مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی تأثیر عصاره‌های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی روی رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس رب گوجه‌فرنگی و پیش‌بینی داده‌های حاصل‌شده با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی

مریم محبی [۱*]

۱- دانش آموخته دوره کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه مهندسی کشاورزی، علوم و صنایع غذایی، میکروبیولوژی مواد غذایی تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱ /۰۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۷

کلمات کلیدی:

کپک آسپرژیلوس فلاووس،

ضریب همبستگی،

دانه رازیانه،

کاکوتی کوهی،

شبکه عصبی مصنوعی

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.327

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.24.7

* مسئول مکاتبات:

m.mohebbi512@gmail.com

چکیده

فعالیت ضد قارچی عصاره‌های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی علیه آسپرژیلوس فلاووس در رب گوجه‌فرنگی حاوی درصدهای مختلف از عصاره‌ها مورد آزمون قرار گرفت. برای این منظور عصاره‌های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی با غلظت‌های متفاوت ۰/۵، ۱و۲ درصد تهیه گردید و در مدت زمان نگهداری ۳۵ روز بررسی شد. تاثیر عصاره های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی با غلظت های مختلف به تنهایی در محیط (in vitro) بررسی گردید. با تزریق کپک ۰/۱ میلی‌لیتر در محیط کشت آبگوشت سابرود دکستروز آگار[1] و سپس قرار دادن در دمای انکوباتور ۰/۵± ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ هفته (۳۵ روز) نگهداری شد که هر هفته یک کشت انجام گرفت تا فعالیت کپک در غلظت های مختلف عصاره‌ها بررسی گردد. نتایج فعالیت ضد قارچی سطوح مختلف عصاره‌ها نشان داد که تیمارهای ۳ (حاوی ۲ درصد عصاره دانه رازیانه) و ٤ (حاوی ۳ درصد عصاره دانه رازیانه) تا پایان دوره نگهداری در مقابل رشد میسیلیوم‌های کپک آسپرژیلوس فلاووس مقاوم بودند. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ۲ یا ۳ درصد عصاره دانه رازیانه به‌عنوان نگه‌دارنده طبیعی در رب گوجه‌فرنگی فعالیت ضد قارچی مطلوبی دارند. برای صحت سنجی و ارزیابی نتایج حاصله از آزمایشات از شبکه عصبی مصنوعی در پیش‌بینی داده‌های رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس رب گوجه‌فرنگی استفاده گردید. در این بررسی از تعداد دولایه مخفی با تعداد ۳۰ نرون استفاده شد. شبکه دارای دو ورودی غلظت عصاره و مدت زمان نگه‌داری بوده و رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس به‌عنوان تارگت در نظر گرفته شد. پارامترهای ارزیابی از قبیل ضریب همبستگی، میانگین مربعات خطا و ماکزیمم خطا نتایج بسیار مطلوبی با مقادیر ۰/۹۹۹۳، ۰/۱۰۹۳٤ و ۰/۱۳۵۳۸ را نشان دادند. هر چه مقدار خطا کمتر باشد و میزان ضریب همبستگی نزدیک یک باشد نشان از یک پیش‌بینی مطلوب است.

1. Sabouraoud Dextrose Broth

۱- مقدمه

عصاره‌های گیاهی به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی طبیعی شناخته‌شده می‌باشند. از منابع عمده آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توان پونه، نعناع، آویشن و دارچین را نام برد که برای قرن‌ها به‌عنوان مواد نگه‌دارنده مواد غذایی به کار گرفته شده‌اند و به‌عنوان گیاهان دارویی در نظر گرفته می‌شوند. این آنتی‌اکسیدان‌ها دارای تأثیرات مثبتی نظیرمحافظت در برابر بیماری‌های مزمن، سرطان، دیابت، بیماری‌های قلبی و جهش‌زایی هستند. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی در بخش‌های مختلف صنایع غذایی به‌عنوان یک عامل مؤثر در به تعویق انداختن تغییرات شیمیایی و اکسایشی و افزایش عمر ماندگاری محصولات اثبات‌شده است. ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی اسانس‌ها و عصاره‌ها نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ایفا می‌کند و معمولاً ترکیباتی که حاوی گروه‌های فنلی هستند دارای تأثیر بیشتری می‌باشند [٤-١]. کلانتری و همکاران[٥]، فعالیت ضد قارچی اسانس دارچین و مرزنگوش وحشی روی آسپرژیلوس فلاووس در محیط کشت و رب گوجه‌فرنگی را ارزیابی نمودند. نتایج نشان داد که اسانس دارچین و مرزنگوش وحشی به ترتیب در غلظت‌های ۲۰۰ و ppm ۵۰۰ قادرند به‌طور کامل از رشد آسپرژیلوس فلاووس در محیط کشت بازداری کنند. در مقابل ppm ۱۰۰ از اسانس دارچین و مرزنگوش وحشی به ترتیب ۸٦/۷ و ۸۲ درصد بازدارندگی در رب گوجه‌فرنگی داشتند. امید بیگی و همکاران[٦] فعالیت روغن‌های ضروری آویشن، مرزه و میخک را روی آسپرژیلوس فلاوئوس در محیط مایع و رب گوجه‌فرنگی موردمطالعه قراردادند. نتایج نشان داد که همه روغن‌های ضروری می‌تواند از رشد آسپرژیلوس فلاوئوس جلوگیری نمایند و روغن‌های آویشن و مرزه قوی‌ترین بازدارندگی به ترتیب در ppm ۳۵۰ و ppm ۵۰۰ را داشتند. اولانیران و همکاران[٧] اثر نگهداری زیستی پودر زنجبیل و سیر روی خصوصیات رب گوجه‌فرنگی را مورد ارزیابی و مطالعه قراردادند. نتایج نشان داد که تعداد سلول‌های زنده و باکتری‌های اسیدلاکتیکی نمونه شاهد به ترتیب از محدوده ۳/٤۲ تا ۱۳/٤۵ و از ۵/۷۹ تا ۱۷/۷٤ (log CFU/g) بود، درحالی‌که نمونه‌های حاوی سیر و زنجبیل به ترتیب دارای تعداد سلول زنده از محدوده ٤/۸۷-۳/۳٤ تا ٤/۸٦-۳/۳۹ (log CFU/g) در طول دوره نگهداری بود. طبق نتایج این مطالعه، ترکیب سیر و زنجبیل (۲ و ٤ درصد) از فاسدشدن رب گوجه‌فرنگی به مدت ۸ هفته در دمای یخچال (٤±۱ درجه سانتی‌گراد) جلوگیری می‌کند. طباطبایی یزدی و همکاران [۸] در پژوهشی اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان تیره نعناع (آویشن و نعناع و کاکوتی) در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس و ژئوتریکوم کاندیدوم در نمونه‌های دوغ صنعتی را مورد بررسی قراردادند. برای این منظور ۳ سطح غلظت از هر عصاره (۰/۱۵ و ۰/۰۷۵ و ۰ واحد حجمی) تهیه گردید. پس از بررسی و مقایسه نتایج اثر عصاره ترکیبات بازدارنده طبیعی در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس و ژئوتریکوم کاندیدوم در نمونه‌های دوغ مشخص کرد که عصاره گیاهان تیره نعناع به میزان بیشتری بر کاهش جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر داشت. سیدیم و همکاران [۹] خصوصیات ضد میکروبی فیلم ایزوله پروتئین آب‌پنیر محتوای ٤-۱ درصد (وزنی- حجمی) روغن‌های ضروری پونه کوهی، رز ماری و سیر را علیه E.coli، استافیلوکوکوس اروئوس، سالمونلا اینتریتیدیس، لیستریا مونوسیتوژنز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم مورد سنجش قراردادند. هاله‌های جلوگیری بعد از دوره گرمخانه گذاری اندازه‌گیری شد. فیلم دارای روغن‌های ضروری پونه کوهی علیه باکتری‌ها در سطح ۲ درصد از سایر فیلم‌های محتوی عصاره رز ماری و سیر مؤثرتر بود. استفاده از روغن‌های ضروری رز ماری همراه با فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر هیچ‌گونه فعالیت ضد میکروبی را از خود نشان نداد درحالی‌که اثر بازدارندگی فیلم‌های حاوی روغن‌های ضروری سیر تنها در سطوح ۳ و ٤ درصد مشاهده شد. حسین و همکاران[۱۰]اثر ضد کپکی عصاره و ترکیبات فنولیک گیاه جدوا[۲] را مورد بررسی قراردادند. کپک‌های مورد مطالعه پژوهش آن‌ها فوزاریوم[۳]، تریکودرما کونینگی[٤]، پنی‌سلیوم[۵]، گانودرما تروپیکوم[٦]،

