به کارگیری پوشش خوراکی (Edible Coating) حاوی عصاره الکلی آویشن شیرازی (*Zataria multifora*) در جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر روی مغز پسته

مجید جوانمرد[۱]*، یوسف رمضان[۲]

۱- استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، پژوهشکده صنایع شیمیایی، پژوهشگاه فناوری‌های نوین، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، میدان فردوسی، خیابان شهید موسوی (فرصت) پلاک ۷۱، گروه صنایع غذایی، پژوهشکده صنایع شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، صندوق‌پستی: ۳۵۳۸ - ۱۵۸۱۵
تلفن و نمابر: ۸۸۸۳۸۳۲٤ (۰۲۱)
پست الکترونیک: javanmard@irost.ir

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۲٤ **تاریخ تصویب:** ۸۸/۲/۵

چکیده

مقدمه: بسته‌بندی ضدمیکروبی نوعی بسته‌بندی فعال محسوب شده که توانایی بهبود و افزایش ماندگاری غذا را داشته و موجب سلامت میکروبی این مواد جهت مصرف‌کنندگان می‌شود. به منظور کنترل میکروارگانیسم‌های ناخواسته بر روی سطوح غذاها، می‌توان عوامل ضدمیکروبی فرار و غیر فرار را در ساختار پلیمرها وارد نمود. افزودن عصاره‌های گیاهی و سایر عوامل ضدقارچی در ترکیب پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی به عنوان بسته‌بندی ضدمیکروبی، توانایی مهار رشد قارچی بر روی پسته و عدم تولید آفلاتوکسین را دارا می‌باشند.

هدف: هدف از این تحقیق بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره آویشن شیرازی[۱] بر علیه قارچ آسپرژیلوس فلاووس و امکان استفاده از آن در پوشش خوراکی بر پایه کنسانتره پروتئین آب پنیر در مغز پسته بوده است.

روش بررسی: اثر ضدقارچی عصاره آویشن شیرازی با بررسی مهار رشد قارچ در سطح محیط کشت انجام شد. از طریق تاثیر عصاره به طور مستقیم (روش چاهک) و هم‌چنین استفاده از دیسک‌هایی که از فیلم‌های پروتئین آب پنیر و حاوی رقت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۲۵، ۱/۵ و ۲ (میکرولیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول پوشش دهی) از عصاره تهیه شده بودند، اثرات ضدقارچی عصاره بررسی شد. جهت بررسی اثر عصاره بر روی آسپرژیلوس فلاووس در مغز پسته از مقادیر ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ ppm عصاره در ترکیب پوشش خوراکی مغز پسته استفاده شده و میزان مهار گسترش رشد دیسک تلقیح شده حاوی کشت ۹ روزه قارچ بر روی پسته‌های پوشش دیده اندازه‌گیری شد.

نتایج: در شرایط آزمایشگاهی حداقل غلظت مهاری رشد عصاره آویشن شیرازی بر روی آسپرژیلوس فلاووس ۹۰ ppm از غلظت ۳۰ درصد عصاره الکلی تعیین شد. عصاره الکلی آویشن شیرازی به مقدار ۲۵۰۰ ppm (غلظت ٤۸ درصد) در ترکیب پوشش پروتئین آب پنیر در مغزپسته‌های سترون به طورکامل از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر روی این مغزها جلوگیری نمود.

نتیجه‌گیری: با توجه به جنبه‌های اقتصادی اهمیت کنترل آلودگی به قارچ‌های مولد توکسین در مغز پسته، به کارگیری عصاره آویشن شیرازی در ترکیب پوشش‌های خوراکی برای کنترل رشد قارچ‌ها و در نهایت جلوگیری از تولید توکسین در غذاها توصیه می‌شود.

گل واژگان: پسته، پوشش‌های خوراکی ضدمیکروبی، آویشن شیرازی، پروتئین آب پنیر، آسپرژیلوس فلاووس

[1] *Zataria multifora*

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]

مقدمه

پسته یکی از شناخته شده‌ترین مغزهای درختی محسوب می شود [۱]. گیاه پسته درختی است که به گفته‌ای بومی آسیای مرکزی و به گفته دیگر بومی آسیای غربی و آسیای صغیر شناخته شده است. در میان گونه‌های مختلف درختان پسته، تنها میوه‌ی درخت پسته معمولی خوراکی، مطبوع و خوشمزه است. سرزمین ایران قرن‌ها بدون رقیب بزرگ‌ترین تولیدکننده پسته جهان بوده است ولی در حال حاضر کشورهای دیگری نیز در زمینه تولید و تجارت پسته با ایران به رقابت برخاسته‌اند. ایران یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان و صادرکنندگان پسته محسوب می‌شود [۲]. ایران در سال ۲۰۰۵ حدود ۱٤٥ هزار تن از پسته را به کشورهای مختلف صادر کرده و در سال ۲۰۰٦ بیش از ۲٥۰ هزار تن از این فرآورده را تولید نموده است [۳].

