



ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی و کنترل رشد قارچ‌های عامل پوسیدگی پس از برداشت میوه انگور با استفاده از اسانس زنجبیل (*Zingiber officinale*)

مصطفی رحمتی جنیدآباد^{۱*}، محمدرضا زارع بوانی^۱، فاطمه برنا^۲

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

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۲۹</p>	<p>رشد پاتوژن های قارچی روی میوه انگور سبب افت کیفیت و کاهش ماندگاری آن می‌گردد. در این مطالعه، فعالیت ضد قارچی اسانس زنجبیل در برابر پاتوژن‌های قارچی عامل فساد پس از برداشت میوه انگور مورد بررسی قرار گرفت. اسانس زنجبیل با استفاده از روش تقطیر با آب استخراج گردید و محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر پایه مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و فعالیت ضد قارچی آن در برابر سویه‌های <i>آسپرژیلوس نایجر</i>، <i>ریزوپوس استولونیفیر</i> و <i>بوتریتیس سینه‌را</i> بر اساس روش‌های انتشار در دیسک، انتشار در چاهک، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسانس زنجبیل دارای $۸۹/۸۰ \text{ mg GA/g}$ فنول کل و $۳۸/۶۰ \text{ mg QE/g}$ فلاونوئید کل می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS به ترتیب برابر با $۷۳/۴۵$ و $۶۶/۵۳$ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. نتایج فعالیت ضد قارچی نشان داد که <i>آسپرژیلوس نایجر</i> و <i>بوتریتیس سینه‌را</i> به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی نسبت به اسانس بودند و قطر هاله عدم رشد در روش انتشار در دیسک و انتشار در چاهک، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای سویه <i>آسپرژیلوس نایجر</i> به ترتیب برابر با $۱۳/۹۰$ میلی‌متر، $۱۴/۵۰$ میلی‌متر، ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. بطور کلی، اسانس زنجبیل قابلیت استفاده بعنوان عامل آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب جهت افزایش عمر نگهداری محصولات کشاورزی را دارا می‌باشد.</p>
<p>کلمات کلیدی: اسانس زنجبیل، انگور، پاتوژن‌های قارچی، اثر ضد میکروبی، عمر نگهداری.</p>	
<p>DOI:10.22034/FSCT.21.154.151. * مسئول مکاتبات: rahmati@asnruk.ac.ir</p>	

۱- مقدمه

انگور در درجه اول برای مصرف تازه کشت می‌شود و در سراسر جهان محبوبیت دارد. انگور منبع غنی از مواد مغذی مختلف از جمله ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها است. این میوه سرشار از پلی‌فنول است که با مزایای سلامت بخشی مختلفی مانند کاهش التهاب و کاهش خطر بیماری‌های مزمن مرتبط است. علاوه بر این، انگور حاوی سطوح بالایی از ویتامین C، پتاسیم و فیبر است که آن را به یک مکمل سالم برای هر رژیم غذایی تبدیل می‌کند. انگور همچنین به دلیل وجود ترکیبات خاص مانند رسوراترول که با بهبود سلامت قلب و عروق و کاهش خطر ابتلا به برخی سرطان‌ها مرتبط است، فواید سلامتی بالقوه‌ای دارد [۱، ۲]. علاوه بر این، گزارش شده است که مصرف منظم انگور با بهبود کنترل قند خون و کاهش التهاب در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ مرتبط است [۳].

با اینحال، عفونت پس از برداشت انگور با قارچ می‌تواند یک مشکل مهم باشد، زیرا می‌تواند منجر به از دست دادن کیفیت، کاهش ماندگاری و ضرر اقتصادی برای تولیدکنندگان و تأمین کنندگان شود. قارچ‌هایی مانند بوتریتریسیس سینه‌را و گونه‌های پنی‌سیلیوم پاتوژن‌های رایجی هستند که می‌توانند باعث پوسیدگی انگور پس از برداشت شوند. تیمار پس از برداشت با قارچ‌کش‌ها و سایر عوامل ضد قارچی می‌تواند به طور مؤثر عفونت‌های قارچی در انگور را کنترل کند [۴].

استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی برای نگهداری انگور می‌تواند معایب متعددی داشته باشد. اولاً، استفاده بیش از حد یا سوء استفاده از قارچ‌کش‌ها می‌تواند منجر به ایجاد گونه‌های قارچی مقاوم به قارچ‌کش شود و کنترل عفونت‌های قارچی در آینده را دشوارتر کند. ثانیاً، نگرانی‌هایی در مورد خطرات بالقوه سلامتی مرتبط با استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی، به‌ویژه با قرار گرفتن در معرض طولانی‌مدت وجود دارد. علاوه بر این، استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی می‌تواند اثرات منفی بر محیط زیست داشته باشد [۵، ۶]. بنابراین، نگرانی فزاینده‌ای در مورد

استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی وجود دارد، که نیاز به استراتژی‌های جایگزین، مانند استفاده از عوامل قارچ‌کش طبیعی، کنترل بیولوژیکی یا توسعه گونه‌های انگور مقاوم را نشان می‌دهد.

