مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

اثر ضدقارچی اسانس مرزه خوزستانی بر *آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه‌را* و *رایزوپوس استولونیفر* عامل پوسیدگی و کپک‌زدگی میوه توت‌فرنگی

مصطفی رحمتی جنیدآباد[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، محمد نوشاد[2]

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹ /۱۱/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵

کلمات کلیدی:

اسانس،

مرزه خوزستانی،

آنتی‌اکسیدان طبیعی،

فعالیت ضدقارچی،

توت‌فرنگی.

DOI: 10.29252/fsct.18.06.13

* مسئول مکاتبات:

Rahmati@asnrukh.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، اسانس گیاه دارویی مرزه خوزستانی توسط روش تقطیر با آب استخراج شد و محتوای فنول و فلاوونوئید کل، ویژگی آنتی‌اکسیدانی (برپایه روش‌های مهار رادیکال DPPH، رادیکال ABTS و بتا-کاروتن/لینولئیک اسید) و فعالیت ضدقارچی آن در برابر سویه‌های قارچی مولد فساد و پوسیدگی توت‌فرنگی (*آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه را* و *رایزوپوس استولونیفر*) بررسی گردید. میزان فنول و فلاوونوئید کل اسانس به ترتیب ۸۷/۲۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم و ۶۹/۳۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم گزارش شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مطابق روش‌های مهار رادیکال DPPH، مهار رادیکال ABTS و بتا-کاروتن/لینولئیک به ترتیب برابر با ۶۳/۲۹، ۵۸/۳۰ و ۵۱/۱۹ درصد بود. نتایج فعالیت ضدقارچی اسانس (برپایه روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، انتشار چاهک و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی) نشان داد که *بوتریتیس سینه‌را* مقاوم‌ترین و *آسپرژیلوس نایجر* حساس‌ترین سویه‌های قارچی نسبت به اسانس می‌باشند. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مرزه خوزستانی برای سویه‌های *آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه‌را* و *رایزوپوس استولونیفر* به ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی اسانس مرزه خوزستانی برای سویه‌های *آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه‌را* و *رایزوپوس استولونیفر* به ترتیب ۲۰۰، ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

۱- مقدمه

آلودگی‌های میکروبی و فساد ناشی از میکروارگانیسم‌های بیماریزا سالیانه خسارات جبران‌ناپذیری به تولیدکنندگان میوه‌ها و سبزیجات وارد می‌سازد. به همین دلیل، سموم شیمیایی متعددی از قبیل بنزیمیدازول، ایمازالیل، ترکیبات آلی و معدنی و غیره جهت جلوگیری و کنترل رشد میکروارگانیسم‌های مولد پوسیدگی و کپک زدگی سبزیجات و میوه‌ها استفاده می‌شوند که سبب مشکلاتی مانند آلودگی‌های زیست محیطی، مسمومیت انسانی، تحمیل هزینه‌های فراوان و ایجاد میکروارگانیسم‌های مقاوم شده است. بنابراین، استفاده از سموم شیمیایی جهت کنترل آلودگی‌های میکروبی میوه‌ها و سبزیجات با محدودیت مواجه شده است [۱].

توت‌فرنگی با نام علمی *Fragaria ananassa* از جمله میوه‌هایی است که حساسیت بالایی به آلودگی قارچی دارد؛ بطوریکه قارچ‌های مختلفی از جنس رایزوپوس، پنی‌سیلیوم، بوتریتیس و آسپرژیلوس عامل فساد و کپک‌زدگی پس از برداشت آن و متعاقباً کاهش شدید عمرانبارمانی آن می‌باشند. همانطور که اشاره شد، سموم شیمیایی متعددی جهت کنترل و جلوگیری از رشد قارچ‌های عامل فساد میوه توت‌فرنگی استفاده می‌شوند. اما مشکلات فراوان مرتبط با استفاده از این سموم شیمیایی، کاربرد این ترکیبات را تحت‌الشعاع قرار داده است [۲].

امروزه، تمایل مصرف کنندگان به استفاده از مواد غذایی فراوری شده بدون نگهدارنده و یا حاوی نگهدارنده‌های طبیعی سبب توجه زیاد تولید کنندگان مواد غذایی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی گیاهی بجای انواع نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات خود شده است. بطوریکه توجه ویژه‌ای به استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی جهت کنترل عوامل میکروبی پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات معطوف شده است. این ترکیبات ایمن و فاقد اثرات جانبی بوده و در کنار ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش کیفیت و طول دوره انبارمانی میوه‌ها می‌شوند [۳-۵].

