بررسی اثر نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی(*Salvia chorassanica*) درکاهش فساد کپکی میوه توت فرنگی پس از برداشت

اعظم مهربان[1]، محسن وظیفه دوست *[2]، زهره دیدار[2]، محمد حسین حدادخداپرست[2]، معصومه مهربان سنگ آتش[2]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی ، نیشابور، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

***نویسنده مسئول:** *m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۱۷

چکیده

در سال‌های اخیر با توجه به اثرات زیان بار سموم و نگهدارنده‌های شیمیایی برای سلامت انسان تمایل به استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی مانند اسانس‌ها افزایش یافته است. در این پژوهش نانوامولسیون اسانس گیاه مریم گلی خراسانی (*Salvia chorassanica*) با روش اولتراسوند تهیه و فعالیت ضدکپکی آن علیه سه کپک عامل فساد توت‌فرنگی (*A. niger* ، *B.cinere* و *R. stolonifer*) بررسی شد و با قارچ کش تیابندازول مقایسه گردید. علاوه بر این، قابلیت این ترکیبات در کاهش فساد کپکی میوه توت فرنگی در طی ۱۲ روز نگهداری در یخچال پس از پوشش‌دهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نانوامولسیون اسانس فعالیت ضدکپکی بیشتری برخوردار بود و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) نانوامولسیون اسانس پایین‌تر از قارچ کش بود. تیمار نانوامولسیون اسانس در غلظت ۵/۱۲l/ml µ در سطح توت‌فرنگی توانست رشد اسپور کپک *A. niger* را ۶ روز و *B.cinere* و *R. stolonifer* را تا ۹ روز به تاخیر اندازد. همچنین با استفاده از پوشش نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی و قارچ کش تیابندازول با غلظت ۲۵l/ml µ در سطح توت‌فرنگی برخلاف نمونه‌های کنترل فاقد پوشش هیچ‌گونه رشد کپکی تا پایان روز ۱۲ ام مشاهده نشد. بنابراین نانوامولسیون اسانس مریم گلی می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای قارچ‌کش تیابندازول پیشنهاد شود.

کلید واژه ها: نانوامولسیون، اسانس، *Salvia chorassanica* ، فعالیت ضدکپکی، توت‌فرنگی.

مقدمه

با توجه به تغییر سبک زندگی مردم و توجه بیشتر به نوع مواد غذایی از جنبه خواص سلامتی بخشی در دهه‌های اخیر مصرف برخی از مواد غذایی گیاهی از جمله میوه‌ها به دلیل دارا بودن مواد مغذی متنوع در کشورهای مختلف افزایش یافته است. این در حالی است که سرانه مصرف میوه در ایران دو برابر مصرف جهانی است و ایران در تولید میوه رتبه هشتم را در جهان دارد. توت فرنگی یکی از محبوب‌ترین میوه‌ها در سراسر جهان است که دارای عطر و طعم منحصر به فرد می‌باشد (Dris et al. 2003). تولید سالانه میوه توت فرنگی در ایران ۵۶ هزار تن گزارش شده است. ضایعات میوه در ایران سالانه بالغ بر ۳۰ درصد است که خسارات اقتصادی بسیاری را به کشور تحمیل می‌کند. (Phalsaphy. 2012). میوه توت فرنگی به دلیل محتوای رطوبت و فعالیت متابولیک بالا به شدت فسادپذیر بوده و دوره نگهداری پس از برداشت کوتاهی دارد که بازار فروش آن را با مشکل رو به رو می‌کند، در حالی‌که یکی از مهمترین روش‌های مصرف آن به صورت تازه‌خوری است. افت کیفیت این میوه در زمان انبارمانی به میزان حساسیت به آلودگی‌های قارچی، از دست رفتن آب، آسیب‌های فیزیکی و نرم شدن بافت مربوط می‌شود (Moayednia et al. 2010). *B.cinere* و *R. stolonifer* مهم‌ترین کپک‌های عامل فساد توت فرنگی شناخته شده‌اند.

تاکنون روش‌های مختلفی جهت افزایش زمان انبارمانی توت فرنگی پس از برداشت مطرح شده است که از آن جمله می‌توان به نگهداری در دماهای پایین، استفاده از

قارچ‌کش‌های شیمیایی، اتمسفرکنترل شده، تیمارهای اسمزی و حرارتی و فراصوت اشاره نمود. استفاده از سموم شیمیایی مانند ترکیبات بنزیمیدازول، ایمازالیل، ترکیبات گوگردی آلی و معدنی و مواد اکسید کننده موثرترین روش جهت کنترل آلودگی‌های قارچی میوه‌ها معرفی شده‌اند. اما به دلیل اثرات منفی بر مواد مغذی و عطر و طعم میوه‌ها، ایجاد سمیت برای انسان، ایجاد مشکلات زیست محیطی و ایجاد نژادهای مقاوم مصرف این‌گونه ترکیبات با محدودیت مواجه شده است (Velickova et al. 2013). بنابراین نیاز به ارائه روش‌های جدید به منظور حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی توت فرنگی وجود دارد.

استفاده از روش‌های کنترل طبیعی با بهره‌گیری از ترکیبات طبیعی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی که اثرات ضدمیکروبی آن‌ها اثبات شده، در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌است. از آن‌جا که این ترکیبات کاملاً طبیعی هستند، زیان آن‌ها برای سلامت انسان و محیط زیست بسیار کمتر از مواد نگهدارنده‌ی شیمیایی می‌باشد (رستگار و طهماسبی، ۱۳۹۵). به کارگیری اسانس‌ها عموماً به دلیل حلالیت پایین در آب، فشار بخار بالا و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی با دشواری‌هایی همراه است. علاوه بر این اسانس‌ها دارای اثرات ارگانولپتیک نیز بوده و در محصولات ایجاد بو و مزه می‌کنند. یکی از روش‌های به حداقل رساندن این اثرات و افزایش کارایی اسانس‌ها استفاده از نانوامولسیون‌ها است، که با توجه به کوچکتر بودن اندازه‌ی ذرات در افزایش پایداری و نیمه عمر ماده‌ی مؤثره اسانس و سهولت رسیدن به موضع اثر، نقش مهمی دارند. به علاوه، منجر به افزایش خواص ضدمیکروبی اسانس از طریق افزایش جذب سلولی می‌شود (Oussalah et al. 2004). بنابراین استفاده از نانوامولسیون‌های اسانس‌های گیاهان بومی ایران با خواص ضدمیکروبی شناخته شده به عنوان پوشش در سطح میوه‌ها می‌تواند به منظورکاهش فساد کپکی و افزایش عمرانبارمانی این محصولات در کاهش ضایعات و خسارت-های اقتصادی کشورکمک شایانی نماید.

