



ویژگی‌های شیمیایی و بررسی فعالیت مهارکنندگی و کشندگی رشد قارچ‌های عامل فساد و کپک‌زدگی
پس از برداشت میوه سیب با استفاده از اسانس مور تلخ

مصطفی رحمتی جنیدآباد^{۱*}، بهروز علیزاده بهبهانی^۲، محمد نوشاد^۳

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

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

۳-دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

این پژوهش با هدف استخراج اسانس مور تلخ (*Salvia mirzayanii*) و تعیین ویژگی‌های شیمیایی و بررسی فعالیت مهارکنندگی و کشندگی رشد قارچ‌های عامل فساد و کپک‌زدگی پس از برداشت میوه سیب (پنی‌سیلیوم اکسیپانسوم، بوتریتیس سینه‌را و آلترناریا آلترناتا) صورت پذیرفت. میزان فنول کل با استفاده از روش فولین-سیوکالتو، میزان فلاونوئید کل با کمک روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS و فعالیت ضد قارچی اسانس بر پایه روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی تعیین گردید. اسانس حاوی $43/40 \text{ mg GAE/g}$ فنول کل و $17/19 \text{ mg QE/g}$ فلاونوئید کل بود. علاوه بر این، اسانس مور تلخ بطور قابل توجهی سبب مهار رادیکال آزاد DPPH ($62/70 \mu\text{g/ml}$) و ABTS ($78/80 \mu\text{g/ml}$) گردید. مطابق نتایج آزمون‌های ضد قارچی، بوتریتیس سینه‌را و پنی‌سیلیوم اکسیپانسوم به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی نسبت به اسانس مور تلخ بودند. بطور کلی، اسانس مور تلخ را می‌توان جهت کنترل فرایندهای اکسیداسیون و فساد قارچی محصولات غذایی استفاده نمود.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۲

کلمات کلیدی:

آلودگی پس از برداشت،

سیب؛ مور تلخ؛ اسانس،

ضد قارچ،

آنتی‌اکسیدان.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.223

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.18.9

* مسئول مکاتبات:

Rahmati@asnruk.ac.ir

۱- مقدمه

سببیک محصول تجاری مهم در سراسر جهان است. حدود پنج میلیون هکتار زمین در سراسر جهان در سال ۲۰۱۷ به این محصول اختصاص یافته است که تولید تخمینی آن ۸۳ میلیون تن است. بیشتر میوه‌ها به صورت تازه مصرف می‌شوند، اما درصد بالایی از آن به چندین صنعت اختصاص دارد که عمده‌ترین آن کنسانتره آب سیب است [۱، ۲].

سیب بسیار حساس به آلودگی قارچی است که می‌تواند در مراحل مختلف رخ دهد. این آلودگی می‌تواند در مرحله قبل از برداشت اتفاق بیفتد و درخت را در باغ تحت تأثیر قرار دهد. اما شدیدترین بیماری‌هایی که منجر به فساد میوه می‌شود، در مراحل پس از برداشت رخ می‌دهد. بیماری‌های قارچی پس از برداشت مسئول ضررهای اقتصادی قابل توجهی در تولید سیب هستند که در کشورهای در حال توسعه در محدوده ۳۰ تا ۴۰ درصد تخمین زده می‌شود که در شدیدترین موارد به ۶۰ درصد می‌رسد [۳، ۴].

چندین پاتوزن قارچی به‌عنوان عوامل بیماری‌های سیب شناسایی شده‌اند. پنی‌سیلیوم اکسپانسیوم^۱ عامل پوسیدگی آبیا کپک آبی، یکی از شایع‌ترین موارد گزارش شده است. سایر موارد رایج عبارت‌اند از بوتریتیس سینه‌را^۲ (پوسیدگی خاکستری)، مونیلینیا فروکتیجنا^۳ و دیگر گونه‌های مونیلینیا (پوسیدگی قهوه‌ای)، گونه‌های کولتوتریکوم^۴ (پوسیدگی تلخ)، گونه‌های موکور^۵ و ریزوپوس^۶. این پاتوزن‌های فرصت‌طلب می‌توانند میوه را هم در مرحله قبل و هم در مرحله پس از برداشت آلوده کنند [۲].

