

تأثیر آلونه ورا بعنوان یک نگهدارنده طبیعی بر ویژگی های میکروبی قارچ دکمه ای

الهام درویشی^{1*}، علی فضل آرا²، محمدرضا اصلاحی³

¹ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

² عضو هیئت علمی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

³ عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: 1393/4/4

تاریخ دریافت: 1392/8/18

چکیده

قارچ دکمه ای حدود 40 درصد از کل تولید جهانی قارچ را شامل می شود اما متأسفانه به دلیل محتوای بالای آب، تغییرات پس از برداشت، میزان تنفس بالا و نداشتن یک حفاظ فیزیکی برای جلوگیری از صدمات یا حمله میکروبی، دارای ماندگاری بسیار کوتاهی در مقایسه با سایر سبزیجات است. تا کنون، روش های مختلفی مانند پرتودهی، تکنولوژی سرد سازی تحت خلأ، بسته بندی با اتمسفر تغییر یافته، تیمار و شستشو با محلول های ویژه و ... برای افزایش ماندگاری قارچ ها مورد استفاده قرار گرفته است. در مطالعه حاضر، اثر عصاره آلونه ورا، به عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای قارچ دکمه ای مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، عصاره آلونه ورا پس از استخراج، به نسبت های مشخص با کلسیم کلرید و سیتریک اسید ترکیب گردید و قارچ های دکمه ای در محلول فوق، به مدت پنج دقیقه غوطه ور شدند. قارچ ها پس از خارج شدن از محلول فوق و خشک شدن، در دمای 4°C قرار گرفتند و پس از طی دو دوره ده روزه، از نظر شمارش کلی باکتریایی (باکتری های مزوفیل)، باکتری های سرماگرا، کپک و مخمرها مورد بررسی قرار گرفته و با گروه شاهد مقایسه شدند. نتایج نهایی نشان داد که افزودن ترکیبی از عصاره آلونه ورا به قارچ دکمه ای منجر به کاهش شمارش کلی میکروبی، بار میکروبی سرما دوست ها و نیز شمارش کپک ها و مخمرها در طی زمان نگهداری و نهایتاً افزایش ماندگاری قارچ می گردد. ارزیابی بصری صورت گرفته نیز تأثیر مثبت عصاره آلونه ورا، بر ظاهر قارچ های تیمار شده را به خوبی اثبات نمود.

واژه های کلیدی: قارچ دکمه ای، آلونه ورا، نگهدارنده، ماندگاری

1- مقدمه

قارچ خوراکی دکمه ای سفید (آگاریکوس بیسپوروس¹)، با فراوانی 39 درصد، رایج ترین قارچ زراعی- تجاری در سطح جهانی محسوب می شود و در کشور ما نیز 85 درصد سهم تولید قارچ های خوراکی را به خود اختصاص داده است. قارچ ها علاوه بر داشتن اهمیت تغذیه ای (آب، املاح، ویتامین ها و اسیدهای آمینه) و درمانی بالا، دارای درصد پروتئین زیاد و ضریب هضم بالایی می باشند که مورد نیاز کشورهای در حال توسعه مورد نیاز است (1). از بیش از 3000 نوع قارچ که گونه های خوراکی اولیه محسوب می شوند، فقط 100 نوع بصورت تجاری و 10 نوع در مقیاس صنعتی کشت می شوند. با این وجود، همین ده نوع اهمیت تجاری دارند و کشت آنها به عنوان یک کار مستقل کشاورزی نوید بخش، تکوین یافته است. فقط حدود 45 درصد از قارچ های تولید شده، بصورت تازه مصرف می شوند. از 55 درصد باقی مانده، به علت مدت ماندگاری بسیار کوتاه آنها، 50 درصد بصورت کنسرو شده و 5 درصد بصورت خشک شده فرآوری می شوند. قارچ ها قابلیت فساد بالایی داشته و بلافاصله پس از برداشت تمایل به از دست دادن کیفیت دارند (9). مدت ماندگاری قارچ ها در مقایسه با بیشتر سبزیجات کوتاه و حدود 1 تا 3 روز در دمای محیط است (9 و 17). ماندگاری کوتاه قارچ ها به دلیل محتوای آب بالا و تغییرات پس از برداشت مانند قهوه ای شدن، باز شدن کلاهک، تطویل پایه، افزایش قطر کلاهک، افت وزنی، تغییرات بافتی، میزان تنفس بالای آنها و نداشتن یک حفاظ فیزیکی برای جلوگیری از فقدان آب و حمله میکروبی است (9 و 17 و 21). پس از برداشت، سرعت خراب شدگی قارچ های تازه بطور مستقیم به بار میکروبی اولیه وابسته است. میکروارگانسیم گرم منفی سودوموناس تولاسی²، به عنوان یک جزء تشکیل دهنده طبیعی میکروفلور بستره قارچ است که می تواند تحت شرایط خاص، یک متابولیت سمی در قارچ ها تولید نماید، این آلودگی بصورت یک جراحت قهوه ای روی قارچ ها ظاهر می شود. دیگر میکروارگانسیم گرم منفی مانند سودوموناس فلوروسنس³ و مخمرهایی مثل کاندیدا سیک⁴ به فساد قارچ ها وابسته هستند. کپک ها هم می توانند کیفیت قارچ ها را تحت

تأثیر قرار دهند. آلودگی با ورتیسلیوم مالتوسی⁵ لکه های قهوه ای را نشان می دهد (9). تاکنون روش های مختلفی برای افزایش ماندگاری قارچ های تازه مورد استفاده قرار گرفته که از میان آنها می توان به سرد سازی (6 و 19)، تکنولوژی سردسازی تحت خلاء (24)، بسته بندی تحت اتمسفر تغییر یافته (12 و 14)، پوشش دهی (17)، پرتو دهی (9)، تیمار و شستشو با محلول های ویژه (6)، افزودن کلرید کلسیم به آب آبیاری قارچ و به میزان 0/5 درصد (2)، تیمار با 1 درصد سیتریک اسید همراه با 3 ppm ازن (23) و تیمار با سوربیتول (15) اشاره نمود.