گیاه مریم گلی با نام علمی سالویا متعلق به تیره نعناعیان است که اغلب در مناطق گرم و معتدل می‌روید. جنس سالویا دارای ۹۰۰ گونه مختلف در جهان می‌باشد که ۱۷ گونه آن بومی ایران است. گونه مریم گلی خراسانی (*Salvia chorassanica*) یکی از گونه‌های گیاهی بومی ایران است که تنها در خراسان رضوی رشد می‌کند. این گیاه از لحاظ گیاه شناسی، گیاهی علفی چند ساله با قاعده چوبی، به ارتفاع ۴۵ تا ۶۰ سانتی‌متر، با ساقه‌های متعدد افراشته ساده و یا منشعب پوشیده از کرک‌های کوتاه غده‌دار می‌باشد. گیاه مریم گلی خراسانی در ناحیه گل آذین دارای کرک‌های بلند چند سلولی است. زمان گل‌دهی این گیاه در بهار بوده و رویشگاه آن در دامنه‌های صخره‌ای و سنگی می‌باشد. پراکندگی جغرافیایی این گیاه منحصرا در شمال شرق ایران در خراسان می‌باشد که بیشتر در مشهد درمنطقه بالای ده زشک، در نیشابور در قسمت شیب جنوبی و شمالی کوه بینالود و در درگز در ارتفاعات شمالی گردنه الله اکبر یافت می شود. ارزیابی شیمیایی گونه‌های مختلف سالویا نشان داده‌است که حضور فلاوونوئیدها، تری‌ترپنوئیدها و اسانس‌های روغنی در این گیاه دلیل ایجاد خواص ضد توموری، ضدمیکروبی، آنتی اکسیدانی، سیتوتوکسیک و ضد التهابی آن می‌باشند (Tayarani-Najaran et al., 2011).

مطالعه اخیر ما در مورد ارزیابی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گونه مریم گلی خراسانی توسط دستگاه GC-MS نشان داد که به طور کلی ۲۰ ترکیب شیمیایی قابل شناسایی بود و به ترتیب کاریوفیلن (Caryophyllene)، جرماکرین- دی(Germacrene D) و بی سیکلو جرماکرین (Bicyclogermacrene) بیشترین فراوانی را دارا بودند (مهربان، ۱۳۹۹).قابلیت ضدمیکروبی اسانس و عصاره گونه‌های مختلف سالویا در مطالعات پیشین گزارش شده است به عنوان مثال سلیم پور و همکاران (۱۳۹۲) فعالیت ضدباکتریایی اسانس چهار گونه گیاه مریم‌گلی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور ایران مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس

گونه‌های مختلف و فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها متفاوت بود. همچنین مهربان و همکاران (۱۳۹۵) اثر ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف اتانولی، آبی و هیدروالکلی گیاه مریم گلی خراسانی را ارزیابی نمودند. نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی بیشترین فعالیت ضدمیکروبی را علیه باکتری-های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی داشت. زمردیان و همکاران (۲۰۱۷) نیز فعالیت ضدمیکروبی یک گونه مریم گلی (*Salvia mirzayanii*) علیه باکتری‌های بیماری‌زا و مخمرهای عامل فساد غذایی را به حضور درصد بالای ترکیباتی مانند سینئول و لینالول استات در این گیاه نسبت دادند (Zomorodian et al., 2017). بنابراین با توجه به این که تاکنون اطلاعاتی در مورد اثرات ضدکپکی اسانس مریم گلی خراسانی در کاهش فساد کپکی در سطح میوه‌ها منتشر نشده است، هدف از این پژوهش تولید نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی به روش اولتراسوند و بررسی قابلیت ضدکپکی آن و همچنین اثر آن بر کاهش فساد کپکی توت فرنگی پس از برداشت در مقایسه با قارچ کش تیابندازول می‌باشد.

مواد و روش کار

استخراج اسانس

گیاه مریم گلی خراسانی در اواخر فصل بهار از ارتفاعات منطقه زشک شهرستان مشهد، استان خراسان رضوی جمع آوری و با همکاری آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشکده علوم پایه و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد توسط جوهرچی با شماره هرباریوم ۱۱۲۸۹ مورد شناسایی قرار گرفت. اندام هوایی این گیاه در شرایط مناسب و در سایه خشک شدند. سپس ۲۰۰ گرم از گیاه خشک را خرد و آسیاب کرده و سپس با استفاده از دستگاه کلونجر، اسانس روغنی و فرار گیاه به روش تقطیر با آب استخراج شد. اسانس بدست آمده به کمک سولفات سدیم خشک، آب‌گیری و پس از عبور از میکروفیلتر ۰/۴۵ µm در ظرف شیشه‌ای تیره به دور از نور خورشید در دمای چهار درجه‌ی سلسیوس تا زمان آزمون‌های بعدی نگهداری گردید (سلیم‌پور و همکاران، ۱۳۹۲).

