



ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی و اثر ضد قارچی اسانس مورخوش (*Zhumeria majdae*) بر کپک‌های عامل پوسیدگی و فساد میوه پرتقال طی انبارمانی

مصطفی رحمتی جنیدآباد^{۱*}، محمدرضا زارع بوانی^۱، خلیل دلفان حسن زاده^۲

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

۲- مربی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ های مقاله :</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۵</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۰</p>	<p>در این پژوهش، ویژگی‌های شیمیایی و اثر ضد قارچی اسانس مورخوش (<i>Zhumeria majdae</i>) بر کپک‌های عامل پوسیدگی و فساد میوه پرتقال طی انبارمانی بررسی گردید. روش تقطیر با آب برای استخراج اسانس مورخوش مورد استفاده قرار گرفت. مقدار فنول کل (مطابق روش فولین سیوکالتو)، میزان فلاونوئید کل (بر اساس روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم) و اثر آنتی‌اکسیدانی (بر پایه روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS) و فعالیت ضد قارچی (بر پایه روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی) اسانس در برابر پنی‌سیلیوم/ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم بررسی گردید. محتوای فنول کل و فلاونوئید کل اسانس به ترتیب برابر با ۵۱/۳۸ GAE/g و ۲۲/۱۸ mg QE/g به دست آمد. اسانس مورخوش قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS بود (به ترتیب ۶۱/۵۰ و ۶۷/۸۵ درصد). نتایج اثر ضد قارچی اسانس مورخوش نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم/ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم در روش دیسک دیفیوژن آگار به ترتیب برابر با ۱۱/۱۰ و ۱۳/۷۰ میلی‌متر و در روش چاهک آگار برابر با ۱۲/۲۰ و ۱۴/۹۰ میلی‌متر می‌باشد. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای این سویه‌ها معادل ۴ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برابر با ۶۴ و ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. مطابق نتایج، اسانس مورخوش را می‌توان بصورت ماده ضد میکروب طبیعی به‌منظور جلوگیری از رشد سویه‌های قارچی عامل پوسیدگی و فساد میوه پرتقال طی انبارمانی استفاده نمود.</p>
<p>کلمات کلیدی:</p> <p>پرتقال، پوسیدگی پس از برداشت، اسانس مورخوش، اثر ضدقارچی، ترکیبات فنولی.</p>	
<p>DOI:10.22034/FSCT.22.158.144.</p> <p>* مسئول مکاتبات: rahmati@asnruk.ac.ir</p>	

۱- مقدمه

مدت طولانی به‌عنوان ابزار کنترل جایگزین پس از برداشت مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

مورخوش (*Zhumeria majdae*) درختچه‌ای معطر چند ساله از خانواده نعنائیان بومی نواحی جنوبی ایران است که در دامنه‌های صخره‌ای نسبتاً لخت می‌روید. اسانس آن بوی مطبوع قوی دارد و از این گیاه به‌عنوان داروی معده درد، نفخ، اسهال، سوء هاضمه، سرماخوردگی، سردرد، التیام زخم و ضد عفونی کننده و درمان قاعدگی استفاده می‌شده است. از نظر فیتوشیمیایی، وجود برخی ترکیبات مانند فلاونوئیدها، دی‌ترپنوئیدها و تری‌ترپنوئیدها در مورخوش شناسایی شده است. علاوه بر این، فعالیت سیتوتوکسیک، ضد التهابی، ضد درد، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن در مطالعات مختلف گزارش شده است [۱۸، ۱۹]. مطالعات پیشین در مورد اسانس مورخوش، سطوح بالای لینالول (۳۵/۶ - ۵۳/۳ درصد) و کامفور (۲۳/۸ - ۴۳ درصد) را نشان داده است [۲۰، ۲۱]. بنابراین، هدف از این مطالعه، استخراج اسانس مورخوش، تعیین محتوای فنول و فلاونوئید کل، بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد قارچی آن در برابر سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم جهت بررسی قابلیت اسانس بعنوان نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- استخراج اسانس

خشک کردن برگ‌ها توسط هوای محیط و در سایه انجام شد و سپس نمونه‌های خشک شده به پودر تبدیل شدند. از برگ‌های پودر شده برای استخراج اسانس استفاده شد. برای هر نوبت تقطیر با آب ۱۰۰ گرم نمونه استفاده گردید. عمل اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت انجام شد و سپس اسانس توسط Na_2SO_4 انهیدروس خشک گردید. اسانس حاصل در ظروف تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۲].