اما نگهداری زیستی⁶، شیوه جدید نگهداری غذاست که افزایش مدت ماندگاری و بهبود ایمنی غذاها، بوسیله استفاده از ترکیبات طبیعی کنترل کننده میکروب و یا ضد میکروب صورت می گیرد. در تکنولوژی پس از برداشت، نگهداری زیستی به منظور افزایش مدت ماندگاری یا ذخیره سازی میوه ها و سبزی ها، بوسیله بکار بردن محصولات گیاهی انجام می شود. ژل آلوه ورا یکی از نگهدارنده های زیستی امیدوار کننده ای است که استعداد زیادی برای استفاده عادی در بیشتر میوه ها و سبزی های تازه دارد (8).

آلوه ورا (*Aloe barbadensis miller*) عضوی از خانواده لیلیاسه (13) و تیره آلونئیده است که در ایران صبر زرد یا صبر تلخ نیز نامیده می شود. یک گیاه سازگار با نواحی خشک، آبدار و مقاوم است که بافت ذخیره سازی آب را در برگ ها و به منظور زنده ماندن در مناطق خشک کم باران و یا با باران نامنظم توسعه داده است. برگ آلوه ورا می تواند به دو بخش عمده تقسیم شود: پوسته سبز بیرونی که شامل دسته های آوندی است و پارانشیم بی رنگ داخلی (پالپ) که شامل ژل آلوه ورا است. سه ترکیب ساختاری پالپ آلوه ورا، دیواره های سلولی، اندامک های تنزل یافته و مایع ویسکوز محتوی درون سلول هاست. این سه ترکیب داخلی پالپ برگ نشان داده اند که نسبت به یکدیگر از لحاظ مورفولوژی و ترکیب قند مشخص هستند (11). سلول های پالپ ترکیبی از دیواره های سلولی شفاف یا نازک (غنی از گالاکتورونیک اسید⁷) و غشاهای سلولی همراه با شمار بسیار محدودی از اندامک های سلولی تنزل یافته (غنی از گالاکتوز) هستند. دیواره سلولی ژل مایعی را احاطه کرده که این ژل غنی از مانوز (مانان) است. سلول های مزوفیل پالپ، به نظر می رسد که

1. *Agaricus bisporus*
2. *Pseudomonas tolaasii*
3. *Pseudomonas fluorescens*
4. *Candida Sake*

5. *Verticillium maltousei*
6. Biopreservation
7. Galacturonic acid

2- مواد و روش ها

2-1- تهیه مواد اولیه

این پژوهش آزمایشگاهی، در تیرماه سال 1392 و در آزمایشگاه میکروبی یک کارخانه تولید فرآورده های لبنی انجام پذیرفت. قارچ های دکمه ای مورد استفاده در این مطالعه، در دزفول تولید شده و در بسته های یک کیلوگرمی از بازار خریداری شدند. قارچ ها بلافاصله پس از خرید به آزمایشگاه منتقل شدند و تا زمان انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شدند. برگ های آلوئه ورا (*Aloe barbadensis miller*) بصورت تازه از مجتمع گلخانه ای امان آباد اراک خریداری شدند. برگ های خریداری شده، بالغ، سبز رنگ، گوشتی، با لبه های دندانه دار و دارای تیغ بودند.

2-2- استخراج ژل از برگ های آلوئه ورا

در ابتدا برگ های آلوئه ورا، به منظور بالا بردن شرایط بهداشتی کار و عمل ضدعفونی با محلول کلرین ملایم 25 درصد شسته شدند (4). پس از خشک شدن برگ ها، جهت انجام مرحله استخراج ژل، عملیات آماده سازی انجام پذیرفت. به این منظور قسمت نوک (که حاوی مقدار بسیار جزئی ژل است) و انتهایی هر برگ بریده شده و کنار گذاشته شد. در ادامه، پوسته خارجی موجود بر روی برگ بوسیله برش صورت گرفته جدا شد و ژل میانی متصل به لایه زیرین موجود در برگ، مشخص گردید. سپس پالپ به همراه ژل موسیلاژ بی رنگ موجود در آن، توسط چاقو و همچنین قاشقی تمیز، از پوسته زیرینی که به آن متصل بود، جدا گشت، در یک مخلوط کن تمیز، بصورت همگن و یکنواخت در آمد و برای جلوگیری از اکسیداسیون و فساد، سریعاً در شیشه های تیره رنگ ریخته و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (17).

2-3- محلول سازی

برای آماده سازی محلول آلوئه ورا، ژل استخراج شده از برگ، به نسبت یک به سه (1:3) با آب مقطر رقیق گشت. به منظور ضدعفونی و بوجود آوردن بافتی قوی، 20 g/l کلسیم کلرید و برای جلوگیری از قهوه ای شدن میزان 40 g/l سیتریک اسید به محلول مورد نظر اضافه گردید (17). در کنار این محلول، محلولی برای تیمار گروه شاهد در نظر گرفته شد. این محلول حاوی آب مقطر، 40 g/l سیتریک اسید و 20 g/l کلسیم کلرید بود.