2. Barringtonia racemosa
3. Fusarium sp
4. Tricoderma koningii

گانودرما لوسیدوم[۷]، آسپرژیلوس[۸] و رایزوپوس[۹] بوده است. بیشترین خاصیت ضد میکروبی در عصاره متانولی مشاهده شده است که این عصاره بیشترین اثر ممانعت کنندگی بر رشد کپک‌های یادشده را در آزمایش داشته است. عصاره متانولی از قسمت برگ گیاه جدوا بیشترین اثر ممانعت کنندگی را به ترتیب بر: فوزاریوم (۵۳/۴۵ درصد)، گانودرما لوسیدوم (۳۴/۵۷ درصد)، آسپرژیلوس (۳۲/۲۷ درصد) و تریکودرما کونینگی (۲۰/۹۹ درصد) از خود نشان داده است. در مورد عصاره آبی از برگ گیاه جدوا، کپک فوزاریوم بیشترین حساسیت را از خود نشان داده است. همچنین عصاره اتانولی برگ جدوا بیشترین اثر ممانعت کنندگی را بر کپک رایزوپوس داشته است. عصاره آبی از قسمت‌های مختلف گیاه هیچ‌گونه اثر مشخصی بر کپک‌های گانودرما تروپیکوم و تریکودرما کونینگی نداشته است. در بین کپک‌های مورد آزمایش، فوزاریوم در مقایسه با بقیه کپک‌ها بیشترین حساسیت را از خود نشان داده است. آن‌ها دلیل قدرت ضد کپکی متفاوت در عصاره‌ها را به خاطر میزان متفاوت ترکیبات فنولیک و مؤثر در عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی عنوان کرده‌اند. در بررسی دیگری که توسط داوودی مقدم و همکاران[۱۱]صورت گرفت، فعالیت ضد قارچی (آسپرژیلوس فلاووس و آسپرزیلوس پارازیتیکوس) روغن‌های ضروری گیاه کاکوتی کوهی و قابلیت آن را در بازدارندگی آفلاتوکسین دردانه ذرت مورد بررسی قراردادند. نتایج نشان داد که روغن‌های ضروری گیاه کاکوتی کوهی روی آسپرژیلوس پارازیتیکوس مؤثرتر از آسپرژیلوی فلاووس در هر دو نوع آزمون شرایط آزمایشگاهی[۱۰] و شرایط بدن[۱۱] بود. روغن‌های ضروری گیاه کاکوتی کوهی در محیط کشت مایع شاخص حداقل غلظت بازدارنده یکسانی را علیه گونه‌های قارچی نشان داد، درحالی‌که این عصاره‌ها فعالیت‌های مختلفی را علیه آسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس به ترتیب با شاخص‌های حداقل غلظت کشنده ۷۸۱/۲۵ و ۳۹۰/۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از خود نشان دادند. تحت شرایط نگهداری ذرت، تولید آفلاتوکسین B_1 در غلظت‌های ۶۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای آسپرژیلوس فلاووس و ۶۲۵۰ و ۳۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای آسپرژیلوس پارازیتیکوس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در حداقل غلظت‌ها، تولید آفلاتوکسین به‌تدریج افزایش یافت. فعالیت ضد قارچی روغن‌های ضروری استخراج‌شده از دانه رازیانه برای استفاده به‌عنوان نگه‌دارنده غذایی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که روغن‌های ضروری دانه رازیانه اثر بازدارندگی روی گونه‌های مورد آزمون (آلترناریا، آئروبازیدیوم، آسپرژیلوس فومیگاتوس، فوزاریوم، پنی‌سیلیوم، رایزوپوس و تریشوفیتونروبارو) داشتند. روش رقت برای ارزیابی شاخص‌های حداقل غلظت بازدارنده قارچی و حداقل غلظت کشنده قارچی مورداستفاده قرار گرفت. این شاخص‌ها برای گیاه رازیانه بین ۶۲۵ تا ۱۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. طی این مطالعه اندیس ضد قارچی نیز تخمین زده شد و مشخص شد که گونه آلترناریا حساس‌ترین گونه بود[۱۲]. بررسی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی روغن‌های ضروری کاکوتی کوهی در شرایط آزمایشگاهی علیه برخی از باکتری‌های بیماری‌زا (استافیلوکوکوس اروئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا انتریکا و انتروباکتر آئروژنز) مورد مطالعه قرار گرفت. طی این بررسی ترکیبات شیمیایی از قسمت‌های هوایی گیاه کاکوتی کوهی به دست آمد. ترکیبات اصلی به ترتیب شامل پولگون، پیپریتنون[۱۲]، ۱–۸–سینئول[۱۳]، نئو–منتول[۱۴]، منس–۲–ان–۱–ال[۱۵]، منتول[۱۶]، کارواکرول[۱۷] و منتون[۱۸] بودند. این روغن‌های فعالیت مناسبی علیه باکتری‌های مورد آزمون به‌جز سودوموناس آئروژینوزا داشتند که احتمالاً به دلیل میزان بالای پولگون در ترکیبات آن‌ها می‌باشد. ازاین‌رو، روغن‌های ضروری کاکوتی کوهی گیاه دارویی مناسب علیه برخی از باکتری‌های

5. Penicillium sp
6. Ganoderma tropicum
7. Ganoderma lucidum
8. Aspergillus sp
9. Rhizopus sp
10. In Vitro
11. In Vivo
12. Piperitenone
13. 1-8- Cineole
14. Neo-Menthol
15. Menth-2-En-1- Ol
16. Menthol
17. Carvacrol
18. Menthone