آسپرژیلوس فلاووس یکی از قارچ‌های مولد آفلاتوکسین در غذای انسان و حیوانات می‌باشد. طبق تحقیقات انجام شده گونه‌های آسپرژیلوس از روی پوسته نرم، پوسته سخت و مغز پسته ایران جدا شده است [٤]. از مهم‌ترین قارچ‌های تولیدکننده آفلاتوکسین که از پسته جدا شده‌اند می‌توان از آسپرژیلوس پارازیتیکوس[1] و آسپرژیلوس فلاووس[2] نام برد. این دو گونه، سموم B1، B2، G1 و G2را تولید می‌کنند [٥]. تحقیقات نشان داد که در ایران [٦،۷] و سایر کشورهای تولیدکننده پسته [۹،۸] آلودگی پسته به گونه‌های آسپرژیلوس در طول مراحل رسیدگی محصول در باغ ایجاد می‌شود. برای داشتن فرآورده‌ی سالم و عاری از سموم قارچی موضوع از دو جهت قابل بررسی است. یکی شناخت شرایط تولید آفلاتوکسین و روش‌های پیشگیری از تولید آن و دیگری شناخت روش‌های سالم‌سازی فرآورده آلوده به این گونه سموم است که در صورت عدم موفقیت در پیشگیری از تولید آفلاتوکسین لازم‌الاجرا هستند. بدیهی است برای جلوگیری از رشد قارچ‌ها بهترین روش تولید پسته‌های استاندارد است. یکی از روش‌های بیولوژیکی جهت کنترل تولید این سموم، به کارگیری عصاره‌های گیاهی ضدقارچی می‌باشد [۲].

در سالیان اخیر، تحقیقات بر روی بسته‌بندی مواد غذایی بیشتر بر روی فیلم‌های زیست سازگار[1] از جمله فیلم‌های تهیه شده از پروتئین‌های خوراکی با منشای گیاهی و حیوانی (زئین، گلوتن گندم، سویا و بادام زمینی، آلبومین، ژلاتین، کلاژن، کازئین و پروتئین‌های آب پنیر) استوار بوده است [۱۰]. به کارگیری پوشش‌های خوراکی یک رهیافت جایگزین برای بسته‌بندی، افزایش ماندگاری و بازارپسندی بیشتر و هم‌چنین رفع معظل زیست محیطی ناشی از پسمانده‌های مواد بسته‌بندی محسوب می‌شود. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بر پایه پروتئین آب پنیر[2] دارای نفوذپذیری پایین نسبت به گاز اکسیژن می‌باشند [۱۱].

بسته‌بندی ضدمیکربی[3] نوعی بسته‌بندی فعال[4] محسوب شده که می‌تواند ماندگاری فرآورده‌های غذایی را افزایش داده و سلامت آن‌ها را از نظر میکربی تأمین نماید [۱۲]. این نوع بسته‌بندی باعث کاهش، مهار و یا به تعویق انداختن رشد میکروارگانیسم‌ها در بسته‌بندی و مواد غذایی می‌شود. به منظور کنترل میکروارگانیسم‌های نامطلوب در سطوح مواد غذایی مواد ضدمیکروبی فرار و غیرفرار می‌توانند در داخل پلیمرهای بسته‌بندی به کار گرفته شوند.

آویشن شیرازی[5] متعلق به خانواده Laminaceae بوده و گیاه بومی ایران می‌باشد. این گیاه به طور سنتی به عنوان طعم‌دهنده در غذا به ویژه ماست به کار گرفته می‌شود [۱۳]. ترکیب اصلی اسانس روغنی این گیاه شامل ترکیبات فنلی همانند کارواکرول[6] و تیمول[7] می‌باشد [۱٤]. در سالیان اخیر علاقه فزاینده‌ای جهت به کارگیری از عصاره‌های گیاهی برای بهبود ماندگاری مواد غذایی، تاخیر رشد قارچ‌ها و جلوگیری از تولید سموم قارچی به وجود آمده است. مطالعات متعددی بر روی کارایی ضدقارچی عصاره‌های گیاهی صورت گرفته است

[1] *Aspergillus parasiticus*
[2] *Aspergillus flavus*

[1] Biodegradable
[2] Whey Protein
[3] Antimicrobial Packaging
[4] Active Packaging
[5] *Zataria multiflora* Boiss.
[6] Carvacrol
[7] Thymol

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]

[۱۵،۱۶،۱۷].

هدف از این تحقیق اولاً بررسی اثر ضدقارچی عصاره الکلی آویشن شیرازی بر علیه رشد قارچ توکسین‌زای آسپرژیلوس فلاووس در شرایط آزمایشگاهی و ثانیاً بررسی امکان استفاده از این عصاره در ساختار پوشش خوراکی تهیه شده از پروتئین آب پنیر جهت تولید پوشش خوراکی ضدقارچی به منظور جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر روی مغز پسته بوده است.

مواد و روش‌ها

در این بررسی از رقم پسته اکبری استفاده شد. پسته خام پس از تهیه از بازار تا زمان خشک کردن در محیط تاریک و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. گلیسرول به عنوان پلاستی سایزر[1] از شرکت Merck آلمان و کنسانتره پروتئینی آب پنیر نیز از شرکت Arla دانمارک خریداری شد. عصاره الکلی گیاه آویشن نیز در پژوهشکده صنایع شیمیایی سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شد. قارچ آسپرژیلوس فلاووس (PTCC 5006) از مرکز کلکسیون قارچ‌های سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری شد.

خشک کردن پسته

نمونه‌های پسته خام (بدون آفت‌زدگی و نارسی) پس از برداشت، جدا کردن پوسته نرم، خندان کردن و خشک کردن آماده پوشش‌دهی می‌شود. عملیات خشک کردن توسط دستگاه خشک کن با جابجایی هوای داغ (ساخت شرکت کروگ- آلمان) انجام شد. درجه حرارت خشک‌کن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان خشک کردن ٤٨ ساعت به طول انجامید.

