Journal of Veterinary Research
J Vet Res: Volume 74, Number 3, 2019
Original Articles

The Destructive Effects of Essential Oil and Extracts of Some Medicinal Plants (Apiaceae family) on The Reduction of Zearalenone in Rumen Fluid

Mahboobe Shahvardi[1], Mohsen Farzaneh[1], Samad Nejad-Ebrahimi[2], Abolfazl Soltani-Oshyani[3]

[1]Department of Agriculture, Medicinal Plants and drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[2]Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[3] Department of Research and Development, Novin Roshd Shahran Foudeh Co, Isfahan, Iran

10.22059/jvr.2018.248695.2745

J Vet Res. 74(3): 360-368

Abstract

BACKGROUND: Zearalenone (ZEA) is a nonsteroidal estrogenic mycotoxin that is usually found in animal feed and causes disorder in genital organs activity. Most commercial adsorbents do not have ZEA absorbency and may have side effects on the animal performance. Therefore, the discovery and introduction of natural compounds are necessary to reduce ZEA.

OBJECTIVES: The introduction of some medicinal plants to degrade ZEA in rumen fluid is the main objective of this study.

METHODS: In the present study, essential oil and different extracts (methanol, *n*-hexane and ethyl-acetate) of seed of four medicinal plants belonging to Apiaceae family including coriander (*Coriandrum sativum*),Cumin (*Cuminum cyminum*), Fennel (*Foeniculum vulgare*) and Persian hogweed (*Heracleum persicum*) were investigated to reduce ZEA in rumen fluid (0.4µg ZEA in ml 20% rumen fluid) at the ratio of essential oil/extract to toxin 125:1, 250:1 and 500:1 in 48h.The ZEA-content was extracted by the immunoaffinity column and analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC-FLD).

RESULTS: The results showed that essential oil of coriander (contains 76.5% of linalool), *n*-hexane extract of coriander and methanol and ethyl acetate extracts of Persian hogweed exhibit acceptable efficiency (more than 30%) in ZEA degradation. ZEA evaluation in the presence of various concentrations of promising essential oils and extracts exhibited that the essential oil of coriander has the highest effect to remove ZEA from rumen fluid with 79.5% after 48 h. The *n*-hexane extract of coriander at the rate of 500:1 caused 67.8% and 74.2% reduction in ZEA content after 36 and 48 h incubation time respectively and located at the next statistical level. In addition, methanol and ethyl- acetate extracts of Persian hogweed at the rate of 500:1 reduced 46% and 41.8% ZEA content in rumen fluid respectively.

CONCLUSIONS: Coriander and Persian hogweed are introduced as promising botanical additive sources to remove ZEA in animal feed.

Keywords: Rumen fluid, Zearalenone, Medicinal plants, Composition, Degradation

Copyright © 2019. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: m_farzaneh@sbu.ac.ir **Tel:** 021-29904068 **Fax:** 021-22431783

How to cite this article:

Shahvardi, M., Farzaneh, M., Nejad-Ebrahimi, S., & Soltani-Oshyani, A. (2019). The Destructive Effects of Essential Oil and Extracts of Some Medicinal Plants (Apiaceae family) on The Reduction of Zearalenone in Rumen Fluid. *J Vet Res, 74*(3), 360-368. doi:10.22059/jvr.2018.248695.2745

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Phytochemical identification of essential oil compounds extracted from seeds of four herbs including Persian hogweed, Coriander, Cumin and Fennel using GC and GC-MS.
Table 2. Percentage of zearalenone degradation in cow rumen fluid by essential oils and various extracts of four medicinal herbs at a concentration of 2 per 1000 (ratio of essential oil/extract to toxin, 500 : 1) after 24 h on an incubator shaker at 200 rpm and 39 °C in darkness.
Table 3. Percentage of zearalenone degradation in cow rumen fluid by promising essential oils and extracts in the various ratios to toxin (125 : 1, 250 : 1 and 500 : 1) after 48 h on incubator shakers at 200 rpm and 39 °C in darkness.

مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۴، شماره ۳، ۱۳۹۸
مقاله پژوهشی

تاثیر اسانس و عصاره برخی گیاهان دارویی خانواده چتریان درتخریب زیرالنون شیرابه شکمبه گاو

محبوبه شاه وردی[۱]، محسن فرزانه[۱]، صمد نژاد ابراهیمی[۲]، ابوالفضل سلطانی اُشیانی[۳]

[۱] گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲] گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳] بخش تحقیق و توسعه، شرکت نوین رشد شهران فوده، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۰۸ اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: ۱۳ خرداد ۱۳۹۸ تاریخ انتشار آنلاین: ۱ شهریورماه ۱۳۹۸
10.22059/jvr.2018.248695.2745

چکیده

زمینهٔ مطالعه: زیرالنون یک زهرابه قارچی استروژنیک غیراستروئیدی است که به طور معمول در خوراک حیوانات یافت می‌شود و سبب بروز نارسائی در کارکرد دستگاه تناسلی می‌شود. بیشتر جاذب‌های تجاری توانائی جذب زیرالنون را ندارند و ممکن است پیامدهای مصرفی زیانباری روی حیوان داشته باشند. بنابراین کشف و معرفی ترکیبات طبیعی سالم و ایمن جهت کاهش زیرالنون خوراک ضروری می‌باشد.

هدف: هدف اصلی این پژوهش معرفی برخی گیاهان دارویی با توانایی تجزیه زیرالنون شیرابه شکمبه گاو در شرایط برون تنی می‌باشد.