سلول های زنده ای نباشند و احتمالاً نقشی را در ذخیره آب ایفا نمایند (18). پالپ خام آلوئه ورا تقریباً حاوی 98/5 درصد آب است در حالیکه موسیلاژ یا ژل حاوی حدود 99/5 درصد آب است. 1- 0/5 درصد مواد جامد باقی مانده، گروهی از ترکیبات شامل ویتامین های محلول در آب، ویتامین های محلول در چربی، مواد معدنی، آنزیم ها، پلی ساکاریدها، ترکیبات فنولیک و اسیدهای ارگانیک است. فرض شده که این ترکیبات متفاوت پالپ آلوئه ورا ممکن است در فعالیت های دارویی و درمانی گوناگون که برای محصولات ژل آلوئه ورا مشاهده شده، شرکت کنند (11) و فعالیت های مختلف فیزیکی، بیوشیمیایی و بیولوژیکی ژل آلوئه ورا، نتیجه همکاری میان ترکیبات تشکیل دهنده ژل است و نمی توان یک ترکیب خاص را مسئول آن دانست (20).

اولین بار در سال 2006 مارتینز رومرو و همکاران، یک پوشش خوراکی جدید و بر پایه ژل آلوئه ورا را بعنوان تیمار پس از برداشت، برای نگهداری کیفیت و ایمنی گیلای شیرین مورد استفاده قرار دادند (16) اما تا کنون ژل آلوئه ورا بعنوان یک پوشش خوراکی برای فرآورده های کشاورزی خام مانند، مرکبات، انبه ها، سیب ها، پاپایا و انگور مورد استفاده قرار گرفته است (5). همچنین آلوئه ورا بعنوان منبعی از ترکیبات عملگرا در خوراکی ها، نوشیدنی ها و بستنی ها مورد استفاده قرار گرفته و همچنین بعنوان یک پوشش خوراکی، طبق موارد به ثبت رسیده بکار برده شده است (17). با این وجود، تکنیک های فرآوری مورد استفاده برای بدست آوردن ژل آلوئه ورا، برای اطمینان از کیفیت محصول و برای حفظ تقریباً همه اجزای زیست فعال، بسیار مهم است (16). هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر آلوئه ورا بر ویژگی های میکروبی قارچ دکمه ای است و عصاره این گیاه، به عنوان یک نگهدارنده طبیعی، برای بهبود ماندگاری این نوع قارچ استفاده می گردد. بدین جهت، چهار گروه مختلف از میکروارگانیسم ها جهت کشت میکروبی در نظر گرفته شدند. این گروه ها شامل باکتری های مزوفیل (شمارش کلی میکروبی)، کپک ها و مخمرها و باکتریهای سرماگرا بودند.

محاسبه تعداد هر باکتری، تعداد کلنی های شمارش شده در عکس رقت مورد استفاده ضرب گردید و نتایج بصورت cfu/g بدست آمد.

2-6- طرح آماری

این پژوهش در قالب طرح فاکتوریل، بصورت کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گرفت. بررسی و تجزیه تحلیل نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار آماری 16 spss با بهره گیری از آزمون One_Way ANOVA صورت پذیرفت. همچنین بررسی آماری مقایسه ای زمان های مختلف نمونه برداری و انجام کشت در هر یک از فاکتور های مورد مطالعه (کپک ها، مخمرها، بار میکروبی سرما دوست ها و شمارش کلی میکروبی) با استفاده از آزمون Repeated Measures Define صورت گرفت.

3- نتایج و بحث

3-1- شمارش کلی میکروبی

هدف از شمارش کلی میکروبی، شمارش ارگانسیم های مزوفیل هوازی و بی هوازی اختیاری است که در دمای 20-45 درجه سانتی گراد به خوبی رشد و تکثیر می نمایند و درجه حرارت اپتیمم برای تکثیر آنها 30-40 درجه سانتی گراد است. نگاهی کلی به نتایج حاصل از شمارش کلنی ها در طی دوره نشان می دهد که نمونه های تحت تیمار بوسیله آلوده ورا، دارای بار میکروبی کمتری نسبت به گروه شاهد هستند. کشت انجام شده در روزهای دوم و چهارم، حاکی از وجود بار میکروبی کمتر در قارچ های غوطه ور شده در محلول حاوی آلوده ورا بود اما اختلاف میان گروه تیمار شده و گروه شاهد بسیار جزئی بود. در طی روزهای ششم و هشتم، اختلاف میان دو گروه رفته رفته بیشتر شد و در کشت روز دهم این اختلاف بصورت معنی داری بروز کرد. نتایج

مشاهده شده در این دوره، تقریباً مشابه نتایج بدست آمده از کشت باکتری های مزوفیل موجود بر کیوی های پوشش داده شده با آلوده ورا، در سال 2013، توسط بنیز و همکاران است. بر این اساس، نمونه های پوشش داده شده با غلظت های مختلف از آلوده ورا، در همه روزهای مورد بررسی (به استثنای روز سوم و غلظت 1 درصد)، نسبت به گروه فاقد آلوده ورا، دارای باکتری های مزوفیل کمتری بودند (5) (شکل 1).

2-4- تیمار قارچ ها با محلول های آماده شده

پس از خارج سازی قارچ ها از یخچال، قارچ هایی با رنگ، اندازه و ظاهر تقریباً یکسان و فاقد عیوب بصری انتخاب و به دو گروه اصلی و شاهد تقسیم شدند. گروه اصلی در محلول حاوی آلوده ورا و گروه شاهد در محلول فاقد آن به مدت 5 دقیقه غوطه ور گشتند. دمای هر دو محلول 22 درجه سانتی گراد و pH محلول حاوی آلوده ورا 2/18 بود. پس از اتمام مدت مورد نظر، قارچ ها از محلول های فوق خارج شده و به مدت 15 دقیقه در دمای محیط خشک شدند. سپس قارچ ها در ظروف یکبار مصرف شفاف و دارای درب (ظروف PVC) چیده شده و در دمای 4 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از گذشت فواصل زمانی معین (روزهای 2، 4، 6، 8، 10، 12، 14، 16، 18 و 20 پس از تیمار) کشت های میکروبی مورد نظر از قارچ ها بعمل آمد.