تهیه نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی

به منظور تهیه نانوامولسیون روغن در آب اسانس مریم گلی خراسانی، ابتدا اسانس (۱۰ درصد وزنی) ، امولسی‌فایر توئین ۸۰ (۱۰ درصد وزنی) و آب مقطر (۸۰ درصد وزنی) تحت شرایط همزدن مداوم در دمای اتاق با سرعت ۱۰۰۰rpm توسط همزن مغناطیسی (لابترون، ایران) به مدت ۵ دقیقه مخلوط شدند. سپس از هموژنایزر التراتوراکس (Heidolph، آلمان) با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳ دقیقه جهت هموژن کردن استفاده شد. جهت کوچک‌تر شدن اندازه ذرات، امولسیون حاصل تحت اولتراسوند (Banderlin ، آلمان) (توان اسمی ۷۵۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز) به مدت ۲/۵، ۵ و ۱۰ دقیقه قرار گرفت. انتقال امواج فراصوت توسط یک مولد پیزوالکتریک با قطر ۱۹ میلی‌متر در عمق دو سانتی‌متری زیر سطح نمونه انجام گرفت. همچنین برای کنترل دما در طول مدت امولسیون‌سازی از یک حمام یخ استفاده گردید. امولسیون‌های تهیه شده در ظروف در پیچدار تا زمان آزمون‌های بعدی در یخچال نگهداری شد(Li et al., 2018).

تعیین اندازه ذرات نانوامولسیون

جهت تعیین اندازه ذرات نانوامولسیون‌های تهیه شده در اثر تیمارهای مختلف اولتراسوند در زمان‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ دقیقه، از دستگاه DLS (Vasco، آلمان) یا سنجش‌گر اندازه ذرات که پراکنش و شکست نور لیزر را بر مبنای مدل لورنز-می و تئوری فرانهوفر به اندازه ذرات مربوط می‌سازد، استفاده شد. در نهایت نانوامولسیون‌هایی با کوچکترین اندازه ذرات برای مراحل بعدی آزمایش انتخاب شدند (Li et al., 2018).

تهیه سوسپانسیون اسپور کپک

در ایـن مطالعـه کپـک‌هـای *Aspergillus niger* ، *Rhizopus stolonifer* و *Botrytis cinerea* از مرکـز کلکسیون میکروبی جهـاد کشـاورزی تهـران، ایـران تهیـه شدند. ابتدا کشت هریک از سویه‌های کپک‌های مذکور بـر روی محـیط کشـت (مـرک، آلمـان) Potato Agar Dextrose تهیه شد. پس از یک هفته گرمخانه‌گـذاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ظهور میسلیوم‌ها و اسپورهای کپک در سطح محیط کشت، سوسپانسیون اسپور کپک‌هـا در لوله حاوی آب مقطـر اسـتریل دارای تـوئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) آماده شده و در نهایت تعداد اسپورها در هـر میلـی لیتـر آب مقطـر توسـط لام هموسـایتومتر در زیـر میکروسکوپ شمارش گردید. غلظت اسپورهای کپک‌هـای مذکور در هر لوله به میزان 10^4 اسپور در هـر میلی‌لیتـر تنظیم شد (سیفی، ۱۳۹۳).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC[1]) و حداقل غلظـت کشندگی (MFC[2])

جهت تعیـین حـداقل غلظـت بـازداری (MIC) و حـداقل غلظـت کشـندگی (MFC) نانوامولسـیون اسـانس و قـارچ کش تیابندازول از از روش میکرودایلوشـن در میکروپلیـت ۹۶ خانه استفاده شد. میزان ۲۰ ماکرولیتر از سوسپانسیون اسپور هر کپک با غلظت 10^4 اسپور در هر میلی‌لیتر به هر چاهـک دارای محـیط کشـت مـایع Potato Dextrose حاوی غلظت‌های مختلف نانوامولسیون اسانس و قارچ کش تیابنـدازول شـامل ۵۶/۱l/ml ، ۱۲/۳ ، ۲۵/۶، ۵/۱۲، ۵۰µ تلقیح شد. حجم نهایی هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر در نظـر گرفته شد. از چاهـک‌هـای حـاوی محـیط کشـت PDB و اسپور کپک به عنوان کنترل مثبت جهت تایید رشد کپک اسـتفاده شـد. از چاهـک‌هـای حـاوی محـیط کشـت و نانوامولسیون اسانس یا قارچ کش تیابندازول، فاقـد اسـپور کپک نیز به عنوان کنترل منفـی اسـتفاده گردیـد. سـپس میکروپلیت در گرمخانه ۲۵ درجه سلسیوس بـه مـدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. کمترین غلظتی که مانع رشد کپک شد و کدورتی در آن مشاهده نگردید به عنـوان MIC در نظـر گرفته شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی یا MFC نیز مقدار ۱۰ ماکرولیتر از هر یک از چاهک‌هایی که رشـد کپک مشاده نگردید بر روی محـیط کشـت PDA منتقـل شد و رشد کپک در طول ۷۲ سـاعت در دمـای ۲۵ درجـه سلسیوس بررسی گردید. غلظتی از نانوامولسیون اسانس یا قارچ کش که هیچ گونـه رشـد کپکـی مشـاهده نشـد بـه عنـوان حـداقل غلظـت کشـندگی در نظـر گرفتـه شـد (Bedoya-Serna et al., 2018).

پوشش دهی توت فرنگی

توت‌فرنگی رسـیده بـدون هـیچ‌گونـه آسـیب فیزیکـی یـا شیمیایی با سایزهای تقریبا یکنواخت از بازار شـهر مشـهد خریداری شد. جهت حذف هرگونه آلودگی سطحی هریک از تـوت‌فرنگـی‌هـا بـه مـدت ۳۰ ثانیـه در محلـول هیپوکلریدسدیم ۰/۱ درصد غوطه‌ور شد و سپس دوبـار بـا آب مقطر استریل شست و شـو داده شـد. پـس از خشـک شدن سطح توت‌فرنگی‌ها در شـرایط اسـتریل، بـه منظـور مشاهده اثر ضدکپکی محلول نانوامولسیون اسانس و قـارچ کش با غلظت MIC و MFC بـه دسـت آمـده در آزمـون میکرودایلوشن برای هریک از کپک‌ها، جهت تیمـار تـوت-فرنگی‌ها به روش محلول پاشی یـا اسـپری بـه کـار رفـت. سپس تلقیح میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور هریـک از کپـک‌هـای عامـل فسـاد مـورد آزمـون (*R. stolonifer*، *B. cinera* و *A. niger*) بـه طـور مجـزا در سطح توت‌فرنگی‌ها بـه صـورت نقطـه گـذاری انجـام شـد. همچنین نمونه‌های فاقد پوشش به عنوان کنتـرل در ایـن مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. در هر تیمار شـش تـوت فرنگی به ظروف پلی اتیلنی با ابعاد مشخص بدون تماس با یکدیگر منتقل گردید و در یخچـال در دمـای پـنج درجـه سلسیوس به مدت دو هفته نگهداری شدند.