۲-۲- محتوای فنول کل

محتوای فنول کل با استفاده از روش وانگ و همکاران (۲۰۱۷) تعیین شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۵ میلی‌لیتر

مرکبات یکی از رایج‌ترین محصولات میوه‌ای است که در مناطق نیمه گرمسیری و گرمسیری در سراسر جهان کشت می‌شود. برزیل سال‌هاست که بازار جهانی مرکبات را رهبری کرده است و به سمت فرآوری گرایش دارد و به دنبال آن ایالات متحده و چین قرار دارند. زیان‌های اقتصادی عظیم در باغداری در سرتاسر جهان عموماً بازتابی از بروز چندین بیماری در مراحل پس از برداشت است. بیماری‌هایی مانند پوسیدگی ساقه، آنتراکنوز، لکه سیاه و ملانوز ممکن است تحت شرایط خاصی مهم باشند اما کپک به‌عنوان مهم‌ترین بیماری پس از برداشت در تولید مرکبات در نظر گرفته می‌شود [۱]. بطوریکه گزارش شده است که کپک تا ۱۵ درصد از همه بیماری‌های پس از برداشت را شامل می‌شود [۲].

پاتوزن قارچی اصلی که باعث ایجاد کپک در مرکبات می‌گردد، پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم است که کپک سبز رنگ نامیده می‌شود [۱]. الشیخ و یحیی در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که ۳۹/۵ درصد کپک‌زدگی در مرکبات مربوط به پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم، ۲۵/۵ درصد مربوط به پنی‌سیلیوم سیتیرینوم و ۰/۹۱ درصد مربوط به فوزاریوم سولانی می‌باشد [۳].

کنترل پس از برداشت این پاتوزن‌ها توسط قارچ‌کش‌های شیمیایی مصنوعی بصورت کاملاً کارآمد انجام می‌شود. باین‌حال، کاهش تعداد مواد فعال مجاز، افزایش مقاومت برخی از پاتوزن‌های قارچی پس از برداشت در برابر قارچ‌کش‌های مجاز و افزایش تقاضای مصرف‌کننده برای میوه‌ها و سبزیجات با کیفیت بالا و ایمن، تلاش‌ها را برای توسعه روش‌های کنترل جایگزین افزایش داده است. عصاره‌ها و اسانس‌های به دست آمده از بسیاری از گیاهان اخیراً به دلیل فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی خود محبوبیت و علاقه علمی به دست آورده‌اند. نتایج زیادی در مورد خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی حاوی انواع مختلف ترکیبات فنولی گزارش شده است [۱۷-۴]. ترکیبات فنولی منبعی غنی از بیوسیدها و نگهدارنده‌ها هستند که برای

در این فرمول، AC جذب نمونه کنترل و AS جذب نمونه می‌باشند.

۲-۴-۲- مهار رادیکال ABTS

از روش امیدپناه و همکاران (۲۰۱۵) با تغییرات مورد نیاز جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بر پایه مهار رادیکال آزاد ABTS استفاده شد. ابتدا غلظت ۷ میلی‌مولار ABTS (2,20-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-) (sulphonic acid) در آب تهیه و سپس کاتیون رادیکال ABTS با واکنش محلول استوک ABTS با محلول ۲/۴۵ میلی‌مولار پر سولفات پتاسیم و اجازه دادن به مخلوط در تاریکی در دمای اتاق به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت قبل از استفاده تولید گردید. محلول رادیکال کاتیون ABTS با اتانول تا جذب ۰/۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر رقیق شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ۵۰۰ میکرولیتر اتانول، ۱۵ میکرولیتر محلول رادیکال کاتیون ABTS و ۲۰ میکرولیتر اسانس به لوله آزمایش اضافه و جذب محلول در طول موج ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در نهایت از معادله زیر برای بررسی فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS استفاده شد:

$$\% \text{inhibition} = [(AC-AS)/AC] * 100$$

در این معادله، AC و AS به ترتیب جذب نمونه کنترل و جذب نمونه می‌باشند [۲۵].

۲-۵-۲- فعالیت ضد میکروبی

اثر ضد قارچی اسانس مورخوش در برابر در برابر سویه‌های پنی‌سیلیوم ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم مطابق روش رحمتی جنیدآباد و همکاران (۱۴۰۱) بررسی گردید. برای این منظور از آزمون‌های ضد میکروبی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد.

۲-۵-۱- دیسک دیفیوژن آگار

در این آزمون، ابتدا اسانس مورخوش با کمک فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرونی استریل گردید. در ادامه، دیسکهای بلانک در اسانس مورخوش به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور شدند. سپس دیسکهای بلانک روی سطح محیط کشت

اسانس، ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو و ۱ میلی‌لیتر محلول Na_2CO_3 (۷/۵ درصد) بود. پس از ۲ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای محیط، مخلوط با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. مقادیر جذب مربوطه در ۷۶۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری گردید. محتوای فنول کل اسانس با توجه به معادله به دست آمده از نمودار استاندارد اسید گالیک محاسبه و نتایج بصورت میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم اسانس (mg GAE/g) گزارش شد [۲۳].