روش‌کار: در این پژوهش ابتدا کارایی اسانس و عصاره‌های ان-هگزانی، اتیل استاتی و متانولی بذرهای چهار گیاه دارویی از خانواده چتریان (Apiaceae) شامل گشنیز(*Coriandrum sativum*)، زیره سبز(*Cuminum cyminum*)، رازیانه(*Foeniculum vulgare*) و گلپر ایرانی (*Heracleum persicum*) بر تجزیه زیرالنون (۲ میلی‌گرم اسانس/عصاره همراه با ۰/۴ میکروگرم زیرالنون در ۱ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه گاو) بررسی شد و سپس تاثیر اسانس و عصاره های امیدبخش در سه نسبت اسانس/ عصاره: توکسین (۱۲۵ :۱، ۲۵۰ :۱ و ۵۰۰ :۱) در طول ۴۸ ساعت پایش شد. در هر مرحله محتوای زیرالنون توسط ستون ایمونوافینیتی استخراج و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) دارای ردیاب فلورسنت اندازه گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد اسانس گشنیز (حاوی ۷۶/۵ درصد لینالول)، عصاره ان-هگزانی گشنیز و عصاره‌های متانولی و اتیل استاتی گلپر از توانائی قابل قبولی (بیش از ۳۰ درصد) در تجزیه زیرالنون برخوردار هستند. پایش محتوای زیرالنون در حضور غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره‌های امیدبخش نشان داد که اسانس گشنیز طی ۴۸ ساعت با ۷۹/۵درصد تجزیه زیرالنون بیشترین تاثیر را در پاکسازی زیرالنون از شیرابه شکمبه دارد و عصاره‌ی ان- هگزانی گشنیز پس از ۳۶ و ۴۸ ساعت در نسبت۱:۵۰۰ به ترتیب با ۶۷/۸ درصد و ۷۴/۲ درصد تجزیه زیرالنون در مرتبه بعدی قرار گرفت. همچنین عصاره‌های متانولی و اتیل استاتی گلپر در نسبت۱:۵۰۰ به ترتیب قادر به کاهش ۴۶ درصد و ۴۱/۸ درصد محتوای زیرالنون شیرابه شکمبه بودند.

نتیجه‌گیری نهایی: گیاهان دارویی گشنیز و گلپر به عنوان دو افزودنی امید بخش برای تجزیه زیرالنون در خوراک دام معرفی می‌شوند.

کلمات کلیدی: شیرابه شکمبه، زیرالنون، گیاهان دارویی، ترکیبات گیاهی، تجزیه

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: محسن فرزانه، گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
پست الکترونیکی: m_farzaneh@sbu.ac.ir

مقدمه

آلودگی‌های غلات و در نتیجه خوراک حیوانات به مایکوتوکسین-ها (زهرابه های قارچی) به صورت یک مشکل بزرگ در سراسر جهان آشکار است (۴). زیرالنون (zearalenone) یکی از مایکوتوکسین‌های شایع است که بیشتر بوسیله گونه های جنس فوزاریوم(Fusarium) به ویژه فوزاریوم گرامینارم(*Fusarium graminearum*) روی برخی فرآورده های کشاورزی و به خصوص بذر غلات تولید می‌شود و به‌عنوان یکی از آلوده‌کننده‌های رایج مواد غذایی انسان و خوراک دام، طیور و آبزیان مطرح می‌باشد (۲۱). زیرالنون ترکیبی استروژنی و آنابولیک

(Anabolic) است که با گیرنده‌های استروژن پیوند می‌یابد و سبب القاء سندرمی می‌شود که در مقادیر کم باعث بلوغ زودرس و افزایش اندازه سینه و در دوزهای بالا، منجر به بی اشتهایی و سقط جنین در دام می‌شود (۲۳). همچنین زیرالنون سبب اثرات سمیت ژنتیکی، ناقص الخلقه زائی و سرطان‌زا در جوجه های گوشتی و آبزیان می شود (۶،۲۲،۲۵،۲۶،۲۹).

استفاده از عوامل جاذب و تجزیه‌کننده‌های مایکوتوکسین‌ها به عنوان مواد افزودنی خوراک، رویکرد بسیار امیدوارکننده برای کاهش خطر دچار شدن به مایکوتوکسیوز در حیوانات و همچنین کاهش انتقال مایکوتوکسین‌ها از خوراک‌های آلوده به انسان است (۱۹،۲۷). با این حال، جاذب‌های معدنی مانند بنتونیت‌ها و زئولیت‌ها برای جذب بعضی از مایکوتوکسین‌ها مانند آفلاتوکسین‌ها کارآمد بوده‌اند، اما اثربخشی آنها در مورد زیرالنون بسیار محدود و ناامیدکننده است (۲۷). اگر چه برخی از جاذب‌ها ازقبیل کربن فعال می‌تواند مقدار قابل توجهی از زیرالنون را جذب کنند، اما کربن فعال مواد مغذی و ویتامین‌ها را نیز جذب کرده و اثرات منفی بر قابلیت زیست‌پذیری مواد معدنی و عناصر کمیاب دارد (۲۴،۳۳). در حال حاضر در مواجهه با ناتوانی نسبی و پیامدهای مصرفی جاذب‌های معدنی، پژوهش ها به سمت ترکیبات طبیعی کاهش‌دهنده مایکوتوکسین‌ها مانند اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها و ترکیبات گیاهی سوق داده شده است.گیاهان دارویی دارای دامنه گسترده‌ای از ترکیبات مختلف طبیعی فعال هستند که در زندگی بسیاری از مردم در سراسر جهان جایگاه بسیار مهمی دارند. اسانس و یا عصاره‌های برخی از گیاهان دارویی خانواده‌های نعناعیان (Lamiaceae)، کاسنی(Asteraceae)، چتریان(Apiaceae)، موردیان(Myrtaceae) و برگ بوئیان (Lauraceae) توانایی خود را در کاهش برخی از مایکوتوکسین‌ها از جمله آفلاتوکسین‌ها، به وسیله مهار رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس(*Aspergilus flavus*) و یا جلوگیری از تولید توکسین، نشان دادند (۲،۳،۵،۲۸). فزون بر این، چندین عصاره گیاهی برای تخریب و سم‌زدایی آفلاتوکسین B1 معرفی شده است (۱۳،۲۰). با توجه به این واقعیت که اسانس و عصاره گیاهان حاوی ترکیبات مختلف هستند، ممکن است برخی از آنها بتوانند به‌عنوان تجزیه‌کننده زیرالنون در خوراک عمل کنند. بنابراین هدف از مطالعه حاضر: ۱) بررسی توانایی اسانس و عصاره های برخی گیاهان دارویی (خانواده چتریان) برای حذف زیرالنون از شیرابه شکمبه و۲) معرفی گیاهان امیدبخش به عنوان مکمل گیاهی توکسین‌زدای خوراک حیوانات می‌باشد.