شمارش کپک‌ها در سطح توت فرنگی در طی نگهداری

شمارش جمعیت کپک‌ها در طـول نگهـداری میـوه تـوت-فرنگی در یخچال در روزهـای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ انجـام شـد. بدین منظور ۱۰ گرم نمونه توت فرنگی به ۹۰ میلی لیتـر

[1]- Minimum inhibition concentration
[2]- Minimum fungicidal concentration

محلول سرم فیزیولوژی استریل افزوده شد و در دستگاه استومیکر به صورت یکنواخت درآمد. سپس به منظور تهیه رقت‌های سریالی بعدی یک میلی لیتر از این مخلوط به نه میلی لیتر محلول سرم فیزیولوژی استریل به طور متوالی اضافه شد. در مرحله بعد به منظور کشت سطحی کپک‌ها از محیط کشت PDA استفاده شده و پس از قرار دادن پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت سه روز، شمارش کپک‌ها در سطح محیط کشت انجام شد و نتایج به صورت cfu/gr گزارش گردید (Oliveira et al. 2019).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون‌ها در این مطالعه با سه تکرار براساس طرح کاملا تصادفی انجام شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک طرفه و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنادار پنج درصد در نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد.

نتایج

اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس

در این پژوهش بازده اسانس گیری از گیاه مریم گلی خراسانی ۰/۳۵ درصد (w/w)تعیین شد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، نتایج بررسی اثر زمان‌های مختلف تیمار اولتراسوند بر میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون‌های تشکیل شده در این مطالعه نشان داد که با افزایش زمان اولتراسوند اندازه ذرات نانوامولسیون به طور معناداری کاهش یافت. میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی پس از ۲/۵ دقیقه اولتراسوند ۱۸۴/۱۲ نانومتر و پس از ۱۰ دقیقه تیمار اولتراسوند به ۹۱/۸۳ نانومتر کاهش یافت. بر این اساس در این مطالعه از نانوامولسیون‌های تهیه شده تحت تیمار ۱۰ دقیقه اولتراسوند با کوچکترین اندازه ذرات برای ادامه آزمون‌ها استفاده شد.

جدول ۱- اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی در زمان‌های مختلف اولتراسوند.

مدت اولتراسوند(دقیقه)	میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون (نانومتر)
۲/۵	۱۸۴/۴±۱۲/۳۳*a
۵	۱۲۰/۵±۲۷/۲۳b
۱۰	۹۱/۴±۸۳/۸۱c

* نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است. حروف کوچک ناهمسان بر روی هر ستون اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد.

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC)

نتایج بررسی اثر ضدکپکی نانوامولسیون اسانس *S. chorasanica* و قارچ کش تیابندازول در آزمون میکرودایلوشن در جدول ۲ مشاهده می‌شود.

بر طبق نتایج پتانسیل ضدکپکی نانوامولسیون اسانس *S. chorasanica* علیه سه کپک عامل فساد توت فرنگی بیشتر از قارچ کش تیابندازول بود. به طوری که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) نانوامولسیون اسانس نسبت به قارچ کش تیابندازول به نصف کاهش یافت. MIC و MFC نانوامولسیون اسانس *S. chorasanica* علیه کپک‌های *R. stolonifer* و *B.cinere* به ترتیب ۲۵/۶l/ml µ و ۱۲/۵ بود. علاوه بر این بیشترین MFC نانوامولسیون اسانس *S. chorasanica* علیه کپک *A. niger* مشاهده شد. در حالی که MIC و MFC قارچ کش تیابندازول علیه کپک-های مذکور به ترتیب۵/۱۲l/ml µ و ۲۵ بود.

جدول ۲- حداقل غلظت بازداری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی و قارچ کش تیابندازول علیه کپک‌های عامل فساد توت فرنگی.

کپک	قارچ کش تیابندازول(µl/ml)		نانوامولسیون اسانس(µl/ml)	
	MIC	MFC	MIC	MFC
A. niger	۱۲/۵	۲۵	۶/۲۵	۲۵
R. stolonifer	۱۲/۵	۲۵	۶/۲۵	۱۲/۵
B.cinere	۱۲/۵	۲۵	۶/۲۵	۱۲/۵

ارزیابی فساد کپکی توت فرنگی در طی نگهداری

نتایج شمارش جمعیت هر سه کپک در سطح توت‌فرنگی‌های کنترل فاقد پوشش، پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی و قارچ کش تیابندازول در جدول ۳ مشاهده می‌شود.

نتایج نشان داد که با افزایش زمان نگهداری جمعیت کپک‌های مورد بررسی در سطح توت‌فرنگی در همه تیمارها افزایش یافت. بیشترین افزایش جمعیت کپک‌ها در پایان روز ۱۲ در سطح تیمارهای کنترل فاقد پوشش مشاهده شد که حدود ۷/۵ سیکل لگاریتمی به ازای هر گرم توت فرنگی بود. تیمار نانوامولسیون اسانس در پایان روز ۱۲ نگهداری توت فرنگی‌ها توانست جمعیت کپک‌های *A. niger*، *B. cinere* و *R. stolonifer* را به ترتیب ۵/۱۹، ۶/۳۶ و ۶/۶۵ سیکل لگاریتمی در مقایسه با نمونه‌های کنترل کاهش دهد. در بین سه کپک مورد آزمون کپک *A. niger* کمترین حساسیت را در برابر تیمارهای ضدکپکی داشت. براساس نتایج به دست آمده با افزایش غلظت نانوامولسیون اسانس و همچنین قارچ کش تیابندازول میزان فساد کپکی توت‌فرنگی در طول دوره نگهداری در یخچال کاهش یافت. علاوه بر این تیمار نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی در مقایسه با قارچ کش تیابندازول در کاهش فساد کپکی توت‌فرنگی موثرتر عمل کرد. تیمار نانوامولسیون اسانس در غلظت ۱۲/۵ µl/ml در سطح توت‌فرنگی توانست رشد اسپور کپک *A. niger* را به مدت ۶ روز به تاخیر بیاندازد.