بیماری‌زای انسانی می‌باشد[۱۳]. خالد و همکاران[۱٤]، پتانسیل ضد قارچی روغن‌های ضروری دانه و برگ رازیانه را علیه قارچ‌های فیتوپاتوژنیک (آلترناریا، پنی‌سیلیوم اکسپانسوم، رایزوپوس استولونیفر، فوزاریوم و آسپرژیلوس) موردمطالعه قراردادند. آنالیز روغن‌های ضروری به‌دست‌آمده از هر دو قسمت گیاه نشان داد که ترانس-آنتول[19] و سپس استراگول[20] اصلی‌ترین ترکیبات بودند. بررسی فعالیت ضد قارچی دانه و برگ گیاه رازیانه بر اساس روش مواد غذایی سمی و آزمون فعالیت ترکیبات فرار علیه ۵ قارچ بیماری‌زا انجام شد. نتایج نشان داد که روغن‌های ضروری گیاه رازیانه توانایی جلوگیری از رشد میسیلیوم‌گونه‌های قارچی را دارا بود. بررسی‌ها این‌طور نشان داد که آزمون ترکیبات فرار بسیار حساس‌تر از روش مواد غذایی سمی بود. رشد میسیلیوم قارچ‌های آلترناریا، فوزاریوم و آسپرژیلوس به‌وسیله روغن‌های ضروری به‌دست‌آمده از برگ‌های رازیانه کاملاً متوقف شد. محققین بیان کردن که حساس‌ترین گونه به روغن‌های ضروری گیاه گونه رایزوپوس استولونیفر بود. در بررسی حاضر فعالیت ضد قارچی عصاره‌های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی علیه آسپرژیلوس فلاووس در رب گوجه‌فرنگی حاوی درصدهای مختلف از عصاره‌ها مورد آزمون قرار خواهد گرفت. نوآوری مطالعه حاضر استفاده از شبکه عصبی مصنوعی در پیش‌بینی داده‌های رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس رب گوجه‌فرنگی با تعداد دولایه میانی (مخفی) و نرون های متفاوت خواهد بود. این شبکه عصبی با تعداد ۲ ورودی (غلظت عصاره و مدت‌زمان نگه‌داری) و یک خروجی (رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس) بررسی خواهد شد. ارزیابی شبکه عصبی مورد بررسی با پارمترهای ضریب همبستگی، میانگین مربعات خطا و ماکزیمم خطا صورت خواهد گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

در این بررسی رب گوجه‌فرنگی، گیاه کاکوتی کوهی، دانه رازیانه، به ترتیب از شرکت یک و یک، دانشگاه تهران و منطقه زنجان تهیه گردید. کپک آسپرژیلوس فلاووس، محیط‌های کشت پتتو دکستروز آگار و سابرود دکستروز براث به ترتیب از شرکت مرک آلمان خریداری شد. همچنین از انکوبانور، آون و بن ماری با (برند memmert ساخت کشور آلمان) استفاده شد. سایر تجهیزات از قبیل pH متر رومیزی (مدل ۳۵۱۰ ساخت کمپانی JENWAYانگلستان)، ترازوی دیجیتالی با (برند Sartorios با دقت ۰/۰۰۱ (مدل Quintix124-1s ساخت کشور آلمان)، دستگاه GC-MS (مدل QP2010 SE شیمادزو ساخت کشور ژاپن)، رفرکتومتر (ATAGOمدل MASTER-50H ساخت کشور ژاپن)، اتوکلاو ریحان طب ساخت کشور ایران، دستگاه کلنی شمار (RTC ساخت کشور چین) و هود میکروبی بهداد ساخت کشور ایران استفاده گردید.

۲-۱- تهیه عصاره‌های الکلی دانه رازیانه و برگ کاکوتی کوهی

برای تهیه عصاره‌های الکلی دانه رازیانه[21] و گیاه کاکوتی کوهی[22] از دستگاه آسیاب با مش ٤۰ استفاده گردید. ابتدا به مقدار لازم (در حدود ۳۰ گرم) از پودر نمونه‌های تهیه شده دانه رازیانه و گیاه کاکوتی در داخل ارلن های جداگانه‌ای ریخته شد و سپس هرکدام از نمونه‌ها با ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درجه (با نسبت ۱ به ۳) مخلوط شدند. ظرف حاوی نمونه‌ها هرکدام به‌صورت جداگانه بر روی همزن مغناطیسی قرارگرفته تا کاملاً نمونه‌ها با یکدیگر مخلوط شوند. پس از مخلوط شدن کامل نمونه‌ها، آن‌ها توسط کاغذ واتمن ٤۲ صاف گردیدند و محلول حاصل‌شده برای تغلیظ عصاره با دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلأ (روتاری اواپراتور Heidolph ساخت کشور آلمان) در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده تا به ترکیبات فنولی آسیب وارد نشود.سپس عصاره به‌دست‌آمده به مدت یک ساعت با صافی میلی پور سرنگی ۰/۲۵ میکرون فیلتر گردید و تا زمان استفاده در ظرف تیره و استریل شده نگهداری شد[٦]. در شکل‌های ۱ و ۲ رب گوجه‌فرنگی همراه با غلظت‌های متفاوت عصاره‌های دانه رازیانه و برگ کاکوتی کوهی نشان داده شده است.

19. Trans-Anethole
20. Estragol
21. Foeniculum Vulgare Mill
22. Ziziphora Clinopodioides Lam

Fig 1 Samples of tomato paste with different concentrations of Foeniculum vulgare Mill extract

Fig 2 Samples of tomato paste with different concentrations of Ziziphora clinopodioides Lam extract

۲-۲- آماده‌سازی نمونه‌ها

برای تهیه سوسپانسیون اسپور، از کپک آسپرژیلوس فلاووس تهیه شده از بخش قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران استفاده شد. ابتدا کپک را در محیط آبگوشت پتتو دکستروز آگار[۲۳] شیب‌دار به مدت ۱۰-۷ روز در دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردید تا اسپور تولید شود.۱۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ اضافه شد و با میله شیشه‌ای خمیده استریل، سطح کشت جهت برداشت اسپور به‌آرامی خراش داده شد. به‌منظور حذف قطعات میسلیوم، سوسپانسیون با استفاده از پشم شیشه فیلتر شد. تعداد اسپور به‌وسیله هموسیتومتر شمارش گردید و غلظت اسپور توسط محلول ۰/۰۵ توین ۸۰ به 10^5 اسپور در هر میلی‌لیتر رسانده شد[۱۵]. برای تعیین MIC[۲۴] (حداقل غلظت بازدارنده) از روش تعیین طول موج استفاده گردید، که توسط دستگاه جذب طول موج نوری اسپکتوفتومتر (مدل QP2010 SE شیمادزو ساخت کشور ژاپن)، صورت پذیرفت. ابتدا محلول نیم مک فارلند در سل اسپکتوفتومتر ریخته شد و جذب در طول‌موج ۶۲۰ نانومتر باید بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ باشد که در این حالت شمارش کپک $1/5 \times 10^8$ را نشان می‌دهد صورت پذیرفت. برای به دست آوردن کپک آسپرژیلوس فلاووس آن را تا 10^5 باید رقت سازی کرد[۱۶]. برای این منظور ابتدا میزان کپک مورد نظر با استفاده از طول‌موج نیم مک فارلند در محیط کشت مایع مثل سابروز براث خوانده‌شده و با استفاده از لوله حاوی سوسپانسیون کپک در چندین لوله رقت سازی انجام گرفت و از این رقت‌ها جهت تلقیح باکتری به میزان موردنظر (10^5cfu/ml)، استفاده گردید[۶]. برای تلقیح نمونه‌های با ۱۰۰ گرم رب گوجه‌فرنگی (یک و یک) پاستوریزاسیون شده با دمای ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت زمان ۲۰ دقیقه با pH= ۴/۳ و سپس عصاره‌های گیاه کاکوتی کوهی و دانه رازیانه به‌وسیله فیلتر یا صافی میلی پور سرنگی ۰/۲۵ میکرون استریل کرده و با غلظت‌های ۰/۲،۱،۵ و ۳ درصد در شرایط کاملاً استریل در ظرف‌های جداگانه به رب گوجه‌فرنگی اضافه گردید و از سوسپانسیون کپک آسپرژیلوس فلاووس با غلظت نهایی 10^5cfu/ml به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر اضافه شد و درنهایت در انکوباتور (برند memmert ساخت کشور آلمان) با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ روز نگهداری شدند و هر هفته یک بار کشت میکروبی به‌منظور بررسی میزان رشد صورت گرفت[۶]. در موقع کشت میکروبی از نمونه رب گوجه‌فرنگی به رقت 10^{-3} با محیط کشت آبگوشت پتتو دکستروز آگاربه مقدار ۱۴ سی‌سی در هر پلیت ریخته شد سپس در کنار شعله و در شرایط کاملاً استریل بعد از بستن ژل در انکوباتور در دمای ۰/۵± ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید و بعد از ۷ روز پلیت ها را از انکوباتور بیرون آورده و کپک‌ها شمارش