حساسیت میوه‌ها و سبزی‌ها به بیماری‌های پس از برداشت، ناشی از پاتوزن‌های قارچی، منجر به استفاده از قارچ‌کش‌های مصنوعی به منظور کنترل این بیماری‌ها شده است. با این حال، نیاز به قارچ‌کش‌های ایمن طبیعی به‌عنوان جایگزین‌های تجاری، اخیراً به دلیل مقاومت عوامل بیماری‌زا نسبت به قارچ‌کش‌های تجاری و نگرانی عمومی در مورد آلودگی مواد غذایی از باقی‌مانده‌های قارچ‌کش تجاری افزایش یافته است. در این راستا، اسانس‌های گیاهی، که عموماً به‌عنوان ترکیباتی

ایمن شناخته می‌شوند، نشان داده شده‌اند که دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های قارچ‌کشی علیه پاتوزن‌های پس از برداشت هستند و از این‌رو به‌عنوان جایگزین‌های طبیعی زیست تخریب‌پذیر ایمن در دهه گذشته در نظر گرفته شده‌اند [۵-۷].

گیاهمور تلخ (*Salvia mirzayanii*) از خانواده *Lamiaceae* و بومی ایران است. از زمان‌های قدیم در تغذیه و درمان دارویی کاربردهای زیادی داشته است. خواص دارویی گیاه مور تلخ شامل فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، سیتوتوکسیک، ضد دیابت، ضد عفونی‌کننده و ضد سرطان است. همچنین مردم بومی منطقه برای درمان بیماری‌های التهابی، اسپاسم، معده درد و ناراحتی‌های گوارشی از این گیاه استفاده می‌کنند [۸]. اسانس مور تلخ حاوی آلفا-تریپنیل استات، لینالیل استات، آلفا-کادینول، لینالول و آلفا-تریپنیل است و در این راستا، فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس در مطالعات مختلف گزارش شده است [۹، ۱۰].

هدف از این مطالعه، استخراج اسانس مور تلخ و تعیین ویژگی‌های شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد قارچی آن در برابر قارچ‌های پاتوزن عامل فساد پس از برداشت میوه سیب می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

گالیک اسید، کوئرستین، معرف فولین-سیوکالتو، DPPH^۷ و ABTS^۸ از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند. محیط کشت سابورود دکستروز آگار و سابورود دکستروز براث از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

۲-۲- استخراج اسانس

روش هاشمی نیا و دهقان نیا (۲۰۲۰) جهت استخراج اسانس مور تلخ استفاده گردید. برگ‌های گیاه مور تلخ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه و در سایه خشک شدند. در مرحله اسانس‌گیری، ۳۰۰ گرم برگ خشک آسیاب شده را با یک لیتر آب مخلوط کرده و با دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس استخراج گردید. سپس با

1. *Penicillium expansum*
2. *Botrytis cinerea*
3. *Monilinia fructigena*
4. *Colletotrichum*
5. *Mucor*
6. *Rhizopus*

7. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

8. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

(Ab) در طول موج ۵۱۸ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت مهار رادیکال DPPH اسانس به صورت زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{(\text{Ac}-\text{As})}{\text{Ac}} \right] \times 100$$

در آزمون ABTS، به طور خلاصه، حجم یکسانی از محلول ۷ میلی‌مولار ABTS و ۲/۴۵ میلی‌مولار $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ با هم مخلوط شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت در شرایط تاریک نگهداری شد. محلول کاتیونی رادیکال ABTS به دست آمده سپس با متانول رقیق شد تا به جذب 0.7 ± 0.07 در ۷۳۴ نانومتر برسد. پس از آن، ۰/۱ میلی‌لیتر اسانس با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رادیکال ABTS مخلوط شد و محلول به دست آمده به مدت ۶ دقیقه در دمای محیط نگهداری گردید. سپس جذب محلول در ۷۳۴ نانومتر (As) در برابر نمونه شاهد (Ac) اندازه‌گیری و فعالیت مهار رادیکال ABTS اسانس طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{(\text{Ac}-\text{As})}{\text{Ac}} \right] \times 100$$

لازم به ذکر است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بر حسب IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) گزارش گردید.

۲-۶- فعالیت ضد قارچی

۲-۶-۱- دیسک دیفیوژن آگار

اسانس مور تلخ از طریق فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵ میکرون استریلو سپس دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در اسانس غوطه‌ور شدند. دیسکروی سطح محیط کشت ساپورود دکستروز آگار قرار داده شد و در ادامه، پتری دیش حاوی دیسک و سویه میکروبی در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری و بعنوان اثر ضد میکروبی‌اسانس گزارش شد [۱۵، ۱۶].

