علمی پژوهشی

شناسایی ترکیبات شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضدقارچی عصاره هیدرواتانولی میوه عناب بر کپک آسپرژیلوس فلاووس در دانه های ذرت آنزیم بری شده

محمدابراهیم ملکیان[۱]، انوشه شریفان[۲*]، افشین آخوندزاده بستی[۳]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دکترای تخصصی، استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

(تاریخ دریافت: ۹۹ /۰۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۵/۱۱)

چکیده

امروزه مطالعات به منظور بهره گیری از خواص ضد میکروبی گیاهان به جای استفاده از نگهدارنده های سنتتیک در حال گسترش است. گیاه عناب با نام علمی .*Ziziphus jujube* Mill از خانواده رامناسه و بومی نواحی مرکزی فلات ایران است. میوه، برگ و ریشه این گیاه دارای خواص دارویی و سلامتی بخش است. در این پژوهش عصاره گیری از میوه عناب خشک، به روش خیساندن در حلال هیدرواتانلی انجام گرفت و سپس عصاره به روش انجمادی، خشک شده و راندمان عصاره گیری از پودر میوه عناب، اندازه گیری شد. ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره با روش GC-MS تعیین شدند و سپس برخی پارامتر های شیمیایی عصاره شامل رطوبت ، فعالیت آبی، چربی، خاکستر و درصد مواد جامد محلول اندازه گیری شد. در ادامه حداقل غلظت بازدارنده و حداقل غلظت کشنده عصاره اتانولی میوه عناب در برابر کپک *آسپرژیلوس فلاووس*، در محیط کشت اختصاصی ارزیابی شد. هم چنین تأثیر غلظت های مختلف عصاره بر نمونه های ذرت آنزیم بری شده، در یک بازه زمانی ۷ روزه بررسی گردید. نتایج نشان دادند که عصاره اتانولی میوه عناب دارای خاصیت ضد کپکی بوده و حداقل غلظت بازدارنده عصاره در محیط کشت آزمایشگاهی ۳۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد. هم چنین نتایج به دست آمده نشان داد عصاره اضافه شده به ذرت آنزیم بری شده، در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر دارای خاصیت ممانعت کنندگی در برابر کپک *آسپرژیلوس فلاووس* است.

کلید واژگان: آسپرژیلوس فلاووس ، ذرت، عصاره هیدرواتانلی، عناب، فعالیت ضدکپکی

* مسئول مکاتبات: a_sharifan2000@yahoo.com

۱- مقدمه

فساد میکروبی عمومی ترین و شناخته شده ترین چالش در بهداشت مواد غذایی محسوب می شود و میکروارگانیسم های بیماری زا عوامل اصلی ایجاد مسمومیت و عفونت های ناشی از مصرف غذا می باشند به عنوان مثال مسؤل حدود ۳۰ درصد از موارد مرگ و میر ناشی از عفونت های غذایی، فقط یکی از گونه های باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*[1] است [۱]. امروزه یکی از مهم ترین روش های ممانعت از فساد میکروبی غذا استفاده از افزودنی های شیمیایی مانند سوربات ها، بنزوآت ها، نیترات ها، نیتریت ها و غیره است. نگهدارنده ها[2] موادی هستند که پس اضافه شدن به غذا رشد میکروبی و هم چنین فعالیت های مخرب اکسیداتیو را کند یا متوقف می سازند اما مشکل اصلی استفاده از این مواد این است که مصرف مقادیری بیش از سطوح توصیه شده توسط سازمان های بین المللی، خطر حساسیت، اختلالات گوارشی و سرطان را افزایش می دهد. استفاده از آنتی بیوتیک های غذایی نیز خطر مقاومت باکتری های بدن در مقابل آنتی بیوتیک ها را در پی دارد [۲]. بنابر همین دلایل، طی سال های اخیر شاهد حرکت هایی از سوی محققین صنایع غذایی بوده ایم که هدف آن جایگزین نمودن مواد طبیعی به جای رنگ ها و نگهدارنده های شیمیایی است چراکه افکار عمومی معتقدند افزودنی های گیاهی و طبیعی، سالم تر از افزودنی های شیمیایی هستند. ایده ای که با توجه به مطالعات انجام گرفته بر ساختار ترکیبات طبیعی، معقول به نظر می رسد [۳]. اسانس ها[3] و عصاره های گیاهی[4] دارای مزیت هایی مانند طبیعی بودن، سمیت محدود، هزینه نسبتاً پایین تولید و سازگاری با محیط زیست هستند اما پیش از مصرف باید از اثر گذاری مناسب نگهدارده طبیعی بر طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها و نیز پایداری شیمیایی ترکیبات آن در محیط مواد غذایی اطمینان حاصل نمود. استفاده همزمان از دو یا چند اسانس یا عصاره گیاهی گاهی ممکن است سبب تقویت خواص ضد میکروبی شود همانند زمانی که از یک عصاره دارای خاصیت ضد قارچی قوی به همراه عصاره دیگری که دارای خواص آنتی باکتریال قوی است استفاده شوند اما گاهی ترکیب نگهدارنده های مختلف اثر تضعیف کنندگی[5] روی یکدیگر دارند و باعث کاهش خاصیت ضد میکروبی مجموعه می شود [٤]. مطالعات مختلفی نشان داده اند عصاره ها و اسانس های گیاهی باعث افزایش حساسیت میکرارگانیسم های غذا در برابر فرایند حرارتی نیز می شوند[۵].