23. Potato Dextrose Agar
24. Minimum Inihibitory Concentration

گردیدند. اندازه‌گیری فعالیت کپک با استفاده از روش رقیق‌سازی آگارصورت گرفت. محلول رقیق‌سازی حاوی پپتون و نمک طعام است که در نهایت با میکروسکوپ الکترونی بررسی گردید. آنالیز به شرح زیر با ۳ بار تکرار انجام شد. محیط (in vitro) شامل رب گوجه فرنگی، عصاره های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی با غلظت های متفاوت همراه با اسپور کپک آسپرژیلوس بود که محیط کشت آن آبگوشت پتتو دکستروز آگار می باشد. سپس با تزریق کپک ۰/۱ میلی‌لیتر در محیط کشت آبگوشت سابرود دکستروز آگار[۲۵] و قرار دادن در دمای انکوباتور ۰/۵± ۲۵ درجه سانتی گراد، به مدت ۵ هفته (۳۵ روز) نگهداری شد که هر هفته یک کشت انجام گرفت تا فعالیت کپک در غلظت های مختلف عصاره‌ها بررسی گردد. در موقع کشت میکروبی از مایع همراه با اسپور کپک که شامل غلظت های مختلف عصاره های دانه رازیانه وکاکوتی کوهی است به مقدار ۱ میلی‌لیتر برداشته شد و سپس دکستروز آگار به مقدار ۱٤ سی‌سی در هر پلیت ریخته شد و در کنار شعله در شرایط کاملاً استریل بعد از بستن ژل در انکوباتور در دمای ۰/۵± ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید و بعد از ۷ روز پلیت ها را از انکوباتور بیرون آورده و کپک‌ها با روش رقیق‌سازی و با میکروسکوپ الکترونی شمارش گردید[۵].

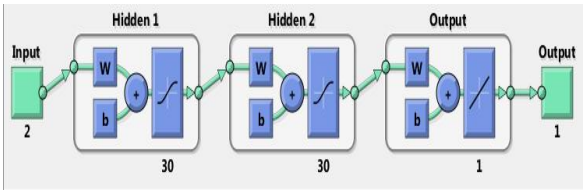
۳- شبکه‌های عصبی مصنوعی

شبکه عصبی مصنوعی[۲۶] که از سیستم عصبی زیستی الهام گرفته‌شده و به پردازش اطلاعات می‌پردازد. این سیستم از شمار زیادی عناصر پردازشی فوق‌العاده به‌هم‌پیوسته به نام نرون تشکیل‌شده که برای حل یک مسأله باهم هماهنگ عمل می‌کنند. این شبکه با استفاده از الگوریتم‌های یادگیری، از پیرامون خود اطلاعات را جمع‌آوری کرده و سپس آن‌ها را برای بهره‌برداری مهیا می‌گرداند. ارتباطی بین خروجی هر نرون با ورودی‌های نرون های دیگر وجود دارد که با توجه به تأثیر خروجی نرون در خروجی نرون های دیگر هر ارتباط با وزن خاصی مشخص می‌شود .با استفاده از وزن‌ها در حقیقت ذخیره‌سازی انجام می‌شود. یکی از انواع شبکه‌های عصبی می‌توان به شبکه عصبی پرسپترون[۲۷] اشاره کرد .یک پرسپترون برداری از ورودی‌ها با مقادیر حقیقی را گرفته و یک ترکیب خطی از این ورودی‌ها را محاسبه می‌کند. درصورتی‌که حاصل این محاسبات از یک مقدار آستانه بیشتر شود، خروجی پرسپترون برابر با یک و در غیر این صورت معادل با منفی یک خواهد بود. شاخص‌های ارزیابی شبکه عصبی پرسپترون که با الگوریتم لونبرگ مارکوات[۲۸] کار می‌کند ضریب همبستگی و میانگین مربعات خطا می‌باشد که در بررسی حاضر طبق معادلات زیر بیان می‌شود[۱۷].

$$R^2 = \left(1 - \left[\frac{\left[\left(\sum_{i=0}^{n}\left(e_{i(Exp)} - e_{i(Ann)}\right)\right]^2\right)}{\sum_{k=0}^{n}\left(e_{Exp}\right)^2}\right]\right) \quad (1)$$

$$\text{MSE(Mean Squared Error)} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}\left(e_{i(Exp)} - e_{i(Ann)}\right)^2 \quad (2)$$

در معادلات $e_{i(Ann)}, e_{i(Exp)}, \text{MSE}, R^2$ به ترتیب ضریب همبستگی، میانگین مربعات خطا، مقادیر داده‌های آزمایشگاهی و نتایج حاصل‌شده توسط شبکه عصبی مصنوعی می‌باشد. در شکل ۳ شماتیک کلی شبکه عصبی مورد استفاده در این بررسی نشان داده شده است.



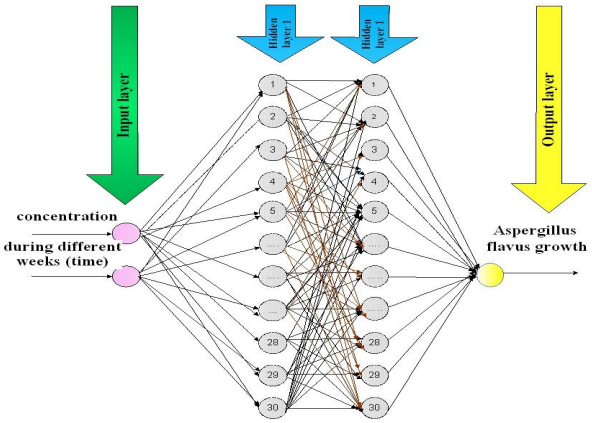


Fig 3 Neural network with two hidden layers with 30 neurons in each layer

25. Sabouraoud Dextrose Broth
26. Artificial Neural Networks

27. Perceptron
28. Levenberg-Marquardt

٤- بحث و نتیجه‌گیری

٤-١- شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌های دانه رازیانه وکاکوتی کوهی

برای شناسایی ترکیبات عصاره ها ابتدا آن ها برای تزریق به دستگاه GC- mass آماده گردید و به دستگاه تزریق شد. در شکل های ٤ و٥ کروماتوگرام عصاره دانه رازیانه و کاکوتی کوهی نشان داده شده است. جداول ۱ و۲ آنالیز ترکیبات عصاره دانه رازیانه وکاکوتی کوهی می باشد. هدف از آنالیز ترکیب عصارها بررسی ساختار آن ها بوده که آیا می تواند به عنوان یک باز نگه دارنده در جلوگیری از رشد کپک عمل نموده و یا رشد آن را کم کند.

