پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۲ (۴): ۴۲۴-۴۱۳ (۱۴۰۲)- مقاله پژوهشی

Journal of Applied Research in Plant Protection 12(4): 413–424 (2023)-*Research Article*

https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2023.16896

کارایی نانوامولسیون اسانس دو گیاه دارویی در تلفیق با پوشش پلیمری کتیرا جهت مهار پوسیدگی پنیسیلیومی پس از برداشت میوه گوجه فرنگی

سیمین بهرامی‌نژاد[۱]، لاچین مختارنژاد[۲]، محسن فرزانه[۱]✉

[۱]گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران، ایران. [۲]بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران. ✉m_farzaneh@sbu.ac

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۵ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۰۱ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۵

چکیده

کاربرد اسانس گیاهان دارویی، به عنوان جایگزین قارچ‌کش‌های شیمیایی خطرناک، به دلیل حلالیت کم در آب، پایداری شیمیایی ضعیف و طبیعت فرار آنها، بسیار محدود است. برای رفع این مشکل، اخیرا کپسوله‌سازی در مقیاس نانومتری اسانس‌ها و همراه کردن آن با پوشش‌های پلیمری پیشنهاد شده است. در این مطالعه ابتدا نانوامولسیون اسانس‌های مرزه خوزستانی (حاوی کارواکرول ٪۸۷/۴) و نعناع‌فلفلی (حاوی منتون ٪۳۳/۶ و منتول ٪۳۵/۳) به ترتیب با میانگین اندازه ذره ۲۹۵ و ۱۸۶ نانومتر تهیه شد و پس از اثبات کارایی آنها در مهار و کشتن قارچ *Penicillium expansum*، در مخلوط با پوشش پلی ساکاریدی کتیرا (٪۰/۵ و ٪۱) برای مهار پوسیدگی پنِیسیلیومی میوه گوجه فرنگی و بهبود شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آن طی دوره ۱۰ و ۲۰ روز نگهداری در دمای ۱۰ درجه سلسیوس بررسی شد. تیمارهای نانوامولسیون اسانس مرزه ٪۰/۱ در ترکیب با کتیرا ٪۰/۵ و ٪۱ بیشترین تاثیر را در مهار پوسیدگی پنیسیلیومی میوه گوجه فرنگی نشان داده و از ایجاد پوسیدگی ممانعت کردند. تیمار نانوامولسیون اسانس نعناع‌فلفلی در ترکیب با کتیرا در مرتبه بعدی قرار گرفت. علاوه براین اثر تیمارهای برتر روی برخی شاخص‌های فیزیکوشیمیایی میوه نشان از تاثیر مثبت معنی‌دار آنها روی شاخص‌های سفتی میوه و مواد جامد محلول (TSS) میوه می‌باشد. علاوه براین، محتوای فنول کل میوه‌های تیمار شده بطور معنی داری بیشتر از میوه‌های شاهد سالم بود. به هرحال به نظر می‌رسد نانوکپسوله‌سازی اسانس‌های با فعالیت ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی و ترکیب کردن آنها با پوشش پلیمری کتیرا، افزایش کیفیت و ماندگاری میوه در طی انبارداری را در پی داشته باشد.

کلمات کلیدی: *Penicillium expansum*، پوسیدگی انباری میوه، مدیریت بیماری، نانو کپسوله‌سازی اسانس، ماندگاری

Effects of nanoencapsulated formulation of two different medicinal plants essential oil using tragacanth gum in control of post-harvest penicillium decay of tomato fruit

Simin Bahrami-Nejad[1], Lachin Mokhtarnejad[2], Mohsen Farzaneh✉[1]

[1]Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran. [2]Plant Protection Research Department, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Urmia, Iran. ✉m_farzaneh@sbu.ac

Received: 14 February 2023 Revised: 22 June 2023 Accepted: 16 July 2023

Abstract

The use of medicinal plants' essential oils, as an alternative to chemical fungicides, is limited due to their low solubility in water, poor chemical stability, and their volatile nature. To solve this problem, encapsulation of essential oil on a nanometer scale and combining it with coating polymers has been suggested recently. In this study, nanoemulsions of *Satureja khuzistanica* (Khuzestani savory) essential oil (containing 87.4% carvacrol) and *Mentha piperita* (peppermint) essential oil (containing 33.6% menthone and 35.3% menthol) were prepared with an average particle size of 295 and 186 nm, respectively. After confirming their effectiveness against the fungus *Penicillium expansum*, they mixed with tragacanth coating polysaccharide (0.5% and 1%) to inhibit the penicillium decay of tomato fruit as well as improve fruit physicochemical indicators during storage at 10°C. Fruit treatments by nanoemulsion of essential oil (NEO) of *S. khuzistanica* 0.1% in combination with tragacanth 0.5% and 1% showed the greatest effect to inhibit the penicillium decay. The fruits treated with the NEO of peppermint was placed in the next statically group. Furthermore, the effect of the superior treatments on some physicochemical indicators of fruit showed a significant positive effect of them in terms of the fruit firmness and its total soluble solids (TSS). In addition, the total phenolic content of the treated fruits was significantly higher than non-treated healthy fruits. However, it seems that nanoencapsulation of antifungal and antioxidant essential oils compounds and combining them with the tragacanth, caused to increases the shelf life of the fruit during storage.

Key words: *Penicillium expansum,* fruit storage decay, disease management, essential oil nanocapsulation, shelf-life

How to cite:
Bahrami-Nejad S, Mokhtarnejad L, Farzaneh M, 2023. Effects of nanoencapsulated formulation of two different medicinal plants essential oil using tragacanth gum in control of post-harvest penicillium decay of tomato fruit. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 12 (4): 413–424.