آسپرژیلوس فلاوس یک پاتوژن سبز رنگ است که باعث آلودگی و فساد طیف وسیعی از غلاتِ دارای ارزشِ اقتصادی در سراسر جهان می شود. آفلاتوکسین ها[6] متابولیت های ثانویه ای هستند که عمدتاً توسط *آسپرژیلوس فلاووس*[7] و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*[8] تولید می شوند و باعث آلودگی غلات، پیش یا پس از برداشت از مزرعه می شوند. آفلاتوکسین ها که دارای ٤ نوعِ B_1، G_1 ، B_2 و G_2 هستند، از طریق غذا وارد بدن انسان ها و حیوانات شده و سبب ایجاد بیماری هایی مثل سرطان کبد و حتی مرگ می شوند. برخی از عوامل داخل سلولی در تولید آفلاتوکسین ها مؤثرند مثل ۳۰ ژن که در سنتز آفلاتوکسینِ B_1 دخالت دارند. عوامل محیطی مانند رطوبت، دما، مواد مغذی و سایر عوامل فیزکوشیمیایی هم حائز اهمیت می باشند [٦]. شرایط دانه های ذرت به ویژه از نظر میزان چربی، پروتئین، کربوهیدرات ها و بعضی نمک ها به گونه ای است که در دما و رطوبت مناسب، محیط بسیار مساعدی جهت رشد قارچ آسپرژیلوس و تولید آفلاتوکسین می باشند. استرس خشکی، درجه حرارت بالا و آسیب ناشی از حشرات از جمله عوامل افزایش آلودگی می باشند [۷].

گیاه عناب[9] درختی است که بلندی آن به ۲ تا ۸ متر و گاهی تا ۱۲ متر هم می رسد [۸]. میوه عناب محتوی انواع اسیدهای آلی از جمله اسید اگزالیک ، اسید تارتاریک ، اسید مالیک ، اسید لاکتیک و غیره، قندهای احیا کننده و مواد معدنی است [۹]. میوه عناب[10] مغذی است و علاوه بر کربوهیدرات و مواد

1. Listeria monocytogenes
2. Preservatives
3. Essential oils
4. Extracts

5. Antagonistic effect
6. Aflatoxins (AFs)
7. Aspergillus flvous
8. A. Parasiticus
9. Zizyphus jujube Mill.
10. Jujube

معدنی، محتوی ویتامین ها (مخصوصاً ویتامین C) و پروتئین هم می باشد. این گیاه از نظر پزشکی سنتی حائز اهمیت بوده و ادعا می شود در پیشگیری از سرطان، بی خوابی، صرع و برخی بیماری های دیگر مؤثر است [۱۰]. خواص آنتی اکسیدانی میوه عناب و عصاره و اسانس آن در پژوهش های متعدد به اثبات رسیده است [۱۱و۱۲و۱۳]. مطالعاتی نیز در خصوص خواص ضد میکروبی عصاره و اسانس میوه عناب انجام شده است. در سال ۲۰۰۹ میلادی شریف الرضا و همکاران اثرات ضد باکتریایی اسانس و عصاره به دست آمده از حلال های آلی و آبی را بر ۹ گونه باکتری پاتوژن شناخته شده شامل ٤ گونه گرم مثبت و ۳ گونه گرم منفی ارزیابی کردند. مشاهدات حاکی از اثر عصاره عناب بر هر ۹ گونه باکتری اعم از گرم مثبت و گرم منفی بود. هم چنین تأثیر عصاره متانولی بیش از سایر عصاره ها بوده است [۱۵]. همین محققین در پژوهشی جداگانه اثر عصاره و اسانس میوه عناب را بر ۵ سوش باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* بررسی نموده و نشان دادند که عصاره و اسانس عناب درای خاصیت مهارکنندگی بر سوش های گوناگون باکتری مذکور می باشد [۱٦]. در پژوهش دیگر نیز اثر عصاره آبی و اتانولی دانه ی عناب (میوه و هسته ی عناب) بر هفت گونه باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. کم ترین غلظت بازدارنده و به عبارتی بیشترین حساسیت نسبت به عصاره، در باکتری *کلبسیلا پنومونیا*[11] و کم ترین حساسیت در *سودوموناس اروژینوزا*[12] دیده شده است [۱۷].

هدف از این پژوهش استخراج عصاره هیدرواتانلی میوه عناب و شناسایی ترکیبات شیمیایی آن و در ادامه ارزیابی فعالیت ضد قارچی عصاره حاصل بر کپک *آسپرژیلوس فلاووس* در محیط کشت و نیز در دانه های ذرت آنزیم بری شده بوده است.

۲-مواد و روش ها

۲-۱- آماده سازی میوه عناب

۲۰۰ گرم میوه عناب تازه، در اواخر مرداد ماه ۱۳۹۷ از شهرستان شهرضا واقع در استان اصفهان برداشت شده و طبق دستورالعمل شماره ۲۸۳٦ سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، پس از شستشو و جدا نمودن هسته در سایه خشک شدند.

۲-۲- عصاره گیری از میوه عناب

میوه ی خشک شده به وسیله ی آسیاب برقی خرد شده و قطعات از الک با درجه ٤۰ در اینچ مربع عبور داده شد. برای به دست آوردن عصاره اتانولی از روش غرقابی (خیساندن[13]) استفاده شد. به این منظور پودر عناب و اتانول ۸۰ درصد (۸۰ درصد اتانول مطلق و ۲۰درصد آب خالص) به نسبت ۱ به ۱۰ وزنی با هم مخلوط شدند و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و با استفاده از لرزاننده تخت، اختلاط انجام گرفت. سپس در مرحله اول با استفاده از کاغذ صافی بقایای پودر از حلال جدا شد و حلال اضافه به وسیله تبخیر کننده گردان تحت خلأ نسبی و دمای ٤۰ درجه سانتی گراد حذف شد [۱۸]. این عمل بار دیگر نیز با تفاله حاصل از عصاره گیری مرحله اول انجام شد. عصاره های به دست آمده از هر دو مرحله با هم مخلوط شده و به روش انجمادی خشک شد.