۲-۶-۲- چاهک آگار

در این روش، ۵ چاهک با استفاده از پیست پاستور روی سطح محیط کشت ساپورود دکستروز آگار ایجاد شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی روی محیط کشت پخش گردید و در ادامه، ۲۰ میکرولیتر از اسانس داخل چاهک ریخته شد. پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری گردید [۱۶، ۱۷].

افزودن سولفات سدیم به اسانس به دست آمده، رطوبت آن حذف شد و نمونه اسانس در نهایت در شیشه تیره رنگ در یخچال نگهداری گردید [۱۱].

۲-۳- میزان فنول کل

محتوای فنول کل اسانس بر اساس روش ولیفرد و همکاران (۲۰۱۴) با تغییرات مورد نیاز تعیین شد. برای این منظور، ۲۰۰ میکرولیتر نمونه ۱۰ برابر رقیق شده اسانس به ۱ میلی‌لیتر از معرف رقیق شده فولین-سیوکالتو در لوله‌های آزمایش اضافه شد. مخلوط همزده شد و سپس به مدت ۶ دقیقه نگهداری گردید. در ادامه، ۸۰۰ میکرولیتر محلول ۷ درصد Na_2CO_3 به آن اضافه شد. پس از آنکوباسیون به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، جذب محلول در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد. محلول‌های اسید گالیک (۰-۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد. نتایج بصورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم وزن خشک اسانس (mg GAE/g) بیان شد [۱۲].

۲-۴- میزان فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید کل اسانس مطابق روش ساکی و همکاران (۲۰۱۹) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه با ۳۰۰ میکرولیتر محلول NaNO_2 ترکیب شد. مخلوط به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. در مرحله بعد، ۳۰۰ میکرولیتر محلول AlCl_3 ، ۲ میلی‌لیتر NaOH ۱ مولار و ۱/۹ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و مخلوط به مدت ۱۰ ثانیه همزده شد. در ادامه، جذب مخلوط در ۵۱۰ نانومتر خوانده شد و محتوای فلاونوئید کل به صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم از اسانس (mg QE/g) بیان گردید [۱۳].

۲-۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مور تلخ بر پایه مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS بررسی گردید [۷، ۱۴]. در آزمون DPPH، ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس با ۳/۹۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۲۵۰ میکرومولار) مخلوط شد و سپس در دمای اتاق و در مکان تاریک به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری گردید. از متانول (۰/۰۵ میلی‌لیتر) برای تهیه نمونه شاهد به همان روش استفاده شد. جذب نمونه (As) یا شاهد

۲-۶-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی^۱

حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مور تلخ با استفاده از روش رقیق‌سازی در محیط کشت براث تعیین شد. برای این منظور، ابتدا غلظتی معادل ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از اسانس استریل (توسط فیلترهای ۰/۴۵ میکرونی) در لوله‌های ۱۰ میلی‌لیتری آزمایشگاهی تهیه گردید. سپس غلظت‌های متوالی از آن تهیه و در ادامه هر یک از غلظت‌های اسانس به لوله آزمایشگاهی منتقل گردید. در مرحله بعد، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبیبه لوله‌های آزمایش اضافه و پس از گرمخانه گذاری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، کدورت ایجاد شده در لوله آزمایش بصورت بصری بررسی گردید و لوله بدون کدورت (فاقد رشد میکروبی) به‌عنوان MIC اسانس گزارش گردید [۱۶].

۲-۶-۴- حداقل غلظت کشندگی^۲

در این روش، لوله‌های بدون کدورت روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار کشت داده شدند. سپس پلیت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری گردید و کمترین رقت اسانس که باعث رشد سویه قارچی شد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد [۱۷].

۲-۷- آنالیز آماری

تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p < 0.05$) جهت تعیین تفاوت معنی‌داری بین نتایج استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

اسانس‌ها ترکیبات فرار، طبیعی و پیچیده‌ای هستند که با بوی قوی مشخص می‌شوند و توسط گیاهان معطر به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه تشکیل می‌شوند. به دلیل خاصیت ضد عفونی‌کنندگی، یعنی باکتری‌کشی، ویروس‌کشی و قارچ‌کشی، و خواص دارویی و رایحه‌آنها در نگهداری غذاها و به‌عنوان داروهای ضد میکروبی، ضد درد، آرام‌بخش، ضد التهاب، ضد اسپاسم و داروهای بی‌حس‌کننده موضعی استفاده می‌شوند [۱۸]. در این پژوهش، میزان فنول و فلاونوئید کل،

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد قارچی اسانس مور تلخ بررسی گردید. نتایج نشان داد که اسانس مور تلخ حاوی ۰/۸۶ GAE/g \pm ۴۳/۴۰ فنول کل و ۰/۳۵ \pm ۱۷/۱۹ فلاونوئید کل بود (شکل ۱).