در این راستا، گزارش شده است که اسانس‌ها در مهار رشد کپک در انگور پس از برداشت مؤثر هستند. مطالعات متعددی خواص ضد قارچی اسانس‌های گیاهی را در برابر طیف وسیعی از گونه‌های کپکی نشان داده‌اند [۷، ۸]. اسانس‌ها حاوی ترکیبات زیست فعال مانند کارواکروول، تیمول و سینامالدهید هستند که می‌توانند دیواره سلولی کپک‌ها را مختل کرده و از رشد آن‌ها جلوگیری کنند [۹]. بطوریکه استفاده از اسانس‌ها در سطوح انگور به طور قابل توجهی رشد کپک را کاهش می‌دهد و عمر ماندگاری انگور را افزایش می‌دهد [۱۰]. علاوه بر این، استفاده از اسانس‌ها به‌عنوان نگهدارنده طبیعی می‌تواند جایگزین ایمن و پایدار برای نگهدارنده‌های مصنوعی باشد. خواص ضد میکروبی اسانس‌ها یک راه‌حل امیدوارکننده برای کاهش رشد کپک در انگور و بهبود کیفیت و ایمنی آن برای مصرف ارائه می‌دهد. زنجبیل (*Zingiber officinale*) یک ادویه شناخته شده است که قرن‌ها به دلیل خواص دارویی و آشپزی آن مورد استفاده قرار می‌گرفته است. نشان داده شده است که اسانس زنجبیل دارای فعالیت ضد قارچی در برابر انواع گونه‌های قارچی است [۱۱، ۱۲]. این فعالیت به محتوای بالای ترکیبات فعال زیستی آن، از جمله زینگیبرن، آر-کورکومن، و سسکی‌فلاندرن نسبت داده می‌شود [۱۳]. اعتقاد بر این است که این ترکیبات غشاء سلولی سلول‌های قارچی را مختل کرده و منجر به مرگ آنها می‌شود [۱۴]. علاوه بر این، اسانس زنجبیل در مهار رشد کپک روی محصولات غذایی از جمله انگور و توت‌فرنگی مؤثر است [۱۵، ۱۶]. بنابراین، هدف از این مطالعه، استخراج اسانس زنجبیل و تعیین میزان فنول و فلاونوئید کل، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و در نهایت تعیین فعالیت ضد قارچی آن در برابر سویه‌های قارچی مسئول فساد پس از برداشت میوه انگور بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل محیط کشت سابورود دکستروز آگار و برات (مرک، آلمان)، 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (سیگما، آمریکا)، diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (سیگما، آمریکا)، گالیک اسید (سیگما، آمریکا)، کوئرستین (سیگما، آمریکا) و معرف فولین سیوکالتو (سیگما، آمریکا) بودند.

۲-۲- استخراج اسانس

ماده گیاهی در محفظه خشک‌کن در دمای کنترل شده (۳۰ درجه سانتی‌گراد)، با گردش هوا ثابت و با حفظ شرایط رطوبت بهینه خشک شد. سپس گیاه در ظروف بسته‌بندی شد تا طعم، رنگ و عطر آن حفظ گردد. نمونه آزمایشگاهی در مخلوط‌کن به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق آسیاب، همگن و قبل از آنالیز در مکان تاریک نگهداری گردید. استخراج اسانس‌ها مطابق روش تقطیر با آب متداول در دستگاه کلونجر انجام شد. برای این منظور، ۱۰۰ گرم از مواد گیاهی آسیاب شده وزن شده و ۶۰۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر به آن اضافه شد. دمای حرارت دادن روی ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و استخراج اسانس در این شرایط به مدت ۳ ساعت انجام شد [۱۷].

۲-۳- میزان فنول کل

میزان فنول کل اسانس با روش فولین سیوکالتو برآورد شد [۱۸]. میزان ۱۲۵ میکرولیتر نمونه به لوله آزمایش منتقل و ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه شد. پس از آن ۱۲۵ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو به آن اضافه شد و به مدت ۶ دقیقه نگهداری گردید. سپس ۱/۲۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد و ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه نگهداری و جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر ثبت گردید. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد همراه با نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. میزان فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم اسانس (mg GA/g) بیان گردید.

۲-۴- میزان فلاونوئید کل

به منظور اندازه‌گیری محتوای کل فلاونوئید، ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس زنجبیل به ۰/۳ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد NaNO_2 اضافه شد. سپس محلول به‌دست‌آمده به مدت ۵ دقیقه همزده شد و با ۰/۳ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد AlCl_3 مخلوط گردید. بعد از افزودن ۲ میلی‌لیتر NaOH ۱ مولار، جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. از کوئرستین به‌عنوان ترکیب استاندارد استفاده شد. محتوای فلاونوئید کل به صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم اسانس (mg QE/g) بیان شد [۱۹].

۲-۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲-۵-۱- مهار رادیکال DPPH

ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH مطابق روش بلیک و همکاران (۲۰۱۳) ارزیابی شد. برای این منظور، ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل به ۰/۴ میلی‌لیتر محلول متانولی رادیکال DPPH (۰/۵ میلی‌مولار) اضافه شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد و سپس جذب محلول حاصل در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. مهار رادیکال آزاد DPPH بر حسب درصد به صورت زیر محاسبه شد:

$$100 \times \frac{AB - AA}{AB} = \text{درصد مهار رادیکال}$$

که در آن AB نشان دهنده جذب واکنش کنترل است (حاوی تمام معرف‌ها به جز ترکیب آزمایش شده) و AA نشان دهنده جذب ترکیب آزمایش شده است. در نهایت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بر حسب IC_{50} (میکروگرم در میلی‌لیتر) گزارش گردید [۲۰].