۲-۳- تعیین بازده عصاره گیری

پس از عصاره گیری و خشک کردن عصاره، راندمان عصاره گیری از پودر میوه عناب آسیاب شده به کمک رابطه زیر محاسبه شد [۱۹].

$$\text{بازده استخراج عصاره} = \frac{\text{وزن عصاره خشک شده}}{\text{وزن عناب اولیه}} \times ۱۰۰$$

۲-٤- اندازه گیری رطوبت عصاره

عصاره به مدت ۳ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلیسیوس قرار داده شد و پس از خشک شدن کامل، درصد مواد جامد خشک آن از طریق رابطه ی زیر محاسبه شد [۲۰].

$$\text{درصد وزنی رطوبت} = \frac{\text{وزن نهایی} - \text{وزن اولیه}}{\text{وزن ظرف}} \times ۱۰۰$$

۲-۵- اندازه گیری فعالیت آبی عصاره

11. Klebsiella pnenumoniae
12 . Pseudomonas aeruginosa

13. Maceration

حدود ۲ گرم عصاره ی خشک شده مطابق دستور العمل دستگاه، در جایگاه مخصوص دستگاه ریخته شده و توسط دستگاه Water activity meter (ساخت شرکت Novasina Lab master سوییس، مدل 1119971 AW Meter) طی زمان ۲۵ دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، مقدار فعالیت آبی عصاره (نسبت فشار بخار آب عصاره به فشار بخار آب خالص در همان دما)، اندازه گیری شد [۲۰].

۲-۶- اندازه گیری چربی عصاره

برای اندازه گیری درصد چربی از روش سوکسله استفاده شد. به وسیله ی ترازو با دقت ۳ رقم اعشار، وزن تثبیت شده بالن اندازه گیری شد (جرم اولیه ی بالن). حدود ۵ گرم عصاره خشک شده درون تیمبل ریخته شد به همراه ۱۵۰ میلی لیتر حلالِ پترولیوم اتر درون فلاسک دستگاه ریخته شده، و به مدت ۷ ساعت اسخراج چربی از عصاره انجام گرفت. پس از این مرحله فلاسک دستگاه جدا شده و حلال پترولیوم اتر به وسیله ی تبخیر کننده گردان، جدا شد و و سپس بالن به مدت ۱ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از خنک شدن وزن آن اندازه گیری شد (جرم ثانویه ی بالن). درصد چربی عصاره از طریق رابطه ی زیر محاسبه شد [۲۱].

$$\text{درصد چربی} = \frac{\text{جرم اولیه بالن} - \text{جرم ثانویه بالن}}{\text{جرم عصاره خشک اولیه}} \times ۱۰۰$$

۲-۷- اندازه گیری میزان خاکستر عصاره

طبق دستور العمل استاندارد شماره ۲۳۴۳ مقدار ۳/۷۴۵ گرم عصاره داخل بوته چینی با جرم تثبیت شده، ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه روی شعله چراغ گازی قرار داده شد. سپس به مدت ۲ ساعت داخل کوره ی الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا جایی که عصاره سوخته به خاکستر سفید رنگی تبدیل شد. خاکستر عصاره با فرمول زیر محاسبه شد[۲۲].

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{\text{وزن بوته خالی} - \text{وزن بوته خاکستر}}{\text{وزن نمونه}} \times ۱۰۰$$

۲-۸- اندازه گیری درصد مواد جامد محلول (بریکس) عصاره

اندازه گیری بریکس با دستگاه رفرکتومتر و در دمای ۲۵/۶ درجه سانتی گراد انجام گرفت. ابتدا دستگاه به وسیله ی آب مقطر کالیبره شد و سپس یک قطره عصاره روی محل مخصوص قرار گرفت و بریکس نمونه خوانده شد [۲۲].

۲-۹- شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره

به منظور شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره از دستگاه کرماتوگرفی گازی – طیف سنج جرمی[14] ساخت شرکت AGILENT امریکا مدل 7890N و طیف سنج جرمی الکترون اسپری مدل 5975C استفاده شد. ستون دستگاه از نوع لوله موئین[15] و مدل HP-5MS با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر بود. دمای محل تزریق نمونه ۲۷۰ درجه سانتی گراد و دمای ستون در ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه، ۶۰ درجه بود و سپس با سرعت ۱۰درجه در هر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۸۰ درجه رسید. حجم نمونه تزریق شده ۱ میکرولیتر و سرعت گاز هلیوم (گاز حامل) نیز ۱ میلی لیتر در دقیقه بوده است [۸].

۲-۱۰- تهیه و احیای کپک خشک شده

آمپول حاوی کپک *آسپرژیلوس فلاووس* با کد (PTCC[16] (5004از کلکسیون میکروبی سازمان پژوه های علمی و صنعتی ایران به صورت خشک شده به روش انجمادی[17]، خریداری شد. به منظور احیای کپک خشک، طبق دستورالعمل فروشنده، 1 میلی لیتر آب پپتون دار[18] استریل درون آمپول ریخته و به وسیله لوپ استریل کاملاً مخلوط و سپس روی محیط کشت پُتیتو دکستروز آگار [19] ریخته شده و به مدت ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد.

14 Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS)
15 Capillary
16 Persian Type Collection Culture
17 Lyophilized
18 Peptone water
19 Potato Dextrose Agar

۲-۱۱- تهیه ی سوسپانسیون میکروبی

در مجاورت شعله، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۵ درصد توین۸۰ به محیط کشت شیب دار حاوی قارچ افزوده و هم زده شد تا یکنواخت شود و سپس در لوله آزمایش استریل ریخته شد [۲۳]. سوسپانسیون حاصل به وسیله یک صافی غشایی غیر جاذبِ استریل صاف شد تا میسلیوم های کپک جدا شده و فقط اسپورها وارد سوسپانسیون میکروبی شوند چراکه حضور سلول های رویشی یا همان میسلیوم ها باعث کاهش تأثیر ممانعت کنندگی عصاره می شود [۲٤].

۲-۱۲- شمارش اسپورهای موجود در سوسپانسیون

برای شمارش هاگ های قارچ به روش شمارش مستقیم میکروسکوپی از لام نئوبار[20] استفاده شد. پس از مخلوط و همگن سازی کامل سوسپانسیون، یک قطره کوچک از آن روی لام نئوبار قرار داده شد و یک لامل روی آن قرار گرفت و به وسیله ی میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ٤۰ برابر، تعداد اسپورها شمارش شدند. به منظور انجام آزمون بازدارندگی عصاره در محیط غذایی، سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه شد [۲۳].