همچنین رشد اسپورهای کپک‌های *B.cinere*، *R. stolonifer* در روز ۱۲ نگهداری در یخچال در سطح توت‌فرنگی های تحت تیمار مذکور مشاهده گردید. در حالی که در توت‌فرنگی‌های دارای پوشش قارچ کش در غلظت ۵/۱۲l/ml µ از روز سوم شمارش کپک‌ها در سطح پلیت صورت گرفت. استفاده از پوشش نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی و قارچ کش تیابندازول با غلظت ۲۵l/ml µ در سطح توت‌فرنگی توانست رشد هر سه گونه کپک را تا ۱۲ روز به تاخیر بیندازد.

جدول ۳- فعالیت ضدکپکی پوشش نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی و قارچ کش تیابندازول در سطح توت فرنگی.

کپک	روز	قارچ کش تیابندازول(µl/ml)			نانوامولسیون اسانس(µl/ml)			کنترل
		۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	
A. niger	۳	۲/۰±۴۵/۱	۱/۰±۸۱/۰۵	۰	۱/۰±۹۱/۰۷	۰	۰	۴/۲۴ ۰±/۳
	۶	۲/۰±۶۵/۱	۲/۰±۱۵/۳۵	۰	۲/۰±۳۵/۰۷	۰	۰	۵/۸ ۰±/۲
	۹	۲/۰±۹۷/۲	۲/۰±۴۶/۱۵	۰	۲/۰±۵۸/۱۵	۲/۰±۱۵/۳	۰	۷/۰±۳۸/۱۵
	۱۲	۳/۰±۷۷/۲	۲/۰±۸۱/۱۲	۰	۲/۰±۶۵/۱۵	۲/۰±۳۱/۳۵	۰	۷/۰±۸۷/۲
R. stolonifer	۳	۲/۰±۴۸/۲	۲/۰±۱۵/۳۵	۰	۱/۰±۷۲/۰۵	۰	۰	۴/۰±۶۵/۳
	۶	۲/۰±۵/۳	۱/۰±۷۶/۱۲	۰	۲/۰±۱۵/۲۱	۰	۰	۵/۰±۱۵/۱
	۹	۲/۰±۷۴/۲	۲/۰±۲۴/۲	۰	۲/۰±۲۵/۲۱	۰	۰	۶/۰±۲۴/۲

	۱۲	۲/۰±۹۲/۲	۲/۰±۳۸/۲	۰	۲/۰±۳۸/۱۲	۰/۰±۸۵/۲۱	۰	۷/۰±۴۸/۲
B. cinere	۳	۲/۰±۱۵/۱	۱/۰±۶۴/۲۱	۰	۱/۰±۸/۰۵	۰	۰	۴/۰±۸۹/۱
	۶	۲/۰±۴۵/۱۲	۱/۰±۹۷/۱۲	۰	۱/۰±۹۵/۰۷	۰	۰	۵/۰±۶۲/۲
	۹	۲/۰±۷۴/۱۲	۲/۰±۲۴/۲	۰	۲/۰±۳۸/۱۲	۰	۰	۶/۰±۴۸/۱۵
	۱۲	۲/۰±۹۲/۱۲	۲/۰±۳۸/۱۵	۰	۲/۰±۵۲/۰۹	۱/۰±۱۵/۰۵	۰	۷/۰±۶۵/۳

* نتایج به صورت میانگین لگاریتم جمعیت کپک ± انحراف معیار نمایش داده شده است.

بحث

اسانس‌های گیاهی به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست فعال طبیعی مختلف دارای خواص بالقوه ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی هستند. اما به دلیل حلالیت پایین در آب، تبخیر بالا و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی به کار گیری آن‌ها در موادغذایی دشوار است. علاوه بر این اسانس‌ها با ایجاد بو و مزه قوی در محصولات غذایی گاها آن را برای مصرف کنندگان ناخوشایند می‌کنند. یکی از روش‌های به حداقل رساندن این اثرات و افزایش کارایی اسانس‌ها استفاده از نانوامولسیون‌ها است، که با توجه به کوچکتر بودن اندازه‌ی ذرات در افزایش پایداری و نیمه عمر ماده‌ی مؤثره اسانس و سهولت رسیدن به موضع اثر، نقش مهمی دارند. به علاوه، منجر به افزایش خواص ضدمیکروبی اسانس از طریق افزایش جذب سلولی می‌شود (Oussalah et al. 2004). اندازه ذرات نانوامولسیون‌های تولید شده به روش اولتراسوند تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله توان دستگاه، زمان و دما قرار دارد. علاوه بر این، اندازه ذرات نانو امولسیون می‌تواند بر خواص ضد میکروبی آن تأثیرگذار باشد (Hashemi Gahruie et al. 2017; Li and Chiang. 2012). نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش زمان اولتراسوند اندازه ذرات نانوامولسیون به طور معناداری کاهش می‌یابد. به طور مشابه هاشمی گهرو و همکاران(2017) کاهش میانگین اندازه ذرات امولسیون اسانس آویشن شیرازی را پس از ۱۰ دقیقه اولتراسوند از ۲۱۰ نانومتر به ۹۰/۹ نانومتر گزارش کردند (Hashemi Gahruie et al., 2017). همچنین در مطالعه‌ای دیگر با بررسی تاثیر زمان و دما در تیمار اولتراسوند بر اندازه ذرات نانوامولسیون پوست پرتقال نتایج مشابهی مشاهده شد (Hashtjin and Abbasi. 2015). در واقع زمان فراصوت مقدار نیروی برشی اعمال شده در فرایند را تعیین می کند، که در شکستن قطرات به عنوان مکانیسم اصلی تشکیل امولسیون موثر است. کاهش اندازه ذرات امولسیون در بهبود ویژگی‌های آن و پایداری آن در طی مدت زمان نگهداری نقش مهمی ایفا می‌کند (Tadros et al. 2004).