مرزه خوزستانی با نام علمی *Satureja khuzistanica* گیاهی بومی، چندساله و معطر و متعلق به خانواده نعناعیان است که از گیاهان دارویی با ارزش و انحصاری فلور ایران می‌باشد. مهمترین ترکیب شیمیایی شناسایی شده در اسانس مرزه خوزستانی، کارواکرول[1] است که دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی از قبیل اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضددرد، ضدالتهابی و ضدعفونی کننده می‌باشد [٦].

هدف از این مطالعه، بررسی محتوای فنول و فلاوونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پتانسیل اسانس مرزه خوزستانی در کنترل قارچ‌های مولد فساد و پوسیدگی میوه توت‌فرنگی شامل *آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه‌ا* و *رایزوپوس استولونیفر* بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل لینولئیک اسید، بتا-کاروتن، گالیک اسید، معرف فولین-سیوکالتو، کوئرستین، رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد ABTS (شرکت سیگما، آمریکا) و محیط‌های کشت میکروبی سابروز دکستروز براث و سابروز دکستروز آگار (شرکت مرک، آلمان) بودند.

۲-۲- جمع‌آوری گیاه و تهیه اسانس آن

بعد از جمع‌آوری و تائید نام علمی، گیاه مرزه خوزستانی بطور کامل خشک و سپس توسط آسیاب خرد گردید. مقدار ۵۰ گرم از گیاه به دستگاه کلونجر حاوی ۷۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل شد. عمل اسانس گیری به روش تقطیر با آب و بخار به مدت ۳ ساعت انجام گردید و اسانس تولیدی در ظروف تیره رنگ شیشه‌ای (دمای ٤ درجه سلسیوس) نگهداری شد [٦ و ۷].

۲-۳- اندازه‌گیری محتوای فنول کل

مقدار فنول کل اسانس مرزه خوزستانی مطابق روش لی و همکاران [۸] با تغییرات مورد نیاز تعیین گردید. مقدار ۵۰ میکرولیتر اسانس با ۱/۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فنول فولین-سیوکالتو (۱۰ درصد) مخلوط شد. در ادامه، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد کربنات سدیم اضافه شد و مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و مکان تاریک نگهداری و سپس جذب محلول در طول‌موج ۷٦۵ نانومتر ثبت گردید. از گالیک اسید جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد

1. Carvacrol

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]
[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

و مقدار فنول کل اسانس برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس (mg GAE/g) محاسبه و گزارش گردید.

۲-٤- اندازه‌گیری محتوای فلاوونوئید کل

روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید جهت اندازه‌گیری مقدار فلاوونوئید کل اسانس مرزه خوزستانی مورد استفاده قرار گرفت [۹]. بطور خلاصه، ۵۰۰ میکرولیتر اسانس با ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰ درصد آلومینیوم کلرید، ۱۰۰ میکرولیتر پتاسیم استات ۱ مولار و ٤/۳ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و سپس جذب محلول در ٤۱۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. کوئرستین جهت رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و مقدار فلاوونوئید کل برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس (mg QE/g) گزارش شد.

۲-۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲-۵-۱- مهار رادیکال آزاد DPPH

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH اسانس مرزه خوزستانی مطابق روش پولاتوگلو و همکاران [۱۰]، با کمی اصلاحات بررسی گردید. ۵۰۰ میکرولیتر اسانس یا متانول (کنترل) با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی رادیکال آزاد DPPH (۰/۱ میلی مولار) مخلوط و محلول بدست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک و در دمای اتاق قرار داده شد. جذب محلول (A) در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH اسانس بصورت زیر تعیین شد:

= فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (٪)

$[(A_{کنترل}-A_{نمونه})/A_{کنترل}]\times 100$

۲-۵-۲- مهار رادیکال آزاد ABTS

جهت بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS اسانس مرزه خوزستانی، ابتدا محلول استوک $ABTS^{+\bullet}$ (۲ میلی مولار) از طریق حل کردن در ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (حاوی ۸/۱۸ گرم NaCl، ۰/۲۷ گرم KH_2PO_4، ۱/٤۲ گرم Na_2HPO_4 و ۰/۱۵ گرم KCl در یک لیتر آب دیونیزه) تهیه گردید. کاتیون رادیکال ABTS سپس با مخلوط کردن ۵۰ میلی‌لیتر محلول استوک ABTS با ۲۰۰ میکرولیتر محلول $K_2S_2O_8$ و نگهداری به مدت ۱۵-۱٦ ساعت در دمای اتاق و محیط تاریک فعال گردید. قبل از استفاده، محلول $ABTS^{+\bullet}$ توسط بافر فسفات تا جذب ۰/۷ در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر رقیق شد. سپس ۳۰ میکرولیتر اسانس با ۳ میلی‌لیتر محلول $ABTS^{+\bullet}$ مخلوط و درصد کاهش جذب در ۷۳٤ نانومتر توسط فرمول زیر محاسبه شد:

= فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS (٪)

$[(Ac-As)/Ac]\times 100$

که در این فرمول، Ac و As به ترتیب جذب کنترل و نمونه در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر می‌باشند [۱۱].

۲-۵-۳- روش رنگبری بتا-کاروتن/لینولئیک اسید

این روش آنتی‌اکسیدانی برپایه جلوگیری از اکسیداسیون لینولئیک و زوال رنگ بتا-کاروتن توسط رادیکال‌های آزاد استوار است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه خوزستانی برپایه روش رنگبری بتا-کاروتن/لینولئیک اسید مطابق روش علیزاده بهبهانی و همکاران [۷] بررسی گردید و درصد بازداری توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

= درصد بازداری (٪)

$[(A_{a(120)}-A_{c(120)})/(A_{c(0)}-A_{c(120)})]\times 100$

در این فرمول، $A_{a(120)}$، $A_{c(0)}$ و $A_{c(120)}$ به ترتیب جذب نمونه اسانس بعد از ۱۲۰ دقیقه، جذب نمونه کنترل در زمان صفر و جذب نمونه کنترل بعد از ۱۲۰ دقیقه واکنش می‌باشد.

۲-٦- فعالیت ضدقارچی

فعالیت ضدقارچی اسانس مرزه خوزستانی در برابر قارچ‌های مولد فساد و پوسیدگی توت‌فرنگی (*Rhizopus stolonifer* ATCC 14037، *Aspergillus niger* PTCC 5010 و *Botrytis cinerea* ATCC 28387) مطابق روش‌های ضدمیکروبی زیر بررسی گردید.

۲-٦-۱- دیسک دیفیوژن آگار[1]

برای انجام این آزمون ضدمیکروبی، ابتدا ۲۰ میکرولیتر اسانس استریل مرزه خوزستانی روی دیسک‌های کاغذی با قطر ٦/۲ میلی‌متر ریخته شد و سپس دیسک‌ها روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار حاوی سویه‌های قارچی قرار گرفتند.

1. Disk diffusion agar (DDA)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

گرمخانه گذاری محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سلسیوس صورت گرفت و در نهایت قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسکهااندازه‌گیری گردید [۱۲].

۲-۶-۲- انتشار چاهک در آگار[1]

چاهک‌های سطحی با قطر مشابه روی محیط کشت (سابروز دکستروز آگار) ایجاد و سپس با ۲۰ میکرولیتر اسانس استریل بارگذاری شدند. لازم به ذکر است که قبل از اضافه کردن اسانس به چاهک‌ها، سویه‌های قارچی روی محیط سابروز دکستروز آگار کشت داده شدند. در مرحله بعد، محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد و قطر هاله‌عدم رشد اطراف چاهک‌هاثبت گردید [۱۳].

۲-۶-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی[2]

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مرزه خوزستانی ابتدا اسانس توسط فیلترهای ۰/۴۵ میکرونی استریل و سپس رقت‌های متوالی از ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تا ۱/۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با هریک از سوسپانسیون میکروبی استاندارد درون لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری مخلوط گردید. بعد از گرمخانه گذاری لوله‌های آزمایش در دمای ۲۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت، لوله‌های آزمایش به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت. چناچه میکروارگانیسم توانسته باشد رشد کند کدورت در لوله آزمایش مشاهده می‌شود. بنابراین اولین لوله‌ای که در آن کدورت مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مرزه خوزستانی ثبت شد [۱۴ و ۱۵].

در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی، لوله‌های آزمایشی که فاقد کدورت بود، جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس مورد استفاده قرار گرفت. از محتوای لوله آزمایش فاقد کدورت روی محیط سابروز دکستروز آگار کشت سطحی داده شد. بعد از گرمخانه گذاری، اولین غلظتی از اسانس مرزه خوزستانی که از تشکیل کلنی میکروبی در محیط جلوگیری کرده بود، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس در نظر گرفته شد [۱۶ و ۱۷].