مقدمه

گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* Mill)، یکی از مهم ترین سبزیجات تولید شده در سطح جهان می‌باشد که بر اساس گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (فائو) تولید جهانی آن در سال ۲۰۲۱ به میزان بیش از ۱۸۹ میلیون تن بوده است (FAO 2021). میوه گوجه فرنگی در طول مرحله پس از برداشت توسط چندین بیمارگر قارچی از جمله *Penicillium expansum* Link مورد حمله قرار می‌گیرد که نه تنها باعث خسارت کمی و کیفی به میوه و کاهش چشمگیر ارزش اقتصادی آن می‌شود، بلکه به علت عمر انبارمانی کوتاه، مصرف آن محدود به تازه‌خوری شده است (Kader 2004).

به‌طور کلی از برخی قارچ‌کش‌های شیمیایی گروه‌های بنزیمیدازول‌ها، فنیل‌پیرول‌ها و تریازول‌ها از قبیل تیابندازول (thiabendazole)، فلودی‌اُکسونیل (fludioxonil) و پروپیکونازول (propiconazole) برای کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات استفاده می‌شود (Sharifi-Tehrani & Farzaneh 2018). هر چند که در مطالعات متعدد به پیامدهای منفی کاربرد ترکیبات شیمیایی از قبیل سرطان‌زایی، جهش‌زایی و سمیت برای انسان و محیط زیست و همچنین ایجاد مقاومت بیمارگرها به این ترکیبات اشاره شده است (Wills & Golding 2016).

در واقع نگرانی‌هایی بسیاری در مورد بقایای قارچ کش‌ها در محیط زیست و افزایش مقاومت جدایه‌های قارچی به قارچ کش ها وجود دارد (Kanetis *et al.* 2007). از این رو توسعه استراتژی‌های جایگزین و زیستی از قبیل میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست و همچنین مواد طبیعی ضد میکروبی که می‌توانند برای انسان و محیط زیست کم خطر و یا ایمن باشند، ضروری به نظر می‌رسد (Chang *et al.* 2012). امروزه توجه ویژه‌ای به محصولات طبیعی گیاهی از جمله اسانس‌های گیاهی به عنوان یکی از نویدبخش‌ترین جایگزین‌ها برای کنترل شیمیایی بیماری‌های پس از برداشت، وجود دارد (Tripathi *et al.* 2008; Sanjarian *et al.* 2022). این ترکیبات ضد میکروبی طبیعی عمدتاً از گیاهان معطر و دارویی به دست می‌آیند و به دلیل سمیت کم، فعالیت ضد میکروبی بالا و ماندگاری کم در محیط، گزینه‌های شایسته برای جایگزینی محصولات شیمیایی در راستای کنترل بیماری‌های پس از برداشت می‌باشند (Chang *et al.* 2012; Chang *et al.* 2013; Enayati et al. 2023).

برای گونه معروف و پرکاربرد نعناع‌فلفلی *Mentha piperita* L خواص ضد میکروبی، ضد قارچی (Matan *et al.* 2006; Soković *et al.* 2009)، ضد ویروسی و ضد باکتریایی (Schuhmacher *et al.* 2003; Mckay & Blumberg 2006) گزارش شده است. در مطالعه‌ای نیز که اخیرا انجام شده است، از بین ۱۶ اسانس گیاهی، اسانس نعناع‌فلفلی بیشترین خاصیت مهارکنندگی رشد روی گونه‌های قا رچی *P. expansum* و *P. crustosum* Thom را از خود نشان داده است (Valková *et al.* 2022). در مطالعات متعددی وجود فنول در اسانس مرزه (Stevic *et al.* 2014) و خاصیت ضد قارچی آن نیز گزارش شده است. همچنین مشخص شده است که کاربرد غلظت ۱۰۰۰ تا ۱۲۰۰ میکرولیتر اسانس مرزه در لیتر محیط کشت در شرایط آزمایشگاهی به طور کامل از رشد قارچ *P. digitatum (Pers.) Sacc.* جلوگیری می‌کند (Atrash *et al.* 2018). در پژوهشی دیگر کاربرد ۳۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر از اسانس مرزه موجب کنترل معنی‌دار *Aspergillus flavus* Link روی گوجه‌فرنگی گردید (Omidbeygi *et al.* 2007). با این حال، کاربردهای عملی اسانس‌ها در بخش‌های صنعتی در مقیاس وسیع به دلیل ماهیت فرار داشتن، حلالیت کم، آبگریزی و اکسیداسیون آسان در شرایط محیطی دارای محدودیت‌هایی می‌باشد (Chang *et al.* 2012).

اسانس‌ها در دمای اتاق به صورت مایع می‌باشند. در نتیجه، ساده‌ترین شکل کپسوله‌سازی شامل پخش کردن یا فرموله کردن ماده موثره در داخل مواد حامل می‌باشد. در میان حامل‌ها، نانوامولسیون‌ها به دلیل ظرفیت بارگذاری بالا، پایداری بالا و خواص رهاسازی، گزینه‌های بسیار مناسبی محسوب می‌شوند و قادرند به طور قابل توجهی حلالیت ترکیبات بسیار آبگریز (لیپوفیل) را افزایش دهند. نانوامولسیون‌ها می‌توانند در ترکیب با پلیمرهای مصنوعی و طبیعی غیرقابل‌تجزیه یا زیست‌تخریب‌پذیر نیز تهیه شوند. از پلی‌ساکاریدهای طبیعی می‌توان به کیتوزان (CS)، دکستران، نشاسته، سیکلودکسترین و سلولز اشاره‌کرد (Onyuksel *et al.* 2003; Aumelas *et al.* 2007).