۲-۵-۲- مهار رادیکال ABTS

روش ایوانویچ و همکاران (۲۰۲۱) با اصلاحات مورد نیاز برای بررسی فعالیت اسانس در مهار رادیکال ABTS مورد استفاده قرار گرفت. محلول رادیکال کاتیونی ABTS با مخلوط کردن حجم‌های مساوی از محلول ۷ میلی‌مولار ABTS و محلول ۲/۴ میلی‌مولار پرسولفات پتاسیم تهیه و

و سویه‌های قارچی و اسانس به چاهک‌ها اضافه شدند. محیط کشت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شد و اثر ضد میکروبی بر حسب قطر ناحیه بازداری اطراف چاهک (میلی‌متر) گزارش گردید [۲۲].

۲-۶-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

برای انجام این آزمون، غلظت‌های متوالی از اسانس زنجبیل (۵۱۲-۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در لوله‌های ۱۰ میلی‌لیتری آزمایشگاهی تهیه و سپس ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به هر لوله اضافه گردید. فرایند گرمخانه گذاری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد و رشد سویه‌ها توسط کدورت ایجاد شده در لوله آزمایش بصورت بصری بررسی گردید. اولین لوله آزمایش فاقد کدورت (رشد میکروبی) به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس ثبت شد. سپس از کشت سطحی لوله‌های فاقد کدورت در محیط سابروز دکستروز آگار به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی استفاده گردید. گرمخانه گذاری مطابق شرایط فوق تکرار شد و غلظتی از اسانس که از رشد سویه‌های قارچی جلوگیری نمود، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی آن تعیین گردید [۲۳].

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

تمام آزمایش‌ها سه تکرار انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۸) و از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اختلاف میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در $p < 0.05$ تعیین گردید.

۳- نتایج و بحث

اسانس زنجبیل که از ریزوم گیاه زنجبیل به دست می‌آید، به دلیل خواص بیولوژیکی مختلف از جمله اثر ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آن شناخته شده است. اساس زنجبیل حاوی ترکیبات زیست فعال مختلف از جمله فنول‌ها و فلاونوئیدها است که به خواص درمانی آن کمک می‌کند. میزان فنول و فلاونوئید کل اسانس زنجبیل به ترتیب mg ۸۹/۸۰ GA/mg و mg ۳۸/۶۰ QE/g بود (شکل ۱). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به مدت ۱۲-۱۶ ساعت در یک مکان تاریک در دمای اتاق گرمخانه گذاری شد. قبل از استفاده، این محلول بیشتر با اتانول مطلق و تا جذب به ۰/۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر رقیق گردید. سپس، ۳۹۵۰ میکرولیتر از محلول واکنش با ۵۰ میکرولیتر از اسانس، مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و در دمای اتاق، جذب آن در ۷۳۴ نانومتر در برابر محلول شاهد اندازه‌گیری شد. اثر مهار، که بر حسب درصد بیان می‌شود، با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$AB \times 100 = (AB - AA) \times 100$$

در این معادله، AB نشان دهنده جذب شاهد و AA نشان دهنده جذب نمونه است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بر حسب IC₅₀ (میکروگرم در میلی‌لیتر) گزارش گردید [۱۷].

۲-۶-۲- فعالیت ضد قارچی

اثر ضد قارچی اسانس زنجبیل در برابر سویه‌های قارچی اسپرژیلوس نایجر، بوتریتیس سینه‌را و ریزوپوس استولونیفر مطابق روش‌های انتشار در دیسک (دیسک دیفیوژن آگار)، انتشار در چاهک (چاهک آگار)، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۶-۱- روش انتشار در دیسک

از روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۷) جهت بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس استفاده شد. در این آزمون، اسانس استریل به آرامی به دیسک‌های بلانک اضافه شد و سپس آنها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس دیسک‌های بلانک روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار آلوده به سویه‌های قارچی قرار داده شد. گرمخانه گذاری در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد و سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری (بر حسب میلی‌متر) و به‌عنوان فعالیت ضد قارچی اسانس زنجبیل گزارش گردید [۲۱].

۲-۶-۲- روش انتشار در چاهک

این آزمون با استفاده از سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند انجام شد. اسانس زنجبیل توسط فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر استریل گردید. چاهک‌های به قطر ۶ میلی‌متر بر روی محیط سابورود دکستروز آگار ایجاد

بوده و قادر به مهار رادیکال‌های آزاد و حفاظت در برابر تنش اکسایشی می‌باشند.

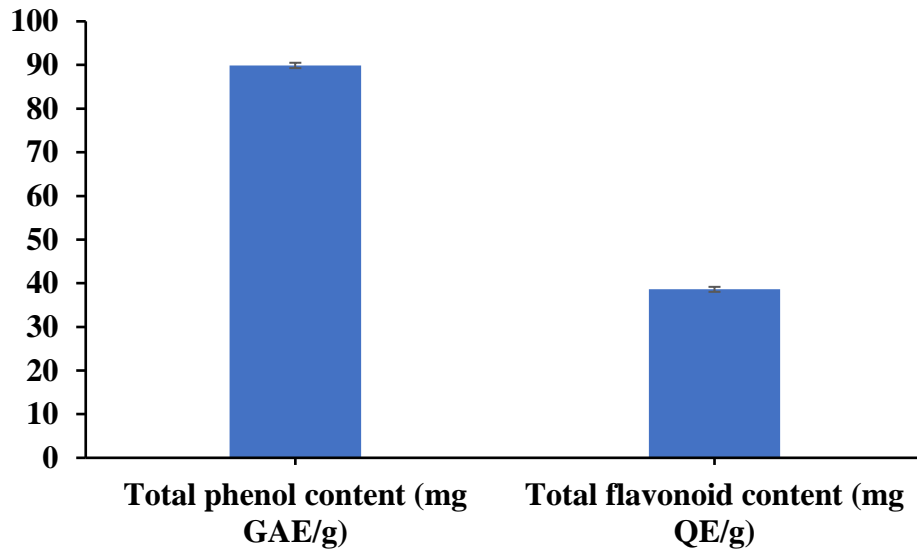


Figure 1. Total phenol and flavonoid contents of ginger essential oil.