روش عصاره‌گیری

عصاره‌گیری بر اساس روش دورلینگ[2] و همکاران انجام شد [۱۷]. ۲۰ گرم از برگ و ساقه گیاه آویشن شیرازی را وزن کرده و پس از پودر کردن توسط آسیاب برقی، در داخل بشر با ۱۲۰ میلی‌لیتر حلال اتانول/ آب (۷۵ درصد الکل و ۲۵ درصد آب) به نسبت ٦ قسمت محلول الکلی به ۱ قسمت پودر اضافه شده و سپس داخل انکوباتور لرزاننده[1] در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار گرفت تا عصاره‌گیری انجام شود. سپس توسط خلاء بخش مایع از تفاله‌ها جدا و در دستگاه روتاری خلاء، حلال از عصاره جدا شد. پس از حذف کامل حلال در دستگاه روتاری تحت خلاء با توزین ماده خشک باقی مانده بازده استخراج عصاره الکلی آویشن شیرازی تعیین می‌شود. ماده خشک باقی‌مانده به منظور استفاده در آزمایش‌ها باید رقیق شود، برای این منظور از حلال اولیه که توسط روتاری حذف شده استفاده می‌شود پس از اضافه کردن حلال تا جایی که ماده خشک به طور کامل حل شود کار را ادامه می‌دهیم و در نهایت با محاسبه میزان حلال الکلی افزوده شده به ماده خشک غلظت عصاره الکلی محاسبه می‌شود که در پژوهش حاضر غلظت عصاره الکلی آویشن شیرازی ٤٨ درصد می‌باشد. عصاره الکلی تهیه شده در داخل یک بطری سترون و تیره تا زمان بررسی اثر بر روی قارچ در شرایط یخچال نگهداری شد.

میزان تاثیر عصاره الکلی آویشن شیرازی

الف) شمارش آسپرژیلوس فلاووس

برای بررسی تاثیر عصارهای گیاهی بر روی رشد قارچ ابتدا میزان مشخصی از اسپورهای قارچی تهیه شد. به همین منظور از کشت لیوفیلیزه قارچ آسپرژیلوس فلاووس (PTCC 5006) بر روی محیط کشت جامد شیب‌دار[2] و گرمخانه گذاری آن در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته صورت گرفت و سپس این محیط با استفاده از محلول توئین ۰/۵ درصد به منظور تهیه سوسپانسیون قارچی و شمارش اسپورهای قارچی شسته شد. برای شمارش اسپورهای قارچی از لام نئوبار استفاده شد. پس از شمارش تعداد ۱۰٦ از اسپور قارچی جهت بررسی انتخاب شد.

---

۱. Plasticizer: ترکیباتی با فراریت پایین هستند که در فیلم‌های پلیمری برای افزایش میزان انعطاف پذیری آنها اضافه می‌شوند.

[2] Durling

[1] Shaker incubator

[2] SDA

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]

ب) تعیین میزان حداقل غلظت بازدارندگی MIC [1]

برای بررسی تاثیر عصاره بر روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس ابتدا بر روی محیط سابورود دکستروز آگار از سوسپانسیون حاوی ۱۰۶ از اسپور قارچی پخش نموده و سپس چاهک[2] هایی با قطر ۵ میلی‌متر بر روی محیط کشت ایجاد نموده و مقداری از عصاره با غلظت ۳۰ درصد را تا میزانی که گودهها پر شوند، در آن قرار دادیم. به عنوان شاهد در داخل گوده دیگر الکل (حلال) را ریختیم و پس از گرمخانه گذاری در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ روز میزان مهار یا عدم مهار رشد را از طریق اندازه‌گیری قطر ناحیه مهاری رشد اطراف چاهک در مقایسه با گوده حاوی الکل (شاهد) بررسی نمودیم.

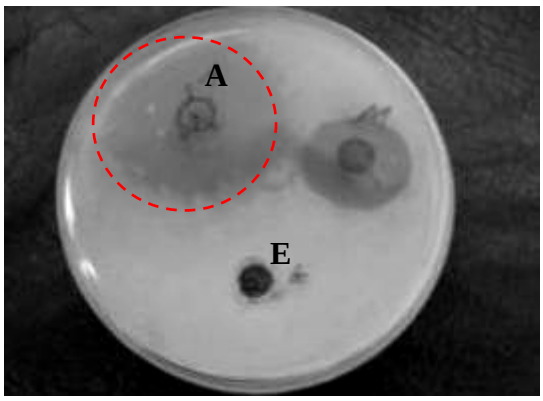
برای بررسی میزان حداقل غلظت مهاری از روش چاهک مشابه حالت ذکر شده استفاده نموده با این تفاوت که در این مرحله در داخل چاهک‌ها این باز از مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره استفاده شد تا به حد تقریبی حداقل غلظت مهاری رسیدیم. در روش تکمیلی و دقیق‌تری میزان MIC با روش لوله‌ای تعیین شد. جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از روش کشت لوله‌ای در لوله‌های سری استفاده شد. در هر لوله ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع سابرود دکستروز ریخته و سپس ۵×۱۰^{۶} اسپور به هر لوله تلقیح شد تا در هر میلی‌لیتر $۱۰^{۶}$ اسپور قارچی موجود باشد. بعد از تلقیح سوسپانسیون قارچی به لوله‌های حاوی محیط کشت سترون، عصاره از کمترین غلظت به بالاترین غلظت در هر لوله توسط سمپلر ریخته شد. برخی از لوله‌ها را به عنوان کنترل (شاهد) در نظر گرفتیم. لوله‌های شاهد شامل: لوله‌ی حاوی محیط کشت، لوله‌ی شامل محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی ولی بدون عصاره الکلی و لوله‌هایی که حاوی محیط کشت و مقادیر متفاوتی از عصاره الکلی بودند که از این لوله‌ها جهت مقایسه کدورت با لوله‌هایی که قارچ آسپرژیلوس فلاووس در آن‌ها رشد نکرده ولی به همان مقدار عصاره الکلی همراه اسپور قارچی را داشته‌اند، استفاده شد. پس از گذشت ۳ روز از گرمخانه گذاری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با مشاهده لوله‌ها و تعیین آزمایش کدورت، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی عصاره الکلی آویشن شیرازی در محیط کشت تعیین شد.