در یک بررسی که بر روی کنترل *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Sorauer گوجه فرنگی توسط نانو امولسیون نعناع با اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر در شرایط گلخانه انجام گرفت، بعد از ۱۴ روز شدت بیماری ۶۸/۷ درصد و بعد از ۲۱ روز ۸۷/۵ درصد کاهش یافت. مطالعات نشان داد تغییرات قابل توجهی در محتوای پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان آلوده مشاهده شد در حالی‌که گیاهان آلوده تیمار شده با نانوامولسیون قادر به مقابله با شرایط تنش بودند (Pandey *et*

al. 2020).

در بررسی حاضر استفاده از یک پوشش طبیعی، ایمن و سبز برای نانوکپسولاسیون اسانس‌های مرزه خوزستانی و نعناع-فلفلی به منظور افزایش پایداری فیزیکی و شیمیایی اسانس و حفاظت پایدار میوه‌های گوجه‌فرنگی در برابر پوسیدگی پس از برداشت ناشی از قارچ *P. expansum* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

تهیه و استخراج اسانس‌های گیاهی

به منظور استخراج اسانس گیاهان نعناع‌فلفلی (*M. piperita* L.) و مرزه‌خوزستانی (*Satureja khuzistanica* Jamzad) از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استفاده گردید (British pharmacopoeia 2015). نمونه‌ها پس از سه ساعت اسانس گیری جمع‌آوری شدند و پس از آبگیری با سولفات سدیم، درداخل ویال‌های شیشه‌ای تاریک دربسته، در یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند.

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

اسانس‌های به‌دست آمده از هر دو گونه گیاهی با دستگاه-های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (GC-MS) مورد شناسایی قرار گرفتند (Adams 2007; Farzaneh *et al*. 2015).

تهیه امولسیون و نانو امولسیون اسانس

امولسیون اسانس از مخلوط کردن اسانس با محلول ۰/۱ درصد توین ۸۰ (به نسبت ۱ به ۱) با استفاده از ورتکس تهیه شد. روش بهینه برای فرمولاسیون بهینه‌شده نانوامولسیون اسانس‌ها، از گروه مهندسی شیمی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی دریافت شد (Pourhossein-Alamdary 2012; Ardalan 2014; Ghaderi 2014). برای تهیه نانوامولسیون‌ها از مخلوط اسانس با ترکیبات پلی‌وینیل‌الکل (polyvinyl alcohol)، توین۸۰ (tween 80) و لسیتین (lecithin) استفاده شد. جهت نانوامولسیون کردن ذرات اسانس از دستگاه پروب شرکت امواج فراصوت همراه با ژنراتور مدل MTI سوئیس (۴۰۰ وات، ۲۲۰ ولت، فرکانس ۲۰/۵ کیلوهرتز، دامنه ۳۰ درصد و قطر پروب ۱۹ سانتی‌متر) استفاده شد. نانوامولسیون‌های حاوی ٪۱۰ اسانس تهیه شد. در انتها، ظروف حاوی نانوامولسیون‌ها به خوبی پوشانده شد و در دمای یخچال و دور از نور نگه‌داری شدند. اندازه ذره‌ای نانوامولسیون‌های تهیه شده و همچنین محدوده توزیع ذرات به وسیله دستگاه DLS (Dynamic Light Scattering) تعیین شد (Ghaderi 2014).

تهیه زادمایه بیمارگر

جدایه بیمارگر *P. expansum* از کلکسیون میکروبی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی دریافت شد. قطعه‌ای (به ابعاد ۲ در ۲ میلی‌متر) از کشت ۱۴روزه جدایه کشت شده روی محیط کشت PDA برداشته شد و سپس در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر سترون حاوی ٪۰/۰۵ (حجم به حجم) توئین ۸۰ غوطه ور گردیدند. با استفاده از لام هماسیتومتر هاگ‌ها (اسپورها) شمارش شده و غلظت مورد نیاز ۱×۱۰^{۵} هاگ قارچ در هر میلی لیتر به دست آمد.

سنجش فعالیت ضدقارچی در شرایط آزمایشگاه

اثر ضد میکروبی امولسیون و نانوامولسیون هر دو اسانس مرزه خوزستانی و نعناع‌فلفلی در پنج غلظت به روش اختلاط اسانس و محیط کشت PDA مورد بررسی قرار گرفت (Farzaneh *et al*. 2015). همچنین سم تیابندازول به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بطور خلاصه ۷۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA درون ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و بعد از اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه) و رسیدن دمای آنها به حدود ۴۲ تا ۴۵ درجه سلسیوس، متناسب با حجم محیط کشت، غلظت‌های ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰میکرولیتر اسانس از هر کدام از امولسیون‌ها و نانو امولسیون‌های اسانس نعناع‌فلفلی و مرزه خوزستانی در محیط-های کشت بطور جداگانه آماده شدند. پس از ریختن محتوای فلاسک‌های ارلن درون تشتک‌های پتری هشت سانتیمتری و جامد شدن محیط‌های کشت حاوی اسانس، دیسک قارچی با قطر پنج میلی‌متر در وسط هر تشتک پتری قرار داده شد و تا زمانیکه تشتک پتری شاهد به طور کامل توسط بیمارگر پوشانده شود در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید. حداقل غلظت بازدارندگی کامل امولسیون و نانوامولسیون اسانس‌ها در جلوگیری از رشد قارچ‌ها محاسبه شد. همچنین غلظتی که باعث ۵۰ درصد (Effective concentration$_{50}$: EC_{50}) بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ می‌شود با بهره‌گیری از آنالیز پروبیت نرم افزار SPSS (v.9) محاسبه گردید. جهت بررسی خاصیت قارچ‌کشی (Fungicide) یا قارچ ایستایی (Fungistate)، دیسک قارچی تیمارهایی که رشد قارچی در آن‌ها مشاهده نگردید روی محیط کشت PDA بازکشت شد و رشد یا عدم رشد قارچ روی محیط کشت پس از یک هفته

بررسی و حداقل غلظت قارچ‌کشی کامل (Minimum Fungicidal Concentration: MFC) مشخص گردید. آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی انجام شد و سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد.