2-5- نحوه انجام آزمایشات

برای کشت میکروبی قارچ ها، در روزهای مورد نظر، حدود 50 گرم از قارچ های موجود در هر بسته برداشته شده و به خوبی همگن و ریز شدند. سپس 5 گرم از قارچ های همگن شده به 45 میلی لیتر رینگر افزوده شد تا رقت 10^{-1} حاصل شود و در ادامه رقت های مورد نیاز (10^{-2} ، 10^{-3} و...) از این رقت تهیه گردید. سپس 1 میلی لیتر از سوسپانسیون برداشته شده و در هر پلیت ریخته شد. حدود 20-15 میلی لیتر از محیط کشت مورد نظر با دمای حدود 45 درجه سانتی گراد بر روی سوسپانسیون ریخته شد و پس از همزدن و طی زمانی کوتاه برای بستن محیط کشت، پلیت ها در اینکوباتور و در دمای مورد نظر قرار گرفتند. محیط کشت مورد استفاده برای شمارش کلی میکروبی و باکتری های سرماگرا، PCA^1 و برای کپک ها و مخمرها، $YGCA^2$ بود. نوع کشت برای هر چهار گروه بصورت آمیخته³ بوده و دما و زمان اینکوباسیون برای شمارش کلی میکروبی 30 درجه سانتی گراد به مدت 3 روز، برای باکتری های سرماگرا 6/5 درجه سانتی گراد به مدت 10 روز و برای کپک ها و مخمرها 25 درجه سانتی گراد به مدت 5 روز بود. پس از طی زمان لازم برای هر باکتری، پلیت های حاوی 10 تا 300 کلونی، انتخاب شده و شمارش باکتری ها توسط کلونی کانتر (Analab-LM-10) صورت گرفت. برای

1. Plate Count Agar
2. Yeast Glucose Chloramphenicol Agar
3. Pour Plate

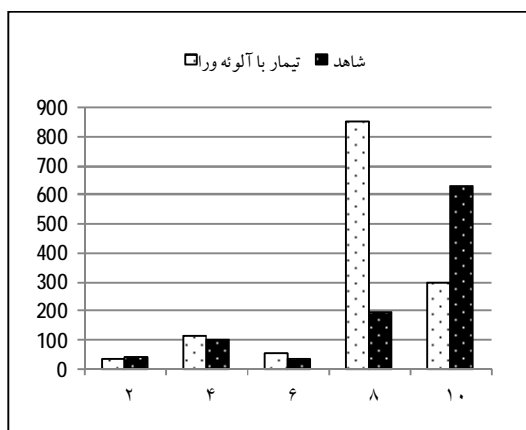
این روز، اهمیت کشت های مورد نظر در روزهای بعد افزایش می یافت. کشت قارچ ها در روزهای چهارم و ششم نشان داد که گروه تیمار شده، به مقدار جزئی دارای کپک های بیشتری نسبت به گروه شاهد هستند اما در روز هشتم، اختلاف میان دو گروه افزایش یافت و گروه

شاهد بار میکروبی کمتری را نسبت به گروه دیگر از خود نشان داد. بررسی قارچ های نگهداری شده در روز دهم، نمایانگر وجود اختلاف معنی دار بین دو گروه بود و قارچ های اصلی نسبت به گروه شاهد دارای میزان کپک بسیار کمتری بودند (شکل 3).

در روز دوازدهم و چهاردهم، گروه اصلی دارای شمار کپک کمتری نسبت به گروه شاهد بود اما این تفاوت چندان معنی دار نبود. به طور عکس این اختلاف در روز شانزدهم معنادار شد و به نظر می رسید که آلوده ورا بتواند در کشت های بعد نیز رشد کپک ها را مهار نماید اما در روز هجدهم و بیستم، میزان کپک در قارچ های حاوی آلوده ورا افزایش یافت و کارایی آلوده ورا برای کنترل کپک ها مورد تردید قرار گرفت (شکل 4).

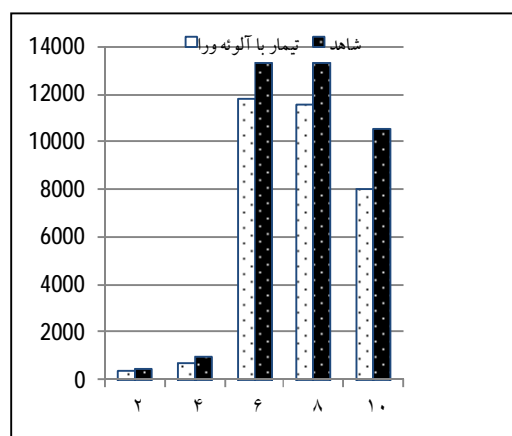
3-3- بررسی مخمرها

مخمرهای شمارش شده در طی روزهای دوم، چهارم، ششم و هشتم در گروه اصلی نسبت به گروه شاهد کمتر بوده اما این تفاوت در شمار مخمرها در مقایسه بین دو گروه چشمگیر نبود اما در روز دهم این اختلاف کاملاً مشهود شد، شمار مخمرها در گروه کنترل یا شاهد به شدت افزایش یافت و اختلاف آشکاری را نسبت به گروه اصلی به نمایش گذاشت (شکل 5).