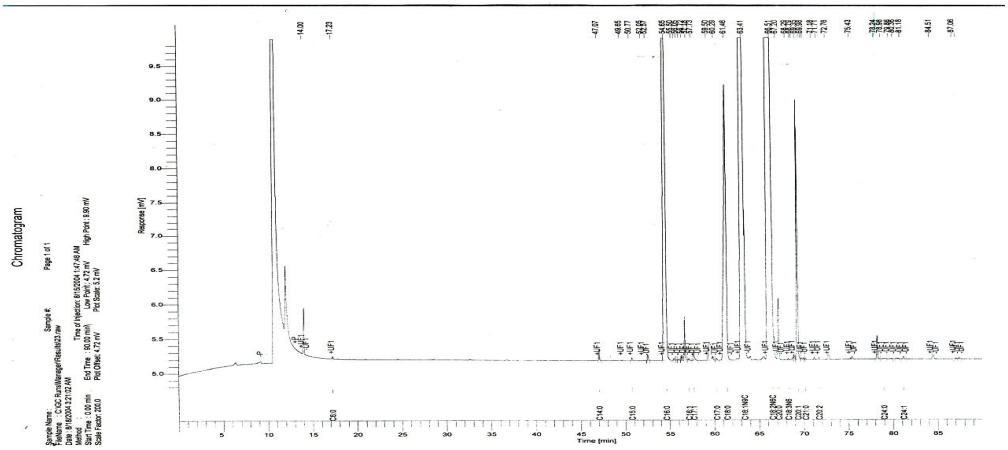


Fig 4 The chromatogram of Foeniculum Vulgare Mill extract

Table 1 The compounds of Foeniculum Vulgare Mill extract

Total%	Compound	Total%	Compound
0.23	γ-terpinene	78.23	(E)-anethole
0.22	fenchone	6.48	(E)-anethole
0.19	methyl chavicol	4.53	α-pinene
0.17	trans-carveol	2.18	camphene
0.16	fenchyl acetate	1.12	sabinene
0.06	1,8-cineole	0.98	β-pinene
96.18	Total identified	0.61	myrcene
		0.54	α-phellandrene
		0.48	camphor

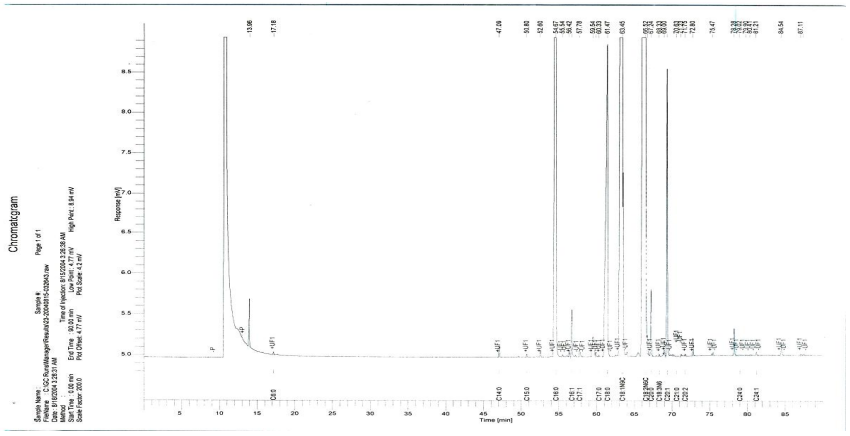


Fig 5 The chromatogram of ziziphora clinopodioides Lam. Extract

Table 2 The compounds of ziziphora clinopodioides Lam. Extract

Total%	Compound	Total%	Compound
3.22	thymol	27.81	pulegone
2.64	neomenthol	12.92	menthol
2.31	alpha-pinene	9.69	menthone
1.89	neomenthol	7.82	limonene
1.69	ortho-cymene	4.58	piperitenone
1.64	1,8-cineole	4.12	n-nonadecane
1.52	piperitone	4	n-octadecane
0.98	gamma-terpinene	3.98	hexadecane
0.95	carvone	3.7	n-heptadecane
96.3	Total identified	0.84	pentadecane

٤-٢- بررسی رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس در رب گوجه‌فرنگی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی در محیط vitro

نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره دانه رازیانه و عصاره کاکوتی کوهی روی میزان رشد کپک آسپرژیلوس فلاوئوس در محیط (in vitro) در جدول ۳ و شکل ٦ نشان داده‌شده است. همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده، رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس در محیط رب گوجه‌فرنگی حاوی درصدهای مختلف دو نوع عصاره وابسته به غلظت عصاره‌ها و مدت‌زمان نگهداری نمونه‌ها بود. در spss خروجی دانکن گروه‌های میانگین برابر دارند عبارت‌اند، از گروه‌های دارای عصاره رازیانه ۲٪ وکاکوتی کوهی ۳ ٪ با یکدیگر برابر هستند، گروه‌های دارای عصاره رازیانه ۱٪ و کاکوتی کوهی ۳ ٪ با یکدیگر برابر هستند، گروه‌های دارای عصاره رازیانه ۱٪ و کاکوتی کوهی ۲٪ با یکدیگر برابر هستند، گروه‌های دارای عصاره رازیانه ۰/۵٪ وکاکوتی کوهی ۱٪ و ۲ ٪ با یکدیگر برابر هستند، گروه‌های دارای عصاره کاکوتی ۱٪ و ۰/۵٪ با یکدیگر برابر هستند (جدول ٤). مشاهده می‌شود که با افزایش درصد عصاره‌های رازیانه و کاکوتی درصد کپک کاهش می‌یابد البته در گروه‌های دارای عصاره رازیانه ۲ و ۳ درصد میانگین صفر بوده است که بهترین گروه‌ها ازلحاظ عدم وجود کپک هستند. در طول دوره نگهداری ۵ هفته‌ای هیچ‌گونه میسیلوم کپکی روی آن‌ها دیده نشد و سه بار هم تکرار شد و در مقابل رشد کپکی مقاومت از خود نشان دادند و مانع از رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس شده‌اند. حداقل غلظت باکتری کشی[۲۹](MBC) در عصاره دانه رازیانه در غلظت ۳ و ۲ درصد می‌باشد. در محیط بدون رب گوجه‌فرنگی رشد کپک در محیط مایع در غلظت‌های مختلف عصاره ها هم توقف رشد کپک در ۲ و ۳ درصد دانه رازیانه رانشان می‌دهد.

فعالیت ضد میکروبی ترکیبات مختلف موجود در عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی بخصوص ترکیبات فنولی در مقالات مختلف گزارش‌شده است. خالد و همکاران[١٤]، تأثیر استفاده از اسانس دانه رازیانه را روی پاتوژن‌های کپکی مختلف مورد ارزیابی قراردادند. این محققین بیان کردند که به‌کارگیری اسانس دانه رازیانه قادر به جلوگیری از رشد میسیلیوم‌های همه کپک‌های مورد مطالعه می‌باشد. داوودی مقدم و همکاران[١١]، تأثیر استفاده از اسانس کاکوتی کوهی به‌منظور جلوگیری از تولید آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس فلاوئوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس را مورد مطالعه قرار دادند.