ج) تعیین فعالیت مهاری عصاره در برابر قارچ آسپرژیلوس فلاووس به روش انتشار از دیسک

ابتدا بر اساس روش طرح شده در تحقیق شاو[1] و همکاران (۲۰۰۲) فیلم خوراکی از پروتئین آب پنیر تهیه شد [۱۸]. در این روش ابتدا یک محلول ۱۰ درصد از کنسانتره پروتئین آب پنیر در آب مقطر تهیه شد. جهت حل شدن بهتر کنسانتره این مخلوط به مدت ۱ ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. سپس جهت دناتوره شدن پروتئین‌ها در حمام آب گرم ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از آن تا دمای اتاق خنک شده و به وسیله سود ۱ نرمال pH آن روی ۷ تنظیم شد. گلیسرول به محلول تهیه‌کننده پوشش به گونه‌ای اضافه شد که نسبت گلیسرول/پروتئین برابر ۰/۶ (وزن/وزن) حاصل شود. مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آویشن شیرازی با غلظت ۳۰ درصد را به محلول تشکیل‌دهنده فیلم اضافه نمودیم. مقدار ۱۴ میلی‌لیتر از محلول فیلم را در داخل پلیت‌های پلاستیکی سترون با قطر ۱۰ سانتی‌متر وارد نموده و در زیر هود بیولوژیک قرار دادیم تا فیلم‌ها به مدت ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاهی خشک شوند. از هر کدام از فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره، حاوی الکل و بدون عصاره و الکل دیسک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر نظیر دیسک‌های مورد استفاده در آزمون آنتی‌بیوگرام تهیه شد. این دیسک‌ها سپس در وسط چهار منطقه پیرامونی پلیت‌های تلقیح شده با CFU ^{۶} ۱۰ قارچ آسپرژیلوس فلاووس قرار گرفته و فعالیت ضدقارچی را با استفاده از اندازه‌گیری قطر هاله مهاری اطراف دیسک‌ها تعیین نمودیم. بررسی ناحیه مهار رشد[2] بر روی محیط کشت جامد، جهت تعیین اثرات ضدمیکروبی فیلم در برابر قارچ آسپرژیلوس فلاووس استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۳ روز در ۲۵ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار گرفتند (شکل شماره ۱). سپس

[1] Minimum Inhibition Concentration
[2] Well
[1] Shaw
[2] Growth Inhibition Zone

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]



شکل شماره ۱- ناحیه مهار رشد (دایره قرمز با خط نقطه‌چین) کشت قارچ آسپرژیلوس فلاووس در حضور عصاره آویشن شیرازی (A) در مقایسه با شاهد الکل (E)

پلیت‌ها از نظر ناحیه مهاری[1] که توسط دیسک‌های فیلم‌ها ایجاد می‌شدند، مورد بررسی و میزان هاله مهاری اندازه‌گیری شد. قطر این ناحیه توسط یک خط کش اندازه‌گیری شد. مساحت تمام ناحیه حاوی دیسک اندازه‌گیری و سپس از مساحت دیسک کم شده، باقیمانده به عنوان مساحت ناحیه مهار رشد بیان شد.

پوشش‌دهی مغز پسته

این مرحله بر اساس بررسی پیشین جوانمرد در سال ۲۰۰۸ انجام شد [۱۹]. تمام محلول‌های پوشش‌دهی حاوی ۱۰ درصد (وزن/وزن) از کنسانتره آب پنیر (۸۵ درصد پروتئین) در آب مقطر بودند. برای ایجاد محلول پوشش‌دهی پیش از افزودن عصاره آویشن، محلول ۱۰ درصد پروتئین آب پنیر به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دیده تا پروتئین‌ها دناچوره شوند. سپس محلول دناچوره شده در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خنک شده و گلیسرول به عنوان عامل پلاستی سایزر به نسبت ۱ به ۱ میزان ماده پروتئینی به محلول پوشش‌دهی افزوده شد.