۲-۳- محتوای فلاونوئید کل

برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل از روش کلرید آلومینیوم استفاده شد [۲۴]. به طور خلاصه، مخلوط واکنش حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه و ۳۰۰ میکرولیتر محلول NaNO_2 (۱:۲۰ وزنی/حجمی) به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از آن، ۳۰۰ میکرولیتر AlCl_3 (۱:۱۰ وزنی/حجمی)، ۲ میلی‌لیتر محلول ۱ مولار هیدروکسید سدیم و ۱/۹ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط واکنش اضافه و همزده گردید. جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۱۰ نانومتر تعیین شد. از کوئرستین برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج محتوای فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم اسانس (mg QE/g) بیان گردید.

۲-۴-۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲-۴-۱- مهار رادیکال DPPH

فعالیت مهار رادیکال DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) اسانس مطابق روش سعیدی و همکاران (۲۰۱۹) با تغییرات مورد نیاز ارزیابی گردید [۱۹]. برای این منظور، ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول اسانس به ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب محلول در طول موج ۵۱۸ نانومتر ثبت گردید. فعالیت مهار رادیکال اسانس از معادله زیر محاسبه شد:

$$\% \text{inhibition} = [(AC-AS)/AC] * 100$$

از اسانس که سبب جلوگیری از رشد سویه‌های قارچی شده بود، بعنوان حداقل غلظت کشندگی آن در نظر گرفته شد.

۲-۶- آنالیز آماری

تمامی داده‌های جمع آوری شده با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میانگین تفاوت بین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲) تجزیه و تحلیل و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار MS Excel 2019 ترسیم شدند. تمام آزمون‌ها سه مرتبه تکرار شدند.

۳- نتایج و بحث

ترکیبات فنولی متابولیت‌های ثانویه هستند که در بافت‌های گیاهی مانند گل‌ها، دانه‌ها، ریشه‌ها و قسمت‌های خوراکی یافت می‌شوند. این ترکیبات به طور گسترده به دلیل فعالیت‌های مفیدشان، از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد توموری و ضد میکروبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. بیش از ۸۰۰۰ ترکیب فنولی با ساختارهای متنوع شناسایی شده است. ترکیبات فنولی در ساختار شیمیایی خود دارای حداقل یک حلقه آروماتیک با یک یا چند گروه هیدروکسیل می‌باشند. با توجه به تعداد و آرایش اتم‌های کربن، ترکیبات فنولی به دو دسته فلاونوئیدها و غیرفلاونوئیدها (یعنی اسیدهای فنولیک، لیگنان‌ها، استیلین‌ها و سایر ترکیبات با وزن مولکولی پایین‌تر) طبقه‌بندی می‌شوند [۲۶]. نتایج میزان فنول کل و فلاونوئید کل اسانس مورخوش در شکل ۱ نشان داده شده است. اسانس مورخوش حاوی 0.61 ± 0.38 mg GAE/g فنول کل و 0.27 mg QE/g فنول کل می‌باشد [۲۷]. همچنین، محتوای فنول و فلاونوئید کل عصاره متانولی مورخوش به ترتیب $0.81 \mu\text{g GAE/mg}$ و $0.48 \mu\text{g QE/mg}$ و این مقادیر در عصاره آبی به ترتیب $0.27 \mu\text{g GAE/mg}$ و $0.13 \mu\text{g QE/mg}$ گزارش شده است [۲۸]. تفاوت در میزان ترکیبات فنولی اندازه‌گیری شده در این مطالعه با یافته‌های سایر پژوهشگران می‌تواند ناشی

سابورود دکستروز آگار حاوی سویه‌های قارچی ثابت گردید. محیط کشت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد و در نهایت قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری گردید.

۲-۵-۲- چاهک آگار

در این آزمون، ابتدا ۵ چاهک به کمک پیپت پاستور استریل روی سطح محیط کشت سابورود دکستروز آگار ایجاد شد. در ادامه، سوسپانسیون میکروبی (۱۰۰ میکرولیتر) روی سطح محیط کشت پخش شد. بعد از اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر اسانس در هر چاهک، محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. در نهایت، قطر هاله عدم رشد در اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری و بعنوان فعالیت ضد قارچی اسانس گزارش شد.

۲-۵-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی

روش رقیق‌سازی در محیط کشت براث برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام این آزمون، ابتدا غلظت ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از اسانس مورخوش تهیه و استریل گردید. سپس رقت‌های متوالی از محلول استوک اسانس تهیه شد (۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر). در ادامه، غلظت‌های اسانس به لوله‌های آزمایش جداگانه منتقل شدند و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به هر غلظت اضافه گردید. گرمخانه گذاری نمونه‌ها در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد و کدورت ایجاد شده در لوله‌های آزمایش بصورت بصری بررسی شد. در این راستا، اولین غلظتی از اسانس که سبب جلوگیری از رشد میکروبی شده بود (عدم وجود کدورت در محیط) بعنوان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس مورخوش گزارش شد.

