فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد۱۴- شماره ۲- تابستان۱۳۹۸

مقاله تحقیقی

اثر مهاری آب ازنه در مرحله نم زنی گندم بر کاهش میزان رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس

متین محمدی کوچصفهانی [*۱]، محمود علی محمدی [۱]، غلامرضا جاهد خانیکی [۱]، رامین نبی زاده نودهی [۱]، زینب آقا محسنی [۱]، مریم موذنی [۱]، ساسان رضایی [۲]

۱. گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*مسئول مکاتبات: آدرس الکترونیکی: mohamadi.matin@gmail.com

محل انجام تحقیق: گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت:۹۹/۵/۲۹ تاریخ پذیرش:۹۹/۷/۶

چکیده

فساد قارچی مواد غذایی سالانه موجب زیان‌های اقتصادی فراوان می‌شود. گندم ازمهمترین غلات مورداستفاده در ایران و حساس به آلودگی با قارچها می باشد. از جمله این قارچ ها آسپرژیلوس پارازیتیکوس است که باعث کاهش کیفیت مواد غذایی شده و با تولیدآفلاتوکسین صدماتی را به سلامت فرد وارد می‌کند. ازن ضدعفونی‌کننده‌ای قوی بوده و به‌سرعت به اکسیژن مولکولی تبدیل شده و باقیمانده‌ای برجای نمی‌گذارد. هدف از انجام این مطالعه، استفاده از آب ازنه به عنوان یک ضدعفونی-کننده ایمن در کاهش آلودگی گندم با قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشد. جهت بررسی تاثیر آب ازنه بر رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس، سوسپانسیون قارچ با غلظت‌های ۱۰، $۱۰^{۲}$، $۱۰^{۴}$ اسپور به ازای هرگرم گندم به نمونه‌ها تلقیح گردید و به‌مدت ۱۰ روز در دمای $۲۵-۳۰^{\circ}c$ گرمخانه‌گذاری شدند. پس از نم‌زنی نمونه‌های آلوده با آب ازنه با غلظت های ۰ ، ۱، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر مجددا به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳ دمای ۲۰< ، ۲۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس از روش توزین میسیلیوم‌های قارچی پس از خشک کردن آن‌ها استفاده شد. نتایج با نرم‌افزار SPSS20 تجزیه و تحلیل شد. نتایج نشان داد آب ازنه می‌تواند رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس را به روش وابسته به غلظت، به طور معنی‌داری ($p<0.001$) کاهش دهد. استفاده ازآب ازنه در مرحله نم‌زنی گندم به طور موثری می‌تواند باعث کاهش رشد قارچی شود.

واژه های کلیدی: گندم، آب ازنه، مشروط کردن، آسپرژیلوس پارازیتیکوس

مقدمه

آلودگی مواد غذایی و خوراک دام به قارچها غیرقابل اجتناب و مشکلی بزرگ در سراسر جهان بوده است (۱)، اما در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری حادتر است (۲) و یکی از مهمترین مسایلی است که سلامت مواد غذایی را به خطر می‌اندازد (۳)، به طوری‌که میزان این ضایعات مواد غذایی را ۱۰-۵ درصد تخمین زده‌اند (۴). این قارچها باعث کاهش کیفیت محصولات غذایی شده و بعضی گونه-های آن با تولید مایکوتوکسین‌ها صدماتی را به سلامت جامعه وارد می‌کنند (۵). از بین مایکوتوکسین‌ها آفلاتوکسین B_1 سمی‌ترین بوده و آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان آن را در گروه ۱ مواد سرطان‌زا دسته-بندی کرده است (۶). گندم از مهمترین غلات مورد استفاده در ایران بوده که بسیار حساس به آلودگی با قارچها از جمله قارچهای مولد آفلاتوکسین می‌باشد. آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس از جمله