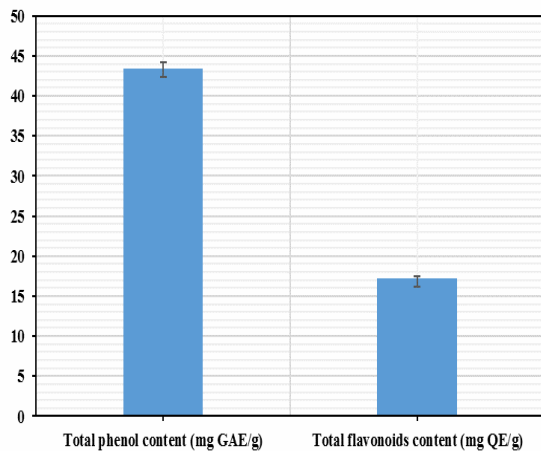


Fig 1 The content of total phenols and flavonoids of *Salvia mirzayanii* essential oil.

اسانس مور تلخ قادر به مهار رادیکال‌های آزاد بود، بطوریکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بر اساس قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS به ترتیب برابر با ۰/۵۴ $\mu\text{g/ml}$ \pm و ۰/۵۹ $\mu\text{g/ml}$ \pm بود (شکل ۲).

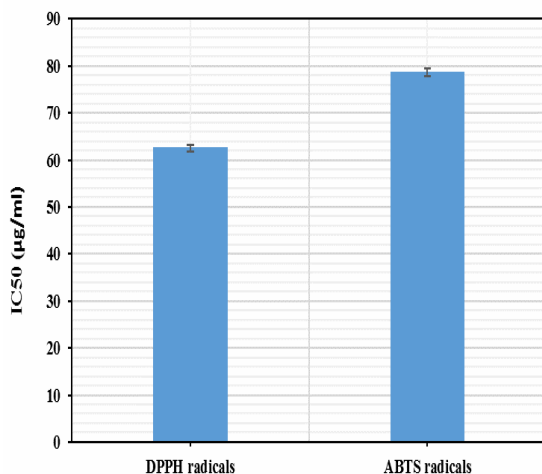


Fig 2 Antioxidant activity of *Salvia mirzayanii* essential oil.

اسانس مور تلخ از فعالیت ضد قارچی قابل‌توجهی برخوردار بود. شکل ۳، یافته‌های اثر ضد قارچی اسانس بر اساس آزمون دیسک دیفیوژن آگار را نشان می‌دهد. قطر هاله عدم رشد از ۱۰/۱۰ میلی‌متر برای پنی‌سیلیوم/اکسپانسونم تا ۱۲/۲۰ میلی‌متر برای بوتریتیس سینه‌را متغیر بود ($p < 0.05$). در حقیقت،

1. Minimum inhibitory concentration (MIC)
2. Minimum fungicidal concentration (MFC)

بالاتر از آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود که ناشی از تماس مستقیم اسانس و سویه‌های قارچی در این روش می‌باشد [۶، ۱۹، ۲۰].

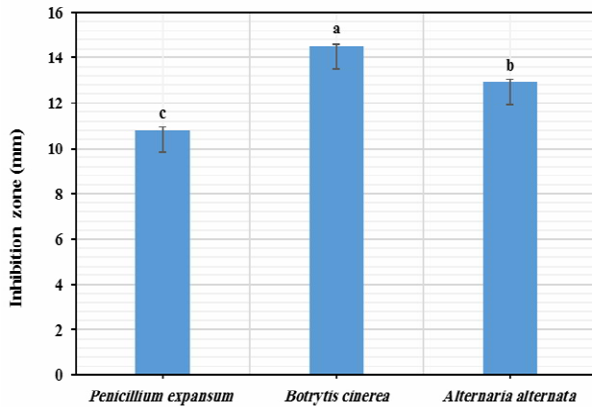


Fig 4 Antifungal activity of *Salvia mirzayanii* essential oil, according to well diffusion agar test.