در مطالعه حاضر نتایج آزمون ضدکپکی به روش میکرودایلوشن علیه کپک‌های *R. stolonifer*، *B. cinere* و *A. niger* نشان داد که نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی در مقایسه با قارچ کش تیابندازول از فعالیت ضدکپکی بیشتری برخوردار بود و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) نانوامولسیون اسانس پایین‌تر از قارچ کش بود. قابلیت ضدکپکی مشاهده شده در این پژوهش را می‌توان به حضور ترکیبات شیمیایی مانند کاریوفیلن(۳۷/۶ درصد)، جرماکرین- دی (۱۵/۶۳ درصد) و بی سیکلو جرماکرین(۱۱/۸۱ درصد)که بیشترین درصد را در بین ترکیبات شیمیایی اسانس مریم گلی دارند، نسبت داد (مهربان، ۱۳۹۹). جرماکرین- دی و بی سیکلو جرماکرین ترکیبات سیکلو ترپنوئیدی هستند که به طور عمده در میان ترکیبات شیمیایی موجود در بسیاری از گیاهان معطر یافت می‌شوند و فعالیت ضدمیکروبی آن علیه بسیاری از باکتری‌ها و کپک‌ها در مطالعات بسیاری گزارش شده‌است (Montanari et al., 2011; Zarai et al., 2011; Sitarek et al., 2017). در مطالعه‌ای دیگر نیز اثر ضدکپکی امولسیون و نانوامولسیون اسانس‌های مختلف مرزه خوزستانی، نعناع فلفلی، آویشن دنایی و دارچین علیه کپک‌های عامل فساد توت فرنگی مورد

بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت ضدکپکی با توجه به نوع اسانس و نوع کپک متفاوت بود و کپک *B. cinerea* در مقایسه با کپک *R. stolonifer* حساسیت بیشتری در برابر اسانس‌های مذکور داشت. همچنین کمترین فعالیت ضدکپکی به امولسیون و نانوامولسیون اسانس نعناع فلفلی تعلق داشت و حداقل غلظت بازدارندگی آن علیه کپک *B. cinerea* بیش از µ l/ml ۱۰۰۰ تعیین شد. در حالی که حداقل غلظت بازدارندگی برای سایر اسانس‌ها µ۵۰۰l/ml بود (سیفی، ۱۳۹۳). علاوه بر این در مطالعه‌ای دیگر لی و همکاران (۲۰۱۸)، حداقل غلظت بازداری یا MIC تیمارهای مختلف نانوامولسیون اسانس لیمو دارای مخلوطی از سورفاکتانت-های مختلف علیه دو کپک *A. niger* و *P. citrinum* را به ترتیب µ ۴۰l/ml و ۲۰ تعیین کردند که بیشتر از نانوامولسیون تهیه شده در مطالعه حاضر بود. در مطالعات پیشین به پتانسیل ضدکپکی بالای نانوامولسیون‌های اسانس‌های گیاهی مختلف اشاره شده است (Robledo et al. 2018; Li et al. 2018; علیزاده و همکاران، ۱۳۹۴). با تبدیل اسانس به فرم نانوامولسیون و افزایش پراکندگی اسانس در محلول آبی و همچنین کاهش اندازه ذرات آن‌ها امکان نفوذ به سلول میکروبی و همچنین نشت ترکیبات سلولی و در نهایت مرگ سلول میکروبی افزایش می‌یابد (Li et al., 2018).

تیمار نانوامولسیون اسانس در غلظت µ ۵/۱۲l/ml در سطح توت‌فرنگی توانست رشد اسپور کپک‌های *R. stolonifer*، *B. cinere* و *A. niger* تلقیح شده را ۹-۶ روز به تاخیر اندازد. همچنین با استفاده از پوشش نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی و قارچ کش تیابندازول با غلظت µ ۲۵l/ml در سطح توت‌فرنگی برخلاف نمونه‌های کنترل فاقد پوشش هیچ‌گونه رشد کپکی تا پایان روز ۱۲ مشاهده نشد. به طور مشابه در مطالعه سیفی (۱۳۹۳) نانوامولسیون‌های اسانس گیاهان مختلف در مقایسه با امولسیون آن‌ها و قارچ‌کش تیابندازول اثر ضدکپکی بیشتری در سطح توت فرنگی داشت. همچنین در میان اسانس‌های مختلف نانوامولسیون‌های دارچین و مرزه بیشترین اثر را در جلوگیری از پوسیدگی خاکستری توت فرنگی طی پنج روز نگهداری در ۲۵ درجه سلسیوس نشان دادند. به طوری که رشد کپک خاکستری *B. cinere* در سطح توت فرنگی‌های دارای پوشش نانوامولسیون مرزه (۳/۱۲ درصد) و دارچین (۲/۰۸ درصد) در مقایسه با قارچ کش تیابندازول (۱۸/۷۵ درصد) به طور معناداری کاهش یافت. علاوه بر این نتایج بررسی اثر اسانس‌های گیاهی در کنترل پوسیدگی ناشی از *R. stolonifer* در سطح توت فرنگی حاکی از عدم رشد کپک در سطح توت فرنگی های دارای پوشش امولسیون و نانوامولسیون اسانس مرزه در طی ۵ روز نگهداری در دمای محیط بود، در حالی که درصد رشد کپک در سطح توت فرنگی تیمار شده با قارچ کش تیابندازول ۸۵/۸۳ درصد تخمین زده شد. در مطالعه‌ای دیگر تیمار توت فرنگی با اسانس ریحان در غلظت‌های مختلف µl/ml۶۰-۱۰۰۰ به طور موثری رشد کپک خاکستری *B. cinere* در سطح میوه را در مقایسه با نمونه کنترل کاهش داد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس فساد کپکی توت فرنگی در طی نگهداری سرد کاهش یافت و در تیمارهای µl/ml۵۰۰ و ۱۰۰۰ اسانس ریحان حتی پس از ۲۲ روز علائمی از رشد کپک مشاهده نشد (اصغری مرجانلو و همکاران، ۱۳۸۷). نتایج مطالعه اصغری و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که با استفاده ازاسانس زیره در غلظت µl/ml ۱۰۰۰ در سطح توت فرنگی، میزان فساد کپکی این میوه پس از دو هفته نگهداری در یخچال در مقایسه با نمونه کنترل بدون پوشش از ۱۰ درصد به ۲ درصد کاهش یافت (Asghari et al., 2009). امل و همکاران (۲۰۱۰) افزایش فعالیت ضدمیکروبی پوشش‌های پروتئینی گلوتن و سویا را پس افزودن تیمول در سطح توت فرنگی در طی زمان نگهداری مشاهده نمودند. این پوشش‌ها توانستند جمعیت کپک و مخمر سطح توت فرنگی را در طی دو هفته نگهداری