برای بررسی میزان اثر مهاری عصاره آویشن شیرازی در مغز پسته تیمارهایی از امولسیون پوشش و ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ ppm عصاره (غلظت ۴۸ درصد) تهیه نموده و پسته‌هایی که به مدت یک شبانه روز توسط اشعه UV سترون شده بودند را پس از بررسی سترون بودن آن‌ها، به مدت ۳۰ ثانیه در این محلول‌های پوشش‌دهی غوطه‌ور نموده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در آون ۶۰ درجه به منظور تشکیل پوشش بر سطح مغز پسته خشک نمودیم (شکل شماره ۲). به عنوان شاهد ۲ گروه انتخاب شدند. گروه اول، مغز پسته‌هایی که هیچ‌گونه تیماری روی آن‌ها انجام نشده بود. گروه دوم شامل پسته‌هایی بوده که پوشش دیده اما در پوشش آن‌ها هیچ‌گونه عصاره‌ای افزوده نشد. مغز پسته‌های گروه تیمار و شاهد در داخل پلیت‌های سترون به صورت تک لایه قرار گرفته تا کل پلیت با مغز پسته در یک ردیف پر شود (شکل شماره ۳). در داخل تمامی پلیت‌ها، دیسکی (با قطر ۵ میلی‌متر) از محیط کشت ۹ روزه سابورود دکستروز آگار حاوی آسپرژیلوس فلاووس در وسط پلیت‌ها بر روی یک پسته (شکل شماره ۳) قرار داده شد. هر کدام از پلیت‌ها در داخل کیسه‌های پلاستیکی (زیپ کیپ) با میزان رطوبت نسبی ۷۵ درصد قرار گرفتند (شکل شماره ۲). این میزان رطوبت نسبی توسط نمک اشباع طعام ایجاد شد. میزان گسترش میسلیای قارچی در وسط پلیت‌ها از طریق اندازه‌گیری شعاع در دو جهت ۹۰ درجه به عنوان شاخص رشد تعیین شد.

آنالیز آماری داده‌ها

برای هر کدام از تیمارها (مقادیر مختلف اسانس) و شاهد سه تکرار لحاظ شد. معنی‌دار بودن کارایی عصاره آویشن شیرازی بر اساس میزان مهار رشد محیط قارچی با به کارگیری از آنالیز واریانس یک طرفه[1] در هر دو سطح ۱ و ۵ درصد

[1] Inhibition zone

[1] One way ANNOVA

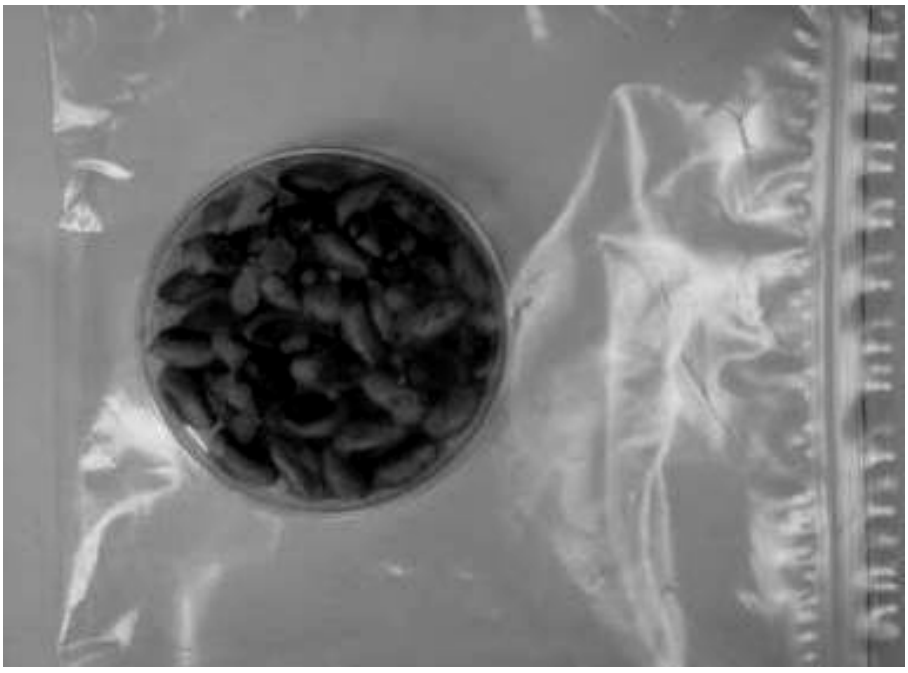
[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]

تعیین شد. میانگین‌ها با به کارگیری از آزمون Duncan's multiple range میانگین‌ها با کمک از نرم‌افزار SAS مقایسه شدند.

نتایج

ترکیبات عمده شیمیایی تشکیل‌دهنده عصاره روغنی آویشن شیرازی در جدول شماره ۱ ذکر شده است. در آزمون بررسی تعیین فعالیت مهاری عصاره الکلی آویشن شیرازی میزان مهار رشد در غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ٤ و ٥ درصد عصاره در دیسک حاصل از فیلم پروتئین آب پنیر به ترتیب ۱۱، ۱۳، ۱۸، ۲۳ و ۲۷ میلی‌متر بود. این میزان مهار رشد در گروه کنترل که فیلم‌های بدون عصاره را شامل می‌شد، صفر میلی‌متر بود. حداقل غلظت مهاری برای عصاره آویشن شیرازی بر روی آسپرژیلوس فلاووس ۹۰ ppm از غلظت ۳۰ درصد عصاره تعیین شد. نتایج حاصل از این مرحله نشان داد که عصاره‌های الکلی گیاهان آویشن شیرازی به خوبی باعث مهار رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس در محیط کشت شدند.