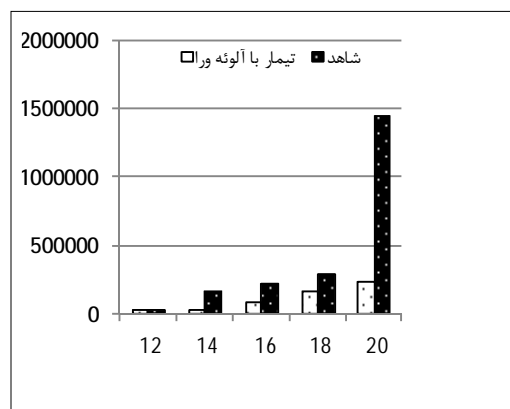


شکل 3- بررسی کپک ها در ده روز اول.

در روز دوازدهم، اگرچه قارچ های شاهد، دارای بار میکروبی بیشتری نسبت به گروه اصلی بودند، این افزایش چندان برجسته نبود اما کشت های صورت گرفته در روزهای چهاردهم، شانزدهم و هجدهم نشان دادند که این اختلاف رفته رفته بیشتر می شود و سرانجام کشت روز بیستم ثابت کرد که آلوده ورا در کاهش بار میکروبی کل بسیار موثر عمل می کند. بررسی یوسفی و همکارش در سال 90 بر روی انگورهای اسپری شده با نسبت خاصی از آلوده ورا و به مدت 35 روز نیز به شیوه ای مشابه ثابت کرد که تیمار با این ماده اثر زیادی در کاهش جمعیت میکروبی دانه های انگور دارد (3) (شکل 2).



شکل 1- بررسی باکتری های مزوفیل در ده روز اول.

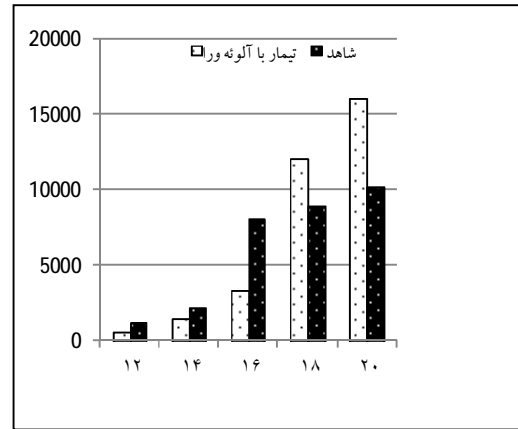


شکل 2- بررسی باکتری های مزوفیل در ده روز دوم.

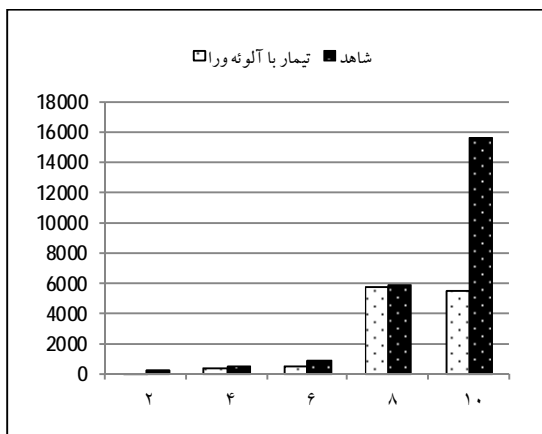
3-2- بررسی کپک ها

بررسی کپک های رشد کرده بر روی محیط YGC Agar، در دومین روز نگهداری قارچ ها نشان داد که آلوده ورا می تواند در کنترل رشد کپک ها نیز موثر باشد اما با توجه به نزدیکی نتایج بدست آمده در از شمارش کپک ها در گروه اصلی و شاهد در

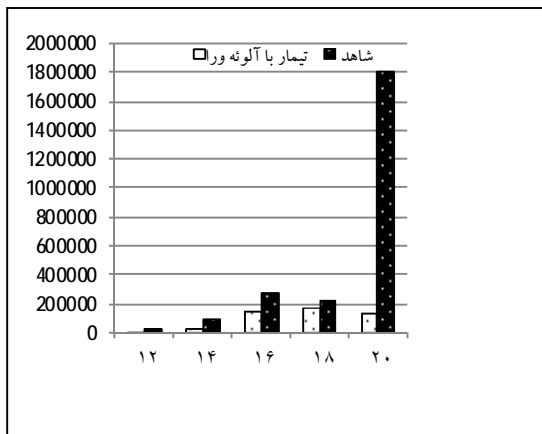
حضور آلوئه امودین¹ و آلوئین²، همراه با ترکیبات فعال دیگر نسبت داده شود (16). البته غلظت مورد استفاده از آلوئه و روش های فرآوری عصاره هم بسیار مهم است و تأثیر این عوامل را می توان در آزمایشات بنیتز و همکارانش در سال 2013 مشاهده نمود. مطابق کشتهای میکروبی آنها بر روی کیوی های تحت بررسی، در همه روزهای مورد آزمایش، نمونه های تیمار شده با آلوئه، کپک ها و مخمرهای کمتری نسبت به گروه کنترل داشتند اما نتایج بدست آمده در غلظت 1 درصد از آلوئه ورا کاملاً بر عکس بود. همچنین با افزایش غلظت آلوئه ورا، میزان کپک ها و مخمرها نیز کاهش یافته بودند (5).



شکل 4- بررسی کپک ها در ده روز دوم.



شکل 5- بررسی مخمرها در ده روز اول.

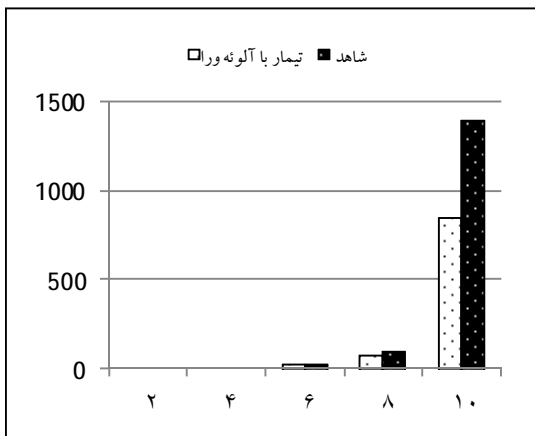


شکل 6- بررسی مخمرها در ده روز دوم.