۲-۱۳- ارزیابی بازدارندگی عصاره در محیط کشت آزمایشگاهی

به منظور اندازه گیری حداقل غلظت ممانعت کنندگی[21] محلول عصاره اتانولی عناب در برابر کپک *آسپرژیلوس فلاووس* در محیط کشت آزمایشگاهی[22] مطابق دستورالعمل شماره ۵۸۷۵ سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، از روش رقت سازی در سریِ لوله های حاوی محیط کشت مایع[23]، استفاده شد. ، در هر لوله ی آزمایش ۱۰ میلی لیتر محیط کشت سابوراد دکستروز براث[24] ریخته شد و به لوله ها به وسیله ی سمپلر به ترتیب مقادیری از عصاره بر هر لوله اضافه شد تا به ترتیب اضافه شد تا به ترتیب غلظت های ۱۰۰۰، ۹۵۰، ۹۰۰، ۸۵۰، ۸۰۰، ۷۵۰، ۷۰۰ ،٦٥٠، ٦۰۰، ٥۰۰، ٤٥۰، ٤۰۰، ۳٥۰، ۳۰۰، ۲٥۰ و ۲۰۰ به دست آمد و به هر لوله ١٤ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ و تعداد $۹/٦ \times ۱۰^{۹}$ اسپور کپک، اضافه شد. به این ترتیب $۱۰^{۷}$ اسپور در هر میلی لیتر لوله آزمایش تلقیح شد. لوله ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شده و پس از این زمان نمونه ها از نظر کدورت با نمونه شاهد منفی (محیط کشت فاقد سوسپانسیون میکروبی) مقایسه شدند. کم ترین غلظتی از عصاره که در محیط کشت محتوی آن رشدی اتفاق نیفتاده بود، به عنوان حداقل غلظت بازدارنده عصاره در برابر کپک *آسپرژیلوس فلاووس* گزارش شد [۲۳].

۲-١٤- آماده سازی دانه های ذرت

دانه های ذرت دندان اسبی، تحت دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه با حرارت مرطوب استریل و آنزیم بری شد. سپس حدود ٦۰ دانه ذرت به هر پلیت استریل منتقل شد. در ادامه ۲ میلی لیتر محلول های عصاره عناب با غلظت های ٤۰۰۰، ٥۰۰۰، ٦۰۰۰، ۷۰۰۰، ۸۰۰۰، ۹۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر، بر روی هر پلیت اسپری شده و ۲٤ ساعت زمان داده شد تا عصاره جذب شود.

۲-۱٥- ارزیابی بازدارندگی عصاره در دانه های ذرت آنزیم بری شده

دیسک های مقوایی که هر یک حاوی سوسپانسیون اسپور کپک با تعداد تقریبی $۱۰^{۷}$ اسپور بودند، روی مرکز هندسی پتری دیش های حاوی ذرت قرار گرفته و به مدت ۷ روز گرم خانه گذاری شد. هر روز نمونه ها از نظر رشد کپک بررسی شدند. پس از عکس برداری قطر کلنی های رشد کرده ی کپک بر روی ذرت به وسیله نرم افزار Didgiminizer اندازه گیری شد. این آزمون ۳ بار تکرار شد [۲٥].

۲-١٦- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ٢٤ در سطح احتمال ٥ درصد انجام گرفت. هم چنین به منظور تعیین معنی دار بودن اختلاف موجود بین میانگین ها (حداقل ۳

20. Neubauer chamber
21. Minimum inhibitory concentration (MIC)
22 . in vitro
23. Broth dilution
24. Saburad Dextrose Broth

تکرار) از آنالیز یک طرفه واریانس (one-way ANOVA) به روش دانکن استفاده گردید.

۳- نتایج وبحث

۳-۱- خواص فیزیکو شیمیایی عصاره میوه عناب

ویژگی های شیمیایی عصاره عناب که در این پژوهش اندازه گیری شده اند در جدول ۱ آمده است. با تعیین این ویژگی ها می توان ارزیابی مناسبی از کیفیت تغذیه ای، خواص فیزیکی، شیمیایی، ویژگی های کاربردی و راندمان عصاره گیری به دست آورد. همچنین pH در میزان و شکل اثر ضدمیکروبی آن مؤثر است. pH عصاره موجود ٤/٣٧ بود که در محدوده اسیدی قرار داشت. که با توجه به این که به طور کلی حساسیت باکتری ها در برابر تغییرات pH، به مراتب بیشتر از کپک هاست [٢٦].

Table 1 Physicochemical properties of jujube extract

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES	AMOUNT
EXTRACTION YIELD	36.7%
SCUM EXTRACTION YIELD	14.5%
MOISTURE	7.8%
A_W	0.994
PH	4.37
FAT	4.9%
ASH	5.87%
BRIX	87.7

۳-۲- شناسایی ترکیبات عمده موجود در عصاره

ترکیبات شناسایی شده در جدول ۲ و نمودار کروماتوگرام رسم شده توسط دستگاه در شکل ۱ آورده شده است.

چنان چه مشخص است بیشترین ترکیب یافت شده در عصاره ۵-هیدروکسی متیل فورفورال[۲۵] است.

از آن جا که وجود این ترکیب در عصاره عناب در مقالات پیشین گزارش نشده و از سوی دیگر این ترکیب از محصولات جانبی واکنش های قهوه ای شدن غیر آنزیمی (میلارد) است [۲۷]، و با توجه به وجود قندهای احیا کننده مانند گلوکز و فروکتوز در عصاره عناب [۲۸] و حرارت دیدن عصاره حین جداسازی حلال، می توان نتیجه گرفت ۵- هیدروکسی متیل فورفورال جزء ترکیبات میوه عناب نبوده و حین عصاره گیری ایجاد شده است. دومین ترکیب، اسید ۳-دِاُکسی مانونیک است که ایزومری از گلوکز محسوب می شود و به تنهایی بیش از ۳۰ درصد وزن ترکیبات عصاره را تشکیل می دهد. ترکیب بعدی از نظر فراوانی هگزانوئیک اسید است که وجود آن در عصاره میوه عناب همراه برخی اسید های آلی دیگر از جمله اسید دکانوئیک[۲۶] توسط برخی از محققان مانند سونگ[۲۷] و همکاران گزارش شده است[١٤].