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی، از محتویات لوله‌های بدون کدورت روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار کشت سطحی داده شد. بعد از گرمخانه گذاری محیط در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، کمترین رقتی

جغرافیایی، روش‌های خشک‌کردن و روش‌های استخراج مورد استفاده برای جداسازی اسانس‌ها قرار دارد [۱۶، ۲۹].

از این حقیقت باشد که ترکیب و کیفیت اسانس‌های حاصل از منابع گیاهی به شدت تحت تأثیر سن و تنوع گیاه، شرایط

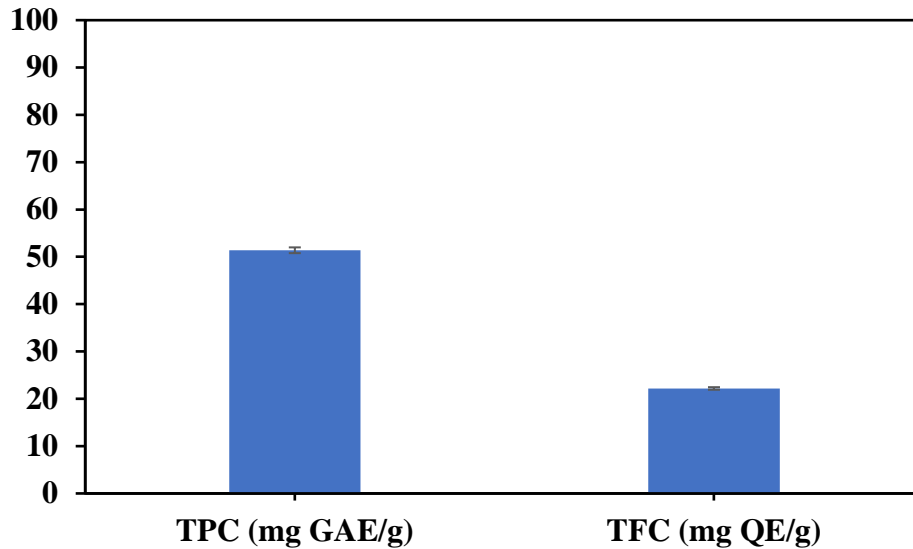


Figure 1. The total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *Zhumeria majdae* essential oil.

B و ۱۲-دئوکسی-سالویپیسون کینون‌های دی‌ترین هستند که از ریشه‌های مورخوش جداسازی شده‌اند [۲۰]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی را می‌توان در عصاره‌های اندام هوایی نیز یافت که به محتوای فنولیک و فلاونوئید نسبت داده می‌شود. در یک مطالعه آزمایشگاهی، اسانس از اندام هوایی گیاه مورخوش در پنج منطقه ایران (سیرمند، قطب آباد، سرچهان، تنگزاق و گنو) استخراج شد. خواص آنتی‌اکسیدانی در مرحله گلدهی با استفاده از آزمون مهار رادیکال DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس بر حسب IC_{50} در محدوده ۸/۰۱ تا ۱۸/۴۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متغیر بود [۱۹]. مشابه روش مورد استفاده در مطالعه فوق، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه مورخوش در برابر رادیکال آزاد DPPH آنالیز شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس، عصاره پترولئوم اتر، کلروفورم، متانول و آبی گیاه مورخوش بر حسب IC_{50} به ترتیب برابر با ۲۰/۵، ۴۰/۱، ۴۵/۸، ۲۶/۱ و ۵۳/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد [۲۸]. ترکیبات فنولی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های گیاهی ایفا می‌کنند.

رادیکال‌های آزاد به دلیل ماهیت اکسیداتیو اثرات مضر بر بدن انسان دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که از این اثرات اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند و در درمان برخی از بیماری‌های مزمن مفید هستند. اگرچه می‌توان از اکسیداسیون لیپید در محصولات غذایی با آنتی‌اکسیدان‌ها جلوگیری کرد، آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به دلیل سمی بودن گزینه‌های مناسبی نمی‌باشند. محققان در تلاش‌اند تا منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی را برای نگهداری بهتر مواد غذایی و کاهش استرس اکسیداتیو در بافت‌های زنده را جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی نمایند [۳۰-۳۲]. شکل ۲، نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مورخوش را نشان می‌دهد. اسانس مورخوش بطور معنی‌داری سبب مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS گردید، بطوریکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در برابر رادیکال‌های DPPH و ABTS به ترتیب برابر با ۶۱/۵۰ و ۶۷/۸۵ درصد بود. گیاه مورخوش به دلیل وجود برخی دی‌ترین‌ها از جمله لابدن^۱ که در ریشه آن وجود دارد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. ۱۲، ۱۶-دی‌داکسی ایجپیتینون