1. Well diffusion agar (WDA)
2. Minimum Inhibitory/Fungicidal Concentration (MIC/MFC)

۲-۷- آنالیز آماری

آزمون‌ها در سه نوبت تکرار شدند. داده‌های این مطالعه توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۱) و آزمون واریانس یک‌طرفه آنالیز شدند. لازم به ذکر است که جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بازده استخراج، محتوای فنول و فلاوونوئید کل اسانس مرزه خوزستانی

میزان راندمان استخراج اسانس مرزه خوزستانی ۱/۱۵ درصد وزنی/وزنی بود. بازده و ترکیب اسانس توسط روش و زمان استخراج و نوع حلال تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۱۸]. گزارش شده است که کارواکرول نقش مهمی در سازگاری گیاهان دارویی نسبت به شرایط محیطی دارد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدالتهابی آن نیز به اثبات رسیده است [۱۹]. ترکیبات فنولی اسانس مرزه خوزستانی مانند کارواکرول قابلیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد از طریق اهدای هیدروژن را دارا می‌باشند [۲۰]. همانطور که در جدول ۱، گزارش شده است، مقدار فنول کل اسانس مرزه خوزستانی برابر با ۸۷/۲۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس بود. محتوای فلاوونوئید کل اسانس نیز ۶۹/۳۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم گزارش شد. در مطالعه سعیدی [۲۱]، مشخص گردید که اسانس مرزه خوزستانی دارای محتوای فنول کل ۸۱/۲ برحسب میلی‌گرم پیروکاتکول در یک میکرولیتر اسانس می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر، محتوای فنول و فلاوونوئید کل عصاره پینه مرزه خوزستانی به ترتیب ۱۸/۲۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و ۸/۲۳ میلی‌گرم کاتچین در گرم گزارش شد [۲۲]. تفاوت‌های مشاهده شده در مقدار فنول و فلاوونوئید اسانس در این مطالعه در مقایسه با یافته‌های سایر محققین ناشی از نحوه متفاوت گزارش میزان این ترکیبات زیست فعال می‌باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

Table 1 Total phenol and flavonoid contents and antioxidant activity of *S. khuzestanica* essential oil.

Total phenol content (mg GAE/g)	Total flavonoid content (mg QE/g)	Antioxidant activity (%)		
		DPPH-radical scavenging effect	ABTS-radical scavenging effect	Beta-carotene/linoleic assay
87.23 ± 0.66	69.33 ± 0.80	63.29 ± 0.79	58.30 ± 0.60	51.19 ± 0.50

فلاوونوئیدهایی از قبیل ستورجین، آرومادندرین، تاکسیفولین، نارنجنین، تتراهیدروکسی فلاوون، زانتومیکرول، آکاستین، کایرسیماریتین، ۷-میتوکسی لوتئین، آپیجنین، کایرسیلینئول، دیوسمتین و ٦-هیدروکسی لوتئین ۷،۳-دی متیل اتر از گیاه مرزه خوزستانی شناسایی شده‌اند که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی می‌باشند [۲۳]. ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی اسانس مرزه خوزستانی مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه آن می‌باشند که در بخش‌های ذیل به آن اشاره می‌شود.

۳-۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بعنوان متداول‌ترین روش طیف‌سنجی جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی شناخته می‌شود [٢٤]. در آزمون DPPH، فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد اسانس مرزه خوزستانی برابر با ٦٣/٢٩ درصد بود که بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس می‌باشد (جدول ۱). مطالعات پیشین نشان داد که گونه‌های مرزه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند [۲۵]. بطور مثال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ٦٠/٥ درصد قبل از گلدهی و ٥٨/١ درصد در مرحله گلدهی در اسانس مرزه خوزستانی توسط سعیدی گزارش شده است [۲۱]. حضور ترکیبات فنولی (عمدتاً کارواکرول) در اسانس مرزه خوزستانی مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه آن می‌باشد که از طریق اهدای الکترون یا هیدروژن سبب خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند [٢٦]. آزمون فعالیت مهار رادیکال ABTS برپایه احیای رنگ آبی-سبز محلول رادیکال کاتیون ABTS استوار است و ظرفیت احیای رادیکال کاتیون بصورت درصد بازداری جذب در طول‌موج ٧٣٤ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود [۲۷]. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، اسانس مرزه خوزستانی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ٥٨/٣ درصدی برپایه مهار رادیکال ABTS را دارا بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه اسانس می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی آن باشد که ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد آن‌ها گزارش شده است [۲۸]. با جستجوی واژه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه خوزستانی بر پایه مهار رادیکال آزاد ABTS در متون علمی، تنها یک مطالعه یافت شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس را ١/٦ برحسب میلی مول تورولوکس بر یک میکرولیتر اسانس[1] گزارش کرده بود [۲۱].