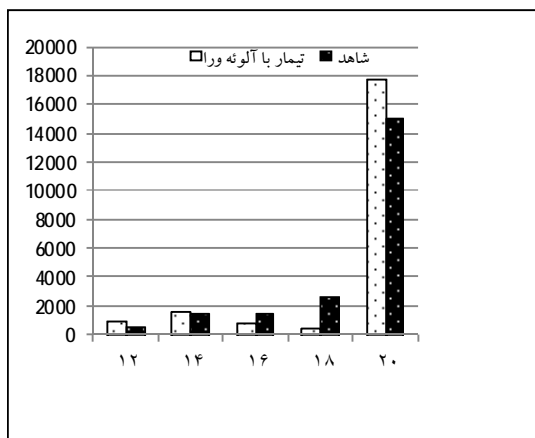
برای اطمینان از تأثیر آلوئه ورا بعنوان مهار کننده ای قوی برای مخمرها و همانند بررسی های پیشین، آزمایشات همچنان ادامه داشت. در روز دوازدهم اگرچه شمار مخمرها در گروه شاهد بیشتر بود اما اختلاف میان دو گروه چندان برجسته نبود. افزایش اختلاف میان دو گروه در روزهای چهاردهم، شانزدهم و هجدهم اندک اندک به نفع گروه شاهد (میزان مخمر بالاتر) بیشتر شد و در آخرین روز نگهداری به حداکثر میزان خود رسید. این تفاوت در روز بیستم کاملاً روشن بود (شکل 6).

بررسی روند تأثیر آلوئه ورا بر رشد کپک ها و مخمرها در کارهای محققان دیگر، با خروجی های بدست آمده از این مطالعه، تا حدود زیادی مطابقت دارد. یافته های کستیلو و همکاران در سال 2010، در محیط آزمایشگاهی، کارایی این ژل را بر ممانعت کنندگی از رشد *Mucor* دو قارچ عمومی عامل فساد میوه ها یعنی *Botrytis cinerea* و *Penicillium digitatum* نشان داد. مخمرها و کپک ها بطور معناداری در زمان برداشت در نمونه های انگور تیمار شده کمتر بودند و این اثر در طی نگهداری ثابت بود (7). همچنین در پروژه های تحقیقاتی دیگر، فعالیت ضد قارچی آلوئه ورا علیه پاتوژن های میوه ای در شرایط پس از برداشت مانند قارچ های ذکر شده و نیز *P. expansum* و *Alternaria alternate* گزارش شده است و این امر بر اساس جلوگیری از جوانه زنی و ممانعت از رشد میسلیایی است. به علاوه، اثرات ممانعت کنندگی عصاره چندین گونه آلوئه بر *Aspergillus niger*، *Cladosporium herbarum* و *Fusarium moniliforme* مشخص شده و اساساً می تواند به

سفیدتری را نسبت به گروه مقابل از خود نشان داد و به نظر می رسید که کمی شاداب تر نیز باشند. در روز بیستم، علاوه بر تفاوت رنگ آشکار میان دو گروه، قارچ های شاهد ظاهر چروکیده تری به خود گرفتند و بر روی آنها لکه های قهوه ای نقطه ای و گسترده دیده شد.



شکل 7- بررسی سرمادوست ها در ده روز اول.



شکل 8- بررسی سرمادوست ها در ده روز دوم.

به علاوه، بافت آنها کمی نرم تر بود و بر روی برخی از قارچ های شاهد، کپک های کوچکی قابل رؤیت بود. از این نقطه به بعد، قارچ های شاهد غیر قابل استفاده بودند. در روز بیستم، بر روی برخی از قارچ های مورد تیمار، لکه های نقطه ای قهوه ای بوجود آمده بود اما لکه ها، چندان جلب توجه نمی کردند. در روز بیست و پنجم، لکه های قهوه ای کمی افزایش یافتند و بر روی پایه و کلاهک برخی از قارچ ها کپک های کوچکی دیده شد که فراگیر نبود. قارچ های تیمار شده به مدت سی روز نگهداری شدند و در روز سی ام اگر چه بر روی برخی از آنها لکه های

3-4- بررسی باکتری های سرماگرا

کشت های صورت گرفته از گروه اصلی و شاهد، طی روزهای دوم و چهارم، فاقد هر گونه باکتری سرماگرایی بودند که در پلیت ها و در دمای 6/5 درجه سانتی گراد رشد کرده باشد. به نظر می رسید که عدم رشد باکتری ها در هر دو گروه و در این دو روز، به دلیل افزودن کلسیم کلرید و یا سیتریک اسید باشد. به عبارت دیگر ممکن است که باکتری های سرماگرا به این دو ماده تا حدودی حساس باشند. در روزهای ششم و هشتم، در هر دو گروه این امکان وجود داشت که بتوان باکتری های سرماگرایی را مشاهده نمود اما باکتری های بیشتری در گروه شاهد دیده می شد. کشت روز دهم اختلاف معنی داری را بین دو گروه نشان داد و نمونه های تیمار شده تفاوت فاحشی را در کاهش باکتری های سرماگرا نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند (شکل 7). این اختلاف رفته رفته کم شده و در روز دوازدهم، میزان رشد باکتری های سرماگرا در گروه تیمار شده افزایش یافت. در روز چهاردهم اختلاف بین دو گروه از لحاظ رشد باکتری های سرماگرا کمتر شده اما همچنان گروه تیمار شده پیشتر بود. در روز شانزدهم میزان این باکتری ها در گروه اصلی کمتر شده و در روز هجدهم این اختلاف به وضوح به چشم می خورد اما بطور معکوس در روز بیستم، شمار باکتری های سایکروفیل در گروه تیمار شده از گروه شاهد پیشی گرفت (شکل 8).