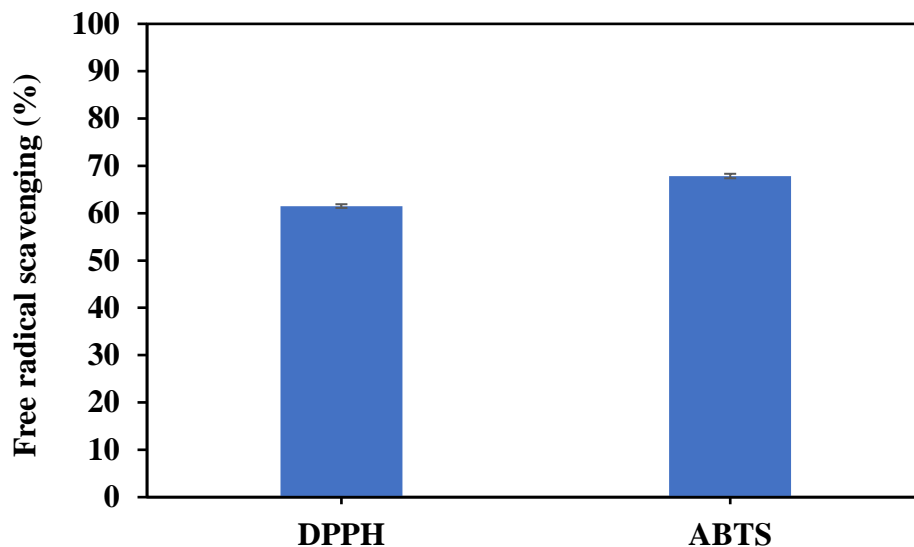


Figure 2. The antioxidant activity of *Zhumeria majdae* essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

میانگین قطر هاله عدم رشد برای پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم بطور معنی‌داری بزرگ‌تر از پنی‌سیلیوم ایتالیکوم بود (به ترتیب ۱۳/۷۰ و ۱۱/۱۰ میلی‌متر) ($p < 0.05$).

نتایج اثر ضد قارچی اسانس مورخوش در برابر سویه‌های قارچی بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ نشان داده شده است. فعالیت ضد قارچی در برابر سویه‌های پنی‌سیلیوم ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم معنی‌دار بود و

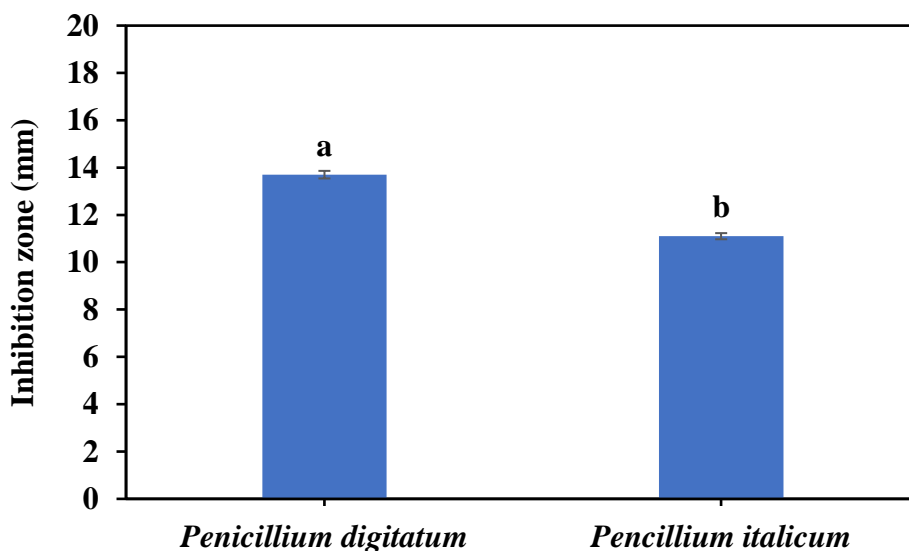


Figure 3. The antibacterial activity of *Zhumeria majdae* essential oil based on disc diffusion agar method.

میانگین قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار بزرگ‌تر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود. در واقع، گونه‌های قارچی در روش انتشار چاهک آگار در تماس مستقیم با اسانس هستند، اما سرعت انتشار عامل ضد میکروبی از سطوح

نتایج مشابهی در روش چاهک آگار مشاهده شد (شکل ۴) و سویه پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم با قطر هاله عدم رشد ۱۴/۹۰ میلی‌متر در مقایسه با سویه پنی‌سیلیوم ایتالیکوم با قطر هاله عدم رشد ۱۲/۲۰ میلی‌متر، حساسیت بیشتری نسبت به اسانس مورخوش نشان داد ($p < 0.05$). علاوه بر این،

دیسک به محیط، اثر بازدارندگی آن را در آزمایش دیسک
دیفیوژن آگار تعیین می‌کند [۹].