در آزمون بتا-کاروتن/لینولئیک اسید، اسانس مرزه خوزستانی بطور قابل‌توجهی از اکسیداسیون لینولئیک جلوگیری کرد (جدول ۱) که این اثر ناشی از حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدان در اسانس مانند فنولها است که با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد مشتق شده از لینولئیک اسید در سامانه، از تجزیه بتا-کاروتن جلوگیری می‌کنند [۸]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ٩٥/٤٥ درصد برپایه روش بتا-کاروتن/لینولئیک اسید در مطالعه‌ی ساعی دهکردی گزارش شده است [۲۵].

بطور کلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه خوزستانی به ترکیبات فنولی (مانند کارواکرول، پارا-سیمن و تیمول)، فنیل پروپن (مانند اوژنول) و فلاوونوئیدی آن نسبت داده شده است [۲۹]. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی مربوط به گروه‌های هیدروکسیل متصل به حلقه آروماتیک آن‌ها می‌باشد که قادر به اهدای الکترون و اتم هیدروژن و پایدارسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند [۱۱]. با اینحال، تفاوت‌های مشاهده شده بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در این پژوهش با سایر مطالعات می‌تواند ناشی از تفاوت در غلظت اجزای اصلی تشکیل‌دهنده اسانس، ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی باشد [۳۰].

۳-٤- فعالیت ضدقارچی

نتایج اثر ضدمیکروبی اسانس مرزه خوزستانی بر سویه‌های عامل فساد و پوسیدگی میوه توت‌فرنگی مطابق روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار در جدول ۲ آورده شده است. مطابق نتایج آزمون دیسک دیفیوژن آگار، بیشترین مقاومت (کمترین قطر هاله عدم رشد) و کمترین مقاومت (بیشترین قطر هاله عدم رشد) در برابر اسانس مرزه خوزستانی

1. mmol Torolox/ µl essential oil

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

را به ترتیب *بوتریتیس سینه‌را* و *آسپرژیلوس نایجر* نشان دادند. نتایج مشابهی در آزمون چاهک آگار مشاهده شد و سویه *بوتریتیس سینه‌را* مقاوم‌ترین و *آسپرژیلوس نایجر* حساس‌ترین سویه‌ها به اسانس بودند. لازم به ذکر است که قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگتر از آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود که این حالت به تماس مستقیم بین اسانس و میکروارگانیسم در این روش نسبت داده می‌شود؛ در حالیکه در روش دیسک دیفیوژن آگار، اسانس بایستی از سطح دیسک به درون محیط کشت نفوذ کند تا اثر ضدمیکروبی خود را نشان دهد [۷]. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مرزه خوزستانی برای سویه‌های *آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه‌را* و *رایزوپوس استولونیفر* به ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی اسانس مرزه خوزستانی برای سویه‌های *آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه‌را* و *رایزوپوس استولونیفر* به ترتیب ۲۰۰، ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

Table 2 The disk diffusion agar (DDA), well diffusion agar (WDA), minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of the *S. khuzestanica* essential oil on *Rhizopus stolonifera*, *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea*

Microorganism	DDA (mm)	WDA (mm)	MIC (mg/mL)	MFC (mg/mL)
R. stolonifera	13.60 ±0.40[b]	14.30 ±0.49[b]	50	200
A. niger	18.80 ±0.29[a]	20.60 ±0.30[a]	50	200
B. cinerea	10.30 ±0.37[c]	13.50 ±0.50[b]	100	400

Values are expressed as mean ±standard deviations, n = 3; different letters (a, b, c and d) in each column show significant difference at $p \leq 0.05$.