مواد و روش کار

آماده سازی استاندارد زیرالنون: استاندارد زیرالنون (Z2125) از شرکت سیگما خریداری شد. محلول استاندارد ذخیره در غلظت ۱میلی‌گرم زیرالنون در ۱ mL متانول (غلظت نهایی زیرالنون برابر با ppm ۱۰۰۰) و محلول استاندارد کاری زیرالنون در غلظت ۲۰۰ ppm تهیه شد.

تهیه اسانس و عصاره های گیاهی: بذرهای گیاهان گشنیز و زیره سبز از استان کرمان-منطقه رفسنجان، بذر گیاه گلپر از استان مازندران- منطقه پل‌سفید و بذر گیاه رازیانه از کلکسیون گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی، تهران جمع‌آوری‌شد. بذرهای جمع آوری شده پس از تایید توسط گروه بیولوژی پژوهشکده، پاکسازی، شستشو و خشک شدند و به طور همگن آسیاب شدند.

استخراج اسانس برای هر نمونه گیاهی (۵۰ گرم) به روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر براساس روش فارماکوپه بریتانیا به مدت سه ساعت انجام شد (۷). اسانس بدست آمده بوسیله سولفات سدیم خشک آبگیری و در شیشه های تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد.

شناسایی فیتوشیمیایی گیاهان: شناسایی فیتوشیمیایی گیاهان از طریق آنالیز ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه‌های گازکروماتوگرافی (دستگاه گازکروماتوگرافی Thermoquest مجهز به ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایهٔ فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه با افزایش دمای ۴ درجه در دقیقه، نوع ردیاب (FID (Flame Ionization Detector با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل هلیوم با جریان ثابت ۱/۱ mm/m) و گازکروماتوگرافی همراه با طیف سنجی جرمی (از نوع Thermoquest-Finnigan، مجهز به ستون DB-1 به‌طول ۶۰ m و قطر ۰/۲۵میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، ، برنامه ریزی حرارتی مشابه دستگاه GC، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، گاز حامل هلیوم و دمای محفظه تزریق برابر با ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. شناسایی ترکیب‌ها بر اساس شاخص بازداری و مقایسه طیف جرمی آن‌ها با ترکیب‌های پیشنهادی کتابخانه دستگاه انجام گرفت. درصد هر ترکیب با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از دستگاه GC با روش نرمال کردن سطح منحنی و بدون محاسبه عامل تصحیح صورت گرفت (۱).

عصاره‌گیری از گیاهان در سه مرحله به روش خیساندن (maceration) و به نسبت نمونه گیاهی به حلال،۱به ۵ ، به ترتیب با استفاده از حلال‌های اِن-هگزان (به منظور استخراج چربی‌ها و ترکیبات غیرقطبی)، اتیل استات (استخراج ترکیبات نیمه قطبی) و متانول (استخراج ترکیبات قطبی) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد درون دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه انجام شد. عصاره‌های حاصل به کمک دستگاه پمپ خلأ از فیلتر کاغذی واتمن شماره ۱عبور داده شدند. عصاره صاف شده با استفاده از دستگاه تبخیرکننده دوار(Rotary Evaporator) تحت شرایط خلا و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد و ماده خشک حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره، ابتدا محلول کاری به غلظت ۵ درصد عصاره در حلال DMSO (Dimethyl sulfoxide) تهیه شد و از این محلول، سایر غلظت‌ها نیز تهیه شد.

تهیه و آماده سازی شیرابه شکمبه: شیرابه شکمبه از گاوهای دارای فیستول (Fistula) دائمی از موسسه شیر و گوشت فوده سپاهان (اصفهان، قهجاورستان) و ۶ ساعت بعد از تغذیه (۱۶) تهیه شد و پس از عبور از پارچه ململ دو لا، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

تاثیر اسانس و عصاره های گیاهی در تجزیه زیرالنون شیرابه شکمبه: توانایی اسانس و عصاره‌ها در تجزیه زیرالنون (۲ µg/mL شیرابه شکمبه) در نسبت ۵۰۰ برابر اسانس/عصاره به توکسین، در شرایط طراحی شده مشابه با شکمبه گاو بررسی شد. به طور خلاصه جهت تهیه محلول کاری عصاره‌ها، ۱۰ میلی‌گرم از هر عصاره به ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO افزوده شد و سپس به مدت پنج دقیقه ورتکس و ۱۰ دقیقه در حمام آبی سونیک شد. درون ویال‌های کدر شیشه‌ای با حجم ۱۰میلی‌لیتر، مقدار ۲میلی‌لیتر آب مقطر حاوی ۲۰ درصد شیرابه شکمبه گاو و ppm ۲ زیرالنون ریخته شد (pH نزدیک به ۶) و سپس به مقدار ۲ میکرولیتر اسانس یا ۲۰ میکرولیتر از محلول کاری عصاره به ویال‌ها افزوده شد. بلافاصله ویال-های حاصل به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه و شرایط تاریکی منتقل شدند. تیمارهای شاهد شامل ویال‌های حاوی شیرابه شکمبه ۲۰ درصد و ویال‌های حاوی شیرابه شکمبه ۲۰ درصد و زیرالنون بودند.

پایش تجزیه زیرالنون توسط اسانس و عصاره‌های برتر: محتوای زیرالنون در نسبت‌های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ عصاره به توکسین و پس از ۱۲، ۲۴، ۳۶و ۴۸ ساعت به روش فوق ارزیابی شد.