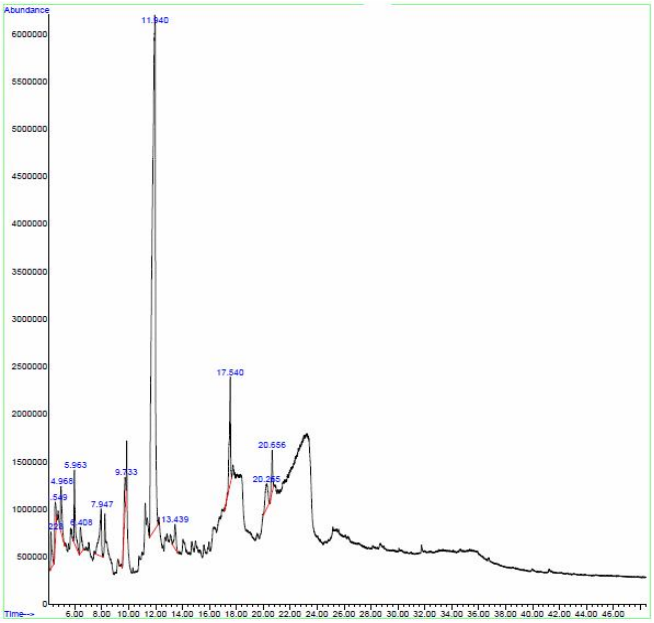

Fig 1 GC-MS chromatograms of hydroethanolic extract samples from jujube fruit

به طور کلی در مطالعات پیشین وجود ترکیبات تری ترپنوئیدی، استرولی، فلاوونوئیدی و سربروزیدی [۲۹] و نیز الکل ها، اسیدهای آلی، آلدهیدها، اترها، کتون ها و فوران ها [١٤] در میوه عناب به اثبات رسیده است. برخی از ترکیباتی که در این پژوهش شناسایی شد، از نظر نوع و تا حدودی مقدار، منطبق بر مطالعات پیشین بوده است.

25. 5-Hydrxoymethylfurfural

26. Decanoic acid
27. Song

Table 2 Chemical composition extract of jujube fruit

No	Name	Area%	Quality	RT* (min)	CAS** Number
1	Oxocyclohexyl acetate	1/12	58	4/222	000000-00-0
2	(2-[2-(Carboxymethoxy)ethoxy]ethoxy)acetic acid	1/14	47	4/549	000000-00-0
3	[1,3,4]Thiadiazol, 2-amino-5-(2-piperidin-1-ylethyl)-	1/59	55	4/969	010493-98-8
4	cis-3-Methyl-2-n-propylthiophane	2/01	43	5/965	000000-00-0
5	d-Glycero-d-ido-heptose	1/07	59	6/406	097847-47-7
6	Alletone	2/68	59	7/947	000000-00-0
7	Methyl 2-methyl-3-oxobutyldithiocarbamate	0/74	38	8/222	003658-77-3
8	Hexanoic acid, 2-acetyl-, ethyl ester	4/80	58	9/825	000000-00-0
9	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	2/48	43	9/846	028564-83-2
10	Methyl 3,5-dioxohexahydro-1H-pyrrolizine-2-carboxylate	2/19	52	11/226	000000-00-0
11	5-Hydrxoymethylfurfural	41/77	91	11/942	000067-47-0
12	Lauric acid	3/22	98	17/541	000143-07-7
13	Decanoic acid	1/70	50	20/265	000334-48-5
14	Myristic acid	1/10	95	20/654	000544-63-8
15	3-Deoxy-d-mannonic acid	30/16	56	23/264	005185-97-7

*Retention Time

**Chemical Abstracts Service

عوامل مختلفی بر ترکیبات ایجاد شده در میوه ها و هم چنین عصاره به دست آمده از آن ها مؤثرند که عبارتند از: شرایط کاشت، داشت و برداشت [۳۰]، مرحله رشد یا میزان رسیدگی میوه، نژاد و گونه گیاه [۲۷]، شرایط اقلیمی و جغرافیایی محل رشد گیاه [۳۱] متغیر های مربوط به عصاره گیری مانند تکنیک عصاره گیری، حلال، مدت زمان عصاره گیری، شرایط نگهداری عصاره و ... دارد [۳۲].

۳-۳- حداقل غلظت بازدارنده عصاره در محیط کشت آزمایشگاهی

در میان لوله آزمایش های محتوی غلظت مختلف عصاره، از غلظت ۳۵۰ میکروگرم بر لیتر و بالا رشدی ملاحظه نشد. بنابرین حداقل غلظت بازدارنده[۲۸] عصاره عناب در محیط کشت اختصاصی، ۳۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر به تعیین شد.

۳-٤- ارزیابی بازدارندگی عصاره در دانه های ذرت[29]

چنانچه در جدول ۳ قابل ملاحظه است رشد کپک در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بسیار ناچیز است و تا روز چهارم پس از تلقیح هیچ گونه رشدی در نمونه تیمار شده با این غلظت از عصاره رخ نداده است.

در این پژوهش اثرات ضدکپکی عصاره اتانولی میوه ی عناب بر روی کپک *آسپرژیلوس فلاووس* مورد ارزیابی قرار گرفت.

تحقیقاتی در زمینه خواص ضدباکتریایی اسانس و عصاره های آبی و آلی میوه عناب بر روی برخی از شناخته شده ترین باکتری های بیماری زا انجام گرفته است که نشان می دهد اسانس و عصاره عناب خواص ممانعت کنندگی قابل قبولی در برابر باکتری های پاتوژن از خود نشان می دهند. این تأثیر در مورد باکترهای گرم منفی بیش از باکتری های گرم مثبت است. به گونه ای که بیشترین اثر ممانعت کنندگی متعلق به اسانس عناب در برابر *استافیلوکوکوس اوئوس* ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بوده است و کم ترین اثر را عصاره استخراج شده با هگزان در برابر *سالمونلا تیفی موریوم*[۳۰] از خود نشان داده است [۱۵].

با مقایسه اعداد فوق و داده های به دست آمده در پژوهش حاضر، تفاوت فاحشی بین بازدارندگی عصاره های عناب در برابر باکتری های بیماری زا و کپک *آسپرژیلوس فلاووس* مشاهده می شود. چرا که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره عناب در برابر کپک *آسپرژیلوس فلاووس* در شرایط in vitro، ۳۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بوده است.