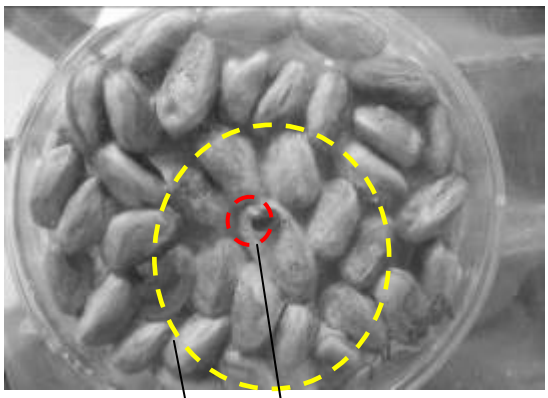
جدول شماره ۲ میزان گسترش عصاره از دیسک به محیط کشت حاوی آسپرژیلوس فلاووس را براساس میلی‌متر بر روی مغز پسته‌ها نشان می‌دهد. در پسته‌هایی که به عنوان گروه کنترل هیچ گونه تیماری (عدم پوشش‌دهی و عدم وجود عصاره) بر روی آن‌ها اعمال نشده است، میسلیای قارچ آسپرژیلوس فلاووس پس از ۲ روز تمام سطح پلیت‌های حاوی مغز پسته را پوشاند. در گروه پوشش دیده (بدون عصاره) نیز میسلیای قارچ به طورکامل سطح پلیت را فراگرفت. در گروه‌های پوشش دیده با مقادیر ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm عصاره نیز تا پایان روز سوم محدودیت رشد (جدول شماره ۲) را شاهد بودیم. در مقادیر ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ ppm به ترتیب تا پایان روز چهارم و ششم این محدودیت رشد مشاهده شد. در مقدار ۲۵۰۰ ppm هیچ‌گونه رشدی با ۳ تکرار مشاهده نشد.



شکل شماره ۲- طرح بسته‌بندی جهت بررسی اثرات ضدقارچی عصاره آویشن شیرازی در مغز پسته سترون پوشش دیده با پوشش‌های حاوی عصاره در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]



شکل شماره ۳- میزان رشد میسلیای آسپرژیلوس فلاووس (محدوده بیضی زرد رنگ) بر روی مغز پسته‌های پوشش دیده با پروتئین آب پنیر حاوی عصاره آویشن شیرازی، تلقیح شده با (دایره قرمز به قطر ۱۰ میلی‌متر) کشت ۹ روزه آسپرژیلوس فلاووس

جدول شماره ۱- درصد ترکیبات عمده شیمیایی تشکیل دهنده عصاره الکلی آویشن شیرازی

ترکیب	درصد
Thymol	۲۵/۳۲۲۰
α-Pinene	۳/۸۳۴۳
Paracine	۱۱/۳۱۲۵
Linalool	۱۱/۹۵۷۰
Carvacrol	۷/۹۷۵۱

جدول شماره ۲- میزان پیشرفت و گسترش میسلیای آسپرژیلوس فلاووس موجود در دیسک (۵ میلی‌متری) محیط کشت ۹ روزه برحسب میلی‌متر بر روی مغز پسته‌های پوشش ندیده، پوشش دیده با پروتئین آب پنیر بدون افزودن عصاره و حاوی مقادیر مختلف عصاره روغنی آویشن شیرازی در پلیت‌های سترون حاوی یک لایه از مغز پسته در مدت ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

مدت گرمخانه گذاری (روز)	مغز پسته پوشش ندیده	مغز پسته پوشش دیده بدون عصاره	مغز پسته پوشش دیده با مقادیر مختلف عصاره (ppm)					
			۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۵۰۰۰	۲۰۰۰	۲۵۰۰
۱	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
۲	۰/۰	۳۷/۵	۱۹/۵	۱۲/۵	۱۶/۵	۱۰	۸/۵	۰/۰
۳	۱۰۰	۱۰۰	۸۵	۷۵	۶۵	۵۵	۲۹	۰/۰
۴	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۰	۵۵	۰/۰
۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۶۵	۰/۰
۶	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۷۰	۰/۰
۷	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰/۰

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که پوشش‌های حاصل از پروتئین آب پنیر بر روی مغز پسته سترون حاوی عصاره الکلی آویشن شیرازی به طور معنی‌داری ($p<0/01$) باعث جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر روی خود در رطوبت نسبی ۷۵ درصد شدند. آنالیز آماری نشان داد که تاثیر این عصاره با توجه به افزایش غلظت عصاره در ترکیب پوشش بر روی مغز پسته و مدت زمان تلقیح معنی‌دار بوده است. تنها بالاترین غلظت به کار رفته عصاره در ترکیب پوشش (۲۵۰۰ ppm) توانایی فعالیت مهار رشد قارچ آسپرژیلوس را تا ۷ روز دارا بود. Thanaboripat و همکاران (۲۰۰٤) نشان دادند که رشد آسپرژیلوس فلاووس در غلظت ۱ درصد اسانس روغنی سنبل هندی[1] تنها به مدت ۳ روز مهار شد [۲۰]. Bluma و Etcheverry در سال ۲۰۰۷ میزان ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ میکروگرم در گرم از عصاره‌های Boldus، Poleo ، میخک[2] و بادیان رومی[3] را برای کاهش رشد آسپرژیلوس فلاووس در دانه‌های سترون ذرت کافی دانستند [۲۱]. مطالعه کارین[4] و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی مهار رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس در نان گندم و چاودار با استفاده از اسانس روغنی فرار خردل نشان داد، این قارچ نسبت به این اسانس بیشترین مقاومت را در شرایط اتمسفر معمولی دارا می‌باشد [۲۲].