بررسی نانوامولسیون‌ها در تلفیق با پلیمر کتیرا در مهار پوسیدگی پنسیلیومی میوه گوجه فرنگی

در این پژوهش از میوه‌های گوجه‌فرنگی هیبرید (*L.esculentum*) رقم دافنیس (مناسب برای صادرات) استفاده گردید. به منظور ضدعفونی سطحی، میوه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد غوطه ور شدند و سپس دو بار با آب مقطر سترون شست و شو داده شدند. میوه پس از خشک شدن در هوای آزاد، به مدت یک دقیقه درون سوسپانسیون هاگ *P. expansum* (10^4 × ۱ هاگ در میلی لیتر) غوطه ور شدند. سپس در آزمایشات جداگانه‌ای میوه‌ها با پوشش پلیمری کتیرا (۰/۵ و ۱ درصد) حاوی نانوامولسیون‌های اسانس نعناع-فلفلی و مرزه خوزستانی (غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) به مدت ۲۰ ثانیه غوطه ور شده و پوشش داده شدند. از قارچ‌کش تیابندازول (تکتو ۶۰) در آب مقطر سترون به عنوان شاهد استفاده شد. سایر تیمارهای شاهد شامل شاهد آلوده (میوه‌های تلقیح شده با هاگ بیمارگر و محلول پاشی شده با آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰) و شاهد سالم (میوه‌های سالم غوطه ور شده در آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰) بود (Reddy *et al.*, 1998). هر تیمار شامل سه تکرار بود و هر تکرار حاوی چهار میوه در یک ظرف پلاستیکی شفاف به ابعاد ۱۴ × ۲۵ × ۲۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. میوه‌ها در سردخانه در دمای ۱۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی بین ۷۰ الی ۸۰ درصد و شرایط تاریکی نگهداری شدند. درصد پوسیدگی پنیسیلیومی در میوه‌های گوجه‌فرنگی پس از ۱۰ و ۲۰ روز نگهداری، اندازه گیری شد. ارزیابی درصد آلودگی میوه بر اساس مشاهده نواحی لهیدگی و کپک‌زده سطح میوه بود؛ به طوری‌که هر میوه به ۱۶ قسمت تقسیم شد و علائم لهیدگی ویا کپکی در هر قسمت برابر با ۶/۲۵ درصد برآورد شد (Huang *et al*. 2011; McClements *et al*. 2016).

تاثیر روی برخی صفات فیزیکوشیمیایی میوه

تاثیر تیمارهای برتر روی برخی صفات فیزیکوشیمایی میوه، در زمان‌های پس از ۱۰ و۲۰ روز نگهداری ارزیابی شد. اندازه-گیری سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه سفتی سنج (مدل GY-1) انجام گرفت. به‌این منظور نوک سفتی سنج با قطر ۱۱ میلی‌متر در سه نقطه نوک، وسط و انتهای میوه فشار داده شد و میزان سفتی بر حسب کیلوگرم بر متر مربع (kg/m^2) ثبت گردید (Znidarcic *et al*. 2010).

اندازه‌گیری مواد جامد محلول (TSS) با دستگاه رفراکتومتر (Atago N1 refractometer, Japan) انجام و بر اساس درجه بریکس بیان شد. بدین منظور یک الی دو قطره از آب میوه گوجه‌فرنگی را در محل مخصوص دستگاه چکانده و میزان مواد جامد محلول قرائت و بر اساس درجه بریکس گزارش شد (Mazumdar 2003). جهت اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره صاف شده میوه با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد و داخل محلول فوق دو تا سه قطره فنول فتالئین یک درصد اضافه گردید. سپس برای تعیین اسیدیته قابل تیتراسیون، عصاره با هیدروکسیدسدیم ۰/۱ نرمال تیتر شد و هنگامی‌که pH محلول به۸/۱-۸/۳ رسید عمل تیتراسیون متوقف و میزان سود مصرفی ثبت گردید تا مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون بر حسب درصد محاسبه شود. اندازه‌گیری pH عصاره میوه طبق مقاله (Znidarcic *et al*. 2010) انجام شد.

تاثیر روی ترکیبات فنولی میوه

میزان کل ترکیبات فنلی با معرف فولین-سیوکالتو (Slinkard & Singleton 1977) به صورت اکی‌والان گالیک اسید در گرم عصاره بر اساس رابطه (Y=0.0038X + 0.1574) محاسبه شد.

به طور خلاصه به منظور تهیه عصاره و استخراج ترکیبات فنلی، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه خشک شده بوسیله هاون و نیتروژن مایع ساییده شد. سپس ۱۰ میلی لیتر متانول به نمونه اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک در دمای اتاق قرار گرفت. این مرحله سه بار تکرار شد. عصاره متانولی حاصل از سه مرحله سونیک جمع‌آوری شد و در دستگاه سانتریفیوژ، به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای اتاق قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ، محلول بالایی جمع-آوری شد و برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش محتوی فنل کل، دستگاه پاورویو میکروپلیت اسپکتوفوتومتر مدل‌ایکس اس ۲ ساخت شرکت بیوتک آمریکا (PowerWave XS2 Microplate spectrophotometer, Bio-Tek Instruments Inc., USA) همراه با سیستم پردازش اطلاعات کامپیوتری مورد استفاده قرار گرفت.