نسبت به نمونه کنترل بدون پوشش به میزان ۲/۵ سیکل لگاریتمی کاهش دهند(Amal et al., 2010).

نتیجه‌گیری کلی

قابلیت ضدمیکروبی بالای اکثر ترکیبات طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است و این ترکیبات می‌توانند به عنوان جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی معرفی شوند. در این مطالعه نیز نانوامولسیون اسانس حاصل از گیاه مریم گلی خراسانی در مقایسه با قارچ‌کش تیابندازول از پتانسیل ضدکپکی بیشتری علیه کپک‌های عامل فساد توت فرنگی برخوردار بود. همچنین پوشش‌دهی نمونه‌های توت فرنگی با نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی در غلظت µl/ml ۱۲/۵ توانست رشد اسپورهای کپک *R. stolonifera* و *B. cinere* در سطح توت فرنگی را تا ۹ روز به تاخیر بیاندازد. به علاوه در نمونه‌های دارای پوشش نانوامولسیون اسانس با غلظت µ ۲۵l/ml تا پایان روز ۱۲ام هیچ گونه رشد کپکی در سطح نمونه‌های توت فرنگی مشاهده نگردید. با توجه به نتایج به دست آمده نانوامولسیون اسانس مریم گلی خراسانی برای کنترل کپک‌های عامل فساد توت فرنگی به عنوان جایگزین قارچ‌کش تیابندازول پیشنهاد می‌گردد. علاوه بر این، پژوهش‌های بیشتری به منظور تجاری سازی این ترکیب، در زمینه اثر پوشش نانوامولسیون اسانس بر خواص کیفی میوه توت‌فرنگی در طی نگهداری در آینده باید انجام گیرد.

منابع

۱. اصغری مرجانلو، ابوالفضل.، مستوفی، یونس.، شعیبی، شهرام.، مقومی، مهشاد. (۱۳۸۷). تاثیر اسانس ریحان بر کنترل پوسیدگی خاکستری و کیفیت پس از برداشت توت فرنگی. فصلنامه گیاهان دارویی، دوره اول، شماره ۲۸، صفحه ۱۳۹-۱۳۱.

۲. رستگار، س، طهماسبی، س. (۱۳۹۵). استفاده از اسانس‌های گیاهان گل راعی، مورخوش و سالویا در جلوگیری از رشد قارچ B. cinerea در دو رقم میوه توت فرنگی. نشریه ی نوآوری در علوم وفناوری غذایی. ۱۰ (۳)، ۹۴-۸۲.

۳. سلیم پور، فهیمه.، مازوجی، علی.، مظهر، سیده فلور.، برزین، گیتی. (۱۳۹۲). مقایسه خواص ضد باکتریایی اسانس چهار گونه گیاه دارویی مریم گلی. مجله پژوهش در پزشکی، دوره ۳۷، شماره ۴، صفحه ۲۱۰-۲۰۵.

۴. سیفی، فرزانه. (۱۳۹۳). بررسی تأثیر نانو امولسیون اسانس برخی گیاهان دارویی در کنترل کپک‌ها و کیفیت پس از برداشت میوه توت فرنگی. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته علوم باغبانی، دانشگاه شهید بهشتی، ۱۱۵ صفحه.

۵. علیزاده، حمیدرضا.، فرزانه، محسن.، اعظمی، ذبیح الله. (۱۳۹۴). تاثیر نانو امولسیون اسانس دارچین در کاهش پوسیدگی های پس از برداشت میوه توت فرنگی. نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری های گیاهی، دوره ۴، شماره ۱، صفحه ۶۴-۵۷.

۶. قره نقده، ساسان.، صمدلوئی، حمیدرضا.، صوتی خیابانی، محمود.، قره نقده، سامان. (۱۳۹۶). فرمولاسیون نانوامولسیون از اسانس مریم گلی (*Salvia hypoleuca*) و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی آن. مجله علوم و صنایع غذایی، دوره ۱۴، شماره ۷۰، صفحه ۳۴۸-۳۳۷.

۷. مهربان، اعظم. (۱۳۹۹). ارزیابی خواص ضد میکروبی اسانس و نانوامولسیون اسانس گیاه *Salvia chorassanica* در محیط آزمایشگاهی و تأثیر آن‌ها در کنترل کپک‌ها و کیفیت پس از برداشت میوه‌ی توت فرنگی. رساله دکتری. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور.

۸. مهربان، اعظم، عدالتیان دوم، محمدرضا.، خداپرست، حداد.، مهربان، محمدحسین.، سنگ آتش، معصومه. (۱۳۹۵). ارزیابی اثرات مهارکنندگی و کشندگی عصاره های آبی، اتانولی و هیدروالکلی اندام های هوایی گیاه سالویا خراسانیکا علیه برخی باکتری های گرم منفی و

گرم مثبت در شرایط آزمایشـگاهی. مجلـه دانشـگاه علـوم پزشکی قم. دوره دهم، شماره دوم، صفحه ۱۱-۲.