به ترتیب برابر با ۷۳/۴۵ و ۶۶/۵۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل در شکل ۲ ارائه شده است. اسانس زنجبیل قادر به مهار رادیکال‌های آزاد بود؛ بطوریکه توانایی آن در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و

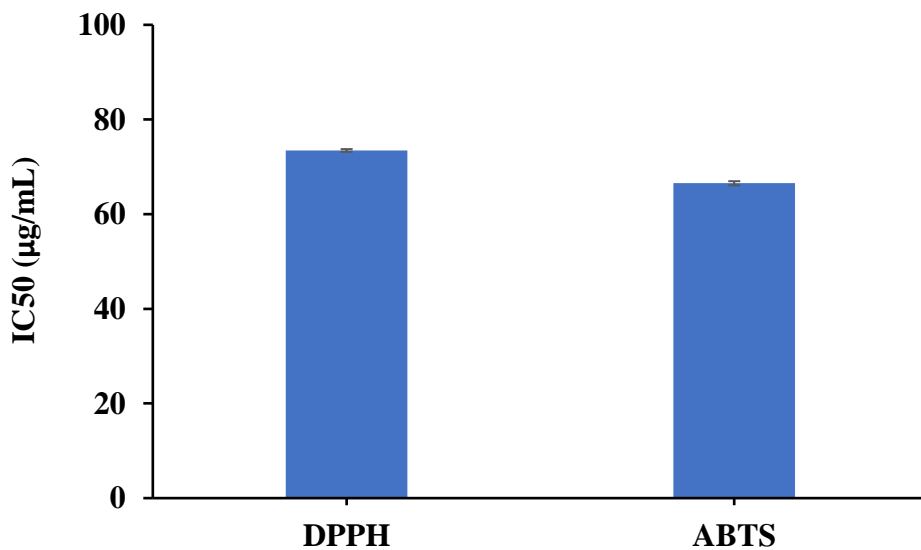


Figure 2. Antioxidant activity of ginger essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

رادیکال‌های آزاد DPPH به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد [۲۰]. علاوه بر این، میزان فنول کل ۱۰/۶ mg GA/g - ۹۵/۲ در عصاره‌های متانولی و هگزان زنجبیل و فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH وابسته به غلظت (۱۰ - ۹۰ درصد در محدوده غلظتی ۴۰-۲۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) در اسانس

میزان فنول و فلاونوئید کل و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل با توجه به شرایط استخراج و منبع گیاه متغیر می‌باشد. بلیک و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نمودند که اسانس زنجبیل دارای محتوای فنول کل معادل ۶۷/۶ mg GA/g است و با افزایش غلظت اسانس، اثر مهارکنندگی

اسانس‌های گیاهی دارای خواص ضد قارچی در برابر گونه‌های مختلف قارچی هستند و آنها را جایگزین بالقوه‌ای برای عوامل ضد قارچی معمولی می‌کند. اعتقاد بر این است که اثر ضد قارچی اسانس‌ها به دلیل توانایی آنها در مختل کردن غشاهای قارچی، مهار آنزیم‌های قارچی و تداخل با تکثیر سلولی قارچی است [۲۳، ۳۰]. نتایج فعالیت ضد قارچی اسانس زنجبیل در برابر سویه‌های قارچی *آسپرژیلوس نایجر*، *بوتریتیس سینه‌را* و *ریزوپوس استولونیفر* بر پایه روش انتشار در دیسک در شکل ۳ ارائه شده است. مطابق نتایج، قطر هاله بازداری در محدوده ۱۰/۴۰ - ۱۳/۹۰ میلی‌متر متغیر بود و *آسپرژیلوس نایجر* با قطر هاله عدم رشد ۱۳/۹۰ میلی‌متر و *بوتریتیس سینه‌را* با قطر هاله بازداری ۱۰/۴۰ میلی‌متر به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها نسبت به اسانس زنجبیل بودند.

زنجبیل گزارش شده است [۱۸]. علی و همکاران (۲۰۱۸) بیان نمودند که عصاره متانولی - کلروفرم زنجبیل حاوی ۴۰/۲۵ mg QE/g فلاونوئید کل و ۶۰/۳۴ mg GA/g فنول کل می‌باشد و قابلیت عصاره در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS قابل توجه بود [۲۴]. به خوبی ثابت شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی حاوی اجزای پلی‌فنول به دلیل خواص اکسیداسیون و احیاکنندگی آنها است که به‌عنوان دهنده اتم‌های هیدروژن یا الکترون عمل می‌کنند و قادر به مهار رادیکال‌های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یگانه و سه‌گانه، یا تجزیه پراکسیدها می‌باشند [۲۰، ۲۷-۲۵]. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند و سیستم ایمنی را در برابر استرس اکسایشی که با بیماری‌های مختلفی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی و بیماری‌های عصبی مرتبط است، محافظت کنند [۲۸، ۲۹].