محتوی کلی ترکیبات فنولی در عصاره گیاه بر اساس واکنش‌گر تخمین زده شد. براین اساس ۲۵ میکرولیتر از نمونه مورد آزمایش با ۱۲۵ میکرولیتر محلول رقیق شده حاوی ۱۰ درصد فولین سیوکالتو مخلوط و به دنبال آن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۷/۵ درصد کربنات سدیم به مخلوط اضافه گردید. پلیت توسط فویل آلومینیومی پوشانده شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی دستگاه تکان دهنده قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت‌گر الایزا خوانده شد. میزان‌ترکیبات فنول کل گیاه معادل گالیک اسید اندازه‌گیری شد. به همین منظور منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف (۱۰-۱۰۰۰پی پی ام) از گالیک اسید در متانول تهیه و منحنی استاندارد با نرم افزار اکسل رسم گردید. سپس معادله خط y = bx+a بدست آمد. در نهایت مقدار کل‌ترکیبات فنلی نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم اندازگیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه داده‌ها از دو نرم افزار به تفکیک کارهای مورد نیاز استفاده شد. برای تجزیه واریانس از نرم افزار SAS (9.1) و به روش GLM استفاده شد. پس از تجزیه اریانس، میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج

ترکیبات عمده اسانس‌های مورد آزمایش

پاراسیمن (٪ ۳/۷)، گاما ترپینن (٪ ۴/۹) و کارواکرول (٪۸۷/۴) ترکیب‌های اصلی شناسایی شده در اسانس مرزه خوزستانی می‌باشند. ترکیب‌های اصلی در اسانس نعناع‌فلفلی شامل پاراسیمن (٪۲/۴)، منتون (٪۳۳/۶)، ایزومنتون (٪۴/۵)، منتوفوران (٪۲/۸)، منتول (٪۳۵/۳) و جرماکرن دی (٪۲/۷) می‌باشد (جدول۱).

جدول۱. نوع و درصد ترکیب‌های عمده شناسایی شده در اسانس‌های استحصالی اندام هوایی مرزه خوزستانی و نعناع‌فلفلی.

Table 1. The major constituents of the essential oils of *Satureja khuzistanica* and *Mentha piprtita* aerial parts.

compound	RI*	*S. khuzistanica*	*M. piperita*
alpha-pinene	926	0.1	-
beta-pinene	970	0.1	-
Myrcene	978	0.1	-
para-cymene	1015	3.7	2.4
1,8-cineol	1026	0.5	11.2
gama-terpinene	1055	4.9	-
Linalool	1087	0.2	0.7
menthone	1149	-	33.6
Borneol	1155	-	0.8
isoimenthone	1158	-	4.5
menthofuran	1163	-	2.8
4-terpineol	1168	0.1	-
Menthol	1189	-	35.3
carvacrol	1275	87.4	-
menthtyl acetate	1285	-	1.8
e-caryophyllene	1331	-	1.3
carvacryl acetate	1344	0.8	-
germacrene d	1357	-	2.7
Total		97.9	97.1

* RI (Retention indices), retention indices relative to C6 – C24 n-alkanes on the DB-1 column.

بررسی پراکنش اندازه ذرات نانوامولسیون‌های اسانس

اندازه ذره‌ای نانوامولسیون‌های تهیه شده به وسیله دستگاه DLS (جدول۲) نشان داد میانگین اندازه ذره‌ای هر دو نانوامولسیون در محدوده زیر ۳۰۰ نانومتر قرار می‌گیرد، با این وجود، میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس نعناع‌فلفلی از اندازه ذرات نانو اسانس مرزه خوزستانی کمتر می‌باشد. علاوه براین محدوده توزیع اندازه ذره‌ای نیز گویای تهیه نانوامولسیون یکنواخت از این دو اسانس می‌باشد.

جدول ۲. میانگین اندازه ذره‌ای و توزیع اندازه ذره‌ای (بر حسب نانومتر) نانو امولسیون اسانس نعناع‌فلفلی و مرزه خوزستانی بدست آمده از دستگاه DLS.

Table 2. Mean diameter and distribution of particle size of essential oils nano-emulsions (nm) of *Mentha piperita* and *Satureja khuzistanica* obtained by DLS.

Nano-emulsion	Mean diameter of particle size (nm)	Particle size distribution (nm)
Mentha piperita	186.25 ± 12.97	42.79 ± 18.06
Satureja khuzistanica	295.93 ± 20.28	127.51 ± 39.82

اثرات ضد قارچی نانوامولسیون‌ها در شرایط آزمایشگاه

میزان شعاع رشد پرگنه قارچ در تیمار شاهد پس از یک هفته برابر با ۳۷ میلیمتر بود. بر اساس نتایج جدول (۳) در مورد امولسیون و نانوامولسیون نعناع‌فلفلی، حداقل غلظت بازدارندگی کامل از رشد قارچ، در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر اسانس بر لیتر محیط کشت مشاهده شد در حالیکه امولسیون و نانوامولسیون مرزه خوزستانی در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر بازدارندگی کامل از رشد قارچ پنیسیلیوم نشان دادند. علاوه براین نتایج EC_{50} (جدول ۴) مشخص کرد که اسانس نعناع-فلفلی در غلظت ۲۰۹/۷ تا ۲۱۲/۶ میکرولیتر بر لیتر و اسانس مرزه در غلظت بین ۱۸۶/۷ تا ۱۸۸/۱ میکرولیتر بر لیتر باعث مهار ۵۰ درصدی رشد قارچ شده و بین امولسیون و نانوامولسیون نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی شود. فزون-براین، سنجش خاصیت قارچ‌کشی مشخص کرد که امولسیون و نانوامولسیون مرزه خوزستانی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر باعث مرگ کامل قارچ می‌شود اما فقط نانوامولسیون نعناع‌فلفلی دربالاترین غلظت کاربردی (۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر) قادر به کشتن کامل قارچ بود (جدول ۴).