9. Amal S.H.A., El-Mogy M.M., Aboul-Anean, H.E., and Alsanius, B.W. 2010. Improving strawberry fruit storability by edible coating as a carrier of thymol or calcium chloride. JHSOP. 2(3): 88-97.
10. Asghari M.A., Mostoufi Y., Shoeybi S., and Fatahi M. 2009. Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. J Med Plant Res. 31(8): 25-43.
11. Bedoya-Serna C.M., Dacanal G.C., Fernandes A.M., and Pinho S.C. 2018. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (Origanum vulgare) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. Braz J Microbiol. 49(4): 929-935.
12. Dris R., Niskanen R., and Jain, S.M. 2003. Crop management and postharvest handling of horticultural products. In: Fruits and vegetables. Science Publishers. USA. pp. 390-440.
13. Hashemi Gahruie H., Ziaee E., Eskandari M.H., and Hosseini S.M.H. 2017. Characterization of basil seed gum-based edible films incorporated with Zataria multiflora essential oil nanoemulsion. Carbohydr Polym.166: 93-103.
14. Hashtjin A.M, and Abbasi S. 2015. Nano-emulsification of orange peel essential oil using sonication and native gums. Food Hydrocoll. 44: 40-48.
15. Li P.H, and Chiang B.H. 2012. Process optimization and stability of D-limonene-in-water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. Ultrason Sonochem. 19(1): 192-197.
16. Li Z.H., Cai M., Liu Y.S, and Sun P.L. 2018. Development of finger citron (Citrus medica L. var. sarcodactylis) essential oil loaded nanoemulsion and its antimicrobial activity. Food Control. 94: 317-323.
17. Moayednia N., Ehsani M.R., Emamdjomeh Z., Asadi M.M., Mizani M, and Mazaheri A.F. 2010. A note on the effect of calcium alginate coating on quality of refrigerated strawberries. Irish J Agri and Food Res. 2: 165-170.

    Montanari R.M., Barbosa L.C., Demuner A.J., Silva C.J., Carvalho L. S, and Andrade N.J. 2011. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Verbenaceae species: Alternative sources of (E)-caryophyllene and germacrene-D. Química Nova, 34(9): 1550-1555.
18. Oliveira J., Parisi M.C.M., Baggio J.S., Silva P.P.M., Paviani B., Spoto M.H.F, and Gloria E.M. 2019. Control of *Rhizopus stolonifer* in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethyl cellulose. Int J Food Microbiol. 292: 150-158.
19. Oussalah M., Caillet S., Salmiéri S., Saucier L., Lacroix M. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. J Agric Food Chem. 52(18): 5598-5605.
20. Phalsaphy P. 2012. National Strawberry Festival in Sanandaj. Available from: URL http://www.kurdpress.com/Fa/NSite/FullStory/News.
21. Robledo N., Vera P., López L., Yazdani, Pedram M., Tapia C, and Abugoch L. 2018. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. Food Chem. 246: 211-219.
22. Sitarek P., Rijo P., Garcia C., Skała E., Kalemba D., Białas A.J. and Śliwiński, T. 2017. Antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, and antiproliferative properties of essential oils from hairy and normal roots of Leonurus sibiricus L. and their chemical composition. Oxid Med Cell Longev, 32(2): 1-12.
23. Tadros T., Izquierdo P., Esquena J, and Solans C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. Adv Colloid Interface Sci.108: 303-318.

24. Tayarani-Najaran Z., Emami S.A., Asili J., Mirzaei A, and Mousavi S.H. 2011. Analyzing cytotoxic and apoptogenic properties of *Scutellaria litwinowii* root extract on cancer cell lines. Evid Based Complement Alternat Med. 22 (2): 103-114.
25. Velickova E., Winkelhausen S., Kuzmanova V.D. Alves and M. Moldão-Martins. 2013. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (Fragaria ananassa cv Camarosa) under commercial storage conditions. LWT-Food Sci Technol. 52(2): 80-92.
26. Zarai Z., Kadri A., Chobba I.B., Mansour R.B., Bekir A., Mejdoub H, and Gharsallah N. 2011. The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of Marrubium vulgare L. essential oil grown in Tunisia. Lipids Health Dis, 10(1):161.
27. Zomorodian K., Moein M., Pakshir K., Karami F, and Sabahi Z. 2017. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from Salvia mirzayanii leaves. Evid Based Complement Alternat Med. 22(4): 770-776.

Evaluation of the effect of *Salvia chorassanica* essential oil nanoemulsion on reducing mold decay of strawberry fruit after harvest

Mehraban A[1], Vazifehdoost M[2*], Didar Z[2], Haddadkhodaparast M.H[2], Mehraban Sang Atash M[2]

1. Department of Food Science and Technology, Neyshabour Branch, Islamic Azad University, Neyshabour, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Neyshabour Branch, Islamic Azad University, Neyshabour, Iran.

***Corresponding author**: *m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir*

Received: 9 January 2021 Accepted: 06 April 2021

Abstract

In recent years, due to the harmful effects of toxins and chemical preservatives on human health, the tendency to use natural antimicrobial compounds such as essential oils have been increased. In this study, nanoemulsion of *Salvia chorassanica* essential oil was prepared by ultrasound method and its antifungal activity against three molds of strawberry rot (*A. niger*, *B. cinere* and *R. stolonifer*) was investigated and compared with thiabendazole fungicide. In addition, the potential of these compounds to reduce mold decay of strawberry fruit during 12 days refrigerated after coating was evaluated. The results showed that the nanoemulsion of essential oil had more antifungal activity and the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of the essential oil nanoemulsion were lower than the thiabendazole. Nanoemulsion treatment of essential oil at a concentration of 12.5 µl / ml on the surface of strawberries was able to delay the growth of *A. niger* spores for 6 days and *B.cinere* ، *R. stolonifer* spores for 9 days. Also, application of nanoemulsion coating of *S. chorasanica* essential oil and thiabendazole fungicide with a concentration of 25 µl / ml on strawberry surface, unlike control samples without coating, were showed no mold growth until the end of the 12th day. Therefore, nanoemulsion of *S. chorasanica* essential oil can be suggested as a suitable alternative to the fungicide thiabendazole.

Keywords: Nanoemulsion, Essential oil, *Salvia chorasanica*, Antifungal activity, Strawberry.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Copyright © 2022 Shahrekord Branch, Islamic Azad University