29. Minimum Bacteriocidal Concenteration

Table 3 Aspergillus flavus growth variations in terms of log cfu / ml in tomato paste containing Foeniculum Vulgare Mill and ziziphora clinopodioides Lam. extracts in vitro

Aspergillus flavus growth variations during different weeks					
Fifth week	Fourth week	Third week	Second week	First week	Sample
6.992±0. 19 ^{Aa}	6.608±0.16 ^{Bb}	6.107±0.42 ^{Bb}	5.600±0.09 ^{Ab}	5.000±0.00 ^{Ad}	Control
5.192±0. 07 ^{Ab}	4.431±0.57 ^{Ab}	4.303±0.058 ^{Ab}	3.676±1.15 ^{Ab}	3.213±1.00 ^{Ac}	Treatment 1
4.819±0. 49 ^{Ab}	4.192±0.58 ^{Ab}	3.310±0.99 ^{Ab}	2.567±1.10 ^{Ab}	1.104±1.00 ^{Ab}	Treatment 2
0.00± 0.007 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	Treatment 3
0.00± 0.00 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	0.00± 0.00 ^{Cb}	Treatment 4
6.626±0.00 ^{Aa}	5.566±0.00 ^{Bb}	4.933±0.58 ^{Ab}	4.426±0.00 ^{Ab}	4.266±0.00 ^{Ad}	Treatment 5
5.517±0.00 ^{Bb}	5.253±0.00 ^{Bb}	4.293±0.05 ^{Ab}	3.873±0.56 ^{Ab}	3.459±0.58 ^{Ac}	Treatment 6
5.121±0.00 ^{Fb}	4.666±0.00 ^{Db}	3.923±0.52 ^{Cb}	3.033±0.00 ^{Bb}	2.185±0.06 ^{Ab}	Treatment 7
4.982±0.52 ^{Fb}	3.899±0.58 ^{Db}	3.024±0.17 ^{Cb}	2.133±0.00 ^{Bb}	1.130±0.02 ^{Af}	Treatment 8

* Different capital letters in a row represent significant difference ($p < 0.05$).
* Different small letters in a coloumn represent significant difference ($p < 0.05$).
Treatment 1 (containing 0.5% fennel seed extract), treatment 2 (containing 1% fennel seed extract), treatment 3 (containing 2% fennel seed extract), treatment 4(containing 3% fennel seed extract), treatment 5 (containing 0.5% ziziphora clinopodioides Lam. extract), treatment 6 (containing 1% ziziphora clinopodioides Lam. extract), treatment 7 (containing 2% ziziphora clinopodioides Lam. extract) and treatment 8 (containing 3% ziziphora clinopodioides Lam. extract).

Table 4 Variance analysis of Aspergillus flavus growth

P	F	Mean squares	Degree of freedom	Source variation
0.000*	84.997	16.790	4	Storage time (A)
0.000*	327.300	64.655	8	Sample type (B)
0.000*	4.210	0.832	32	Interaction (A×B)
	R-Sq (R^2)	95.8%		

*Significant difference at probability level 5%

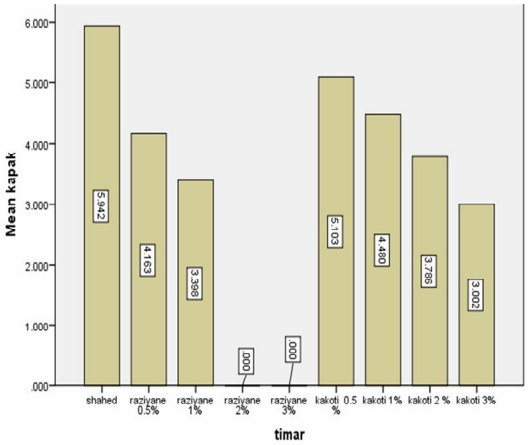


Fig 6 Growth changes of Aspergillus flavus mold in terms of log cfu/ml in tomato paste and different concentrations of Foeniculum Vulgare Mill and ziziphora clinopodioides Lam. extracts during storage in vitro

نتایج حاصل از مطالعه این محققین نشان داد که استفاده از اسانس کاکوتی کوهی باعث جلوگیری از رشد هر دو کپک شد اما تأثیر آن روی آسپرژیلوس پارازیتیکوس بیشتر بود. همچنین استفاده از این اسانس به‌طور مؤثری باعث کاهش تولید آفلاتوکسین دردانه ذرت توسط دو کپک مذکور شد. نوشیروانی و همکاران [۱۹] ارزیابی اثرات ضد کپکی و ضد اکسایشی عصاره گیاه رازیانه را انجام دادند. نتایج آن ها نشان داد که عصاره رازیانه به ویژه در غلظت‌های بالا فعالیت به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH[30] بالایی را داشت، هر چند اثر آن کمتر از TBHQ[31] بود. نتایج فعالیت اکسیداسیونی نشان داد که عصاره و پودر رازیانه سرعت اکسیداسیون روغن دانه آفتابگردان را در مقایسه با نمونه شاهد کاهش دادند. بر اساس نتایج بدست آمده عصاره رازیانه به عنوان یک منبع گیاهی سالم با ویژگی‌های خوب ضد اکسیداسیونی و ضد کپکی قابل استفاده می‌باشد. پس بنابراین می‌توان نتیجه

30. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
31. Tert-Butylhydroquinone

گرفت که حضور ترکیبات فعالی از قبیل آنتول، پولگون و تیمول در هر دو عصاره عامل فعالیت ضد کپکی آن‌ها در رب گوجه‌فرنگی می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۷ دیده می‌شود مقادیر حاصل‌شده خطا حول مقدار صفر پراکنده شده است. بیشترین و کمترین مقدار خطا در بازه ۰/۲۵ و ۰/۲- می‌باشد. بیشتر مقادیر حاصل‌شده از شبکه دارای مقدار خطای صفر بوده و بیشترین مقدار خطا در نمونه‌ها ۱ تا ۱۰ صورت پذیرفته شده است.

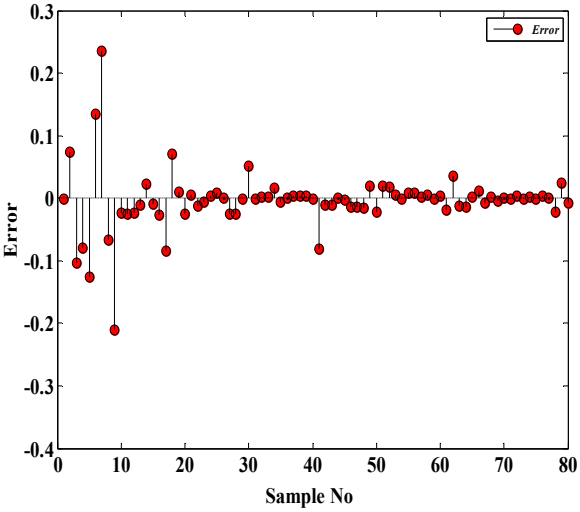


Fig 7 The values obtained by error with the number of samples

هر چه پراکندگی داده‌ها روی خط صفر باشد نتیجه مطلوب‌تر بوده و شبکه موفقیت بیشتری در پیش‌بینی دارد[۱۸-۱۷]. شکل ۸ مقایسه‌ای بین داده‌های آزمایشگاهی و پیش‌بینی‌شده رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس توسط شبکه عصبی مصنوعی با تعداد ۳۰ نرون در هر لایه مخفی را نشان می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود داده‌ها حول خط ٤٥ درجه پراکنده شده‌اند و هر چه این نقاط روی خط ٤٥ درجه باشند ضریب همبستگی بالاتر بوده و نزدیک ۱ می‌باشد. مقادیر حاصل‌شده ضریب همبستگی، میانگین مربعات خطا و ماکزیمم خطا به ترتیب برابر با ۰/۹۹۹۳، ۰/۰۰۱۰۹۳٤ و ۰/۱۳۵۳۸ می‌باشد. نتایج حاصل از این پیش بینی با نتایج حاصل شده از بررسی مختاریان و همکاران [۲۰] همخوانی خوبی دارد.آنها از شبکه عصبی پرسپترون برای پیش بینی نسبت رطوبت و سرعت خشک کردن اسلایس های گوجه فرنگی استفاده کردند. بهترین چیدمان شبکه عصبی برای شبکه اول بر اساس یک لایه پنهان،۲و۸ نرون در لایه پنهان به ترتیب برای نسبت رطوبت وآهنگ خشک کردن بود. مقادیر ضریب همبستگی و مقدار خطای حاصل شده به ترتیب برابر با۰/۹۹۹ و۳۳/٤۳ می باشد. کارایی استفاده از شبکه عصبی توسط هاشم لو و همکاران [۲۱] در مدلسازی عملیات سرخ کردن گوجه فرنگی خشک شده درمحلول های اسمزی مختلف (شکر و نمک) با غلظت های مختلف و روغن های کنجد و آفتاب گردان در دما و زمان های مختلف بررسی گردید.