3-5- ارزیابی بصری نمونه ها

رنگ مهم ترین شاخص کیفی برای مصرف کنندگان بوده و به مدت نگهداری قارچ، جایجایی، فساد میکروبی و فاکتورهای دیگر وابسته است. در طی نگهداری قارچ ها در دمای 4 درجه سانتی گراد، در دوره های مورد نظر، پس از انجام کشت های میکروبی، قارچ های بسته بندی شده از جنبه بصری نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. تا روز ششم که قارچ ها تحت مشاهده قرار گرفتند، هیچ تفاوت بارزی میان قارچ های تیمار شده و قارچ های شاهد وجود نداشت اما از روز هشتم کم کم تفاوت هایی میان دو گروه ظاهر گشت. در این روز، قارچ های تیمار شده نسبت به قارچ های شاهد، کمی روشن تر به بودند اما زمان بیشتری برای ارزیابی دقیق مورد نیاز بود. روز دهم اختلاف میان دو گروه باز هم کمی بیشتر شد و در روزهای بعد این اختلاف به وضوح قابل تشخیص بود، بطوریکه در روز پانزدهم، گروه تیمار شده رنگ

دلیل تفاوت رنگ موجود میان دو گروه قارچ را می توان به تأثیر آلوده ورا بر باکتری ها بیان نمود. دلیل دیگر که بسیار قابل توجه است، وجود ترکیبات مهارکننده تیروزیناز در عصاره آلوده ورا است. با توجه به اینکه تیروزیناز در قهوه ای شدن قارچ دارای نقشی کلیدی است، استفاده از عصاره آلوده ورا به دلیل داشتن ترکیبات بالقوه ممانعت کننده از فعالیت این آنزیم مانند آلوده سین می تواند قهوه ای شدن قارچ را به تأخیر انداخته و فساد این محصول حساس را به تعویق بیندازد(24).

قهوه ای و کپکی فراگیر شده بودند، اما در بین آنها قارچ هایی بود که ظاهر سفید خود را حفظ کرده بودند و برای فروش کیفیت خوبی داشتند. اختلاف رنگ و تغییرات بافتی دیده شده در قارچ دکمه ای، مطابق با یافته های محبی و همکاران در سال 2012 است. بر این اساس در طی روزهای اول، تفاوت بافتی میان قارچ های تیمار شده و شاهد بسیار کم بوده اما به مرور زمان تفاوت ها آشکار شدند و سفتی و تازگی بافت بوسیله پوشش دادن حفظ گردید(17). یافته های محققان دیگر نیز که تأثیر آلوده ورا بر بافت و رنگ برخی میوه ها را مورد بررسی قرار دادند، مؤکد این مطلب است.



شکل 9- روز هشتم نگهداری. بسته های پایین، قارچ های تیمار شده با آلوده ورا و بسته های بالا، قارچ های شاهد هستند. الف: اولین تکرار (گروه تیمار شده و شاهد) ب: دومین تکرار (گروه تیمار شده و شاهد) ج: سومین تکرار (گروه تیمار شده و شاهد)



شکل 10- روز دهم نگهداری. بسته های پایین، قارچ های شاهد و بسته های بالا، قارچ های تیمار شده هستند. الف: اولین تکرار ب: دومین تکرار ج: سومین تکرار



شکل 11- قارچ ها در روز بیستم. قارچ های سمت راست، نمونه های تیمار شده و مابقی شاهد هستند. الف) اولین تکرار ب) دومین تکرار ج) سومین تکرار



شکل 12- قارچ های تیمار شده، سی روز پس از نگهداری.

4- نتیجه گیری

در مطالعه حاضر افزودن آلوده ورا به عنوان یک نگهدارنده طبیعی بر قارچ دکمه ای منجر به کاهش معنی دار بار میکروبی نسبت به گروه کنترل (فاقد آلوده ورا) گردید ($P < 0/05$). به عبارت دیگر بررسی و تجزیه تحلیل نتایج حاصله از مطالعه حاضر، اختلاف معنی داری از نظر شمارش کلی میکروبی از روز 14 نگهداری به بعد تا پایان دوره با گروه کنترل (فاقد آلوده ورا) مشاهده شد ($P < 0/05$). حال آن که انجام همین آزمون در مورد شمارش جداگانه کپک و مخمرها حاکی از وجود اختلاف معنی دار آن ها با گروه کنترل (فاقد آلوده ورا) به ترتیب از روز 8 و 10 به بعد نگهداری تا پایان دوره (به استثنای روز 10 برای کپک ها و روز 18 برای مخمرها) بود ($P < 0/05$). در مورد بار میکروبی

سرما دوست ها نیز به طور مشابه اختلاف معنی دار بین دو گروه از روز 10 به بعد نگهداری به استثنای روزهای 14 و 20 ملاحظه گردید ($P < 0/05$). این نتایج حاکی از آن است که شناسایی بروز اختلاف معنی دار بین دو گروه در حداقل زمان ممکن با بهره گیری از شمارش کپک ها در گام اول و پس از آن به ترتیب با کمک مخمرها، بار میکروبی سرما دوست ها و نهایتاً شمارش کلی میکروبی می باشد. همچنین در بررسی آماری مقایسه ای زمان های مختلف نمونه برداری و انجام کشت در هر یک از فاکتورهای مورد مطالعه (کپک ها، مخمرها، بار میکروبی سرما دوست ها و شمارش کلی میکروبی)، اختلاف معنی داری در هر دو گروه حاوی آلوده ورا و فاقد آلوده ورا (کنترل) ملاحظه گردید ($P < 0/05$).