یافته‌های آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس در برابر سویه‌های قارچی نشان می‌دهد که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس برای پنی‌سیلیوم اکسپانوسوم معادل ۳۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای سویه‌های بوتریتیس سینه‌را و آلترناریا آلترناتا برابر با ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۱).

سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم اکسپانوسوم و بوتریتیس سینه‌را با کمترین و بیشترین قطر هاله عدم رشد، به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌ها نسبت به اسانس بودند.

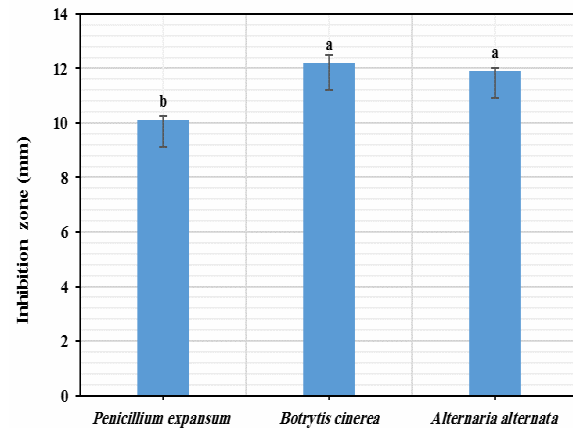


Fig 3 Antifungal activity of *Salvia mirzayanii* essential oil, according to disk diffusion agar test.

نتایج مشابهی در آزمون چاهک آگار مشاهده گردید (شکل ۴). پنی‌سیلیوم اکسپانوسوم با کمترین قطر هاله عدم رشد (۱۰/۸۰ میلی‌متر) و بوتریتیس سینه‌را با بالاترین قطر هاله عدم رشد (۱۴/۵۰ میلی‌متر) به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های قارچی در برابر اسانس مور تلخ بودند. با اینحال، لازم به ذکر است که قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار

Table 1 Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Salvia mirzayanii* essential oil against pathogenic fungal species

Microorganism	Essential oil concentration (mg/ml)								
	4	8	16	32	64	128	256	512	Control
<i>Penicillium expansum</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Botrytis cinerea</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-

(+) grown; (-) not grown

میلی‌لیتر بود. در حقیقت، پنی‌سیلیوم اکسپانوسوم و بوتریتیس سینه‌را به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های قارچی در برابر اسانس بودند که در راستای نتایج سایر آزمون‌های ضد قارچی می‌باشد.

جدول ۲، نتایج آزمون حداقل غلظت قارچ‌کشی اسانس مور تلخ را نشان می‌دهد. مطابق نتایج، حداقل غلظت قارچ‌کشی برای سویه‌های پنی‌سیلیوم اکسپانوسوم، بوتریتیس سینه‌را و آلترناریا آلترناتا به ترتیب برابر با ۵۱۲، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم در

Table 2 Minimum fungicidal concentration (MFC) of *Salvia mirzayanii* essential oil against pathogenic fungal species

Microorganism	Essential oil concentration (mg/ml)								
	4	8	16	32	64	128	256	512	Control
<i>Penicillium expansum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Botrytis cinerea</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-

(+) grown; (-) not grown

سودوموناس آنروژینوزا، شیگلایفلکسنری و سالمونلا انتریکا) به ترتیب ۰/۰۳ تا ۰/۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر و ۱۶ تا ۱۲۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود. علاوه بر این، اسانس مور تلخ به طور قابل توجهی رشد سویه‌های مخمر کاندیدا را با حداقل غلظت مهارکنندگی ۰/۰۳ تا ۱ میکرولیتر بر میلی‌لیتر مهار کرد [۲۵].