مهمترین قارچ‌های تولید کننده آفلاتوکسین هستند (۷). آسپرژیلوس فلاوس آفلاتوکسین B_1 و B_2 تولید می‌کند، در حالی که آسپرژیلوس پارازیتیکوس آفلاتوکسین G_1، B_2، B_1 و G_2 تولید می‌کند (۸). ازن ضدعفونی‌کننده قوی و عاملی اکسیدکننده بوده (۹) و از سال ۱۹۹۷ به عنوان ماده (Generally Recognized as Safe, GRAS) شناخته شده است. این ترکیب به صورت محلول و گازی موثر بوده (۱۰) و به سرعت به اکسیژن مولکولی تبدیل شده، بدون این که باقیمانده‌ای برجای بگذارد (۱۱). ازن بر دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، قارچ‌ها و ویروس‌ها و همین طور اسپورها و سلول‌های رویشی موثر است (۱۲). هدف اصلی از کاربرد ازن در مرحله پس از برداشت عبارتست از غیرفعال کردن رشد باکتریایی، جلوگیری از فساد قارچی، تخریب آفت‌کش‌ها و باقیمانده‌های شیمیایی، کنترل حشرات و حیوانات موذی در طی نگهداری (انبارش) و کاهش آفلاتوکسین در محصولات کشاورزی (۱۴-۱۳). کاربرد ازن در دوزهایی که برای رفع آلودگی دانه‌ها موثر باشد، ممکن است اثرات مختلفی بر صفات کیفی آن‌ها بگذارد. استفاده از ازن در همه موارد مطلوب و سودمند نبوده و در بعضی موارد در اثر استفاده از دوزهای بالای آن ممکن است اکسیداسیون سطحی، رنگ‌بری یا افزایش بوی نامطبوع اتفاق بیفتد. Mednez و همکاران (۲۰۰۳) کاهش رنگ سبوس برنج و بوی سرکه مانند را در تیمار ۳۰ دقیقه‌ای با غلظت 50ppm نسبت به نمونه‌های کنترل مشاهده نمودند. گزارشات نشان داده که ازن در محلول‌های آبی باعث دگرگونی اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب می‌شود که از طریق اکسیداسیون گروه سولفیدریل اسیدهای آمینه و اکسیداسیون اسیدهای چرب پلی غیراشباع به پراکسیدها این اتفاق صورت می‌پذیرد. البته Mednez و همکاران (۲۰۰۳) هیچ تغییر قابل‌ملاحظه‌ای را در اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب گندم، دانه سویا و ذرت ازنه شده در مقایسه با نمونه‌های کنترل مشاهده نکردند که احتمالا به دلیل عدم نفوذ ازن به داخل مغز دانه می‌باشد. آن‌ها همچنین دریافتند که تیمار طولانی‌مدت دانه‌های خوراکی مزبور تاثیری بر کیفیت تغذیه‌ای و خصوصیات فرایندی و کیفیت پخت آن‌ها ندارد. گزارش Prudent و King (۲۰۰۲) نیز بیانگر عدم تغییر قابل‌ملاحظه در اسیدهای چرب آزاد ذرت ازنه شده بود. انبارش دانه‌ها در اتمسفر غنی از ازن تاثیری بر خصوصیات رئولوژیکی دانه‌ها ندارد. برای مثال در بررسی که Mednezو همکاران (۲۰۰۳) بر کارایی ازن در کنترل حشرات در انبارهای برنج و گندم انجام دادند، دریافتند که تیمار ازن تغییر قابل‌ملاحظه‌ای در خصوصیات پخت نان گندم سخت (تولرانس مخلوط‌کردن زیاد خمیر، جذب آب، وزن خمیر و زمان تخمیر) ایجاد نمی‌کند. استفاده از آب ازنه در مرحله نم‌زنی گندم بر خصوصیات کیفی گندم از جمله خصوصیات آسیابانی (درجه استخراج)، رئولوژیکی (فارینوگراف، اکستنسوگراف)، شیمیایی (پروتئین، فالینگ نامبر، سدیمانتاسیون، رنگ) تاثیر قابل‌ملاحظه‌ای نداشت (۱۵). عمل نم‌زنی یا مشروط کردن در درجه اول برای بهبود ویژگی‌های فیزیکی دانه هنگام آسیاب کردن و سهولت جدا شدن پوسته از آندوسپرم صورت می‌گیرد که لایه خارجی آن ترد و شکننده است و لایه داخلی محکم و چسبیده به آندوسپرم، اما همزمان با این کار، ویژگی‌های پخت محصول هم بهبود می‌یابد (۱۶). مشروط کردن در اصل عبارت است از تعدیل مقدار رطوبت و پخش یکنواخت آن در تمام دانه های محصول. با توجه به مشکلاتی که مصرف مواد غذایی آلوده برای انسان و حیوان ایجاد می‌نماید و نیز مصرف بالای فرآورده‌های حاصل از گندم در سبد خانوار مردم کشورمان و نیاز به واردات گندم برای برطرف کردن آن، جلوگیری از ضایعات این کالای استراتژیک بدلیل آلودگی به قارچها و سموم قارچی از اهمیت بسزایی برخوردار است. با توجه به مشکلاتی که در سال‌های اخیر برای واردات کالاها از جمله گندم بوجود آمده استفاده از روش‌هایی برای حذف سموم قارچی گندم‌های آلوده، بسیار مورد توجه است. از بین روش‌های مختلف استفاده از ازن بدلیل اینکه هیچ باقیمانده‌ای بجای نگذاشته و به سرعت به اکسیژن تبدیل شده و سلامت انسان را بخطر نمی‌اندازد و نیز عدم تاثیر منفی برکیفیت گندم بسیار باارزش به نظر می‌رسد. هدف از انجام این مطالعه، استفاده از آب ازنه به عنوان یک ضدعفونی کننده ایمن در کاهش آلودگی گندم با قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشد.