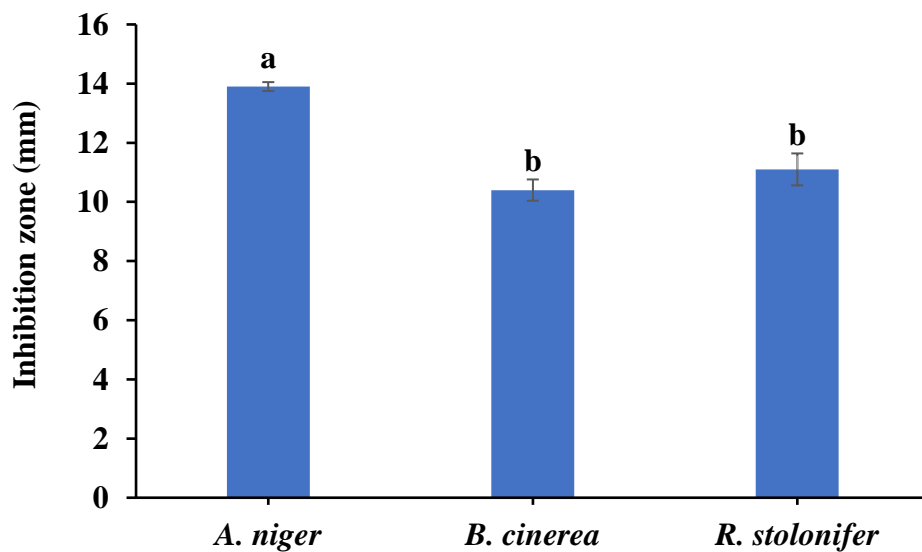


Figure 3. Antifungal activity of ginger essential oil based on disc diffusion agar method. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

برای این قارچ برابر با ۱۱/۵۰ میلی‌متر بود. لازم به ذکر است که میانگین قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار بزرگ‌تر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود که این حالت به تماس مستقیم بین اسانس و قارچ در روش چاهک آگار می‌باشد، در حالیکه انتشار ماده ضد میکروب از دیسک به محیط کشت باعث بروز فعالیت ضد میکروبی ماده زیست فعال در روش دیسک دیفیوژن آگار می‌گردد [۲۶، ۳۱، ۳۲].

شکل ۴، نتایج اثر ضد میکروبی اسانس زنجبیل بر پایه روش انتشار در چاهک را نشان می‌دهد. قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های قارچی در محدوده ۱۱/۵۰ تا ۱۴/۵۰ میلی‌متر بود. حساس‌ترین سویه قارچی نسبت به اسانس زنجبیل، *آسپرژیلوس نایجر* بود که قطر هاله عدم رشد معادل ۱۴/۵۰ میلی‌متر را به خود اختصاص داد. در حالیکه *بوتریتیس سینه‌را* مقاوم‌ترین سویه نسبت به اسانس بود و قطر هاله عدم رشد

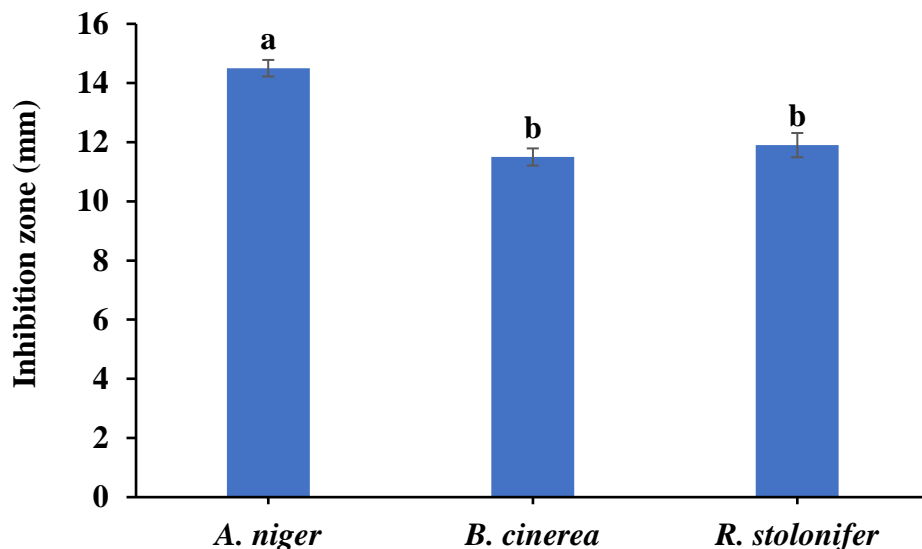


Figure 4. Antifungal activity of ginger essential oil based on well diffusion agar method. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

در غلظت‌های ۳۲-۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر اسانس مشاهده نگردید. بطور کلی، آسپرژیلوس نایجر حساس‌ترین سویه قارچی نسبت به اسانس بود. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای سویه‌های آسپرژیلوس نایجر، بوتریتیس سینه‌را و ریزوپوس استولونیفر به ترتیب ۸، ۳۲ و ۳۲ میلی گرم در میلی لیتر مشاهده شد.

نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس در برابر سویه‌های قارچی در جدول ۱ گزارش شده است. غلظت ۴ میلی گرم در میلی لیتر اسانس فاقد اثر ضد میکروبی در برابر سویه‌ها بود. سویه‌های بوتریتیس سینه‌را و ریزوپوس استولونیفر در حضور غلظت‌های ۸ و ۱۶ میلی گرم در میلی لیتر اسانس قادر به رشد بودند، اما آسپرژیلوس نایجر نسبت به غلظت‌های بالاتر از ۴ میلی گرم در میلی لیتر اسانس حساس بود. لازم به ذکر است که هیچ‌گونه رشد میکروبی

Table 1. Antifungal activity of ginger essential oil based minimum inhibitory concentration (MIC) method.

Fungi	Concentration (mg/mL)								
	4	8	16	32	64	128	256	512	Control
<i>A. niger</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. cinerea</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>R. stolonifer</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-

-: inactive, +: active

نسبت به غلظت ۱۲۸ میلی گرم در میلی لیتر اسانس مقاوم بود. از بین سویه‌های قارچی مورد مطالعه، بوتریتیس سینه‌را بالاترین مقاومت را نسبت به اسانس نشان داد و حداقل غلظت کشندگی برای این سویه ۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر بود. بطور کلی، حداقل غلظت کشندگی اسانس برای سویه‌های آسپرژیلوس نایجر، بوتریتیس سینه‌را و ریزوپوس

جدول ۲، نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی اسانس در برابر سویه‌های قارچی را نشان می‌دهد. غلظت‌های ۴ - ۳۲ میلی گرم در میلی لیتر فاقد اثر کشندگی بر سویه‌های قارچی بودند. غلظت‌های بالاتر اسانس اثر کشندگی بر سویه آسپرژیلوس نایجر نشان داد و سویه ریزوپوس استولونیفر

استولونینفر به ترتیب ۶۴، ۵۱۲ و ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشاهده شد.

Table 2. Antifungal activity of ginger essential oil based minimum fungicidal concentration (MFC) method.

Fungi	Concentration (mg/mL)								
	4	8	16	32	64	128	256	512	Control
<i>A. niger</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>B. cinerea</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>R. stolonifer</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-

-: inactive, +: active

میسلیوم قارچی شود و از رشد سلول‌های قارچی جلوگیری نماید [۲۳]. نتایج پژوهش حاضر با سایر مطالعه‌های که در مورد اثر ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی انجام شده بود مطابقت داشت [۳۶-۴۵]. با توجه به نتایج فوق، اسانس زنجبیل می‌تواند بطور مؤثری جهت جلوگیری از رشد سویه‌های قارچی عامل فساد در انگور مورد استفاده قرار گیرد.

۴- نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس زنجبیل دارای محتوای فنول و فلاونوئید قابل توجهی بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن را سبب شدند. اسانس زنجبیل قادر به جلوگیری از رشد پاتوژن‌های قارچی عامل فساد پس از برداشت انگور (آسپرژیلوس نایجر، ریزوپوس استولونینفر و بوتریتیس سینه‌را) بود. یافته‌های کلی این مطالعه نشان داد که اسانس زنجبیل می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی جدید در سرکوب رشد پاتوژن‌های قارچی گیاهی و به‌عنوان یک جایگزین بالقوه برای قارچ‌کش‌های مصنوعی برای تولید پایدار محصولات کشاورزی استفاده شود.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۴۰۲/۳۱ می‌باشد، لذا از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

اثر ضد قارچی اسانس و عصاره زنجبیل در مطالعات مختلف گزارش شده است. مطابق نتایج این پژوهش، اثر ضد قارچی اسانس زنجبیل در برابر سویه‌های آسپرژیلوس نایجر و ریزوپوس استولونینفر در مطالعه‌ی الباروتی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است [۳۳]. علاوه بر این، عبدالمهی و همکاران (۲۰۲۰) گزارش نمودند که اسانس زنجبیل دارای اثر ضد میکروبی بر پاتوژن‌های گیاهی *Fusarium Colletotrichum*, *Pyricularia oryzae*, *Oxysporum Rigidoporus* و *Ganoderma boninense falcatum microporus* می‌باشد و این اثر وابسته به غلظت بود [۳۴]. اثر ضد باکتریایی اسانس زنجبیل در برابر باکتری‌های پاتوژن در مطالعه مسومو و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است و این اثر به حضور ترکیبات فنولی در اسانس نسبت داده شد [۳۵]. رحمتی جنیدآباد و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی اثر ضد قارچی اسانس مرزه خوزستانی در برابر سویه‌های قارچی عامل فساد و کپک‌زدگی میوه توت‌فرنگی (آسپرژیلوس نایجر، بوتریتیس سینه‌را و ریزوپوس استولونینفر) گزارش نمودند که خاصیت ضد قارچی اسانس ناشی از حضور ترکیبات زیست فعال موجود در آن از قبیل کتون‌ها، آلدئیدها و فنول‌ها می‌باشد. بطوریکه این ترکیبات دارای هسته آروماتیک و گروه هیدروکسیل فنولی قادر به ایجاد پیوند هیدروژنی با گروه‌های سولفیدریل در جایگاه فعال آنزیم‌های قارچی و در نتیجه غیرفعال کردن آنها می‌باشند. این محققین، همچنین گزارش نمودند که وزن مولکولی پایین و ویژگی چربی‌دوستی اسانس آن را قادر می‌سازد که به راحتی جذب