پاستر[5] و همکاران در سال ۱۹۹۵ اثرات ضدقارچی اسانس روغنی پونه کوهی را بر روی قارچ‌های جنس آسپرژیلوس بررسی نموده و نتایج یافته‌های آن‌ها نشان داد که غلظت‌های ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر اسانس بر روی میسلیوم و هاگ‌های آسپرژیلوس نایجر، فلاووس و اوکراسئوس اثر مهاری دارد [۲۳]. سُلیمن[6] و بادا[7] در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که اسانس روغنی بادیان رومی به طورکامل از رشد آسپرژیلوس فلاووس در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جلوگیری می‌نماید [۲٤]. اسانس روغنی زیره سیاه[1] و رازیانه[2] در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم این تاثیر را داشته‌اند. پاراناگاما[3] و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که اسانس روغنی گیاه علف لیمو[4] به ترتیب در غلظت‌های ۰/٦ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در محیط کشت مایع اثر مهاری و کشندگی بر روی آسپرژیلوس فلاووس دارد. تولید آفلاتوکسین نیز به طور کامل در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مهار شد [۲۵]. سِیدیم[5] و ساریکیس[6] در سال ۲۰۰٦ اثرات ضدمیکربی فیلم‌های تهیه شده از آب پنیر حاوی عصاره‌های روغنی پونه[7]، اکلیل کوهی[8] و سیر را بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این تحقیقات نشان داد که فیلم‌های حاوی عصاره‌های این ادویه باعث ایجاد ویژگی ضدمیکربی در این فیلم‌ها می‌گردد [۱۲].

Viuda-Martos و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که اسانس آویشن[9] باعث کاهش رشد میسلیای آسپرژیلوس فلاووس در مقادیر ۲، ٤ و ٦ میلی‌لیتر و هم‌چنین مهار رشد در ۸ میلی‌لیتر می‌شود [۲٦]. تحقیقات امیدبیگی و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز نشان داد که عصاره‌های روغنی آویشن، میخک و مرزه[10] توانایی مهار رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس را در محیط کشت مایع و خمیر گوجه فرنگی داشته و عصاره روغنی آویشن و مرزه قوی‌ترین اثر مهاری را به ترتیب با ۳۵۰ و ۵۰۰ ppm غلظت نشان دادند. هم‌چنین درصد مهار رشد در خمیر گوجه فرنگی نسبت به محیط مایع برای هر کدام از عصاره‌ها کمتر بود [۲۷].

هم‌چنان که نتایج نشان داد مقدار موردنیاز عصاره آویشن شیرازی جهت مهار رشد آسپرژیلوس فلاووس در شرایط آزمایشگاهی نسبت به مدل غذایی بسیار کمتر بوده است (مقدار ۲۵۰۰ در مقابل ۹۰ ppm میزان حداقل غلظت مهاری). هُپ [11] و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند غلظت تاثیر

[1] Citronella
[2] Clove
[3] Anise
[4] Karin
[5] Paster
[6] Soliman
[7] Badeaa

[1] Caraway
[2] Fennel
[3] Paranagama
[4] Lemon grass plant
[5] Seydim
[6] Sarikis
[7] Oregano
[8] Rosemary
[9] Thyme
[10] Summer savory
[11] Hope

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]

اسانس‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی بر روی قارچ‌ها در شرایط مدل غذایی یکسان نمی‌باشد. به عنوان مثال این محققین دریافتند که در حالی‌که غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در گرم اسانس‌های روغنی در شرایط آزمایشگاهی بر روی فوزاریوم کولموروم[1] موثر هستند، اما در روی دانه گندم مقادیر بسیار بیشتری (۵۰۰ میکروگرم در گرم) آن‌ها مورد نیاز می‌باشد [۲۸].

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که پوشش‌های حاصل از پروتئین آب پنیر حاوی مواد ضدمیکروبی طبیعی، توانایی جلوگیری از آلودگی و رشد ثانویه قارچ‌ها را بر روی سطح مغز پسته خواهند داشت. علاوه بر این چنین پوشش‌هایی می‌توانند از تغییرات انبار مانی مغزهای خوراکی همانند کاهش وزن، فساد اکسیداتیو و جذب رطوبت کاسته [۹]، منجر به افزایش ماندگاری و سلامت مغزهای خوراکی در طی مدت زمان ذخیره‌سازی شوند. افزایش میزان عصاره الکلی در ترکیب فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر باعث افزایش میزان مهار رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر روی محیط کشت شد. این میزان مهار نسبت به عدم مهار رشد در گروه شاهد یعنی فیلم‌های بدون هرگونه عصاره کاملاً معنی‌دار بود ($p<0/01$). پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده باید بر روی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی مختلف همراه با انواع فیلم‌های زیستی[2] انجام پذیرد.

تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مالی شورای پژوهش‌های علمی کشور (توتک) و با همکاری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران در پژوهشکده کشاورزی انجام گرفته است. از سرکار خانم دکتر لیلا گلستان و مهندس روژین آهنگری به خاطر همکاری‌شان در مراحل تهیه فیلم و جناب آقای دکتر علیرضا بصیری به جهت در اختیار قرار دادن برخی از امکانات آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Kashaninejad M, Mortazavi A, Safekordi A, and Tabil LG. Some physical properties of pistachio (*Pistacia vera* L.) Nut and its kernel. *J. of Food engineering* 2006; 72: 30 - 8.