مواد و روش ها

طرح آزمایشی

برای بررسی میزان رشد قارچی، آزمایش به صورت طرح آماری فاکتوریل به صورت کاملا تصادفی با ۳ متغیر غلظت آب ازنه، دمای گرمخانه‌گذاری بعد از نم‌زنی و غلظت سوسپانسیون اسپور آسپرژیلوس پارازیتیکوس با درنظر گرفتن ۳ تکرار طراحی شد. سطوح مختلف غلظت آب ازنه ۰، ۱، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر، دمای گرمخانه-گذاری ۲۰>، ۲۵ و۴۰ درجه سانتی‌گراد در ۳ غلظت ۱۰، 10^{2} و 10^{4} اسپور در میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ در نظر گرفته شد.

تهیه کشت تازه آسپرژیلوس پارازیتیکوس

ابتدا سویه استاندارد آسپرژیلوس پارازیتیکوس توکسین‌زا (ATCC 15517) در زیر هود در شرایط کاملا استریل و درکنار شعله گاز ددر محیط کشت سابورودکستروز آگار (SDA) بصورت نشاکاری کشت داده شد و در دمای مناسب (۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد) و به مدت ۵-۳ روز گرمخانه‌گذاری (انکوباسیون) شدند.

تهیه سوسپانسیون اسپور آسپرژیلوس پارازیتیکوس

پس از تهیه کشت تازه آسپرژیلوس پارازیتیکوس در محیط کشت سابورو دکستروز آگار زیر هود در شرایط استریل در کنار شعله توسط انس استریل، اسپورها از سطح توده میسیلیومی جمع‌آوری شده و وارد لوله آزمایش در پیچ‌دار حاوی آب مقطر استریل و ۰/۰۵ توین ۲۰ شدند. پس از همگن کردن با استفاده از لام نئوبار میزان اسپورها را شمارش نموده (۱۰، 10^{2}، 10^{4}) و حجم لازم از سوسپاسیون تهیه شده برای تلقیح به نمونه ها محاسبه گردید (۱۷).

تلقیح اسپور آسپرژیلوس پارازیتیکوس به نمونه‌ها

قبل از تلقیح، نمونه‌های گندم بطور دستی کاملا تمیز شده و مواد خارجی و ناخاصی‌هایی مثل سنگ، تخم علف-های هرز، دانه‌های سایر غلات کاملا جداسازی شد. سپس به منظور اندازه‌گیری میزان رشد قارچ ۵ گرم از گندم کاملا تمیز در لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری توزین و برای اطمینان از عدم آلودگی، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. پس از مراحل ذکر شده غلظت‌های ۱۰، 10^{2} و 10^{4} اسپور به ازای هر گرم گندم به هر سری از نمونه‌ها تلقیح گردید و نمونه‌های آلوده شده به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری میزان رشد قارچی گرمخانه-گذاری شدند.

ازنیزاسیون آب

برای ازنیزاسیون آب مقطر استریل از ژنراتور ازن مدل (COG-1A Model 6-5-11015 ARDA, France) استفاده شد. ظرفیت اسمی و واقعی دستگاه به ترتیب ۵ و ۰/۸گرم بر ساعت ازن بوده و منبع تغذیه آن هوای اتمسفر بود که قبل از ورود به ژنراتور ازن از دستگاه خالص‌ساز عبور می‌کرد. برای دست‌یابی به غلظت‌های بالاتر ازن، ظرف حاوی آب مقطر در مخلوط آب و یخ قرار گرفت، چون با کاهش دما حلالیت ازن در آب افزایش می‌یابد (۱۸). برای جلوگیری از ورود ازن اضافی به فضای محیط، خروجی ظرف محتوی آب ازنه به ظرف حاوی یدید پتاسیم ۲۰٪ متصل شد. یدید پتاسیم به عنوان جاذب ازن عمل می‌کند و در ترکیب با ازن از بی‌رنگ به قهوه‌ای تغییر رنگ می‌دهد (۱۹). پس از اتمام ازنیزاسیون ابتدا غلظت آب ازنه با دستگاه اسپکتروفتومتر و با روش ایندیگو اندازه‌گیری گردید (۱۸، ۲۲-۲۰). ازن بسیار ناپایدار بوده و نیمه عمر آن ۴۰-۳۰ دقیقه است (۱۵)، به همین دلیل پس از ازنیزاسیون، آب ازنه به سرعت به نمونه‌ها اضافه گردید.

نم‌زنی (مشروط کردن)

پس از تعیین غلظت آب ازنه شده برای دست‌یابی به غلظت‌های مورد نیاز عمل رقیق‌سازی انجام پذیرفت. پس از تهیه رقت‌های لازم، نمونه‌های گندم آلوده به اسپور قارچ با آب ازنه کاملا مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه به روش دستی هم زده شد (۱۵). سپس، برای بررسی تاثیر دماهای مختلف فالکون‌ها ۳ قسمت شده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳ دمای ۲۰>، ۲۵ و۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اطمینان از عدم آلودگی برای هر سری آزمایش، نمونه کنترل منفی در نظر گرفته شد. مقدار آب لازم برای مشروط کردن بر طبق مقدار رطوبت اولیه گندم‌ها محاسبه شد (۱۵).