جدول ۳. بررسی درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف امولسیون و نانوامولسیون اسانس های دو گیاه دارویی روی قارچ *Penicilium expansum* عامل پوسیدگی و کپک زدگی میوه به روش مخلوط با محیط کشت PDA.

Table 3. The inhibitory activity (%) of emulsion and nanoemulsion of two plants essential oils against *Penicillium expansum* by poisonous PDA medium method.

Essential oil	concentration µl/L	nanoemulsion	Emulsion
Mentha piperita	62.5	3.5^{i}	4.8^{i}
	125	27.4^{g}	28.5^{g}
	250	59.1^{e}	61.0^{de}
	500	85.5^{b}	86.3^{b}
	1000	100^{a}	100^{a}
Satureja khuzistanica	62.5	12.6^{h}	14.5^{h}
	125	35.3^{f}	39.2^{f}
	250	66.8^{cd}	77.5^{c}
	500	100^{a}	100^{a}
	1000	100^{a}	100^{a}

جدول ۴. بررسی EC_{50} وحداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) امولسیون و نانوامولسیون اسانس‌های دو گیاه دارویی روی قارچ *Penicilium expansum* به روش مخلوط با محیط کشت PDA (میکرو لیتردر لیتر).

Table 4. EC_{50} and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) of emulsion and nanoemulsion of two plants essential oils against *Penicillium expansum*. The experiments were carried out in vitro by Poisonous PDA Medium method.

Essential oil	MFC (µl/L)		*EC_{50} (µl/L)	
	Nanoemulsion	Emulsion	nanoemulsion	Emulsion
Mentha piperita	1000	>1000	212.632	209.728
Satureja khuzistanica	1000	1000	188.105	186.736

* EC_{50}, effective concentration causing 50% inhibition of mycelial growth; MFC, Minimum Fungicidal Concentration.

در مجموع هردو امولسیون و نانوامولسیون هر دو اسانس در شرایط آزمایشگاه موجب مهار کامل رشد قارچ شدند و حتی باعث کشتن قارچ در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر شد، اما امولسیون اسانس نعناع‌فلفلی در این غلظت خاصیت قارچ

کشتی (مرگ کامل قارچ) نشان نداد.

اثرات نانوامولسیون‌ها در تلفیق با پلیمر کتیرا در مهار پوسیدگی پنسیلیومی میوه گوجه فرنگی

پس از ۱۰ روز انبارداری، میزان پوسیدگی میوه در تیمارهای شاهد سالم و آلوده به ترتیب برابر با صفر و ۵۰ درصد بود و کاربرد قارچ‌کش تیابندازول ۱ در هزار باعث مهار کامل پوسیدگی میوه شد. تیمارهای نانوامولسیون مرزه ٪۰/۱ (یک در هزار) در تلفیق با کتیرا (٪۰/۵ و ٪۱) بیشترین تاثیر را در مهار پوسیدگی نشان داد و در گروه آماری a قرار گرفت. کاربرد امولسیون مرزه ٪۰/۰۵ (نیم در هزار) در تلفیق با کتیرا ٪۱ با ۹۳/۷۵ درصد کاهش پوسیدگی میوه در مرتبه بعدی قرار گرفت. تیمارهای نانوامولسیون اسانس نعناع‌فلفلی ٪۰/۱ (یک در هزار) + کتیرا ٪۱ و همچنین نانوامولسیون مرزه ٪۰/۱ + کتیرا ٪۰/۵ و نانوامولسیون مرزه ٪۰/۰۵ همراه با پوشش کتیرا با میزان پوسیدگی بین ۶/۲۵ تا ۱۲/۵ درصد، نیز تاثیر قابل قبولی در مهار پوسیدگی نشان دادند.

پس از ۲۰ روز انبارداری، میزان پوسیدگی میوه در تیمارهای شاهد سالم و آلوده به ترتیب برابر با ۲۵ و ۱۰۰ درصد بود و کاربرد قارچ‌کش تیابندازول ۱ در هزار باعث مهار کامل پوسیدگی میوه شد. در اینجا نیز، مشابه ۱۰ روز انبارداری، تیمارهای نانوامولسیون مرزه ٪۰/۱ + کتیرا (٪۰/۵ و ٪۱) بیشترین تاثیر را در مهار پوسیدگی نشان داد و باعث مهار کامل آن شد. علاوه براین، تیمارهای امولسیون مرزه ٪۰/۱ + کتیرا (٪۰/۵ و ٪۱) نیز تاثیر قابل توجهی در مهار پوسیدگی نشان داد و در گروه آماری b قرار گرفتند. تیمارهای نانوامولسیون اسانس نعناع‌فلفلی ٪۰/۱ + کتیرا (٪۰/۵ و ٪۱) با ۴۳/۷۵ درصد کاهش پوسیدگی در مرتبه بعدی گروهبندی آماری قرار گرفتند. تیمارهای کتیرای حاوی امولسیون اسانس نعناع‌فلفلی ٪۰/۰۵ تاثیر معنی داری در کاهش پوسیدگی نشان ندادند.

جدول ۵. میزان کنترل پوسیدگی پنسیلیومی میوه گوجه فرنگی توسط نانوامولسیون و امولسیون اسانس‌های مرزه خوزستانی و نعناع‌فلفلی در ترکیب با ژل کتیرا پس از ۱۰ و ۲۰ روز نگهداری در تاریکی ، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد.

Table 5. Control of the penicillium decay of tomato fruit by nanoemolsion (NE) and emulsion (E) of *Satureja khuzistanica* and *Mentha piperita* essential oils (1 per 1000) in combination with Tragacanth gel, after 10 and 20 days' incubation in the darkness, at 10 ° C and RH 70%.