8- Ergun M, Satici F. 2012. Use of *Aloe vera* gel as biopreservative for 'Granny Smith' and 'Red Chief' apples. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22:363-368.

9- Fernandes A, L. Antonio A, P.P Oliveira M, Martins A, C.F.R Ferreira I. 2012. Effect of gamma and electron beam irradiation on the physico-chemical and nutritional properties of mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 135:641-650.

10- Guan W, Fan X, Yan R. 2013. Effect of combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, native microbial loads, and quality of button mushrooms. *Food Control*, 34:554-559.

11- H. Hamman J. 2008. Composition and Applications of *Aloe vera* Leaf Gel. *Molecules*, www.mdpi.org/molecules, 1599-1616.

12- Koushki M, Khoshgozaran Abras S, Mohammadi M, Hadian Z, Bagheri Poorfallah N, Sharayei P, Mortazavian A. 2011. Physicochemical properties of mushrooms as affected by modified atmosphere packaging and CaCl_2 dipping. *African Journal of Agricultural Research*, 6(24):5414-5421.

13- Krokida M, Pappa A, Agaloti M. 2011. Effect of drying on *Aloe's* functional components. 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11), *Procedia Food Science*, 1:1523 – 1527.

14- Mahajan P.V, Oliveira F.A.R, Macedo I. 2008. Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 84:281–288.

15- Mami Y, Peyvast G, Ziaie F, Ghasemnezhad M and Salmanpour V. 2013. Improvement of shelf-life and postharvest quality of white button mushroom by ^{60}Co γ -ray irradiation. *Plant Knowledge Journal*, 2(1):1-7.

16- Martínez-Romero D, Albuquerque N, Valverde J.M, Guillén F, Castillo S, Valero D and Serrano M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 39:93–100.

17- Mohebbi M, Ansarifard E, Hasanpour N, and Amiryousefi MR. 2012. Suitability of *Aloe vera* and gum *Tragacanth* as edible coatings for extending the shelf life of Button mushroom. *Food Bioprocess Technol*, 5:3193–3202.

18- Ni Y, Turner D, Yates K, and Tizard I. 2004. Isolation and characterization of

نتیجه نهایی آن که افزودن آلوئه ورا به عنوان یک نگهدارنده طبیعی بر قارچ دکمه‌ای منجر به کاهش شمارش کلی میکروبی، بار میکروبی سرما دوست ها و نیز شمارش کپک ها و مخمرها در طی زمان نگهداری و نهایتاً افزایش عمر ماندگاری این ماده غذایی می گردد.

5-منابع

1- فارسی، م. و گردان، ح. 1386. پرورش و اصلاح قارچ های خوراکی با تاکید بر قارچ دکمه ای سفید. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ص 10-11.

2- محمدی، م و خسروی دارانی، ک. 1391. قارچ خوراکی قهوه ای شدن آنزیمی و روش های مهار آن، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال هفتم، ضمیمه شماره، 71-63.

3- یوسفی، ف و یوسفی، ه. 1390. استفاده از آلوئه ورا به عنوان نگهدارنده طبیعی برای افزایش ماندگاری انگور، همایش ملی ارتقای عمر ماندگاری مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی با تاکید بر کاهش مصرف نگهدارنده ها، هشتماد و سومین همایش سراسرس تازه های پزشکی و پیراپزشکی اصفهان.

4- Adetunji C. O, Fawole O.B, Arowora K.A, Nwaubani S.I, Ajayi E. S, Oloke J. K, Majolagbe O.M, Ogundele B. A, Aina J .A, Adetunji J .B. 2012. Effects of edible coatings from *Aloe vera* gel on quality and postharvest physiology of *Ananas Comosus* (L.) fruit during ambient storage. *Global Journal of Science Frontier Research, Bio-Tech & Genetics*, 12:39-43.

5- Benítez S, Achaerandio I, Sepulcre F and Pujolà M. 2013. *Aloe vera* based edible coatings improve the quality of minimally processed 'Hayward' kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 81:29–36

6- Bernas E, Jaworska G, Kmiecik. 2006. Storage and processing of edible mushrooms. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 5(2):5-23.

7- Castillo S, Navarro D, Zapata P.J, Guillén F, Valero D, Serrano M and Martínez-Romero D. 2010. Antifungal efficacy of *Aloe vera* in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Journal of Postharvest Biology and Technology*, 57:183-188.

structural components of Aloe vera L. leaf pulp. *International Immunopharmacology*, 4:1745–1755.

19- Rai R.D and Arumuganathan T. 2008. POST HARVEST TECHNOLOGY OF MUSHROOMS. *National Research Centre for Mushroom*, 72 page.

20-Ray A, Gupta S, Ghosh S. 2013. Evaluation of anti-oxidative activity and UV absorption potential of the extracts of Aloe vera L. gel from different growth periods of plants. *Industrial Crops and products*. 49:712-719

21-simn A, González-Fandos E and Tobar V. 2005. The sensory and microbiological quality of fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus* L.) packaged in modified atmospheres. *International Journal of Food Science and Technology*, 40:943–952.

22- Wu X, Yin Sh, Zhong J, Ding W, Wan J and Xie Zh. 2012. Mushroom tyrosinase inhibitors from Aloe barbadensis Miller. *Fitoterapia*, 83:1706–1711.

23- Yuk H, Yoo M, Yoon J, L. Marshall D and Oh D. 2007. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on enoki mushroom. *Food Control*, 18:548–553.

24- Zheng L and Sun D.W. 2004. Vacuum cooling for the food industry—a review of recent research advances. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 555–568.