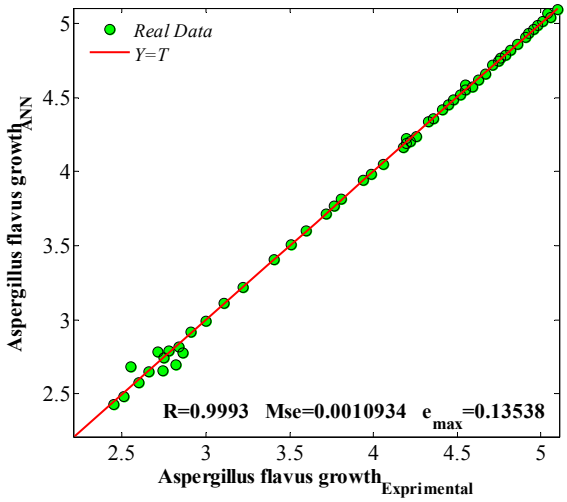


Fig 8 Comparison of Experimental values and artificial neural network of Aspergillus flavus mold growth

ورودی های بکار رفته در شبکه های عصبی شامل دمای خشک کردن، دمای سرخ کردن، نوع روغن و غلظت محلول اسمزی وخروجی ها شامل مقدار رطوبت و مقادیر رنگ نمونه L, a, b بود. نتایج حاصله نشان داد که شبکه ای با دو لایه پنهان و در هر لایه ۵ نرون، بهترین نتیجه را برای پیش بینی مقدارررطوبت و مقدارL دارد. بطور کلی نتایج این بررسی نشان داد که مدل شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون به عنوان یک ابزار کارآمد می تواند پارامترهای اساسی فرآیند سرخ کردن را با دقت بالایی تخمین بزند.

در شکل ۹ مقادیر دقیق ضریب همبستگی و میانگین مربعات خطا برای داده‌های آموزش، صحت سنجی، تست و کل داده‌ها نشان داده شده است. از مجموع کل داده‌ها ۷۰ درصد به داده‌های آموزش اختصاص داده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود مقادیر ضریب همبستگی و میانگین مربعات خطا به ترتیب دارای مقدار ۰/۹۹۹۵ و ۰/۰۰۱ می‌باشد. این مقادیر برای داده‌های

صحت سنجی و تست نیز به‌صورت واضح نشان داده‌شده است. در شکل ۱۰ محور افقی اختلاف مقادیر خطا مابین داده‌های آزمایشگاهی و پیش‌بینی‌شده و محور عمودی تعداد نمونه‌ها را نشان می‌دهد. پراکندگی خطا در محدوده ۰/۲ ± می‌باشد که نشان از یک پیش‌بینی موفق با توپولوژی ۱-۳۰-۳۰-۲ می‌باشد[۲۲].

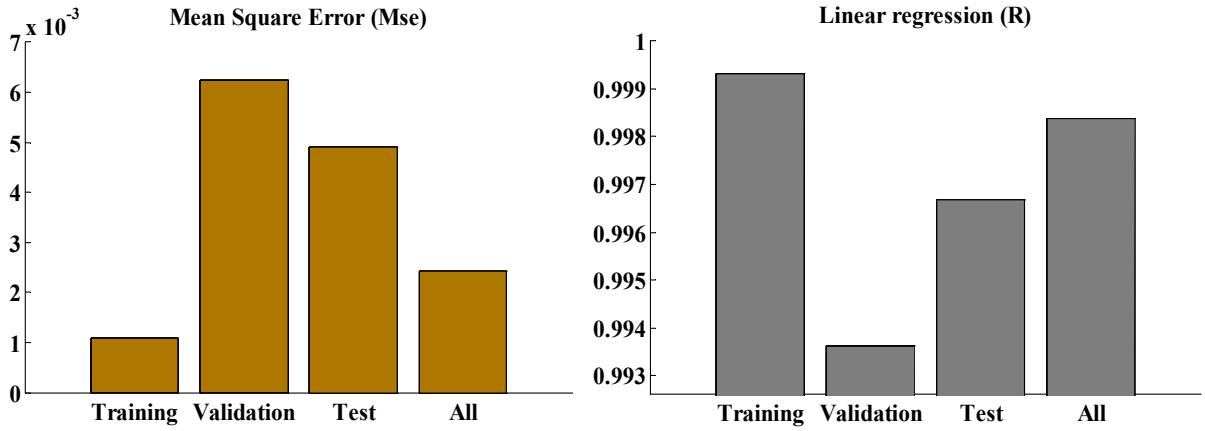


Fig 9 The values obtained are the mean squared error and the correlation coefficient of the data with the artificial neural network.

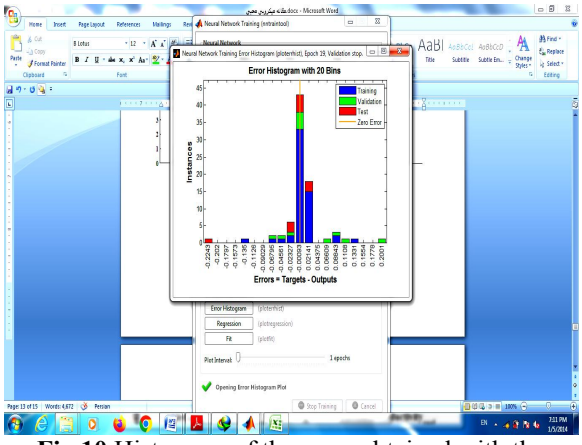


Fig 10 Histogram of the error obtained with the number of samples examined

۵- نتیجه‌گیری

خصوصیات ضد میکروبی محصولات گیاهی از سالیان بسیار دور مورد توجه عموم بوده و در میان این محصولات اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در سالیان اخیر به‌عنوان نگه‌دارنده‌های طبیعی بسیار موردتوجه قرارگرفته‌اند و بسیاری از مطالعات توسط محققین صنایع غذایی روی استفاده از این ترکیبات متمرکز شده است. هدف از این مطالعه تأثیر عصاره‌های دانه رازیانه و کاکوتی کوهی روی رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس در رب گوجه‌فرنگی می‌باشد و درنهایت نتایج حاصل توسط شبکه عصبی پرسپترون مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از فعالیت ضد کپکی عصاره‌ها در رب گوجه‌فرنگی نشان داد که با افزایش درصد عصاره‌ها میزان رشد کپک آسپرژیلوس فلاوئوس محدود شد و به‌طورکلی پس از پایان دوره نگهداری (پس از ۵ هفته نگهداری) تیمارهای حاوی ۲ و ۳ درصد عصاره دانه رازیانه هیچ‌گونه رشد میسیلیوم کپک آسپرژیلوس فلاوئوس روی سطح آن مشاهده نشد. نتایج ارزیابی پیش‌بینی‌شده توسط شبکه عصبی مصنوعی با توپولوژی ۱-۳۰-۳۰-۲ (با تعداد دو ورودی، دولایه مخفی با تعداد ۳۰ نرون در هر لایه و یک خروجی) نشان می‌دهد که مقادیر حاصل‌شده ضریب همبستگی، میانگین مربعات خطا و ماکزیمم خطا به ترتیب برابر با ۰/۹۹۹۳، ۰/۰۰۱۰۹۳۴ و ۰/۱۳۵۳۸ است که نشان از یک پیش‌بینی موفق دارد.