Essential oil	decay control (%)			
	10 days post inoculation		20 days post inoculation	
	Tragacanth (0.5%)	Tragacanth (1%)	Tragacanth (0.5%)	Tragacanth (1%)
S. khuzistanica NE** 0.05%	75.0 d*	75.0 d	37.5 d	43.75 c
S. khuzistanica E 0.05%	50.0 f	50.0 f	12.5 e	12.5 e
S. khuzistanica NE 0.1%	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
S. khuzistanica E 0.1%	81.25c	93.75 b	75.0 b	75.0 b
M. piperita NE 0.05%	37.5 h	43.75 g	12.5 e	12.5 e
M. piperita E 0.05%	25.0 j	31.25i	0.0 f	0.0 f
M. piperita NE 0.1%	75.0 d	81.25 c	75.0 b	75.0 c
M. piperita E 0.1%	62.5 e	62.5 e	37.5 d	37.5 d
Tiabendazole 0.1%	100.0 a		100.0 a	

** Means in rows followed by the same letters are not significantly different at $p \leq 0.05$
*****NE, Nanoemulsion; E, Emulsion.

اثر تیمارهای برتر روی برخی صفات فیزیکوشیمیایی میوه

اندازه گیری شاخص‌های کیفی میوه سالم گوجه فرنگی در زمان صفر (شروع انبارداری) نشان داد که شاخص pH برابر با ۳/۷، اسیدیته قابل تیراسیون برابر با ۲/۴ پی پی ام، سفتی بافت میوه برابر با ۱۴/۵ نیوتن و TSS برابر با ۱/۴ درصد می‌باشد که به تدریج در طول ذخیره‌سازی تغییراتی در آنها رخ می‌دهد (جدول ۶). اثرات نانوامولسیون‌های اسانس مرزه خوزستانی و نعناع‌فلفلی در ترکیب با پوشش کتیرا روی شاخص‌های کیفی پس از برداشت میوه نیز در جدول ۶ ارائه شده است.

پس از ۱۰ روز نگهداری، از نظر سه شاخص pH ، اسیدیته قابل تیتراسیون و TSS تفاوت معنی‌داری بین تاثیر پوشش کتیرای حاوی نانوامولسیون اسانس مرزه خوزستانی/نعناع‌فلفلی با قارچ کش تیابندازول مشاهده نشد و در مقایسه با شاهد سالم غیرآلوده (پس از ۱۰ روز) تغییری در این پارامترها دیده نشد. تنها پارامتر تغییر کرده مربوط به شاخص سفتی بافت میوه می‌باشد که در میوه تیمار شده با کتیرای حاوی نانوامولسیون اسانس، تفاوت معنی‌داری با میوه سالم و میوه تیمار شده با تیابندازول مشاهده می شود. به عبارتی، تیمار کتیرای حاوی

نانوامولسیون اسانس مرزه/نعناع‌فلفلی باعث حفظ سفتی بافت میوه در طول زمان نگهداری شد.

پس از ۲۰ روز نگهداری، بین تیمارها تفاوت معنی داری از نظر شاخص pH و اسیدیته قابل تیتراسیون مشاهد نشد اما در مورد شاخص سفتی میوه و TSS تفاوت معنی‌داری وجود داشت. از نظر سفتی بافت، مشابه نتایج ۱۰ روز نگهداری، تیمارهای نانوامولسیون‌های اسانس مرزه ۰/۱٪ و نعناع‌فلفلی ۰/۱٪ در ترکیب با کتیرا (۱٪) موجب عدم تغییر در سفتی بافت میوه شده و با تیمارهای تیابندازول و شاهد سالم تفاوت معنی داری نشان می دهد. از نظر شاخص TSS میوه، کمترین تغییر (نسبت به ۱۰ روز نگهداری) در تیمار نانوامولسیون اسانس مرزه ۰/۱٪ در ترکیب با کتیرا حاصل شد که با سه تیمار دیگر تفاوت معنی داری نشان داد.

جدول ۶. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی میوه گوجه فرنگی شامل pH، سفتی میوه، اسیدیته قابل تیراسیون (TA) و مواد جامد محلول (TSS) پس از کابرد پوشش کتیرای حاوی نانو امولسیونهای اسانس‌های مزره خوزستانی و نعناع‌فلفلی و نگهداری به مدت ۱۰ و ۲۰ روز در دمای ۱۰ درجه سلسیوس در تاریکی.

Table 6. Physicochemical characteristics of tomato fruits; pH, fruit firmness, titratable acidity (TA), total soluble solid (TSS); after treatment by Tragacanth cover (1%) containing nanoemulsions of *Satureja khuzistanica* and *Mentha piperita* essential oils (0.1%) and storage 10 and 20 days at 10 °C in darkness.