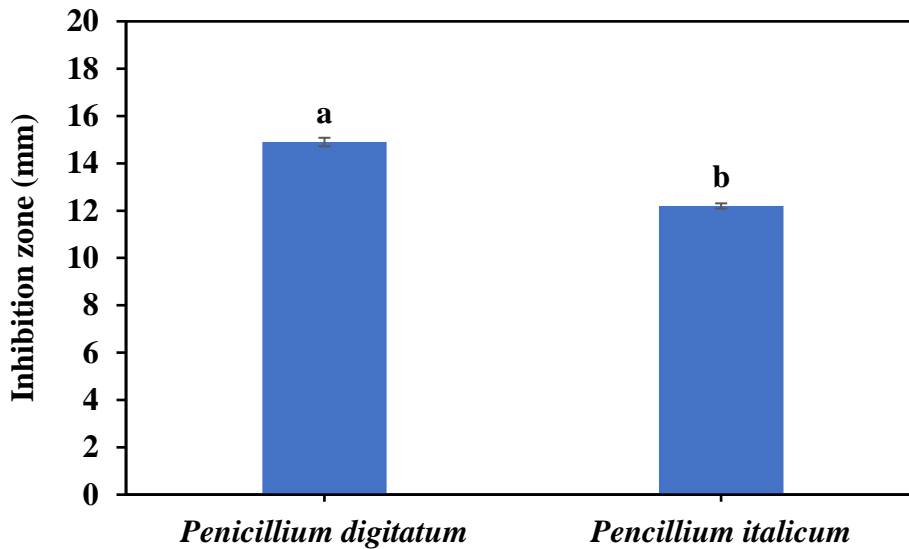


Figure 4. The antibacterial activity of *Zhusmeria majdae* essential oil based on well diffusion agar method.

بود، بطوریکه سویه پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم قادر به رشد در حضور ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس نبود و بعنوان حساس‌ترین سویه نسبت به اسانس مورخوش شناخته شد. مطابق نتایج، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای سویه‌های های پنی‌سیلیوم ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم به ترتیب برابر با ۴ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس مورخوش در برابر سویه‌های قارچی در جدول ۱ ارائه شده است. مطابق نتایج، اثر ضد قارچی اسانس مورخوش به غلظت آن و نوع سویه قارچی مرتبط بود. غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس فاقد اثر ضد قارچی بر سویه‌های قارچی بودند. اثر ضد قارچی اسانس در غلظت‌های بالاتر معنی‌دار

Table 1. Minimum inhibitory concentration of *Zhusmeria majdae* essential oil

Microorganism	Essential oil concentration (mg/mL)										Negative control	Positive control	
	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
<i>Penicillium digitatum</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Penicillium italicum</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

+ grown; - not grown

حداقل غلظت کشندگی ۶۴ و ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بعنوان مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌ها در برابر اسانس مورخوش شناسایی شدند.

نتایج حداقل غلظت کشندگی مشابه یافته‌های حداقل غلظت مهارکنندگی بود؛ با اینحال، غلظت‌های بالاتری از اسانس برای از بین بردن سویه‌های قارچی نیاز بود (جدول ۲).
پنی‌سیلیوم ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم به ترتیب با

Table 2. Minimum fungicidal concentration of *Zhusmeria majdae* essential oil

Microorganism	Essential oil concentration (mg/mL)										Negative control	Positive control	
	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
<i>Penicillium digitatum</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Penicillium italicum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+

+ grown; - not grown

ماهیت آبرگیز ترکیبات عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی آنها را قادر می‌سازد تا به راحتی جذب میسلیم قارچی شوند و از رشد آن جلوگیری نمایند [۳۷، ۵].

۴- نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اسانس به دست آمده از گیاه مورخوش سرشار از ترکیبات فعال زیستی فنولی می‌باشد. اسانس فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS نشان داد که قابلیت آن بعنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی را بازگو می‌کند. علاوه بر این، اثر ضد قارچی آن در برابر پنی‌سیلیوم ایتالیکوم و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم معنی‌دار بود و بیشترین تأثیر ضد قارچی در برابر پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم مشاهده شد. بنابراین، اسانس مورخوش را می‌توان یک ترکیب دارویی ارزشمند با کاربردهای بالقوه در زمینه‌های پزشکی، دارویی، مواد غذایی و کشاورزی در نظر گرفت. با اینحال، تحقیقات بیشتری برای بررسی مکانیسم دقیق اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس مورخوش مورد نیاز است.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۴۰۲/۳۵ 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.