آزمون کشت قارچ

در شرایط استریل به هر نمونه ۵ گرمی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت استریل سابورودکستروز براث اضافه گردید و کاملا با ورتکس (هم‌زن گردابی) مخلوط گردید. سپس، مایع رویی حاوی اسپور قارچ در شرایط استریل به پتری-دیش‌های استریل انتقال یافت و به مدت ۵ روز در دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. پس از آن محتویات هر پتری دیش از کاغذ صافی عبور داده شد و میسیلیوم‌های باقیمانده روی صافی پس از خشک شدن توزین گردید (۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ و انجام آزمون‌های آنالیز واریانس چندمتغیره انجام گرفت ($p<0.05$). سپس، اختلاف میانگین داده‌ها توسط آزمون توکی با سطح احتمال خطا ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

تاثیر آب ازنه بر رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس

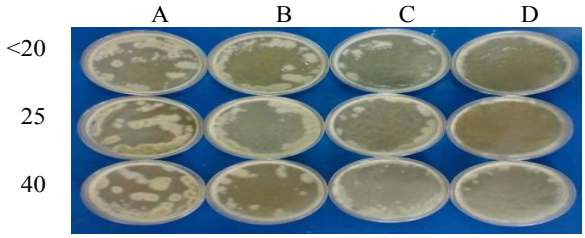
نتایج نشان داد که نم‌زنی نمونه‌های گندم با آب ازنه باعث کاهش رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس شده که از نظر آماری میزان رشد کمتر از نمونه‌های کنترل تیمار نشده بود، همچنین غلظت سوسپانسیون اسپور آسپرژیلوس پارازیتیکوس، دمای گرمخانه‌گذاری بعد از مرحله نم‌زنی نیز بر میزان رشد قارچ اثر معنی‌دار داشت. به عبارت دیگر تغییر سطوح متغیرهای مستقل (غلظت قارچ و غلظت آب ازنه و دمای گرمخانه‌گذاری بعد از مرحله نم‌زنی) باعث تغییرات معنی‌دار (که ناشی از تغییرات تصادفی نبود) در متغیر وابسته (وزن میسیلیوم قارچ) گردید. علاوه بر آن، آزمون توکی بیانگر تفاوت معنی‌دار بین هر یک از سطوح غلظت آب ازنه نیز بود ($p<0.01$) (جدول ۱). یعنی استفاده از غلظت‌های مختلف آب ازنه روی متغیر وابسته (وزن میسیلیوم قارچ) اثر معنی‌دار داشت. همچنین، غلظت‌های مختلف اسپور قارچ نیز بر وزن میسیلیوم قارچ تاثیر معنی‌دار داشت. استفاده از آب ازنه در مرحله نم‌زنی گندم رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس را محدود کرد و با افزایش غلظت آب ازنه روند کاهشی رشد محسوس‌تر بود. به طوری که در همه غلظت‌های اسپور تلقیح شده و دماهای مختلف گرمخانه-گذاری بیشترین مهار رشد قارچی در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر آب ازنه اتفاق افتاد.

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف آب ازنه (o_3) روی رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس در دماها (T) و غلظت‌های مختلف اسپور قارچ (C).

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات خطا	میانگین مربعات	آماره آزمون	Pr>F
آب ازنه (O_3)	۳	./۰۰۴۴	۰/۰۰۱۵	۲۵۶/۱۵۳	< ./۰۰۱
غلظت اسپور (C)	۲	۰/۰۵۶۴	۰/۰۲۸۲	۴۵۶۲/۷۷۱	< ./۰۰۱
دمای گرمخانه گذاری(T)	۲	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۲	۳۲/۵۰۱	< ./۰۰۱

بررسی ماکروسکوپی قارچ تحت تاثیر غلظت‌های مختلف آب ازنه و دمای گرمخانه‌گذاری بعد نم‌زنی در محیط کشت سابورو دکستروز براث

بررسی ماکروسکوپی پتری‌دیش‌ها نشان داد که با افزایش غلظت آب ازنه میزان رشد قارچ نیز کاهش می-یابد. به طوری که در پتری دیش D (تصویر ۱) که حاوی نمونه ازنه شده با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر بود، میزان میسیلیوم قارچی بسیار کم و به صورت یک نوار باریک در جدار پتری‌دیش بود، ولی در نمونه A که نمونه کنترل مثبت بود، قارچ به خوبی رشد کرد (تصویر ۱).