نتایج آزمون‌های فعالیت ضدمیکروبی اسانس مرزه خوزستانی بر سویه‌های عامل فساد و پوسیدگی توت‌فرنگی به روش‌های حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی نشان داد (جدول ۳) که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس برای *بوتریتیس سینه‌را* برابر با ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای *آسپرژیلوس نایجر* و *رایزوپوس استولونیفر* برابر با ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی اسانس برای *آسپرژیلوس نایجر* و *رایزوپوس استولونیفر* معادل ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای *بوتریتیس سینه‌را* معادل ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد. فعالیت ضدقارچی اسانس مرزه خوزستانی در مطالعات مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌ی گران و همکاران [۳۱]، اسانس و عصاره‌های اتانولی و اتانولی ۷۰ درصد مرزه خوزستانی به ترتیب در غلظت‌های ۳۷۵، ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب مهار کامل رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* شدند. در پژوهشی دیگر مشخص گردید که اسانس مرزه خوزستانی دارای حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برابر با ۰/۱ میکرولیتر در میلی‌لیتر برای قارچ *کاندیدا آلبیکنز* می‌باشد [۳۲]. اسانس گیاهان دارویی نعناع فلفلی، اسطوخودوس، رازیانه و زیره سبز نیز فعالیت ضدقارچی قابل‌توجهی در برابر سویه‌های قارچی مولد فساد و پوسیدگی توت‌فرنگی (*بوتریتیس سینه‌را*، *آسپرژیلوس نایجر* و *رایزوپوس استولونیفر*) نشان دادند [۳۳].

فعالیت ضدقارچی اسانس‌های حاوی غلظت بالای ترکیبات فنولی ممکن است ناشی از ایجاد صدمات شدید به غشای میکروارگانیسم باشد که از طریق اختلالات مستقیم و متابولیکی منجر به آسیب به غشای ثانویه می‌شوند. از دیگر مکانیسم‌های ضدقارچی اسانس‌ها می‌توان به تحت تأثیر قرار دادن عملکرد طبیعی میتوکندری، جلوگیری از سنتز ATP در میتوکندری قارچ‌ها و تجمع گونه‌های واکنشگر اکسیژن بعد از تیمار اسانس اشاره داشت که این پدیده بعنوان یکی از ابتدایی‌ترین نشانه‌های آپوپتوزیس[1] در نظر گرفته می‌شود که منجر به تسریع تغییرات مورفولوژیکی، تجزیه هسته، تجمع کروماتین، متورم شدن سلولی و خروج فسفاتیدیل سرین می‌گردد [۳۴]. علاوه براین، گزارش شده است که ترکیبات فرار ضدقارچی و بخارات آن‌ها سبب کاهش جوانه‌زنی کنیدی و متعاقباً مرگ قارچ می‌شوند [۳].

۴- نتیجه‌گیری

اسانس مرزه خوزستانی، حاصل از روش تقطیر با آب، غنی از ترکیبات زیست فعال از قبیل کارواکرول (۷۲/۶۸ درصد) و پارا-سیمن بود. محتوای فنول فلاوونوئید کل اسانس مرزه خوزستانی نیز قابل‌توجه بود که قابلیت بالقوه اسانس در مهار

1. Apoptosis

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

رادیکال‌های آزاد را سبب شدند. اسانس مرزه خوزستانی بخوبی توانست از رشد سویه‌های قارچی مولد فساد و پوسیدگی توت‌فرنگی جلوگیری کند و قارچ‌های *بوتریتیس سینه‌را* و *آسپرژیلوس نایجر* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌ها نسبت به اسانس بودند. بنابراین، اسانس مرزه خوزستانی قابلیت استفاده بعنوان عامل آنتی‌اکسیدان و ضدمیکروب طبیعی جهت افزایش عمرانبارمانی میوه‌ها و سبزیجات را دارا می‌باشد.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۹۹۱/۱۱ می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

٦- منابع

[1] Ranjbar, H., Farzaneh, M., Sharifii, R., Hadian, J., & Mirjalili, M.H. (2009). Classification of selected multi-cut Persian clover germplasm of National Plant Genebank based on agronomic traits. *Pajouhesh & Sazandegi*, *81*, 54-60.

[2] Mohammadi, S., Aroiee, H., Tehranifar, A., & Jahanbakhsh, V. (2012). Application of essential oils in control postharvest decay of strawberry fruit caused by Bottrytis cinerea fungus. *Postharvest Physiology and Technology of Horticultural Crops*, 1(2), 55-73.

[3] Reddy, M. B., Angers, P., Gosselin, A., & Arul, J. (1998). Characterization and use of essential oil from Thymus vulgaris against Botrytis cinerea and Rhizopus stolonifer in strawberry fruits. *Phytochemistry*, *47*(8), 1515-1520.