در راستای نتایج این پژوهش، فعالیت ضد قارچی اسانس مورخوش در برابر قارچ‌های بیماری‌زا مانند *کاندیدا آلبیکنس*، *تریکوفیتون متاگروفیت*، *آسپرژیلوس فلاووس*، *تریکوفیتون روبروم*، *میکروسپوروم کانیس*، *میکروسپوروم گیبسوم* و *اپیدرموفیتون فلوکوزوم* بررسی شده است. نتایج نشان داد که *کاندیدا آلبیکنس* (با قطر هاله عدم رشد ۲۹/۰۵ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد ۰/۰۳۱ میکرولیتر در میلی‌لیتر) و *آسپرژیلوس فلاووس* (با قطر هاله عدم رشد ۷/۸۴ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد ۰/۲۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر) به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی در برابر اسانس بودند [۲۷]. علاوه بر این، فعالیت ضد قارچی اسانس مورخوش در برابر *کاندیدا آلبیکنس*، *آسپرژیلوس نایجر*، *آسپرژیلوس فلاووس*، *ساکارومایسس سرویزیه*، *سویه‌های فوزاریوم* و *بوتریتیس سینه‌را* در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است [۳۳-۳۶]. به طور کلی، ترپن‌ها و فلاونوئیدها اجزای اصلی در اسانس هستند که باعث خاصیت ضد قارچی آن می‌شوند. این خواص ممکن است به دلیل وجود لینالول و کامفور در اسانس نیز باشد [۲۷]. علاوه بر این، نشان داده شده است که فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی در عصاره و اسانس‌های گیاهی به دلیل وجود هسته آروماتیک و گروه OH فنولی در ساختار آنها می‌باشد که از طریق ایجاد پیوند هیدروژنی با گروه‌های سولفیدریل در مکانهای فعال آنزیم‌های هدف سبب غیرفعال سازی آنزیم‌های قارچی می‌شوند. همچنین،

۵-منابع

- [1] Coutinho, T. C., Ferreira, M. C., Rosa, L. H., de Oliveira, A. M., & de Oliveira Junior, E. N. (2020). *Penicillium citrinum* and *Penicillium mallochii*: New phytopathogens of orange fruit and their control using chitosan. *Carbohydrate polymers*, 234, 115918.
- [2] Fischer, I., Lourenço, S. A., & Amorim, L. (2008). Postharvest diseases in citrus and characterization of the fungal population in São Paulo's wholesale market. *Tropical Plant Pathology*, 33, 219-226.
- [3] Al-Sheikh, H., & Yehia, R. (2016). In vitro antifungal efficacy of *Aspergillus niger* ATCC 9642 chitosan-AgNPs composite against post-harvest disease of citrus fruits. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 52(4), 413-420.
- [4] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus "in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(7), 1652-1658.
- [5] Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2021). 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)*, 18(115), 171-180.
- [6] 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.
- [7] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A., & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(2), 115-120.
- [8] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017). Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 847-863.
- [9] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M., & Tabatabaee Yazdi, F. (2020). Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2020.
- [10] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaee Yazdi, F. (2021). 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*, 9(5), 2458-2467.
- [11] 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.
- [12] 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 [Original Research]. *Frontiers in Microbiology*, 14.
- [13] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). 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*, 8(12), 6497-6512.
- [14] Saffari Samani, E., Jooyandeh, H., & Alizadeh Behbahani, B. (2023). The impact of Zedo gum based edible coating containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh buffalo meat. *Journal of Food Measurement and Characterization*.
- [15] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Jooyandeh, H. (2020). Improving oxidative and microbial stability of beef using Shahri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101563.
- [16] Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102102.
- [17] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2020). 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*, 29(5), 717-728.
- [18] Moein, S., & Moein, M. R. (2010). Relationship between antioxidant properties and phenolics in *Zhumeria majdae*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(7), 517-521.
- [19] Saeidi, M., Asili, J., Emami, S. A., Moshtaghi, N., & Malekzadeh-Shafaroudi, S. (2019). Comparative volatile composition, antioxidant and cytotoxic evaluation of the essential oil of *Zhumeria majdae* from south of Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(1), 80-85.
- [20] Rustaiyan, A., Samadzadeh, M., Habibi, Z., & Jakupovic, J. (1995). Two diterpenes with rearranged abietane skeletons from *Zhumeria majdae*. *Phytochemistry*, 39(1), 163-165.
- [21] Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J. J., Mahboubi, M., & Kosari, A. A. (2014). Chemical composition of essential oil from *Zhumeria majdae* Rech. F. & Wendelbo and its bioactivities against *Tribolium castaneum* Herbst (Tenebrionidae) larvae. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(5), 824-831.
- [22] Sanei-Dehkordi, A., Soleimani-Ahmadi, M., Akbarzadeh, K., Salim Abadi, Y., Paksa, A., Gorouhi, M. A., & Mohammadi-Azni, S. (2016). Chemical composition and mosquito larvicidal properties of essential oil from leaves of an Iranian indigenous plant *Zhumeria majdae*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(6), 1454-1461.
- [23] Wang, H.-F., Yih, K.-H., Yang, C.-H., & Huang, K.-F. (2017). Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), 881-889.
- [24] Saki, A., Mozafari, H., Asl, K. K., Sani, B., & Mirza, M. (2019). Plant yield, antioxidant capacity and essential oil quality of *Satureja*