تصویر ۱- اثر آب ازنه و دما روی رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس. A غلظت ۰ آب ازنه(کنترل) ، B غلظت ۱، C غلظت ۲ و D غلظت ۲.۵ میلی گرم در لیتر آب ازنه. دماهای مختلف گرمخانه گذاری ۲۰>، ۲۵ و ۴۰ درجه سانتیگراد

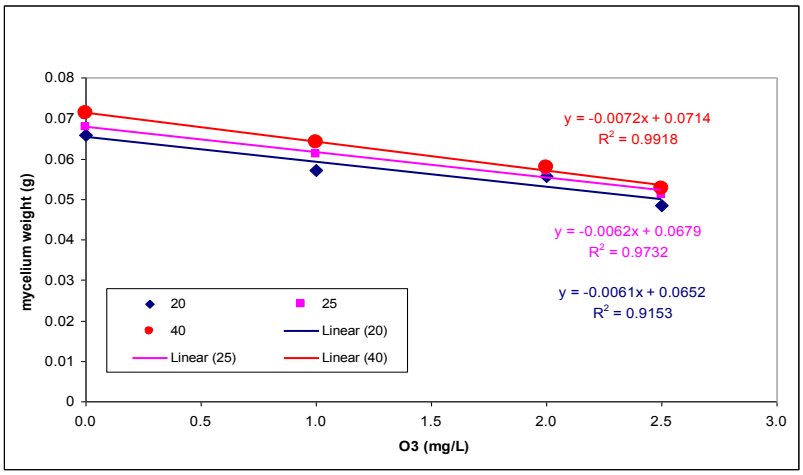
با کاهش غلظت آب ازنه میزان رشد قارچی افزایش یافت و از نمونه D به A روند افزایشی در رشد قارچ مشاهده گردید. مقایسه نمونه‌های ازنه شده با نمونه کنترل مثبت توانایی آب ازنه را در مهار رشد قارچ اثبات نمود. همچنین، عدم رشد قارچ در کنترل منفی بیانگر عدم آلودگی ثانویه در طی مراحل آزمایش بود.

تاثیر دمای گرمخانه‌گذاری بعد مرحله نمزنی بر رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس

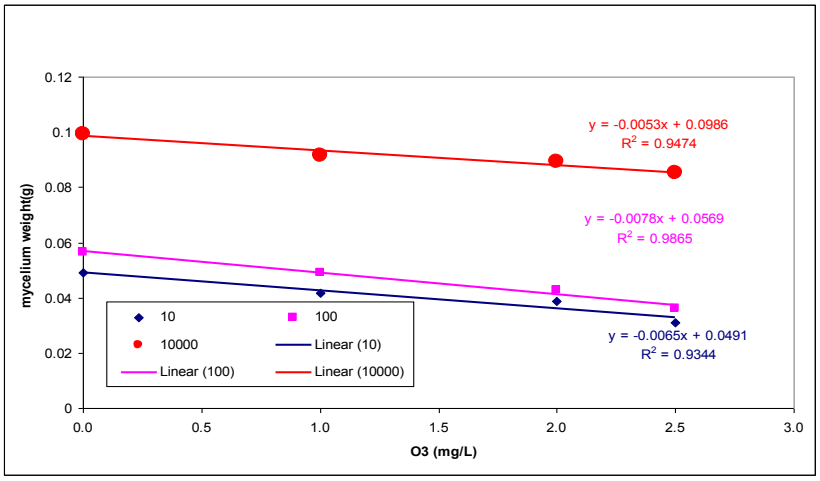
دمای گرمخانه‌گذاری بعد از مرحله نمزنی تاثیر معنی‌داری بر رشد قارچی داشت و بیشترین رشد قارچی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و کمترین رشد در دمای ۲۰> درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (نمودار ۱). تفاوت بین هر یک از دماهای گرمخانه‌گذاری معنی‌دار بود، یعنی استفاده از دماهای مختلف گرمخانه‌گذاری بر روی رشد قارچ اثر معنی دار داشت (جدول ۱).

تاثیر غلظت سوسپانسیون اسپورتلقیح شده بر رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس

با افزایش غلظت اسپور تلقیح شده میزان وزن میسیلیوم قارچ افزایش یافته و بیشترین وزن میسیلیوم قارچ در غلظت 10^4مشاهده شد. تفاوت در غلظت 10^4 با سایر غلظت‌ها مشهودتر بود. با افزایش غلظت اسپور به 10^4 اثر آب ازنه در کاهش رشد قارچی کمتر شده، به طوری که کاهش کمتری در وزن میسیلیوم قارچ نسبت به غلظت‌های ۱۰ و 10^2 مشاهده شد (نمودار ۲).



نمودار ۱ - اثر همزمان غلظت آب ازنه و دمای گرمخانه‌گذاری بر وزن میسلیوم آسپرژیلوس پارازیتیکوس.



نمودار ۲ - اثر همزمان غلظت آب ازنه و غلظت اسپور تلقیح شده بر وزن میسلیوم آسپرژیلوس پارازیتیکوس.