جداسازی و سنجش محتوای زیرالنون: جهت استخراج زیرالنون، هر نمونه با ۸ میلی لیتر بافر فسفات (PBS) مخلوط و از ستون ایمونوافینیتی اختصاصی زیرالنون (Easy-extract®zearalenone) ساخت شرکت R. BiopharmRhone با سرعت ۱ قطره در ثانیه عبور داده شد. سپس ستون با ۶ میلی‌لیتر بافر فسفات شستشو شد و زیرالنون چسبیده به ستون با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول از ستون خارج و جمع‌آوری شد. محتوای زیرالنون توسط دستگاهHPLC (مدل Shimadzu، شرکتKnauer) مجهز به ردیاب فلورسنت RF-10AXL و فاز متحرک استونیتریل: آب: متانول (۲:۶:۲) و با استفاده از ستون کروماتوگرافی SunFire C18 Column, 100A, 3.5µm, 3.0 mm X 150 mm(Waters,Ireland)، در طول موج جذب ۳۱۴ نانومتر و نشر ۴۵۰ نانومتر ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تمام آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی و با سه تکرار اجرا شد. برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار SAS 9.1 و به روش GLM استفاده شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد مقایسه شد.

نتایج

شناسایی فیتوشیمیایی گیاهان: نتایج آنالیز GC و GC-MS نشان داد که عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس رازیانه شامل ترانس آنتول (۷۴/۳درصد)، فنچون (۸/۵درصد)، آلفا توجون (۴/۸درصد)، آلفا فلاندرن (۴/۵درصد)، استراگول (۳/۳درصد) و بتا فیلاندرون (۱/۹درصد) می باشد.

گاما ترپینن (۳۰/۷درصد)، بتا پینن (۲۰/۸درصد)، کومین آلدهاید (۱۵/۴درصد)، پارا منتا- ۱و۳- دین-۷-آل (۱۲/۱درصد)، پارا منتا- ۱و۴- دین-۷-آل (۱۳/۵٪)، پارا-سیمن (۳/۵درصد) و استراگول (۱/۶ درصد) مهمترین ترکیبات موجود در اسانس زیره سبز می‌باشند .ترکیبات غالب اسانس گشنیز شامل لینالول (۷۶/۵ درصد)، گاما ترپینن (۷/۱درصد)، آلفا پینن (۶/۴درصد)، نریل استات (۴/۸درصد) و ترانس- دودکانال (۲/۱درصد) می باشند.

عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گلپر شامل ترانس آنتول (۶۳/۲درصد)، گاما-ترپینن (۵/۱درصد)، لیمونن (۱/۶درصد)، بتا- پینن (۲/۵درصد)، لینالول (۲/۱درصد)، استراگول (۱۱/۵درصد)، ژرماکرن-دی (۳/۵درصد) و آلفا فارنسن (۳/۴درصد) می‌باشد (جدول ۱).

تاثیر اسانس و عصاره های گیاهی در تجزیه زیرالنون شیرابه شکمبه: در این مطالعه اثر بخشی اسانس و عصاره‌های مختلف چهار گیاه دارویی از خانواده چتریان روی کاهش محتوای زیرالنون شیرابه شکمبه مورد مطالعه قرار گرفت.

جدول (۲) مقایسه میانگین اثر اسانس و عصاره‌های گیاهی در تجزیه زیرالنون شیرابه شکمبه در نسبت ۵۰۰ به ۱ (عصاره/اسانس به توکسین) را نشان می‌دهد. نتایج مشخص کرد که بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری که اسانس گشنیز با ۵۵/۸درصد بیشترین تاثیر را در تجزیه زیرالنون شیرابه شکمبه نشان داد. عصاره ان هگزانی گشنیز، عصاره متانولی و اتیل استاتی گلپر با ۴۹درصد، ۳۴/۳ درصد و ۳۱/۶درصد تجزیه در رتبه های بعدی قرار دارند که تاثیر قابل قبولی را نسبت به اسانس و عصاره های دیگر گیاهان در کاهش زیرالنون نشان دادند.

جدول۱. شناسایی فیتوشیمیایی ترکیبات اسانس بذر چهار گیاه دارویی گلپر، گشنیز، زیره سبز و رازیانه با استفاده از دستگاه GC و GC-MS

ترکیبات*	رازیانه	زیره سبز	گشنیز	گلپر	شاخص بازداری (RI)**
آلفا-توجون، α-thujone	۴/۸	۰/۷	۰/۱	–	۹۳۵
آلفا-پینن، α-pinene	۰/۲	–	۶/۴	–	۹۴۰
سابینن، sabinene	–	۰/۲	۰/۵	–	۹۶۸
بتا-پینن، β-pinene	۰/۲	۲۰/۸	۰/۳	۲/۵	۹۷۵
میرسن، myrcene	۰/۳	–	۰/۳	–	۹۸۲
اِن- اُکتانال، n-octanal	–	–	–	۰/۴	۹۹۸
آلفا- فلاندرن، α- phellandrene	۴/۵	۰/۴	–	–	۱۰۰۰
پارا- سیمن، p-cymene	۰/۳	۳/۵	۱/۰	۱/۰	۱۰۱۶
لیمونن، limonene	–	–	۰/۲	۱/۶	۱۰۲۳
بتا- فلاندرن، β- phellandrene	۱/۹	–	–	–	۱۰۲۶
گاما-ترپینن، γ-terpinene	۰/۲	–	۷/۱	۵/۱	۱۰۵۳
لینالول، linalool	–	۰/۲	۷۶/۵	۲/۱	۱۰۸۴
گاما-ترپینن، γ-terpinene	۰/۵	۳۰/۷	–	–	۱۰۵۱
فنچون، fenchone	۸/۵	–	–	–	۱۰۷۱
پریل آلدهاید، perill aldehyde	–	–	–	–	۱۱۸۱
هگزیل بوتانات، hexyl butanoate	–	–	–	۱/۲	۱۱۹۱
استراگول، estragol	۳/۳	۱/۶	–	/۵	۱۲۲۱
کومین آلدهاید، cumin aldehyde	–	۱۵/۴	–	۱۱-	۱۲۶۶
پارا منتا-۱و۳-دین-۷-آل، p-mentha-1,3-dien-7-al	–	۱۲/۱	–	–	۱۲۶۸
پارامنتا-۱و۴-دین-۷-آل، p-mentha-1,4-dien-7-al	–	۱۳/۵	–	–	۱۲۷۳
ترانس- آنتول، $trans$- anethole	۷۴/۳	–	–	۶۳/۲	۱۲۷۹
نریل استات، neryl acetate	–	–	۴/۸	–	۱۳۴۴
ترانس- دودکانال، $trans$-dodecanal	–	–	۲/۱	–	۱۴۰۷
ژرماکرن- دی، germacerene-D	–	–	–	۳/۵	۱۴۸۴
آلفا- فارنیسن، α-farnesene	–	–	–	۳/۴	۱۵۰۵
جمع	**۹۹/۰**	**۹۹/۱**	**۹۹/۳**	**۹۵/۵**	