2. Tavakkolipour H. Effects of Processing conditions on Pistachio Drying and its shelflife, PhD Thesis in Food Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch. 1379: 8 - 31 & 37 - 8.

3. FAO. Statistical database. Available from http://www.fao.org. Access in 2007.

4. Rahimi P, Sharifnabi B and Bahar M. Detection of Aflatoxin in *Aspergillus Species* Isolated from Pistachio in Iran. *J. of Phytopathol.* 2008; 156: 15 - 20.

5. Yu J, Chang PK, Ehrlich KC, Cary JW, Bhatnagar D, Cleveland TE, Payne GA, Linz JE, Woloshuk CP and Bennett W. Clustered pathway genes in aflatoxin biosynthesis. *Applied Environmental Microbiol.* 2004; 70: 1253 - 62.

6. Ersahad D. Fungi of Iran. Ministry of Agriculture, Agricultural Research, Education and Extension Organization. 1995, pp: 868 - 9.

7. Mojtahedi H, Rabie CJ, Lubben A, Steyn M and Danesh D. Toxic aspergilli from pistachio nuts. *Mycopathologia*. 1979; 67: 123 – 7.

8. Denizel T, Jarvis B and Rolfe EJ. A field survey of pistachio (*Pistacia vera* L.) nut production and storage in Turkey with particular reference to aflatoxin contamination. *J. of the Sci. Food Agriculture* 1976; 27: 1021 - 6.

9. Doster MA and Michailides TJ. Aspergillus molds and aflatoxin in pistachio nuts in California. *Phytopathol*. 1994; 84: 583 - 90.

10. Tharanathan R N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]

Trends in Food Science Technol. 2003; 14: 71 – 8.

11. Krochta, JM. Film edible. In: Brody AL, March KS, editors. The Wiley encyclopedia of packaging technology. New York: John Wiley & Sons Inc. 1997, pp: 397 - 401.

12. Seydim AC and Sarkis G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res. International.* 2006; 39 (5): 639 - 44.

13. Ali M, Saleem M, Ali Z and Ahmad VU. Chemistry of *Zataria multiflora* (Laminaceae). *Phytochem.* 2000; 55: 933 - 6.

14. Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Chinou IB, Mitakou S, Gikas E, and Tsarbopoulos A. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of Wave taxa of Sideritis from Greece. *J. of Agricultural and Food Chem.* 2001; 49: 811 – 5.

15. Thompson DP. Fungi toxic activity of essential oil components on food storage fungi. *Mycologia.* 1989; 81: 151 – 3.

16. Rasooli I, Rezaei MB, Allameh A. Inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from Thymus eriocalyx and Thymus x-porlock. *Food Control* 2006; 17: 359 – 4.

17. Durling NE, Catchpole OJ, Grey JB, Webby RF, Mitchell KA, Foo LY, and Perry NB. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol – water mixtures. *Food Chem.* 2007; 101: 1417 - 24.

18. Shaw NB, Monahan FJ, O'Riordan ED and O'Sullivan M. Effect of soya oil and glycerol on physical properties of composite WPI films. *J. of Food Engineering* 2002; 51 (4): 299 - 304.

19. Javanmard M. Shelf life of whey protein-coated pistachio kernel (*Pistacia vera* L.). *Journal of Food Process Engineering*. 2008; 31: 247 - 59.

20. Thanaboripat D, Mongkontanawur N, Suvathi Y and Ruangrattanamatee V. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by citronella oil. *KMITL Sci. J*. 2004; 4 (1): 1 - 16.

21. Bluma RV and Etcheverry MG. Application of essential oils in maize grain: Impact on Aspergillus section Flavi growth parameters and aflatoxin accumulation. *Food Microbiol*. 2007; 25 (2): 324 - 34.

22. Karin I S and Nielsen P V. Inhibition of fungal growth on wheat and rye bread by modified atmosphere packaging and active packaging using volatile mustard essential oil. *J. of Food Sci*. 2005; 70 (1): 37 - 47.

23. Paster N, Menasherov M, Ravid U and Juven B. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *J. of Food Protection* 1995; 58**:** 81 – 5.

24. Soliman KM and Badeaa RI. Effect of oil extracts from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol*. 2002; 40: 1669 – 75.

25. Paranagama PA, Abeysekera KHT, Abeywickrama K and Nugaliyadd L. Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. isolated from stored rice, *Letters in Applied Microbiol.* 2003; 37: 86 – 90.

26. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J and Perez-Álvarez JA. Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. *J. of Food Safety* 2007; 27 (1): 91 – 101.

27. Omidbeygi M. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste, *Food Control* 2007; 18: 1518 - 23.

28. Hope R, Jestoi M and Magan N. Multitarget environmental approach for control of growth and toxin production by *Fusarium culmorum* using essential oil and antioxidant. In: Advances in Stored Product Protection. Proceedings of 8th International Working conference on Stored Product Protection (IWCSPP). (Eds P.F., Credland, D.M. Armitage, C.H. Bell, P.M. Cogan and E. Highley). York CABI publishing. 2002, pp: 486 - 92.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-10-06]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.30.7.0]