- mutica supplied with cattle manure and wheat straw in different plant densities. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50(21), 2683-2693.
- [25] Omidpanah, N., Valifard, M., Esmaeili, M., Yousefi, R., & Moghadam, A. (2015). Antioxidant and antibacterial properties of the essential oils of two Iranian Medicinal Plants: *Zhumeria majdae* and *Salvia mirzayanii*. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*, 1(1), 51-60.
- [26] Rocchetti, G., Gregorio, R. P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Oliveira, P. G., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J., Mosele, J. I., Motilva, M. J., & Tomas, M. (2022). Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 811-842.
- [27] Imani, Z., Asgarpanah, J., Hashemi, F., & Hezaveh, J. H. (2015). Composition and antifungal activity of *Zhumeria majdae* essential oil. *Current Medical Mycology*, 1(4), 13-19.
- [28] Sharififar, F., Mozaffarian, V., Moshafi, M., Dehghan-Nudeh, G., Parandeh-Rezvani, J., & Mahdavi, Z. (2008). Chemical composition and biological activities of *Zhumeria majdae* Resh. F. & wendelbo. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 3(1), 8-18.
- [29] Nooshkam, M., Varidi, M., & Alkobeisi, F. (2022). Bioactive food foams stabilized by licorice extract/whey protein isolate/sodium alginate ternary complexes. *Food Hydrocolloids*, 126, 107488.
- [30] Nooshkam, M., Falah, F., Zareie, Z., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mortazavi, S. A. (2019). Antioxidant potential and antimicrobial activity of chitosan–inulin conjugates obtained through the Maillard reaction. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1861-1869.
- [31] Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275, 644-660.
- [32] Garavand, F., Eghbal, N., Nooshkam, M., Miraballes, I., & Jafari, S. M. (2021). Salt, spices, and seasonings formulated with nano/microencapsulated ingredients. In *Application of Nano/Microencapsulated Ingredients in Food Products* (pp. 435-467). Elsevier.
- [33] Davari, M., & Ezazi, R. (2017). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Zhumeria majdae*, *Heracleum persicum* and *Eucalyptus* sp. against some important phytopathogenic fungi. *Journal de mycologie medicale*, 27(4), 463-468.
- [34] Arman, M., Yousefzadi, M., & Ebrahimi, S. N. (2009). Antimicrobial activity and composition of the essential oil from *Zhumeria majdae* Rech. f. & Wendelbo. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(5), 630-634.
- [35] Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2009). In vitro antimicrobial activity of some essential oils from Labiatae family. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(4), 494-508.
- [36] Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2009). Antimicrobial activity of *Zhumeria majdae* Rech. F. & Wendelbo essential oil against different microorganisms from Iran. *Pharmacognosy magazine*, 5(19), 105-108.
- [37] Alizadeh Behbahani, B., & Rahmati-Joneidabad, M. (2021). *Boswellia sacra* essential oil: Antioxidant activity and antifungal effect on some spoilage fungi causing strawberry rot. *Journal of food science and technology (Iran)*, 18(114), 25-34.



Scientific Research

Evaluation of the chemical characteristics and antifungal effect of *Zhumeria majdae* essential oil on molds causing orange fruit rot and spoilage during storage

Mostafa Rahmati -Joneidabad*¹, Mohammad Reza Zare-Bavani¹, Khalil Delfan Hasanzadeh²

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

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

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received:2024/6/4

Accepted:2024/7/31

Keywords:

Orange,

Post-harvest decay,

Zhumeria majdae essential oil,

Antifungal effect,

Phenolic compounds.

DOI: 10.22034/FSCT.22.158.144.

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

In this research, the chemical properties and antifungal effect of *Zhumeria majdae* essential oil on the molds that cause decay and spoilage of orange fruit during storage were investigated. The hydrodistillation method was used to extract *Z. majdae* essential oil. The amount of total phenol (according to Folin Ciocalteu method), the amount of total flavonoid (based on the colorimetric method of aluminum chloride), antioxidant effect (based on DPPH and ABTS free radical inhibition methods) and antifungal activity (based on disc diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration) of essential oil against *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum* were investigated. The content of total phenol and total flavonoid of the essential oil were equal to 51.38 mg GAE/g and 22.18 mg QE/g, respectively. *Z. majdae* essential oil was able to inhibit DPPH and ABTS free radicals (61.50% and 67.85%, respectively). The results of the antifungal effect of *Z. majdae* essential oil showed that the average diameter of the inhibition zone for the fungal strains of *P. italicum* and *P. digitatum* in the disc diffusion agar method was 11.10 and 13.70 mm, respectively, and in the well diffusion agar method it was 12.20 and 14.90 mm. The minimum inhibitory concentration for these strains was equal to 4 and 2 mg/ml and the minimum fungicidal concentration was equal to 64 and 16 mg/ml. According to the results, *Z. majdae* essential oil can be used as a natural antimicrobial agent in order to prevent the growth of fungal strains that cause rot and spoilage of orange fruit during storage.