*فهرست ترکیبات خارج شده از ستون DB-1 به ترتیب زمان بازداری

** شاخص بازداری در ستون DB-1 بر اساس منابع ان-آلکان (۱)

جدول۲. درصد تجزیه محتوای زیرالنون شیرابه شکمبه گاو توسط اسانس و عصاره های مختلف بذرهای چهار گیاه دارویی در غلظت دو در هزار (نسبت اسانس به توکسین: ۵۰۰ به ۱) بعد از ۲۴ ساعت نگهداری روی شیکر انکوباتور با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ °C در شرایط تاریکی.

گیاه	نام علمی	درصد تجزیه زیرالنون توسط اسانس و عصاره‌های گیاهی (2mg/mL)			
		اسانس	عصاره ان-هگزانی	عصاره اتیل استاتی	عصاره متانولی
گشنیز	*Coriandrum sativum*	*۵۵/۸±۱/۷۲^{a**}	۴۹/۰±۱/۰^{b}	۷/۰±۰/۲۹^{h}	۰^{j}
رازیانه	*Foeniculum vulgar*	۱۶/۳±۰/۹۴^{ef}	۱۸/۶±۰/۸۵^{e}	۵/۳±۰/۲۵^{i}	۴/۶±۰/۱۹^{i}
گلپر	*Heracleum persicum*	۱۷/۵±۰/۹۰^{e}	۱۱/۳±۰/۲۸^{g}	۳۱/۶±۰/۵۷^{d}	۳۴/۳±۰/۵۷^{c}
زیره سبز	*Cuminum cyminum*	۱۰/۶±۰/۳۵^{g}	۳/۲۳±۰/۱۷^{j}	۳/۱۱±۰/۱۴^{j}	۰^{j}

* هر عدد میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد می‌باشد.

**حروف غیر مشابه نشان‌دهنده‌ی تفاوت بسیار معنی دار براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ می‌باشد.

پایش تجزیه زیرالنون توسط اسانس و عصاره‌های برتر:

مقایسه میانگین اثر غلظت و زمان بر تجزیه زیرالنون توسط عصاره‌های منتخب گیاهی نشان داد بین غلظت های مختلف کاربرد اسانس و عصاره‌های گیاهی (نسبت‌های اسانس/عصاره به توکسین: ۱۲۵ به ۱، ۲۵۰ به ۱ و ۵۰۰ به ۱) و مدت زمان تعامل عصاره یا اسانس با توکسین (زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت) از نظر کاهش محتوای زیرالنون شیرابه شکمبه گاو در سطح ۱درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. به طور کلی برای اغلب عصاره‌ها با افزایش زمان، مقدار تجزیه زیرالنون افزایش یافت، اما مقدار این افزایش برای عصاره‌های مختلف متفاوت است. همچنین با افزایش غلظت عصاره، افزایش معنی‌دار تجزیه زیرالنون مشاهده شد به‌طوری‌که در نسبت ۵۰۰، اسانس و عصاره ان-هگزانی گشنیز به ترتیب با ۷۹/۵ درصد و ۷۴/۲ درصد تجزیه در ۴۸ ساعت بهترین تاثیر را نشان دادند. در همین غلظت و بعد از ۳۶ ساعت، عصاره ان-هگزانی گشنیز و اسانس گشنیز به ترتیب با ۶۷/۸ درصد و ۵۸/۲ درصد در رتبه بعدی قرار گرفتند. اسانس و عصاره ان-هگزانی گشنیز بعد از ۲۴ ساعت با ۵۳/۸ درصد و ۴۹/۵ درصد تجزیه زیرالنون تاثیر بهتری نسبت به عصاره متانولی و اتیل استاتی گلپر در طی ۴۸ ساعت (به ترتیب با ۴۶ درصد و ۴۱/۸ درصد تجزیه) نشان دادند. تجزیه بیشتر توکسین در شیرابه شکمبه توسط گشنیز را می‌توان به وجود ترکیبات غالب اسانس از قبیل لینالول و به احتمال وجود این ترکیب در عصاره ان هگزانی گشنیز مرتبط دانست. در نسبت اسانس/عصاره به توکسین برابر با ۲۵۰به ۱، بیشترین تاثیر مربوط به عصاره ان-هگزانی گشنیز با ۶۳/۲ درصد تجزیه بعد از ۴۸ ساعت بود و در زمان‌های ۳۶ و ۲۴ ساعت نیز به ترتیب ۵۹/۶ درصد و ۵۲/۵ درصد تجزیه نشان داد. اسانس گشنیز نیز با ۴۶/۲ درصد تجزیه زیرالنون در طی ۴۸ ساعت در مرتبه بعدی قرار گرفت و تاثیر توکسین زدایی بیشتری نسبت به عصاره های متانولی و اتیل استاتی گلپر نشان دادند. در نسبت ۱۲۵ به ۱، هیچکدام از عصاره ها تاثیری نشان ندادند و تنها اسانس گشنیز در این نسبت توانست زیرالنون را تجزیه کند و بهترین نتیجه در طی ۴۸ ساعت با ۲۵/۲ درصد تجزیه حاصل شد (جدول ۳).