بحث

در این تحقیق هدف اصلی بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف آب ازنه بر رشد قارچ بود که در این بین تاثیر دما و غلظت اسپور قارچ نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمزنی نمونه‌های گندم با آب ازنه باعث کاهش رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس شده که از نظر آماری میزان رشد کمتر از نمونه‌های کنترل تیمار نشده بود و با افزایش غلظت آب ازنه اثر مذکور تشدید شد. نتایج این مطالعه با نتایج سایر محققان در تاثیر گاز ازن و آب ازنه بر کاهش میکروارگانیسم‌های مختلف و نیز افزایش تاثیر ازن همزمان با افزایش غلظت ازن مطابقت دارد. نتایج Ibanoglu نیز نشان داد نمزنی گندم با آب ازنه شده از لحاظ آماری کاهش قابل‌توجهی در شمارش کلی باکتری‌ها و کپک و مخمر ایجاد می‌کند و با افزایش غلظت آب ازنه میزان کاهش افزایش یافت (۱۵). اثر گاز ازن در غلظت های ۱۳ و ۲۱ میلی گرم در لیتر در زمان های مواجهه مختلف بر روی تعداد کل قارچ ها و آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در بادام زمینی بررسی گردید. کاهش لگاریتمی تعداد کل قارچ ها در بادام زمینی ازنه شده به ترتیب ۲و ۳ لگاریتم در غلظت ۱۳ و۲۱ میلی گرم در لیتر با مدت زمان مواجهه ۹۶ ساعت بود. میزان کاهش لگاریتمی در گونه های قارچی آفلاتوکسین زا از جمله آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تقریبا ۳ لگاریتم در غلظت ۲۱ میلی گرم در لیتر و مدت زمان مواجهه ۹۶ ساعت بود. در هردو غلظت ۱۳ و۲۱ میلی گرم در لیتر با افزایش مدت زمان مواجهه، درصد مغزهای آلوده به کل قارچ ها و آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت و میزان این کاهش در بادام زمینی هایی که با غلظت ۲۱ میلی گرم در لیتر ازنه شده بودند بیشتر بود (۲۴). همچنین گاز ازن با غلظت ۰/۳۳ میلی گرم در کیلوگرم به ازای هر گرم گندم در دقیقه در مدت ۵ دقیقه توانست ۹۶/۹ درصد اسپورهای قارچی را غیرفعال کند (۲۵). بررسی تاثیر ازن با غلظت ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم بر ۸/۹ تن جو انبار شده نشان از کاهش ۶۳ درصدی آسپرژیلوس پارازیتیکوس داشت (۹). Oztekin نیز نشان داد که استفاده از گاز ازن به مدت ۳ تا ۵ ساعت و غلظت ۵ تا ۱۰ ppm از نظر آماری باعث کاهش قابل ملاحظه ای در شمارش کلی باکتری ها، کلی فرم، کپک و مخمر می شود (۲۶). همچنین Zorlugenc دریافت که آب ازنه با غلظت ۱/۷میلی گرم در لیتردر مدت زمان ۱۵ دقیقه می تواند همه قارچهای رشته ای ازجمله آسپرژیلوس پارازیتیکوس را نابود کند ولی در مدت ۷/۵ دقیقه همه کپک ها به استثنای نایجر و موکور پلومبئوس نابود شدند درحالی که استفاده از گاز ازن با غلظت ۱۳/۸ میلی گرم در لیتر به مدت ۷/۵ دقیقه توانست همه کپک ها بجز

آسپرژیلوس پارازیتیکوس و موکور هیمالیس را غیر فعال کند (۱۴). بنابراین از تحقیق مذکور می توان نتیجه گرفت که برای مهار رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس آب ازنه موثرتر از گاز ازن است. گاز ازن با غلظت ۵٪ و آب ازنه با غلظت ۸/۹-۱/۷ میلی گرم درلیتر همچنین توانست باعث کاهش لگاریتمی سالمونلا و Ecoli در تمشک وتوت فرنگی گردد (۲۷،۲۸). برای غیرفعال کردن بذر یونجه نیز از آب ازنه و تیمار حرارتی استفاده شد نتایج مطالعه نشان داد آب ازنه باعث کاهش قابل ملاحظه در : Ecoli O157:H7 می شود و با افزایش غلظت ازن تعداد بیشتری از آن ها غیرفعال شدند (۲۹). غلظت های ۱، ۳ و ۵ ازن و مدت زمان مواجهه ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه باعث کاهش شمارش کلی باکتری ها ، کلی فرم ، استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کپک و مخمر در خرما شد. از لحاظ آماری غلظت و زمان مواجهه هر دو تاثیر معنی دار بر شمارش کلی باکتری ها داشتند ولی در مورد تعداد کپک و مخمر فقط غلظت ازن تاثیر معنی دار داشت (۳۰). Akbas و همکاران در سال ۲۰۰۸ از ازن برای کاهش اشرشیا کلی ، باسیلوس سرئوس و اسپورهای آن در انجیر استفاده کردند. به این منظور از غلظت های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۵، ۷، ۹ ppm ازن استفاده کردند. نتایج نشان داد که ازن می تواند باعث کاهش اشرشیا کلی ، باسیلوس سرئوس و اسپور آن شود. غلظت ۱ppm تعداد Ecoli و باسیلوس سرئوس را ۳/۵ لگاریتم کاهش داد و غلظت های بالاتر از ppm ۱ باعث ۲ لگاریتم کاهش در اسپورهای باسیلوس سرئوس شد (۳۱). Allen و همکاران نیز در طی نگهداری جو از گاز ازن استفاده کردند. آن ها تاثیر عوامل مختلف زمان تماس، غلظت گاز ازن ، جو و دما را بر تاثیر قارچ کشی ازن بررسی کردند. در تحقیق آن ها غلظت ۴۹ میلی گرم ازن در دقیقه به ازای ۵۰ گرم دانه جو برای غیر فعال کردن قارچ ها چه در شکل اسپور یا میسیلیومی موثر بود. البته مقاومت میسیلیوم ها در برابر ازن نسبت به اسپورها کمتر بود. بعد از ۵ دقیقه مواجهه با گاز ازن ۹۶ درصد اسپورها غیرفعال شدند (۳۲).