در توضیح دلیل اختلاف اثر گذاری عصاره به موارد زیر می توان اشاره نمود:

۱- اختلاف در مواد مؤثره موجود در گیاهان مختلف و عصاره های آن ها و نیز مکانیسم اثر آن ها بر میکروب ها است [۳۰].

28. MIC
29. in cito
30. salmonella typhimurium

Table 3 Growth of *Aspergillus flavus* on corn grains containing different concentrations of jujube extract

C (ppm)	Colonies Diameter							
Day	0^{th} day	1^{th} day	2^{th} day	3^{th} day	4^{th} day	5^{th} day	6^{th} day	7^{th} day
0	$6.4\pm0.0^{aA*}$	6.8 ± 0.2^{aB}	20.2 ± 0.1^{aC}	40.2 ± 0.2^{aD}	41.9 ± 0.2^{aE}	85.2 ± 0.2^{aF}	90.0 ± 0.0^{aG}	90.0 ± 0.0^{aG}
2000	6.4 ± 0.0^{aA}	7.5 ± 0.1^{bB}	11.5 ± 0.5^{bC}	33.5 ± 0.6^{bD}	34.8 ± 0.3^{bE}	78.5 ± 0.4^{bF}	90.0 ± 0.0^{aG}	90.0 ± 0.0^{aG}
2500	6.4 ± 0.0^{aA}	7.3 ± 02^{cB}	7.3 ± 0.1^{cB}	26.5 ± 0.3^{cC}	27.5 ± 0.3^{cD}	69.7 ± 0.0^{cE}	79.0 ± 0.0^{aF}	90.0 ± 0.0^{aG}
3000	6.4 ± 0.0^{aA}	6.4 ± 0.2^{dA}	7.2 ± 0.2^{cB}	25.2 ± 0.1^{cC}	26.0 ± 0.1^{cD}	60.6 ± 0.5^{dE}	71.2 ± 0.2^{bF}	90.0 ± 0.0^{aG}
3500	6.4 ± 0.0^{aA}	6.4 ± 0.2^{dA}	8.7 ± 0.3^{dB}	19.2 ± 0.2^{dC}	19.9 ± 0.2^{dD}	52.3 ± 0.3^{eE}	70.3 ± 0.2^{bF}	78.0 ± 0.5^{bG}
4000	6.4 ± 0.0^{aA}	6.4 ± 0.0^{dA}	6.4 ± 0.2^{eA}	6.6 ± 0.2^{eA}	8.1 ± 0.2^{eB}	12.2 ± 0.2^{fC}	18.3 ± 0.6^{cD}	20.2 ± 0.4^{cE}
4500	6.4 ± 0.0^{aA}	6.4 ± 0.0^{dA}	6.4 ± 0.0^{eA}	6.5 ± 0.3^{eA}	6.7 ± 0.1^{eA}	7.1 ± 0.4^{gB}	7.5 ± 0.3^{dC}	7.7 ± 0.1^{dD}
5000	6.4 ± 0.0^{aA}	6.4 ± 0.0^{dA}	6.4 ± 0.0^{eA}	6.4 ± 0.0^{eA}	6.4 ± 0.0^{eA}	6.4 ± 0.0^{hA}	6.4 ± 0.1^{eA}	6.4 ± 0.1^{eA}

* The capital letters indicate the significant difference in data of a row, (difference between days), and lowercase letters indicate the significant difference in data of a column (effect of extract concentration, on the mold diameter size)

عصاره به کار رفته در این پژوهش محتوی اسیدهای آلی از جمله اسید لوریک، اسید دکانوئیک، اسید میریستیک و ۳-دِاُکسی d- مانونیک اسید بوده است. میزان اثر اسیدهای آلی در از بین بردن باکتری ها، به توانایی عبور آنها از غشای سلول باکتری مربوط می شود [۳۱]. اسیدهای آلی می توانند از دیواره سلولی باکتری ها عبور نمایند و درون سلول باکتری به یونهای سازنده خود یعنی $RCOO^-$ و H^+ تجزیه شوند. سلول های باکتری جهت حفظ pH طبیعی خود، یونهای H^+ را به محیط بیرون انتقال می دهد که این فرایند مستلزم صرف انرژی فراوانی است تا آنجا که سلول قادر به تامین انرژی برای اهداف متابولیک و تقسیمات سلولی نمی باشد و از بین می رود [۳۲]. از طرف دیگر تجمع آنیون ها ($RCOO^-$) در درون سلول سبب جلوگیری از ساخت DNA و پروتئین می شود که این امر نیز مانع تکثیر باکتری ها می شود [۳۳].

۲- عامل بسیار مهم دیگر در اختلاف بین نتایج به دست آمده بر روی کپک و باکتری، تفاوت حلال مورد استفاده و به طور کلی تکنیک عصاره گیری است. در این رابطه می توان به عنوان نمونه پژوهش شریف الرضا اشاره نمود که اثرات عصاره عناب به دست آمده از حلال های مختلف بر روی باکتری های مختلف بررسی شد. در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* ، مقادیر عددی MIC برای عصاره های هگزان، کلروفرم، اتانل و متانلی به ترتیب ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده است[۱۵].

٤- نتیجه گیری

اثر عصاره میوه عناب بر جلوگیری از رشد کپک *آسپرژیلوس فلاووس* برای اولین بار مورد مطالعه بررسی قرار گرفت اما پیش از این اثرات سلامتی بخشی، آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی این عصاره به اثبات رسیده است. بررسی ها نشان دادند این عصاره محتوی اسیدهای آلی مختلف است که به نظر می رسد یکی از عوامل فعالیت های ضدمیکروبی این عصاره باشند. هم چنین استات ها و آلدهید های پیچیده نیز در ترکیب حضور دارند که گرچه بیشتر فعالیت آنتی اکسیدانی نشان می دهند اما خواص ضد میکروبی عصاره را نیز افزایش می دهند. به طور کلی خاصیت ضدقارچی عصاره در محیط کشت آزمایشگاهی مناسب است اما در محیط دانه ذرت اثر عصاره بر کپک *آسپرژیلوس فلاووس* به میزان چشم گیری کاهش می یابد.