جدول۳. درصد تجزیه محتوای زرالنون شیرابه شکمبه گاو توسط اسانس و عصاره‌های برتر در نسبت های مختلف به توکسین (۱۲۵ به ۱، ۲۵۰ به ۱و ۵۰۰ به ۱) پس از ۴۸ ساعت نگهداری در شیکر انکوباتور با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ °C در تاریکی.

نسبت	زمان (ساعت)	اسانس گشنیز	عصاره ان‌هگزانی گشنیز	عصاره متانولی گلپر	عصاره اتیل استاتی گلپر
	۱۲	۹/۵±۰/۵۷^{s}	۰/۰^{t}	۰/۰^{t}	*۰/۰^{t**}
نسبت اسانس/عصاره: توکسین	۲۴	۱۷/۸±۱/۴۱^{qr}	۰/۰^{t}	۰/۰^{t}	۰/۰^{t}
۱:۱۲۵	۳۶	۲۲/۶±۱/۵۲^{p}	۰/۰^{t}	۰/۰^{t}	۰/۰^{t}
	۴۸	۲۵/۲±۲/۱۲^{o}	۰/۰^{t}	۰/۰^{t}	۰/۰^{t}
	۱۲	۱۸/۶±۰/۵۷^{qr}	۴۸/۲±۱/۴۱^{gh}	۲۵/۶±۰/۷۰^{o}	۰/۰^{t}
۱:۲۵۰	۲۴	۳۶/۵±۱/۰^{k}	۵۲/۵±۰/۵۷^{f}	۲۶/۰±۰/۵۷^{o}	۱۶/۷±۰/۷۰^{r}
	۳۶	۳۷/۹±۱/۴۱^{jk}	۵۹/۶±۲/۱۲۹^{de}	۲۸/۶±۱/۱۵^{n}	۱۸/۸±۱/۴۱^{qr}
	۴۸	۴۶/۲±۱/۱۵^{gh}	۶۳/۲±۱/۴۱^{d}	۳۱/۶±۰/۵۷^{m}	۲۱/۳±۱/۴۱^{p}
۱:۵۰۰	۱۲	۲۹/۵±۰/۷۰^{n}	۱۸/۵±۱/۰^{h}	۳۵/۵±۰/۵۷^{kl}	۱۲/۰±۱/۰^{s}
	۲۴	۵۳/۸±۰/۷۰^{f}	۴۹/۵±۱/۰^{g}	۳۴/۶±۰/۵۷^{l}	۳۱/۵±۰/۵۷^{m}
	۳۶	۵۸/۲±۱/۴۱^{e}	۶۷/۸±۰/۵۷^{c}	۳۹/۲±۱/۵۲^{ij}	۳۳/۵±۰/۷۰^{l}
	۴۸	۷۹/۵±۲/۱۲^{a}	۷۴/۲±۲/۱۲^{ab}	۴۶/۰±۱/۰^{gh}	۴۱/۸±۱/۴۱^{i}

*هر عدد میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد می باشد.

**حروف غیر مشابه نشان‌دهنده‌ی تفاوت بسیار معنی دار براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ می‌باشد.

بحث

در تحقیقات متعددی ترکیب ترانس‌آنتول به عنوان جزء اصلی اسانس رازیانه گزارش شده است (۳۱). همچنین ترکیبات گاماترپینن، بتاپینن وکومین‌آلدهاید به عنوان اجزا اصلی اسانس زیره سبز توسط Gachkar و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش شده است (۱۲). معرفی لینالول به عنوان ساختار اصلی اسانس گشنیز توسط Burdock و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد (۸). در بررسی فیتوشیمیایی ترکیبات اسانس گلپر ایرانی، ترانس آنتول با ۲۵ درصد (۱۱) و در مطالعه‌ای دیگر هگزیل بوتیرات با ۵۶/۵٪ به عنوان جزء اصلی اسانس گزارش شده است (۱۵).

توکسین‌زدایی ایمن، مؤثر و سازگار با محیط زیست برای کنترل توکسین‌های قارچی موجود در خوراک حیوان یک ضرورت است. در تحقیق حاضر، در حضور عصاره‌ها و اسانس‌های منتخب، مساحت یا شدت فلورسنت کروماتوگرام HPLC مربوط به زیرالنون کاهش یافت و کروماتوگرام دیگری روی صفحه گزارش دستگاه مشاهده نشد. به عبارت دیگر، محصول ناشی از تجزیه زیرالنون توسط ردیاب فلورسنت قابل ردیابی نبود که نشان می‌دهد از نظر ساختار شیمیایی متفاوت از زیرالنون و متابولیت‌های اصلی آن (آلفا زیرالنول و بتا زیرالنول) می‌باشد.. برخی از محققان گزارش کرده‌اند که تعدادی از عصاره‌های گیاهی دارای پتانسیل قابل توجهی در کاهش آفلاتوکسین هستند (۱۳،۱۴). پژوهش های Velazhahan و همکاران در سال ۲۰۱۰ روی توانایی عصاره‌های آبی برگ و دانه ۳۴ گیاه دارویی متعلق به ۱۷ خانواده گیاهی جهت توکسین زدایی آفلاتوکسین G1، نشان داد که عصاره گیاه *Trachyspermum ammi* با ۶۵ درصد کاهش در آفلاتوکسین G1 بالاترین کارایی را داراست (۳۲). در مطالعه دیگری قابلیت چشمگیر عصاره آبی آویشن دنایی و مرزه خوزستانی در تجزیه آفلاتوکسین B1 مشخص شده است (۱۳). در مطالعه‌ای تولید زیرالنون توسط قارچ فوزاریوم به میزان ۸۸٪، ۸۷٪، ۹۱٪، ۸۹٪ و ۹۳٪ به ترتیب در محیط حاوی اسانس‌های آویشن، نعناع، مرزه، شوید و فلفل قرمز کاهش یافت (۱۸). همچنین Dwivedi و Dubey در سال ۱۹۹۳ فعالیت‌های ضد قارچی اسانس‌های استخراج شده از گیاهان زیره سیاه و نعناع را علیه *A. flavus* بررسی کردند که نتایج نشان داد ترکیب کارفون به عنوان یکی از اجزاء اصلی اسانس آنها ممکن است مسئول فعالیت ضد قارچی در آنها باشد (۹).