[4] Oliveira, J., Parisi, M. C. M., Baggio, J. S., Silva, P. P. M., Paviani, B., Spoto, M. H. F., & Gloria, E. M. (2019). Control of Rhizopus stolonifer in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethylcellulose. *International journal of food microbiology*, *292*, 150-158.

[5] Mziouid, A., Chebli, B., Berrabah, M., Heimeur, N., & Mayad, E. H. (2020). Antifungal activities of essential oil from Moroccan endemic Anthemis tenuisecta and seed emergence. *Materials Today: Proceedings*. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.03.686.

[6] Nooshkam, A., Majnoon Hosseini, N., Hadian, J., Jahansouz, M.R., Khavazi, K., Salehnia, A.N., & Hedayatpor, S. (2016). Study the effects of biological and chemical fertilizer on quantitative and qualitative characteristics of savory specie (Satureja khuzestanica jamzad). *Journal of Crop Production, 8*(4), 87-103.

[7] Behbahani, B. A., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial pathogenesis*, *136*, 103716.

[8] Lee, W. C., Mahmud, R., Pillai, S., Perumal, S., & Ismail, S. (2012). Antioxidant activities of essential oil of Psidium guajava L. leaves. *APCBEE Procedia*, *2*, 86-91.

[9] Hossain, M. A., Shah, M. D., Gnanaraj, C., & Iqbal, M. (2011). In vitro total phenolics, flavonoids contents and antioxidant activity of essential oil, various organic extracts from the leaves of tropical medicinal plant Tetrastigma from Sabah. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, *4*(9), 717-721.

[10] Polatoğlu, K., Karakoç, Ö. C., & Gören, N. (2013). Phytotoxic, DPPH scavenging, insecticidal activities and essential oil composition of Achillea vermicularis, A. teretifolia and proposed chemotypes of A. biebersteinii (Asteraceae). *Industrial crops and products*, *51*, 35-45.

[11] Senthilkumar, A., & Venkatesalu, V. (2013). Chemical constituents, in vitro antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from the fruit pulp of wood apple. *Industrial crops and products*, *46*, 66-72.

[12] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., Roshanak, S., & Mortazavi, A. (2017). Production of an antimicrobial edible coating based on Plantago major seed mucilage in combination with Heracleum persicum essential oil: its properties and application in beef. *Applied Microbiology In Food Industries, 3*(3), 1-21.

[13] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International journal of biological macromolecules*, *94*, 515-526.

[14] Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. (2018). Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of food safety*, *38*(3), e12443.

[15] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Shahidi, F., & Riazi, F. (2016). Antifungal Effect of the Aqueous and Ethanolic Avicennia marina Extracts on *Alternaria citri* and *Penicillium digitatum*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 18*(2), 1-6.

[16] Alghooneh, A., Alizadeh Behbahani, B., Noorbakhsh, H., & Yazdi, F. T. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of Pseudomonas aeruginosa in Frankfurter sausage containing Satureja bachtiarica extracts. *Microbial Pathogenesis, 85*, 58-65.

[17] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial Pathogenesis, 136*, 103716.

[18] Nooshkam, A., Mumivand, H., Hadian, J., Alemardan, A., & Morshedloo, M. R. (2017). Drug yield and essential oil and carvacrol contents of two species of Satureja (S. khuzistanica Jamzad and S. rechingeri Jamzad) cultivated in two different locations. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, *6*, 126-130.

[19] Hadian, J., Hossein Mirjalili, M., Reza Kanani, M., Salehnia, A., & Ganjipoor, P. (2011). Phytochemical and morphological characterization of Satureja khuzistanica Jamzad populations from Iran. *Chemistry & biodiversity*, *8*(5), 902-915.

[20] Hasheminya, S. M., Mokarram, R. R., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., Kafil, H. S., & Dehghannya, J. (2019). Development and characterization of biocomposite films made from kefiran, carboxymethyl cellulose and Satureja Khuzestanica essential oil. *Food chemistry*, *289*, 443-452.

[21] Saidi, M. (2014). Antioxidant activities and chemical composition of essential oils from Satureja khuzestanica, Oliveria decumbens and Thymus daenensis. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *17*(3), 513-521.

[22] Ghorbanpour, M., & Hadian, J. (2015). Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant Satureja khuzestanica grown in vitro. *Carbon*, *94*, 749-759.

[23] Malmir, M., Gohari, A. R., Saeidnia, S., & Silva, O. (2015). A new bioactive monoterpene–flavonoid from Satureja khuzistanica. *Fitoterapia*, *105*, 107-112.