۶- منابع

- [1] Yadav, M., et al., *Biological and Medicinal Properties of Grapes and Their Bioactive Constituents: An Update*. Journal of Medicinal Food, 2009. **12**(3): p. 473-484.
- [2] Zhou, D.-D., et al. *Bioactive Compounds, Health Benefits and Food Applications of Grape Foods*, 2022. **11**, 2755 DOI: 10.3390/foods11182755.
- [3] Casas, R., et al. *Nutrition and Cardiovascular Health*. International Journal of Molecular Sciences, 2018. **19**, 3988 DOI: 10.3390/ijms19123988.
- [4] Spadaro, D. and S. Droby, *Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists*. Trends in Food Science & Technology, 2016. **47**: p. 39-49.
- [5] Rotolo, C., et al., *Use of biocontrol agents and botanicals in integrated management of Botrytis cinerea in table grape vineyards*. Pest management science, 2018. **74**(3): p. 715-725.
- [6] Calhelha, R.C., et al., *Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process*. Food microbiology, 2006. **23**(4): p. 393-398.
- [7] Liu, Q ,et al. *Antibacterial and Antifungal Activities of Spices*. International Journal of Molecular Sciences, 2017. **18**, DOI: 10.3390/ijms18061283.
- [8] Tanapichatsakul, C., S. Khruengsai, and P. Pripdeevech, *In vitro and in vivo antifungal activity of Cuminum cyminum essential oil against Aspergillus aculeatus causing bunch rot of postharvest grapes*. Plos one, 2020. **15**(11): p. e0242862.
- [9] Böhme, K., et al., *Antibacterial, Antiviral and Antifungal Activity of Essential Oils: Mechanisms and Applications*, in *Antimicrobial Compounds: Current Strategies and New Alternatives*, T.G. Villa and P. Veiga-Crespo, Editors. 2014, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 51-81.
- [10] Sukatta, U., et al., *Antifungal activity of clove and cinnamon oil and their synergistic against postharvest decay fungi of grape in vitro*. Agriculture and Natural Resources, 2008. **42**(5): p. 169-174.
- [11] Munda, S., et al., *Chemical Analysis and Therapeutic Uses of Ginger (Zingiber officinale Rosc.) Essential Oil: A Review*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2018. **21**(4): p. 994-1002.
- [12] Nerilo, S.B., et al., *Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production by Zingiber officinale essential oil in Aspergillus flavus*. International Journal of Food Science & Technology, 2016. **51**(2): p. 286-292.
- [13] Siripoltangman, N. and J. Chickos, *Vapor pressure and vaporization enthalpy studies of the major components of ginger, α -zingiberene, β -sesquiphellandrene and (-) ar curcumene by correlation gas chromatography*. The Journal of Chemical Thermodynamics, 2019. **138**: p. 107-115.
- [14] Al-Dhahli, A.S., et al., *Essential oil from the rhizomes of the Saudi and Chinese Zingiber officinale cultivars: Comparison of chemical composition, antibacterial and molecular docking studies*. Journal of King Saud University-Science, 2020. **32**(8): p. 3343-3350.
- [15] Ghuffar, S., et al., *Studies of Penicillium species associated with blue mold disease of grapes and management through plant essential oils as non-hazardous botanical fungicides*. 2021 : () . p. 021-036.
- [16] Tančinová, D., et al. *Antifungal Activities of Essential Oils in Vapor Phase against Botrytis cinerea and Their Potential to Control Postharvest Strawberry Gray Mold*. Foods, 2022. **11**, DOI: 10.3390/foods11192945.
- [17] Ivanović, M., K. Makoter, and M. Islamčević Razboršek *Comparative Study of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils and Crude Extracts of Four Characteristic Zingiberaceae Herbs*. Plants, 2021. **10**, DOI: 10.3390/plants10030501.
- [18] El-Ghorab, A.H ,et al., *A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (Zingiber officinale) and cumin (Cuminum*

- cuminum*). Journal of agricultural and food chemistry, 2010. **58**(14): p. 8231-8237.
- [19] Barzegar, H., B. Alizadeh Behbahani, and M.A. Mehrnia, *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, 2020. **29**(5): p. 717-728.
- [20] Bellik, Y., et al., *Antioxidant activity of the essential oil and oleoresin of Zingiber officinale Roscoe as affected by chemical environment*. International Journal of Food Properties, 2013. **16**(6): p. 1304-1313.
- [21] Alizadeh Behbahani B., et al., *Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil*. Journal of Food Measurement and Characterization, 2017. **11**: p. 847-863.
- [22] Noshad, M., M. Hojjati, and B.A. Behbahani, *Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection*. Microbial pathogenesis, 2018. **116**: p. 153-157.
- [23] Rahmati-Joneidabad, M., B. Alizadeh Behbahani, and M. Noshad, *Antifungal effect of Satureja khuzestanica essential oil on Aspergillus niger, Botrytis cinerea, and Rhizopus stolonifer causing strawberry's rot and mold*. Journal of food science and technology (Iran), 2021. **18**(115): p. 171-180.
- [24] Ali, A.M.A., M.E.M. El-Nour, and S.M. Yagi, *Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of ginger (Zingiber officinale Rosc.) rhizome, callus and callus treated with some elicitors*. Journal of genetic engineering and biotechnology, 2018. **16** (2): p. 677-682.
- [25] Falah, F., et al., *In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2021. **35**: p. 102102.
- [26] Alizadeh Behbahani, B., et al., *Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a Lepidium perfoliatum seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil*. Food science & nutrition, 2021. **9**(5): p. 2458-2467.
- [27] Heydari, S., et al., *The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study*. Food Science & Nutrition, 2020. **8**(12): p. 6497-6512.
- [28] Nooshkam M., M. Varidi, and M. Bashash, *The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems*. Food Chemistry, 2019. **275**: p. 644-660.
- [29] Zanganeh, H., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradise essential oil and its application in Lallelantia iberica seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and sensory properties of lamb during refrigerated storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5556-5571.
- [30] Behbahani, B.A., et al., *Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro"*. International Journal of Agronomy and Plant Production, 2013. **4**(7): p. 1652-1658.
- [31] Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 4(4), 56-62.
- [32] Behbahani, B. A., & Fooladi, A. A. I. (2018). Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhlah extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis*, 114, 204-208.
- [33] El-Baroty, G.S., et al., *Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils*. African journal of biochemistry research, 2010. **4**(6): p. 167-174.
- [34] Abdullahi, A., et al., *Phytochemical profiling and antimicrobial activity of ginger (Zingiber officinale) essential oils against important phytopathogens*. Arabian Journal of Chemistry, 2020. **13**(11): p. 8012-8025.
- [35] Mesomo, M.C., et al., *Supercritical CO2 extracts and essential oil of ginger (Zingiber officinale R.): Chemical composition and antibacterial activity*. The Journal of Supercritical Fluids, 2013. **80**: p. 44-49.