به‌طورکلی نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی بین افزایش غلظت و مدت زمان حضور عصاره‌ها و اسانس با میزان تجزیه زیرالنون وجود دارد و می‌توان رابطه خطی در تجزیه زیرالنون با افزایش مدت زمان و غلظت اسانس/عصاره در نظر گرفت. برای انتخاب گیاه به صورت کاربردی باید اثرات متقابل زمان و غلظت در نظر گرفته شود. در بررسی زمان تعامل بین عوامل تجزیه کننده و توکسین، طبق بررسی‌های Hormisch و همکاران در سال ۲۰۰۴ کاهش AFB1 در محیط کشت باکتری *Stenotrophomonas maltophilia* به‌صورت مداوم و سریع اتفاق افتاد، به‌گونه‌ای که پس از ۱۲ ساعت به میزان ۴۶/۳ درصد و پس از ۷۲ ساعت به میزان ۷۸/۷درصد کاهش در میزان AFB1 حاصل شد. همچنین به‌طور مشابه Albert و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش کرده‌اند که ۷۲ ساعت حضور مایع رویی کشت *Rhodococcus erythropolis* باعث ۶۶/۶ درصد تجزیه در میزان AFB1 شد. کشت مایع باکتری *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. nov. منجر به کاهش ۸۰ درصد و ۱۰۰ درصد میزان AFB1 به ترتیب پس از ۳۶ و ۷۲ ساعت شده است (۱۷). بیشترین پاک‌سازی آفلاتوکسین از عصاره برون سلولی *Bacillus subtilis* به دست آمده از کشت‌های ۶۰ و ۷۲ ساعته باکتری حاصل شد که به ترتیب به میزان ۸۱/۶۶ درصد و ۸۲/۱۰ درصد آفلاتوکسین موجود در محیط پاک‌سازی شد (۱۰).