همچنین مطالعه حاضر نشان داد غلظت سوسپانسیون اسپور آسپرژیلوس پارازیتیکوس، دمای گرمخانه گذاری بعد از مرحله نم زنی بر میزان رشد قارچ اثر معنی دار دارد. با اینکه دمای گرمخانه گذاری از نظر آماری تاثیر معنی داری بر وزن میسلیوم داشت ولی همانطور که توضیح داده شد میزان این تاثیر کم بود. این اختلاف کم می تواند بدین دلیل باشد که در مطالعه حاضر تفاوت دمایی فقط در مرحله بعد نم زنی اعمال گردید در حالی که سایر محققان در کل مراحل تحقیق تفاوت دمایی را اعمال نمودند. در این مطالعه بیشترین رشد قارچی به ترتیب در دماهای ۴۰ ، ۲۵ و ۲۰> اتفاق افتاد که با نتایج مطالعات قبلی تطابق دارد (۳۳).

در این مطالعه تاثیر آب ازنه بر خصوصیات شیمیایی و رئولوژیکی گندم بررسی نشد اما تحقیقات سایر محققان بیانگر عدم تاثیر آب ازنه بر ویژگی‌های مورد اشاره بود (۱۵،۳۴). ازجمله Mednez و همکاران (2003) کاهش رنگ سبوس برنج و بوی سرکه مانند را در تیمار ۳۰ دقیقه‌ای با غلظت 50ppm نسبت به نمونه های کنترل مشاهده نمودند. گزارشات نشان داده که ازن در محلول های آبی باعث دگرگونی اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب می‌شود که از طریق اکسیداسیون گروه سولفیدریل اسیدهای آمینه و اکسیداسیون اسیدهای چرب پلی غیراشباع به پروکسیدها این اتفاق صورت می‌پذیرد. البته Mednez و همکاران (2003) هیچ تغییر قابل ملاحظه‌ای را در اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب گندم، دانه سویا و ذرت ازنه شده در مقایسه با نمونه های کنترل مشاهده نکردند که احتمالا به دلیل عدم نفوذ ازن به داخل مغز دانه می باشد.آن ها همچنین دریافتند که تیمار طولانی مدت دانه های خوراکی مزبور تاثیری بر کیفیت تغذیه‌ای و خصوصیات فرایندی و کیفیت پخت آن‌ها ندارد.گزارش Prudent & Kingنیز بیانگر عدم تغییر قابل ملاحظه در اسیدهای چرب آزاد ذرت ازنه شده بود. انبارش دانه ها در اتمسفر غنی از ازن تاثیری بر خصوصیات رئولوژیکی دانه ها ندارد. برای مثال در بررسی کهMednez و همکاران (۲۰۰۳) بر کارایی ازن در کنترل حشرات در انبارهای برنج و گندم انجام دادند دریافتند که تیمار ازن تغییر قابل ملاحظه‌ای در خصوصیات پخت نان گندم سخت (تولرانس مخلوط‌کردن زیاد خمیر، جذب آب، وزن خمیر و زمان تخمیر) ایجاد نمی‌کند. استفاده از آب ازنه در مرحله نم زنی گندم بر خصوصیات کیفی گندم از جمله خصوصیات آسیابانی (درجه استخراج)، رئولوژیکی (فارینوگراف،

اکستنسوگراف)، شیمیایی (پروتئین، فالینگ نامبر، سدیمانتاسیون، رنگ) تاثیر قابل ملاحظه ای نداشت (۱۵).