حلالیت ترکیبات اسانس در آب به طور مستقیم با توانایی آن‌ها در نفوذ به دیواره سلولیک باکتری یا قارچ مرتبط است. فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها به دلیل حلالیت آن‌ها در دو لایه فسفولیپیدی غشاء سلولی است [۲۶]. فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی از اثرات دارویی ۱۸-سینئول هستند [۲۷]. فعالیت ضد میکروبی غالب اسانس، آسیب به دیواره سلولی و غشاء سلولی است که به دنبال آن لایز سلولی و نشت محتویات سلولی مانند K^+ رخ می‌دهد. عملکرد ضد میکروبی اسانس به شدت به ترکیب شیمیایی آن‌ها بستگی دارد. اسانس‌های با ویژگی آگریز به غشاء میکروبی نفوذ می‌کنند، در تشکیل دیواره/غشاء سلولی دخالت می‌کنند و فعالیت‌های سلولی را تخریب می‌کنند [۲۸-۳۰]. برخی دیگر از مکانیسم‌های پذیرفته شده اثرات ضد میکروبی اسانس عبارت‌اند از: مهار مسیر بیوشیمیایی، مهار آنزیم‌های محافظ و افزایش نفوذ سایر مواد ضد میکروبی [۳۱]. علاوه بر این، ترکیبات مونوترپنی سبب افزایش سیالیت و نفوذپذیری، تغییر توپولوژی پروتئین‌های غشایی و اختلال در زنجیره تنفسی می‌شوند [۳۱]. به نظر می‌رسد ۱۸-سینئول، لینالول استات و آلفا-تریپنیل استات موجود در اسانس مور تلخ مسئول فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی این اسانس هستند.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اسانس مور تلخ دارای طیف‌گسترده‌ای از اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی است. بنابراین با توجه به این اثرات می‌توان از این اسانس در طراحی عوامل آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی جدید استفاده نمود. علاوه بر این، امروزه افزایش مقاومت میکروبی قابل توجه است و محصولات طبیعی می‌توانند کاندیدای مناسبی برای غلبه بر این مشکل باشند. تحقیقات بیشتری برای تعیین ترکیبات درمانی فعال اسانس مور تلخ و مکانیسم اثر آن‌ها مورد نیاز است.

نتایج محدود و متفاوتی در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد قارچی اسانس مور تلخ انجام شده است. محتوای فنول کل در اسانس مور تلخ وحشی و کشت شده توسط صادقی و عیلزاده (۲۰۱۳) اندازه‌گیری شد. بیشترین میزان فنول کل در گیاهان کشت شده ($42/33 \text{ mg GAE/g}$) در مقابل گیاهان وحشی ($35/44 \text{ mg GAE/g}$) مشاهده شد که این تفاوت معنی‌دار بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که شرایط مختلف رشد بر محتوای فنولی مور تلخ تأثیر معنی‌داری دارد [۲۱]. علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی اندام هوایی مور تلخ در شرایط وحشی و کشت شده با روش مهار رادیکال آزاد DPPH ارزیابی شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان کشت شده ($34/64 \mu\text{g/ml}$) و کمترین مقدار در شرایط وحشی ($38/44 \mu\text{g/ml}$) مشاهده شد. محتویات فنول کل همبستگی خوبی با نتایج DPPH نشان داد. در واقع با افزایش محتوای فنول کل، مقدار IC_{50} در مهار رادیکال DPPH کاهش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت [۲۱]. این نتایج نشان می‌دهد که بخش عمده‌ای از فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مور تلخ ناشی از ترکیبات فنولی است که در راستای مشاهدات سایر نویسندگان است که همبستگی مشابهی بین محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف گزارش نمودند [۱۹، ۲۲-۲۴].

قاسمی و همکاران (۲۰۲۰) با استخراج اسانس اندام‌های هوایی چهار جمعیت مور تلخ از رویشگاه‌های طبیعی مختلف استان فارس نشان دادند که اسانس حاوی آلفا-تریپنیل استات، لینالیل استات، آلفا-کادینول، لینالول و آلفا-تریپنول می‌باشد و فعالیت ضد میکروبی اسانس در شرایط آزمایشگاهی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و کاندیدا آلیکنز به روش دیسک دیفیوژن آگار نشان داد که اسانس فعالیت ضد میکروبی خوبی در برابر همه پاتوژن‌های مهم پزشکی از خود نشان می‌دهد [۹]. ترکیب شیمیایی و فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس گیاه مور تلخ توسط زمردیان و همکاران (۲۰۱۷) مورد بررسی قرار گرفت. ترکیبات اصلی شناسایی شده ۱۸-سینئول، لینالول استات و آلفا-تریپنیل استات بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس موتانس*، *استرپتوکوکوس پنومونیا*، *استرپتوکوکوس پیورنز*، *انترکوکوس فکالیس* و *انترکوکوس فاسیوم*) و گرم منفی (*اشرشیا کلی*،

oil: an experimental and modeling study," *Food Science and Biotechnology*, vol. 29, no. 5, pp. 717-728, 2020.