نتیجه گیری نهایی: از آنجایی که آلودگی‌های خوراک دام به مایکوتوکسین‌ها و از جمله زیرالنون در اغلب موارد اجتناب ناپذیر است، تعیین استراتژی‌هایی برای توکسین‌زدایی از این فراورده‌ها و غیر فعال کردن توکسین موجود در آنها ضروری می‌باشد. جهت رفع این مشکل، کاربرد گیاهان دارویی از جمله گشنیز و گلپر امیدوارکننده بوده و به عنوان افزودنی خوراک دام قابل توصیه می‌باشد. به هر حال آزمایش‌های درون تنی لازم است تا قابلیت کاربرد این دو گیاه در کاهش میزان زیرالنون خوراک دام، طیور و آبزیان به طور دقیق مشخص شده و به‌صورت تجاری به‌عنوان افزودنی گیاهی توکسین زدای خوراک حیوانات مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت معاونت پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه شهید بهشتی (طرح موظف به شماره ۶۰۰/۳۳۴۸) و شرکت نوین رشد شهران فوده انجام شده است که بدینوسیله نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Adams, R. P. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. J Am Soc. Mass Spectrom. 18, 803- 806, https://doi.org/10.1016/j.jasms.2007.01.001
2. Alinezhad, S., Kamalzadeh, A., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M.-B., Jaimand, K., Kawachi, M., Razzaghi-Abyaneh, M. (2011). Search for novel antifungals from 49 indigenous medicinal plants: *Foeniculum vulgare* and *Platycladus orientalis* as strong inhibitors of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Ann. Microbiol. 61(3), 673-681. https://doi.org/10.1007/s13213-010-0194-1.
3. Atanda, O., Akpan, I., Oluwafemi, F. (2007). The potential of some spice essential oils in the control of *A. parasiticus* CFR 223 and aflatoxin production. Food control,18(5):601-607, https://doi.org/10.1016j.foodcont.2006.02.007.
4. Belhassen, H., Jiménez-Díaz, I., Arrebola, J., Ghali, R., Ghorbel, H., Olea, N., Hedili, A. (2015). Zearalenone and its metabolites in urine and breast cancer risk: a case-control study in Tunisia. Chemosphere, 128, 1-6, https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.055
5. Bluma, R., Amaiden, M., Etcheverry, M. (2008). Screening of Argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B 1 accumulation by Aspergillus section Flavi. Int. J Food Microbiol. 122(1), 114-125, https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.050.
6. Borutova, R., Faix, S., Placha, I., Gresakova, L., Cobanova, K., Leng, L. (2008). Effects of deoxynivalenol and zearalenone on oxidative stress and blood phagocytic activity in broilers. Arch. Anim. Nutr. 62(4), 303-312, https://doi.org/10.1080/17450390802190292.
7. British Pharmacopoea (BP). (1993) Vol. 2, H M Stationery Office: London A-154.
8. Burdock, G. A., Carabin, I. G. (2009). Safety assessment of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil as a food ingredient. Food. Chem. Toxicol. 47(1), 22-34, https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.006.
9. Dwivedi, S. K., Dubey, N. (1993). Potential use of the essential oil of *Trachyspermum ammi* against seed-borne fungi of Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.(Taub.). Mycopathologia, 121(2), 101-104, https://doi.org/10.1007/BF01103577.
10. Farzaneh, M., Shi, Z.-Q., Ghassempour, A., Sedaghat, N., Ahmadzadeh, M., Mirabolfathy, M., Javan-Nikkhah, M. (2012). Aflatoxin B1 degradation by *Bacillus subtilis* UTBSP1 isolated from pistachio nuts of Iran. Food Control, 23(1), 100-106, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.06.018.
11. Firuzi, O., Asadollahi, M., Gholami, M., Javidnia, K. (2010). Composition and biological activities of essential oils from four Heracleum species. Food Chem. 122(1), 117-122, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.026.
12. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem. 102(3), 898-904, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.035.
13. Gorran, A., Farzaneh, M., Shivazad, M., Rezaeian, M., Ghassempour, A. (2013). Aflatoxin B1-reduction of *Aspergillus flavus* by three medicinal plants (Lamiaceae). Food Control, 31(1), 218-223, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.024.
14. Hajare, S. S., Hajare, S. N., Sharma, A. (2005) Aflatoxin inactivation using aqueous extract of ajowan (*Trachyspermum ammi*) seeds. J. Food Sci. 70(1), 29-34, https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09016.
15. Hajhashemi, V., Sajjadi, S. E., Heshmati, M. (2009). Anti-inflammatory and analgesic properties of *Heracleum persicum* essential oil and hydroalcoholic extract in animal models. J. Ethnopharmacol. 124(3), 475-480. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.05.012.
16. Hassanat, F., Gervais, R., Julien, C., Massé, D. I., Lettat A., Chouinard P. Y., Petit H. V., Benchaar C. (2013). Replacing alfalfa silage with corn silage in dairy cow diets: Effects on enteric methane production, ruminal fermentation, digestion, N balance, and milk production. J. Dairy Sci. 96, 4553–4567. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6480.
17. Hormisch, D., Brost, I., Kohring, G.-W., Giffhorn, F., Kroppenstedt, R., Stackebradt, E. Holzapfel, W. (2004). Mycobacterium fluoranthenivorans sp. nov., a fluoranthene and aflatoxin B 1 degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant. Syst Appl Microbiol. 27(6), 653-660. https://doi.org/10.1078/0723202042369866.
18. Hoseiniyeh, F. S., Mirabolfathy, M., Rezaie, D. H., Karami, O. R. (2012). Effect of five essential oils on zearalenone production and growth of *Fusarium graminearum*. Appl Entomol Phytopathol, 80(1), 81-94.
19. Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O., Dutler, H. (2001). Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicol. Lett. 122(2),179-188, https://doi.org/10.1016/S0378-4274(01)00360-5.
20. Kohiyama, C.Y., Yamamoto Ribeiro, M. M., Mossini, S. A., Bando, E., Bomfim Nda, S., Nerilo S. B., Rocha, G. H., Grespan, R., Mikcha, J. M., Machinski, M. J. (2015). Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L.by *Aspergillus flavus* Link. Food Chem. 173, 1006-1010, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.135.
21. Kuiper-Goodman, T., Scott, P., Watanabe, H. (1987). Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. Regul. Toxicol. Pharmacol. 7(3), 253-306, https://doi.org/10.1016/0273-2300(87)90037-7.
22. Måge, A., Julshamn, K., Lunestad, B. (2009). Overvåkningsprogram for Fôrvarer til Fisk og Andre Akvatiske dyr—Årsrapport 2008 og 2009. NIFES, Bergen (in Norwegian).
23. Massart, F., Saggese, G. (2010). Oestrogenic mycotoxin exposures and precocious pubertal development. Int J Androl. 33(2), 369-376, https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.01009.
24. Moshtaghian, J., Parsons, C., Leeper, R., Harrison, P., Koelkebeck, K. (1991). Effect of sodium aluminosilicate on phosphorus utilization by chicks and laying hens. Poult Sci. 70(4), 955-962, https://doi.org/10.3382/ps.0700955.
25. Pietsch, C., Kersten, S., Burkhardt-Holm, P., Valenta, H., Dänicke, S. (2013). Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in commercial fish feed: an initial study. Toxins, 5(1), 184-192, https://doi.org/10.3390/toxins5010184
26. Pietsch, C., Noser, J., Wettstein, F. E., Burkhardt-Holm, P. (2014). Unraveling the mechanisms involved in zearalenone-mediated toxicity in permanent fish cell cultures. Toxicon, 88, 44-61, https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.06.005.

27. Ramos, A.-J., Fink-Gremmels, J., Hernández, E. (1996). Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. J Food Prot. 59(6), 631-641, https://doi.org/10.4315/0362-028X-59.6.631.

28. Reddy, K., Reddy, C., Muralidharan, K. (2009). Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. Food Control, 20(2), 173-178, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.03.009.

29. Santos, G., Rodrigues, I., Naehrer, K., Encarnacao, P. (2010). Mycotoxins in aquaculture: occurrence in feed components and impact on animal performance. Aquac Eur. 35, 6-10.

30. Tanaka, T., Hasegawa, A., Yamamoto, S., Lee, U. S., Sugiura, Y., Ueno, Y. (1988). Worldwide contamination of cereals by the Fusarium mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone. 1. Survey of 19 countries. J Agric. Food Chem. 36(5), 979-983, https://doi.org/10.1021/jf00083a019

31. Tognolini, M., Ballabeni, V., Bertoni, S., Bruni, R., Impicciatore, M., Barocelli, E. (2007). Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. Pharmacol Res. 56(3), 254-260, https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.07.002.

32. Velazhahan, R., Vijayanandraj, S., Vijayasamundeeswari, A., Paranidharan, V., Samiyappan, R., Iwamoto, T. Muthukrishnan, S. (2010). Detoxification of aflatoxins by seed extracts of the medicinal plant, *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill–structural analysis and biological toxicity of degradation product of aflatoxin G1. Food control, 21(5), 719-725, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.10.014.

33. Ward, T., Watkins, K., Southern, L., Hoyt, P., French, D. (1991). Interactive effects of sodium zeolite and copper in growing swine: growth, and bone and tissue mineral concentrations. J Anim Sci. 69(2), 726-733.