منابع مورد استفاده

1. Jelinek, C.F., A.E. Pohland, and G.E. Wood, Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds--an update. J Assoc Off Anal Chem, 1989. **72**(2): p. 223-30.
2. Bhat, R.V., Mould deterioration of agricultural commodities during transit: Problems faced by developing countries, . International Journal of Food Microbiology 1988. **7**: p. 219-225.
3. Sherif, S.O., E.E. Salama, and M.A. Abdel-Wahhab, Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2009. 212(4): p. 347-368.
4. Munoz, R., et al., Inhibition of mycotoxin-producing Aspergillus nomius vsc 23 by lactic acid bacteria and Saccharomyces cerevisiae. Brazilian Journal of Microbiology, 2010. 41(4): p. 1019-1026.
5. Imperato, R., et al., Survey of aflatoxins and ochratoxin a contamination in food products imported in Italy. Food Control, 2011. 22(12): p. 1905-1910.
6. Jalili, M., S. Jinap, and A. Noranizan, Effect of gamma radiation on reduction of mycotoxins in black pepper. Food Control, 2010. 21(10): p. 1388-1393.
7. Inan, F., M. Pala, and I. Doymaz, Use of ozone in detoxification of aflatoxin B-1 in red pepper. Journal of Stored Products Research, 2007. 43(4): p. 425-429.
8. Hussein, H.S. and J.M. Brasel, Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 2001. 167(2): p. 101-134.
9. Kells, S.A.M., L. J. Maier, D. E. Woloshuk, C. P., Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. Journal of Stored Products Research, 2001. **37**(4): p. 371-382.
10. Freitas-Silva, O. and A. Venancio, Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. Drug Metabolism Reviews, 2010. 42(4): p. 612-620.
11. Naitou, S. and H. Takahara, ozone contribution in food industry. Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association, 2006. 25(6): p. 425-429.
12. Rong, C., et al., Combined effect of ozonated water and chitosan on the shelf-life of Pacific oyster (Crassostrea gigas). Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2010. 11(1): p. 108-112.
13. Dubois, M., Safety of Oxygreen, an ozone treatment on wheat grains Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, 2006. 23: p. 1-15.
14. Zorlugenc, B., et al., The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B(1) in dried figs. Food and Chemical Toxicology, 2008. 46(12): p. 3593-3597.
15. Ibanoglu, S., Influence of tempering with ozonated water on the selected properties of wheat flour. Journal of Food Engineering, 2001. 48(4): p. 345-350.
16. Desvignes, C., et al., Changes in common wheat grain milling behavior and tissue mechanical properties following ozone treatment. Journal of Cereal Science, 2008. 47: p. 245-251.
17. Antony-Babu, S. and I. Singleton, Effect of ozone on spore germination, spore production and biomass production in two Aspergillus species. Antonie Van Leeuwenhoek, 2009. 96(4): p. 413-22.
18. Luo, X., Wang,R., Wang,L., Wang,Y., Chen,Z, Structure Elucidation and Toxicity Analyses of the Degradation Products of Aflatoxin B1 by Aqueous Ozone. Food Control, 2012.
19. Bialka, K.L. and A. Demirci, Decontamination of Escherichia coli O157 : H7 and Salmonella enterica on blueberries using ozone and pulsed UV-Light. Journal of Food Science, 2007c. 72(9): p. M391-M396.
20. Young, J.C., H.H. Zhu, and T. Zhou, Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. Food and Chemical Toxicology, 2006. 44(3): p. 417-424.
21. APHA, A.p.H.A., AWWA, (American Water Work Association), WPCF, (Water Pollution Control Federation), , Standard method for the examination of water and wastewater21st. 2005: Washington, D.C, USA.
22. Inaloo, K.D., et al., Optimization of Operational Parameters for Decolorization and Degradation of C. I. Reactive Blue 29 by Ozone. Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering, 2011. 8(3): p. 227-234.
23. Zjalic, S., et al., Trametes versicolor: A possible tool for aflatoxin control. International Journal of Food Microbiology, 2006. 107(3): p. 243-249.
24. de Alencar, E.R., et al., Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012. 92(4): p. 899–905.

25. Wu, J.N., H. Doan, and M.A. Cuenca, Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2006. 81(7): p. 1288-1293.
26. Oztekin, S., B. Zorlugenc, and F.K. Zorlugenc, Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. Journal of Food Engineering, 2006. 75(3): p. 396-399.
27. Bialka, K.L. and A. Demirci, Utilization of gaseous ozone for the decontamination of Escherichia coli O157 : H7 and Salmonella on raspberries and strawberries. Journal of Food Protection, 2007b. 70(5): p. 1093-1098.
28. Bialka, K.L. and A. Demirci, Efficacy of aqueous ozone for the decontamination of Escherichia coli O157 : H7 and Salmonella on raspberries and strawberries. Journal of Food Protection, 2007a. 70(5): p. 1088-1092.
29. Sharma, R.R., et al., Inactivation of Escherichia coli O157 : H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water and heat treatment. Journal of Food Protection, 2002. 65(3): p. 447-451.
30. Najafi, M.B.H. and M.H.H. Khodaparast, Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. Food Control, 2009. 20(1): p. 27-30.
31. Akbas, M.Y. and M. Ozdemir, Application of gaseous ozone to control populations of Escherichia coli, Bacillus cereus and Bacillus cereus spores in dried figs. Food Microbiology, 2008. 25(2): p. 386-391.
32. Allen, B., J.N. Wu, and H. Doan, Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes, 2003. 38(5): p. 617-630.
33. Schmidt-Heydt, M., et al., The production of aflatoxin B1 or G1 by Aspergillus parasiticus at various combinations of temperature and water activity is related to the ratio of aflS to aflR expression. Mycotoxin Research, 2010. 26: p. 241–246.
34. Mendez, F., Maier,D.E., Mason,L.J., Woloshuk, C.P, Penetration of ozone into columns of stored grains and effect on chemical composition and processing performance. Journal of Stored Products Research, 2003. 39(1): p. 33-44.