- [17] M. Asadollahi, O. Firuzi, F. H. Jamebozorgi, M. Alizadeh, and A. R. Jassbi, "Ethnopharmacological studies, chemical composition, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of eleven *Salvia* in Iran," *Journal of Herbal Medicine*, vol. 17, p. 100250, 2019.
- [18] E. Ghasemi, S. Sharafzadeh, B. Amiri, A. Alizadeh, and F. Bazrafshan, "Variation in essential oil constituents and antimicrobial activity of the flowering aerial parts of *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand. Ecotypes as a folkloric herbal remedy in Southwestern Iran," *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 23, no. 1, pp. 51-64, 2020.
- [10] S. Binava, A. Yavari, and M. Shokrpour, "A study on the quality and quantity of essential oil from different plant organs of *Salvia mirzayanii* Rech. F. & Esfand," *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, vol. 35, no. 6, pp. 914-924, 2020.
- [11] S.-M. Hasheminya and J. Dehghannya, "Composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* hulls' essential oil," *Food Bioscience*, vol. 34, p. 100510, 2020.
- [12] M. Valifard, S. Mohsenzadeh, B. Kholdebarin, and V. Rowshan, "Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*," *South African Journal of Botany*, vol. 9, pp. 92-97, 2014.
- [13] A. Saki, H. Mozafari, K. K. Asl, B. Sani, and M. Mirza, "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*, vol. 50, no. 21, pp. 2683-2693, 2019.
- [14] Noshad, M., Rahmati-Joneidabad, M., & Badvi, Z. 2019. Effects of natural mucilage as an edible coating on quality improvement of freshly-cut apples. *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 6, no. 2, pp. 21-27, 2019.
- [15] B. Alizade Behbahani, and Fooladi, A. A. I. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition *Makhlaseh* extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathogenesis*, vol. 114, pp. 204-208, 2018.

همچنین، پتانسیل درون بدنی این اسانس به تنهایی یا در ترکیب با عوامل آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب متداول در مدل‌های حیوانی می‌تواند در مطالعات آتی مورد بررسی قرار گیرد.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۴۰۱/۲۸ 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.

۵- منابع

- [1] M. G. Cruz *et al.*, "Waste mitigation: From an effluent of apple juice concentrate industry to a valuable ingredient for food and feed applications," *Journal of Cleaner Production*, vol. 193, pp. 652-660, 2018.
- [11] A. Patriarca, "Fungi and mycotoxin problems in the apple industry," *Current Opinion in Food Science*, vol. 29, pp. 42-47, 2019.
- [12] J. Köhl *et al.*, "Dynamics of post-harvest pathogens *Neofabraea* spp. and *Cadophora* spp. in plant residues in Dutch apple and pear orchards," *Plant Pathology*, vol. 67, no. 6, pp. 1264-1277, 2018.
- [13] M. Naets *et al.*, "To disinfect or not to disinfect in postharvest research on the fungal decay of apple?," *International journal of food microbiology*, vol. 266, pp. 190-199, 2018.
- [14] N. Hasheminejad, F. Khodaiyan, and M. Safari, "Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles," *Food chemistry*, vol. 275, pp. 113-122, 2019.
- [15] B. Alizadeh Behbahani and F. Shahidi, "Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity," *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 6, no. 1, pp. 17-25, 2019.
- [16] H. Barzegar, B. A. 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