[24] Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, *113*(4), 1202-1205.

[25] Saei‐Dehkordi, S., Fallah, A. A., Heidari‐Nasirabadi, M., & Moradi, M. (2012). Chemical composition, antioxidative capacity and interactive antimicrobial potency of Satureja khuzestanica Jamzad essential oil and antimicrobial agents against selected food‐related microorganisms. *International journal of food science & technology*, *47*(8), 1579-1585.

[26] Hashemi, M. B., Niakousari, M., Saharkhiz, M. J., & Eskandari, M. H. (2012). Effect of Satureja khuzestanica essential oil on oxidative stability of sunflower oil during accelerated storage. *Natural Product Research*, *26*(15), 1458-1463.

[27] Ye, C. L., Dai, D. H., & Hu, W. L. (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (Allium cepa L.). *Food control*, *30*(1), 48-53.

[28] Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. (2016). Essential oils as antioxidants: their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and β-carotene bleaching methods. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, *147*(12), 2083-2091.

[29] Shahsavari, R., Ehsani-Zonouz, A., Houshmand, M., Salehnia, A., Ahangari, G., & Firoozrai, M. (2009). Plasma glucose lowering effect of the wild Satureja khuzestanica Jamzad essential oil in diabetic rats: role of decreased

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

gluconeogenesis. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *12*(2), 140.

[30] Barzegar, H., Behbahani, B. A., & Mehrnia, M. A. (2019). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using Lepidium sativum seed mucilage-based edible coating containing Heracleum lasiopetalum essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, 1-12.

[31] Gorran, A., Salehnia, B., Alizadeh, H., Farzaneh, M., & Shivazad, M. (2015). Effects of essential oils and extracts of Satureja macrosiphon and Satureja khozistanica on mycelial growth and aflatoxin B1 production in Aspergillus flavus. *Journal of Veterinary Research*, 70(2), 139-145.

[32] Majd, A., Nezhad Satari, T., Khavarinezhad, R., & Doosti, B. (2008). Investigation of quality and quantity changes in chemical compounds of Satureja khuzistanica J. essential oil during plant growth and its in-vitro antimicrobial activity. *Basic Sciences (Islamic Azad University), 18*(70.1), 51-60.

[33] Hadian, J., Ghasemnezhad, M., Ranjbar, H., Frazane, M., & Ghorbanpour, M. (2008). Antifungal potency of some essential oils in control of postharvest decay of strawberry caused by Botrytis cinerea, Rhizopus stolonifer and Aspergillus niger. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *11*(5), 553-562.

[34] Farzaneh, M., Kiani, H., Sharifi, R., Reisi, M., & Hadian, J. (2015). Chemical composition and antifungal effects of three species of Satureja (S. hortensis, S. spicigera, and S. khuzistanica) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *109*, 145-151.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Antifungal effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* causing strawberry's rot and mold

Rahmati-Joneidabad, M.[1*], Alizadeh Behbahani, B. [2], Noshad, M. [2]

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2021/ 01/ 20
Accepted 2021/ 04/ 14

Keywords:

Essential oil,
Satureja khuzestanica,
Natural antioxidant,
Antifungal activity,
Strawberry.

DOI: 10.29252/fsct.18.06.13

*Corresponding Author E-Mail:
Rahmati@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

In this study, the essential oil of medicinal plant *Satureja khuzestanica* was extracted using hydrodistillation method and its total phenol and flavonoids contents, antioxidant property (based on DPPH and ABTS radical scavenging and beta-carotene/linoleic acid assays) and antifungal activity against fungi species causing strawberry rot and mold (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer*) were investigated. Based on the results of the total phenol and flavonoid contents of the essential oil were 87.23 mg GAE/g and 69.33 mg QE/g, respectively. The antioxidant activity of the essential oil, based on the DPPH radical scavenging, ABTS radical scavenging, and beta-carotene/linoleic acid assays, were 63.29, 58.30 and 51.19%, respectively. The antifungal activity of the essential oil (based on disk diffusion agar, well diffusion agar, and minimum inhibitory/fungicidal concentration) showed that *B. cinerea* was the most resistant and *A. niger* was the most sensitive fungal species to the essential oil. The minimum inhibitory concentration for *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* was 50, 100 and 50 mg/mL, respectively. The minimum fungicidal concentration for *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* was 200, 400 and 200 mg/mL, respectively.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-09]

[DOI: 10.52547/fsct.18.115.13]