۶-منابع

[1] Shahdadi F, Doumari H, Nejad Sajadi S H, Rafieepour A, Mahdavinia A, dezyani, M. (2019). Effect of Pistacia atlantica Powder and Extract on the Growth of Aspergillus flavus and Aspergillus niger in lactic Cheese. Journal of food science and technology. 2019; 16 (95) :53-62.

[2] Vousough, A., Khomeyri, M., Kashaninezhad, M., & Jafari, S. M. (2010). Survival of Bifidobacterium lactis and Lactobacillus acidophilus in Iranian Doogh flavored by

Ziziphora extract. Journal of food science and technology
6 (23) :77-85.
[3] MA, N., HS, D., HY, A., & MR, Y. (2018). The effects of preservatives on tomato (Lycopersicon esculentum mill) paste at varying environmental conditions. MOJ Food Process Technology, 6(2), 205-9.
[4] Abdelmassih, M., Planchon, V., Anceau, C., & Mahillon, J. (2011). Development and validation of stable reference materials for food microbiology using Bacillus cereus and Clostridium perfringens spores. *Journal of applied microbiology*, *110*(6), 1524-1530.
[5] Kalantari, F.,Barzegar, M., & Hamidi, Z.(2011). Inhibitory effect of Cinnamomum zeylanicum and Origanum vulgare L. essential oil on Aspergillus flavus in Tomato Paste.20th International Congress on Food Technology
[6] Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., & Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against Aspergillus flavus in liquid medium and tomato paste. Food control, 18(12), 1518-1523.
[7] Olaniran, A. F., Abiose, S. H., & Adeniran, A. H. (2015). Biopreservative Effect of Ginger (Z ingiber officinale) and Garlic Powder (A llium sativum) on Tomato Paste. Journal of Food Safety, 35(4), 440-452.
[8] Tabataba i Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi S A. Investigation Effects of Lamiaceae plants (Thymus vulgaris L., Mentha spp. and Ziziphora tenuir L.) Inhibitory Staphylococcus aureus and Geotrichum candidium in Razavi Khorasan Province Industrial Doogh Samples with Response Surface Method (RSM). FSCT. 2016; 13 (51) :15-28.
[9] Seydim, A. C., & Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food research international, 39(5), 639-644.
[10] Hussin, N. M., Muse, R., Ahmad, S., Ramli, J., Mahmood, M., Sulaiman, M. R., ... & Aziz, K. N. K. (2009). Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from Barringtonia racemosa L.(Lecythidaceae). African Journal of Biotechnology, 8(12).
[11] Moghadam, H. D., Sani, A. M., & Sangatash, M. M. (2016). Antifungal activity of essential oil of Ziziphora clinopodioides and the inhibition of aflatoxin B1 production in maize grain. Toxicology and industrial health, 32(3), 493-499.
[12] Barkat, M., & Bouguerra, A. (2012). Study of the antifungal activity of essential oil extracted from seeds of Foeniculum vulgare Mill. for its use as food conservative. Afr. J. Food Sci, 6(9), 239-244.
[13] Soltani Nejad, S. (2012). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of Ziziphora clinopodioides Lam. essential oil against some pathogenic bacteria. African Journal of Microbiology Research, 6(7), 1504-1508.
[14] Khalid, S., Mohamed, B., Mhamed, R., Tariq, B. E. D., Fatima, J. A., Laila, N., & Lhoussaine, E. R. (2015). Antifungal potential of the Seed and Leaf Foeniculum vulgare Mill essential Oil in liquid and vapor phase against phytopathogenic fungi. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol,5(11), 050-054.
[15] Gandomi Nasrabadi H, Misaghi A, Akhondzadeh basti A, Khosravi A, Bokaei S, Abbasifar A. Effects of Zataria multiflora Boiss. Essential Oil on Aspergillus flavus. J. Med. Plants. 2008; 7 (27) :45-51
[16] Mehraban Sangatash M, Karazhyan R, Beiraghi Toosi S. In vitro Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Ziziphora clinopodioides L. on Food Spoilage and Pathogenic Bacteria. J. Med. Plants. 2007; 6 (23) :46-51
[17] Jafari, S. M., Ghanbari, V., Dehnad, D., & Ganje, M. (2018). Neural networks modeling of Aspergillus flavus growth in tomato paste containing microencapsulated olive leaf extract. Journal of Food Safety, 38(1), e12396.
[18] Jafari, S. M., Ghanbari, V., Dehnad, D., & Ganje, M. (2018). Neural networks modeling of Aspergillus flavus growth in tomato paste

containing microencapsulated olive leaf extract. Journal of Food Safety, 38(1), e12396.

[19] Noshirvani N, Fasihi H , Normohammadi E .(2019). Evaluation of anti-mold and anti-oxidant effects of fennel plant extract Food Technology & Nutrition, 16 (2) :67-78

[20] Mokhtarian M, Koushki F.(2012). Estimation of tomato drying parameters using artificial neural networks. JRIFST,1(1):61-74.

[21] HashemLo, Z, Shafafi Zanouzian M, Elhami Rad A.(2013). Investigating the quality characteristics of fried tomatoes using osmotic pretreatment:1-7.

[22] Masumiyan Z, Yavarmanesh M, Shahidi Noghabi M, Sadeghi M, Sohrabi Balsini M.(2015). The efficiency of Zeolite and Citric acid in the control of mold growth and production of Aflatoxin in dry breads wastage across the Mashhad and it's modeling with artificial neural networks method. FSCT, 12 (48) :99-114.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Studying the Effect of Foeniculum Vulgare Mill and Ziziphora Clinopodioides Lam. Extracts on the Growth of Aspergillus Flavus Mold in Tomato Paste and Predicting the Data Obtained Using Artificial Neural Networks

Mohebbi, M. [1*]

1. Faculty of Food Science and Engineering, Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ABSTRACT

The antifungal activity of Foeniculum Vulgare Mill and Ziziphora clinopodioides Lam. extracts against Aspergillus flavus in tomato paste containing different percentages of the extracts was tested. To this end, Foeniculum Vulgare Mill and Ziziphora clinopodioides Lam. extracts with different concentrations of 0.5, 1 and 2% were prepared and studied during different storage times(35 days).The effect of extracts of Foeniculum Vulgare Mill and Ziziphora Clinopodioides Lam with different concentrations was investigated alone in the environment (in vitro). By injecting 0.1 ml of mold in Sabouraoud dextrose agar broth culture medium, then placing it in an incubator temperature of 25°C ± 0.5, it was kept for 5 weeks (35 days), and one culture was done every week in order for the activity mold to be investigated in different concentrations of extracts.The results of antifungal activity of different levels of the extracts indicated that treatments 3 (containing 2% Foeniculum Vulgare Mill extract) and 4 (containing 3% Foeniculum Vulgare Mill extract) were resistant to the growth of Aspergillus flavus mold mycelium until the end of storage period.Generally, it can be concluded that using 2 or 3% Foeniculum Vulgare Mill extract as a natural preservative in tomato paste has a desirable antifungal activity. Artificial neural network was used to validate and evaluate the results of the experiments in predicting the data of Aspergillus flavus mold growth in tomato paste.In the present study, two hidden layers with 30 neurons were used. The network had two inputs including extract concentration and storage time, and the growth of Aspergillus flavus mold was considered as the target.Evaluation parameters such as correlation coefficient, mean squared error and maximum error showed very good results with values of 0.9993, 0.10934 and 0.13538. The lower the error and the closer the correlation coefficient to 1, the better the prediction is.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 06/ 11
Accepted 2022/ 12/18

Keywords:

Aspergillus flavus mold,
correlation coefficient,
Foeniculum Vulgare Mill,
Ziziphora clinopodioides Lam,
Artificial Neural Network

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.327
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.24.7

*Corresponding Author E-Mail:
m.mohebbi512@gmail.com