- Of Action Of Syzgium Aromaticum Essential Oil On Foodborne Pathogens," *Potravinarstvo*, vol. 13, no. 1, pp. 875-883, 2019.
- [24] B. Alizadeh Behbahani, F. Shahidi, F. T. Yazdi, and M. Mohebbi, "Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro," *International Journal of Agronomy and Plant Production*, vol. 4, no. 7, pp. 1652-1658, 2013.
- [25] K. Zomorodian, M. Moein, K. Pakshir, F. Karami, and Z. Sabahi, "Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from *Salvia mirzayanii* leaves," *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, vol. 22, no. 4, pp. 770-776, 2017.
- [26] K. Knobloch, A. Pauli, B. Iberl, H. Weigand, and N. Weis, "Antibacterial and antifungal properties of essential oil components," *Journal of essential oil research*, vol. 1, no. 3, pp. 119-128, 1989.
- [27] J. Xu *et al.*, "Acute and subacute toxicity study of 1, 8-cineole in mice," *International journal of clinical and experimental pathology*, vol. 7, no. 4, p. 1495, 2014.
- [28] J. C. Lopez-Romero, H. González-Ríos, A. Borges, and M. Simões, "Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2015, 2015.
- [29] F. Nazzaro, F. Fratianni, L. De Martino, R. Coppola, and V. De Feo, "Effect of essential oils on pathogenic bacteria," *Pharmaceuticals*, vol. 6, no. 12, pp. 1451-1474, 2013.
- [30] M. Noshad, B. Alizadeh Behbahani, H. Jooyandeh, M. Rahmati - Joneidabad, M. E. Hemmati Kaykha, and M. Ghodsi Sheikhjan, "Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing Citruslimon essential oil as an edible coating to improve shelf - life of buffalo meat under refrigeration conditions," *Food Science & Nutrition*, vol. 9, no. 3, pp. 1625-1639, 2021.
- [31] I. H. N. Bassolé and H. R. Juliani, "Essential oils in combination and their antimicrobial properties," *Molecules*, vol. 17, no. 4, pp. 3989-4006, 2012.
- [16] M. Rahmati-Joneidabad, B. Alizade 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," *Food Science and Technology*, vol. 18, no. 115, pp. 171-180, 2021.
- [17] M. Rahmati-Joneidabad and B. Alizadeh Behbahani, "Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of *Thymus daenensis* essential oil against spoilage fungi causing apple rot," (in fa), *Iranian Food Science and Technology Research*, vol. 17, no. 5, pp. 691-700, 2021, doi: 10.22067/ifstrj.v18i1.87595.
- [18] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idaomar, "Biological effects of essential oils—a review," *Food and chemical toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 446-475, 2008.
- [19] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei-Yazdi, F., Shahidi, F., & Mohebbi, M, Antimicrobial activity of *Avicennia marina* extracts ethanol, methanol & glycerin against *Penicillium digitatum* (citrus green mold). *Scientific Journal of Microbiology*, vol. 1, no. 7, 147-151, 2012.
- [20] B. Alizade Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, "Investigation of antimicrobial activity of Fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning and its interaction with kanamycin antibiotic," *Food Science and Technology*, vol. 16, no. 91, pp. 233-241, 2019.
- [21] F. Sadeghi and A. Alizadeh, "Phytochemical composition of the essential oil, total phenolic content and antioxidant activity in *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand. grown wild and cultivated in Iran," *Int Res J Appl Basic Sci*, vol. 6, no. 7, pp. 977-982, 2013
- [22] B. Alizadeh Behbahani, F. Falah, A. Vasiee, and F. Tabatabaei Yazdi, "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*, <https://doi.org/10.1002/fsn3.2186> vol. 9, no. 5, pp. 2458-2467, 2021/05/01 2021, doi: <https://doi.org/10.1002/fsn3.2186>.
- [23] B. Alizadeh Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, "Study of Chemical Structure, Antimicrobial, Cytotoxic And Mechanism



Chemical properties and evaluation of growth inhibitory and lethal activity of fungi causing spoilage and mold after apple fruit harvest using *Salvia mirzayani* essential oil

Rahmati-Joneidabad, M. ^{1*}, Alizadeh Behbahani, B. ², Noshad, M. ³

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.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ABSTRACT

The aim of this study was to extract *Salvia mirzayani* essential oil, and determine its chemical properties and antifungal activity against fungi causing post-harvest rot in apple fruit (*Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, and *Alternaria alternata*). Total phenol content (by Folin Ciocalteu method), total flavonoid content (by aluminum chloride colorimetric method), antioxidant activity (based on DPPH and ABTS free radical scavenging methods), and antifungal activity (based on disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration) of the essential oil were determined. The essential oil contained 43.40 mg GAE/g total phenol and 17.19 mg QE/g total flavonoids. In addition, *S. mirzayani* essential oil significantly inhibited DPPH (62.70 µg/ml) and ABTS (78.80 µg/ml) free radicals. According to the results of antifungal tests, *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* were the most sensitive and resistant fungal strains to the essential oil, respectively. In general, *S. mirzayani* essential oil can be used to control the oxidation reactions and fungal spoilage in food products.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 10/ 23
Accepted 2022/ 11/ 23

Keywords:

Post-harvest contamination, Apple, *Salvia mirzayani*, Essential oil, Antifungal, Antioxidant.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.223
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.18.9

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