٥- سپاسگزاری

این مقاله برگرفته پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی است که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام گرفته است. در این جا از همه استادان و عزیزانی که در انجام این پژوهش همکاری و کمک نمودند صمیمانه قدردانی می گردد.

٦- منابع

[1] da Silva, D. G ., Funck, G. D ., da Silva, W., & Fiorentini Â. M. (2019). Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. Food Control. 95, 115-120.

[2] Rei, N. g. K., Lyu, X., Mark, R., & Ning Chen, W. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of phenolic metabolites from flavonoid – producing yeast: Potential as natural food preservative. Food chemistry. 270, 123-129.

[3] Chen, X., Ding, Y., Forrest, B., Oh, J Boussert., & Hamann, S M. (2019). Lemon yellow # 15 a new highly stable water soluble food colorant from the peel of citrus limon. Food chemistry. 270, 251-256.

[4] Hac, K., Flasinski,W. M & Romanczhk K. (2017). Essential oil as food eco-preservative: Modle system studies on the effect of temperature on limonene antibacterial activity. Food chemistry. 235, 127-135.

[5] Haskaraca, G., Juneja, V. K., Mukhopadhyay, S., & Kolsarici. N. (2019). The effects of grapefruit seed extract on the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in *sous-vide* processed döner kebabs

Food control. 95(6), 71-76.

[6] Wang, B., Han, X., Bai, Y., Lin, Z., Qiu, M., Nie, X., Wang, S., Zhang, F., Zhuang, Z., Yuan, J., & Wang, S.(2017). Effect of nitrogen metabolism on growth and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavous*. Journal of Hazardous Materials. 324, 691-700.

[7] Tayyebi, J., & Mirobolfathi, M. (2011). Aflatoxin B_1, B_2 and *Aspergillus flavous* Contamination of Several Maize Hybrid in Field. Plant pests and diseases. 69, 79-84.

[8] In Yoon, J., Al-Reza, S. M., & KangS C. (2010). Hair growth promoting effect of *Zizyphus jujuba* essential oil. Food and Chemical Toxicology. 48, 1350-1354.

[9] Wang, L., Fu, H., Wang, W., Wang, Y., Zheng, F., Ni, H., & Chen, F. (2018). Analysis of reducing sugar, organic acid and mineral in 15 cultivars of jujube (*ziziphus jujube* mill.) fruit in china. Journal of Food Composition and Analysis. 73, 10-16.

[10] Guo, Y., Ni, Y., & Kokot, S. (2016). Evaluation of chemical component and properties of the jujube fruit using near infrared spectroscopy and chemomtrics. Spectrochimica Acta Part A. Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 153, 79-88.

[11] Wu, Y., Chen, M., Du, M B., Li, Y-Y., Zhu, M., Liu, Ch., Wang, D-Y., Liu, J-G., & Hu, Y-L. (2014). Chemical constituent from the fruit of *zizyphus jujube* Mill. Var. spinosa. Biochemical systematics and ecology. 57, 6-10.

[12] Singh, G., Maurya, S., & Catalan, C. (2004). Antifungal and antioxidative effects of jwain essential oil and its acetone extract. J. Agric. Food Chemistry. 52 (11), 3292-3296.

[13] Yi, W., Chen, M., Chun, H Y., Lee, Y., Zhu, M., Lio, C., & Wang, D Y. (2014). Chemical constituent from fruit of *Ziziphus jujube* Mill. Var spinisa. Biochemical Systematics and Ecology. 57 (6), 6-10.

[14] Song, J., Bi, J., Che n, Q., W u, X., Lyu, Y., Meng, X., (2019). Assessment of sugar content, fatty acid, ree amino acids, and volatile profiles in jujube fruits at different ripening stages. 270, 344-352.

[15] Al-Reza, S. M., Rahman, A., Lee, J., & Kang, S. C. (2010). Potential roles of essential oil and organic extracts of *Zizyphus jujube* in inhibiting food-borne pathogens. Food Chemistry. 119(3), 981–986.

[16] Al-Reza, S. M., Bajpai, V. K., & Kang, S. C. (2009). Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from *Zizyphus jujuba*. Food and Chemical Toxicology. 47(9), 2374-2380.

[17] Sherif, H., Abd- Alrahman, L., Mounir, M., Salem, B., & Manal, E. A. (2013). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of EtOH/Water *Ziziphus jujube* seed extracts. PURE AND APPLIED, 7(Spl. Edn). 823-828.

[18] Kamali Rusta, Z., Gharachorlu, M., Elhamirad, A., & Azizinejad, R. (2014). Evaluation antioxidant and chelating effect of ginger extract. Food Technology & Nutrition. 3, 29-38.

[19] Labarca, V. B., Giovagnoli-Vicuña, C ., Cañas-Sarazúa, R. (2019). Optimization of extraction yield, flavonoid and lycopene fom tomato pulps by high hydrostatic pressure-assisted extraction. Food Chemistry. 278, 751-759.

[20] Ansari, F., Mehrabanrad, M., Aghaeepour, M., Belqeisi, S., & Pashazade, F. (2016). Chocolate - Specifications and test methods. 7, 1-33.

[21] Niakwosari, M., Sabet, F., Azadi, M., Bazargani, M., Bazrriz, Sh., Khosravi, M. S., Kheimehkabud, M., Razmahang, Gh. Zahed,

N., Farshdi, F., qasemi, L. Kazemi, Q., Morteza, S D., & Maafi, M J. (2006). Licourice in powder and mould form - Specifications and test methods. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 1, 1-4.

[22] Hosseini, Z. (2001). Common protocols in food analysis. Shiraz. Shiraz university. 68-71.

[23] Siavashi, F., Zeinabonesa, A., Ebrahimi, L., Edrisi, Sh., Amini, O., & Pakpur, N. (2001). Preservative – Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) Microbiological test method. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 1(1), 1-24.

