: production and processing.First edition. Center of excellence for Agronomy Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashad 2003: 165-182.

[5] Iacobellis NS, Lo Cantore P, Capasso F, Senatore F. Antibacterial activity of Cuminum cyminum L. and Carum carvi L. essential oils. J Agric Food Chem 2005; 53: 57-61.

[6] Bansod S, Rai M. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic Aspergillus fumigatus and Aspergillus niger. World J Med Sci 2008; 3: 81-88.

[7] Ghasemi-Dehkordi N, et al. Iranian herbal pharmacope. Ministry of Health; Tehran, Iran: 1998.

[8] Ozturc S, Ercisly S. Antibacterial activity and chemical constitutions of Ziziphora clinopodioides. Food Control 2007; 18: 535-540.

[9] Unal EL, Mavi A,Aydan-Kara A, Cakir A, Sengul M,Yildirim A. Antimicrobial and antioxidant activities of some plants used as remedies in Turkish traditional medicine. Pharm Biol 2008; 46: 207-224.

[10] Kursat M, Erecevit P. The antimicrobial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae members collected from Turkey. Turkish J Sciencechnology 2008; 4: 81-85.

[11] Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa (Review Article). Phytother Res 2003; 17: 299-305.

[12] Khan N, Sultana S. Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperresponse by Nigella sativa. Eur J Cancer Prev 2005; 14: 159-168.

[13] FazlyBazzaz S,Haririzadeh G,Imami SA, Rashed MH. (1990):Survey of iranian plants for alkaloids, flavonoids, saponins and tannins [khorasan province] pharmaceutical. 1997; 35.

[14] Aynehchi Y, Salehi Sormaghi MH, Farrohi KH. Screening of iranian plants for antimicrobial activity. Acta Pharm Suec 1980; 17: 341-346.

[15] bin Jantan I, Mohd Yassin MS, Bee Chin C, Lee Chen L, Sim NL. Anti fungal activity of the essential oils of nine zingiberaceae species. pharm Biol 2003; 41: 392-397.

[16] CLSI/ Clinical and Lboratory Standards Institute-Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Wayne, 2002(Approved standard M38-A).

[17] Iran national standard, NO: 6872. measurement of group B and G aflatoxins by HPLC and puriefied by immunoafinity column, Iran standard and industrial reaserch institue (1993).

[18] Alpsoy L. Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities. African J Biotechnol 2010; 9: 2474-2481 .

[19] Ebrahimzadeh H, Yamini Y, Sefidkon F, Chalosi M, Pourmortazavi SM. Chemical composition of the essential oil and supercritical CO2 extracts of Zataria multiflora Boiss. Food Chemistry 2003; 83: 357-361.

[20] Farag RS. Daw ZY, Abo-Raya SH. Influence of some species essential oils on Aspergillus parasiticus growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. J food Sci1989; 54: 74-76.

[21] Al-Jaber S, Al-Akloby OM, Al-Qurashi AR, Akhtar N, Al-Dossary A, Randhawa MA. Tymoquinone, an active principle of Nigella sativa, inhibited Aspergillus niger. Pakistan J Med Res 2003; 42.

[22] Yahyaraeyat R, Khosravi AR. The effect of oil extracted from zataria multiflora on aflatoxin genes expression in aspergillus parasiticus. Tehran Univ Med J 2009. (Persian).

[23] Maraqa A, AL-Sharoa NF, Farah H, Elbjeirami WM, Shakya AK, Sallal AK. Effect of nigella sativa extract and oil on aflatoxin production by aspergillus flavus. Turk J Biol 2007; 31: 155-159.

[24] Gandomi H, Misaghi A, Basti AA, Bokaei S, Khosravi A, Abbasifar A, Javan AJ. Effect of zataria multiflora boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by Aspergillus flavus in culture media and cheese. Food Chem Toxicol 2009; 47: 2397-2400.

[25] Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils (A review article). Curr Med Chem 2003; 10: 813-829.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

Effects of anti-aflatoxin of essential oils of *Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioiedes* and *Nigella sativa*

Mohammad Hassan Minooeian Haghighi (Ph.D)[*1], Alireza Khosravi (Ph.D)[2]
1 – Dept. of Basic Sciences, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran
2 – Dept. of Mycology, Faculty of Veterinary, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received: 3 Feb 2013; Accepted: 24 Nov 2013)

Introduction: Aflatoxins are a large group of mycotoxins, which are produced by certain species of *Aspergillus*, including *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A.numius*. This group of fungal toxins is considered as a leader of all mycotoxins. Therefore, many efforts have been performed for elimination or neutralization of these compositions in foods and feeds. The aims of this study were to survey the effects of anti-aflatoxin and anti-fungal essential oils of *Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioiedes* and *Nigella sativa* growth in Khorasan-e- Razavi province (Northeastern of Iran).

Materials and Methods: In this experimental study, herbal substances which included *Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioiedes* and *Nigella sativa* were selected and collected on the basis of traditional medicine and their growing region. Then, their essential oils (essences) were extracted by hydro-distillation procedure. The concentration of each *Aspergillus parasiticus* aflatoxin (B1, B2, G1, G2, and Total) was mesured three times by Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) technique in ng/ml (ppb). Also, the final concentration of each aflatoxin was measured following the impact of *Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioiedes* and *Nigella sativa* essences in concentrations of 0.25, 0.25, and 1.5 mg/ml, respectively.

Results: The inhibitory effect of above mentioned essential oils on producing of different aflatoxins was the essences of *Cuminum cyminum,Nigella sativa* and *Ziziphora clinopodioiedes*, respectively. Also, there was a significant and positive correlation between fungus dry weight and amount of total aflatoxin ($P = 0.0005$, $r = 0.896$).

Conclusion: The findings of this study showed that *Cminum cyminum, Nigella sativa* and *Ziziphora clinopodioiedes* has an inhibitory effect on aflatoxin producing by Aspergillus *parasiticus*. In addtion, this study confirmed the traditional use of these herbs against microbial infections.

Keywords: Essences, *Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioiedes, Nigella sativa, Aspergillus parasiticus*, RP-HPLC, Aflatoxins

* Corresponding author: Fax: +98 533 7223814; Tel: +98 533 7225027
drminooeian@gmu.ac.ir

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 13:53 +0330 on Tuesday October 16th 2018

How to cite this article:
Minooeian Haghighi M, Khosravi A. Effects of anti-aflatoxin of essential oils of Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioiedes and Nigella sativa. koomesh. 2014; 15 (3) :396-404

URL http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a_code=A-10-1891-1&slc_lang=fa&sid=1