- [36] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4 C). *Food Science & Nutrition*, 9(10), 5600-5615.
- [37] Noshad, M., Behbahani, B. A., & Nikfarjam, Z. (2022). Chemical composition, antibacterial activity and antioxidant activity of *Citrus bergamia* essential oil: Molecular docking simulations. *Food bioscience*, 50, 102123.
- [38] Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., Noorbakhsh, H., Riaz, F., Jajarmi, A., & Yazdi, F. T. (2016). Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of *Myrtus communis* on pathogenic strains causing infection. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 18(2).
- [39] Jalil Sarghaleh, S., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A., & Noshad, M. (2023). Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of *Prangos ferulacea* plant extract and its effect on *Listeria monocytogenes* virulence gene expression. *Frontiers in microbiology*, 14, 1202228.
- [40] Yazdi, F. T., Behbahani, B. A., Vasiee, A., Mortazavi, S. A., & Yazdi, F. T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of *Dorema aucheri* (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Archives of Advances in Biosciences*, 6(1).
- [41] Yazdi, F. T., Behbahani, B. A., & Mortazavi, A. (2014). Investigating the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus officinalis* L. extracts on pathogen bacterias "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 5(2).
- [42] Rahmati-Joneidabad, M., & Behbahani, B. A. (2021). Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of *Thymus daenensis* essential oil against spoilage fungi causing apple rot.
- [43] Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2023). Determination of antioxidant activity, and antifungal effect of *Ferula persica* L hydroalcoholic extract on some fungal strains causing strawberry and grape fruits rot "in vitro". *Journal of Research in Plants Metabolites*, 5-15.
- [44] Rahmati-Joneidabad, M. (2023). Identification of chemical compounds of *Ocimum basilicum* essential oil and its effect on inhibiting the growth of fungi causing postharvest rots in apple. *Journal of Research in Plants Metabolites*, 1(3), 5.
- [45] Rahmati-Joneidabad, M. (2022). Evaluation of chemical and antimicrobial properties of hydroalcoholic extract of artichoke (*Cynara scolymus*) on fungi causing rot in strawberry fruit. *Journal of food science and technology (Iran)*, 19(125), 369-379.



Scientific Research

Evaluation of the chemical characteristics and control of the growth of spoilage fungi causing rot in grape fruit using ginger essential oil (*Zingiber officinale*)

Mostafa Rahmati -Joneidabad*¹, Mohammad Reza Zare-Bavani¹, Fatemeh Borna²

1 - Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

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

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/4/10

Accepted: 2024/5/18

Keywords:

Ginger essential oil,

Grapes,

Fungal pathogens,

Antimicrobial effect,

Shelf life.

DOI: 10.22034/FSCT.21.154.151.

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

The growth of fungal pathogens on the grape fruit causes a decrease in its quality and shelf life. In this study, the antifungal activity of ginger (*Zingiber officinale*) essential oil was investigated against fungal pathogens that cause spoilage in grape fruit. Ginger essential oil was extracted using hydrodistillation method and the content of total phenol, total flavonoid, antioxidant activity based on the inhibition of DPPH and ABTS free radicals and its antifungal activity against *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* and *Botrytis cinerea* strains based on disc diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration were evaluated. The results showed that ginger essential oil has 89.80 mg GA/g total phenol and 38.60 mg QE/g total flavonoid. Its antioxidant activity against DPPH and ABTS free radicals was 73.45 and 66.53 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The results of antifungal activity showed that *A. niger* and *B. cinerea* were the most sensitive and resistant fungal strains to essential oil, respectively, and the diameter of the inhibition zone in the disc diffusion and well diffusion agar methods, the minimum inhibitory concentration, and the minimum fungicidal concentration for the *A. niger* strain was equal to 13.90 mm, 14.50 mm, 8 mg/mL and 64 mg/mL, respectively. In general, ginger essential oil can be used as an antioxidant and antimicrobial agent to increase the shelf life of agricultural products.