[24] Gandomi nasrabadi, H., Misaqi, A., Akhundzade basti, A., Khosravi, A., Bokaee, S., & Abbasi far, A. (2006). Effect of *Zataria multifloraessential* oil on. Journal of Medicinal Plants. 3(2), 45-51.

[25] Bluma, R V., & Etcheverry, M G . (2007). Application of essential oil in maize grain: Impact on *Aspergillus* section Flavi growth parameters and aflatoxin accumulation. Food Microbiology. 25(2), 324-334.

[26] Kim, P., Lloyd, J., Kim, J W., Abdoulmoumine, N., & Labbé, N. (2016). Thermal desorption of creosote remaining in used railroad ties: Investigation TGA (thermal gravimetric spectrometry) and Py-GC/MS (pyrolysis-gas chromatography). Energy. 96, 294-302.

[27] Guo, Sh., Duan , J A., Zhang, Y., Qian, D., Tang , Y., Zhu, Zh., and Wang, H. (2015). Content change of Triterpenic Acid, Nucleosids, Nucleobases and Sacharids in jujube (*Ziziphus jujuba*) Fruit During the Drying and steaming process. 20(12), 22329-22340.

[28] Pawlowska, A. M., Camangi, F., Bader, A., & Braca, A. (2009). Flavonoids of *Zizyphus jujuba* L. and *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd (Rhamnaceae) fruits. Food Chemistry, 112(4). 858-862.

[29] Reche, J., Hernández, F., Almansa, M S. Barrachina, Á AC. Legua, P & Amorós, A . (2019). Effect of organic and conventional farming on the physicochemical and functional properties of jujube fruit. LWT. 99(2): 438-444.

[30] Reche, J., .Hernández, F., .Almansa, Á. A., Carbonell-Barrachina, M. S., Legua, P., & Amorós, A. (2018). Physicochemical and nutritional composition, volatile profile and antioxidant activity different in Spanish jujube fruit. LWL. 98, 1-8.

[31] JungHan, H., Lee, J-S., AhPark, S., BaeAhn, J., & Lee, H G. (2015). Extraction optimization and nanoencapsulation of jujube pulp and seed for enhancing antioxidant activity. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 130, 93-100.

[32] Tu, X. F., Hu, F., Thakur, K., Li Li, X., Zhang, Y., Sh & Wei, Zh J. (2018). Comparison of antibacterial effects and fumigant toxicity of essential oils extracted from different plants. Industrial Crops and Products. 124, 192-200.

[33] Isazade, S., Mousavi, N., and Taherkhani, R. (2014). Effects of Organic Acids with Different Dietary Electrolyte Balances on Growth Performance and Intestinal Microbial Population of Broiler. Research on Animal Production. 6(12), 49-60.

۷- فهرست واژگان لاتین

Ziziphus jujube Mill. ……..…….…..1
GC-MS……..……..…1
Listeria monocytogenes…….……2
Preservatives…….……..…2
Essential oils……..……2
Extracts……..…..2
Antagonistic effect……..…3
Aflatoxins (AFs)…… ……..…….....3
Aspergillus flavous……..……....3
Aspergillus Parasiticus…….…….3
Jujube…….3
Klebsiella pneumonia……....……4
Pseudomonas aeruginosa…….…….....…..4
Water activity meter…….....5
Maceration……..5
Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)…….…..…..7
Capillary……..……..……..……..…....7
Persian Type Collection
Culture(PTCC)…….....…7
Lyophilized…….....……7
Potato Dextrose Agar ….....……..7
Neubauer chamber…….....……...8
Neubauer chamber…….....….8
Minimum inhibitory concentration (MIC) …….8
in vitro…….....…8
Broth dilution……..…….……8
Saburad Dextrose Broth
one-way ANOVA……..……..…8
SPSS……..…….. …… ….8
Brix…….....…… ….10
Fat…….....…… …… ..10
Ash…….....…… …… .10
Moisture…….....… ...…… .10
aw…….....… … …10
extraction yield…….....…. .... …..10
scum extraction yield ……..... .. …….10
Retention Time.…… .....… ……10
Chemical Abstracts Service…….....… …..10
MIC…….....…..… ….10
In cito10
DNA…….....…13
Staphylococcus aureus

Identification compounds fruit of *Ziziphus jujube Mill* hydro ethanol extract and evaluation of Its antifungal effect on blanched corn grains

Malekian, M. E. [1], Sharifan, A. [2*], Akhondzade Basti, A. [3]

1. M.Sc. Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch.
2. Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Ph.D. prof, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran.

(Received: 2020/04/30 Accepted: 2020/08/01)

Nowadays, studies about antimicrobial properties of plants have been developing in order to instead to synthetic preservatives. Jujube is one of the famous herbs. Jujube (*Ziziphus jujube*. *Mill*) belongs to family of Ramnaseh and native to the central areas of the Iran plateau. The fruit, leaves and root of this plant have medicinal properties. In this study, evaluated some physico-chemical of jujube extract (Extraction yield, Moisture, water activity, Fat content, Ash, Brix) and its effect on the mold of *Aspergillus flavus*. At first the jujubes were dried under shadow and milled. Extracting was done by soaking in Hydroethanol solvent and extract was dried by freeze drier. Chemical composition of the extract was determined by GC-MS method. Then the minimum inhibitory concentration (MIC) of extract against *Aspergillus fulvous* (PTCC 5004) evaluated by the broth dilution method in liquid culture. In the next step, in order to find the effect of extract on corn grains, different concentrations of the extract were sprayed on corn grains and after placed a disk containing suspension of mold spores in center of each plates. Growth of mold on corn grains culture was measured during 7 days. The results showed that the hydroethanolic extract of jujube fruit has an anti-mold effect against *Aspergillus fulvous*. The MIC of extract in the culture medium (in vitro) was determined 350 µg / ml and the MIC of the extract in the blanched corn grain medium (in cito) was 5000 µg / ml. So, the hydroethanolic extract of jujube fruit has an inhibitory effect on *Aspergillus flavus*.

Key words: Aspergillus flavous, Ziziphus jujuba, Hydroethanolic extract, Antifungal, Maize

*Corresponding Author E-Mail Address: a_sharifan2000@yahoo.com