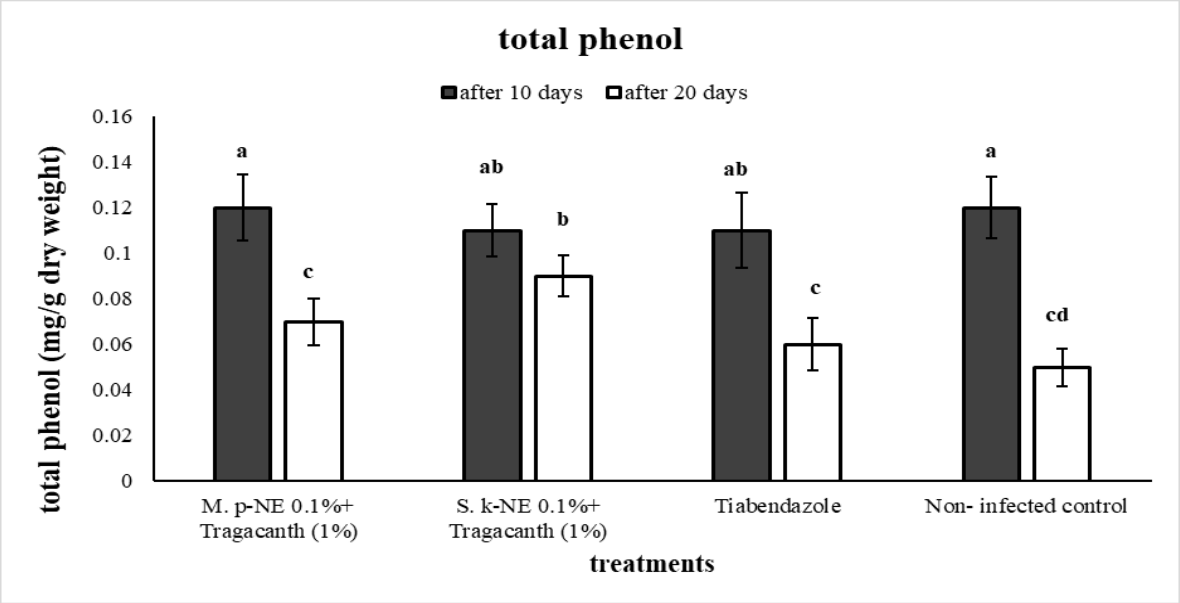
Treatment	TSS (%)		Firmness (kg/m^2)		TA (ppm)		pH	
	10 days	20 days	10 days	20 days	10 days	20 days	10 days	20 days
M. piperita NE* 0.1% + Tragacanth 1%	4.2^{c}**	4.8^{a}	14.3^{a}	14.2^{a}	2.3^{a}	2.1^{a}	3.8^{ab}	4.1^{a}
S. khuzistanica NE 0.1% + Tragacanth 1%	4.2^{c}	4.3^{c}	14.5^{a}	14.2^{a}	2.4^{a}	2.2^{a}	3.8^{ab}	3.9^{ab}
Tiabendazole	4.2^{c}	4.6^{ab}	13.5^{b}	13.0^{bc}	2.3^{a}	2.2^{a}	3.9^{ab}	4.1^{a}
Non- infected control	4.2^{c}	4.6^{ab}	13.2^{b}	12.7^{c}	2.3^{a}	2.2^{a}	3.8^{ab}	4.2^{a}

*NE, Nanoemulsion

** Means in both columns (related to each character) followed by the same letters are not significantly different at $p \leq 0.05$.

اثرات تیمارهای برتر روی میزان فنول کل میوه

بطور کلی پس از ۱۰ روز نگهداری، از نظر محتوای فنل کل میوه، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهد نشد و همه در محدوه تیمار شاهد قرار داشتند. گرچه پس از ۲۰ روز از نگهداری، در تمامی تیمارها میزان فنل کل میوه در پایان آزمایش (روز بیستم) نسبت به روز دهم، روند کاهشی داشته است، اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت. بیشترین محتوی فنول میوه، در میوه‌های تیمار شده با نانوامولسیون اسانس مرزه ۰/۱٪ در ترکیب با کتیرا ۱٪ مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد، ۸۰ درصد افزایش فنول کل نشان داد. فزون براین کاربرد نانوامولسیون اسانس نعناع‌فلفلی ۰/۱٪ در ترکیب با کتیرا نیز باعث ۴۰ درصد افزایش در محتوای فنول کل میوه در مقایسه با شاهد شد. تغییر معنی داری در محتوای فنول میوه های تیمار شده با تیابندوزل نسبت به میوه‌های شاهد مشاهده نشد.



شکل ۱. تغییرات فنول کل میوه گوجه فرنگی پس از کابرد پوشش کتیرای (۱٪) حاوی نانوامولسیون اسانس (۰/۱٪) گیاه مرزه خوزستانی و نعناع-فلفلی و نگهداری به مدت ۱۰ و ۲۰ روز در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و تاریکی. واژه‌های NE و E به ترتیب معرف نانوامولسیون اسانس و امولسیون اسانس و واژه های M.p و S.k به ترتیب نشانگر نعناع‌فلفلی و مرزه خوزستانی می باشند.

Figure 1. Total phenol content of tomato fruits after treatment by Tragacanth cover (1%) containing nanoemulsions of *Satureja khuzistanica* and *Mentha piperita* essential oils (0.1%) and storage 10 and 20 days at 10 °C in darkness. NE, Nanoemulsion; E, Emulsion, M.p, *Mentha piperita*; S.k, *Satureja khuzistanica*.

بحث

اسانس برخی از گیاهان معطر دارای خواص ضدباکتری، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی هستند و می‌توانند رشد عوامل بیماری‌زای گیاهی را مهار کنند (Al-Mariri & Safi 2014). اگرچه برخی قارچ‌کش‌های شیمیایی قادر به مهار پوسیدگی قارچی پس از برداشت میوه‌ها هستند، نگرانی در مورد باقیمانده این سموم روی میوه‌ها تهدیدی بزرگ برای سلامت انسان و محیط زیست است. استفاده از اسانس‌های گیاهی دارویی، به عنوان جایگزین سموم شیمیایی خطرناک، برای کنترل پوسیدگی پس از برداشت میوه و افزایش دوره ماندگاری آنها مطرح است اما از محدودیت‌های بسیاری در کاربرد برخوردار است و ممکن است بر خواص ارگانولپتیک میوه حتی در غلظت‌های پایین تأثیر منفی بگذارد. فرآیندهای کپسوله‌سازی نانو می‌تواند پایداری مواد فعال و همچنین آزادسازی مداوم آنها را در طول زمان تضمین نماید و موجب کاهش عوارض جانبی بر بافت های گیاهی گردد (Sozer & Kokini 2009).

در تحقیق حاضر هر دو امولسیون و نانوامولسیون اسانس-های مرزه خوزستانی و نعناع‌فلفلی در شرایط آزمایشگاه موجب مهار کامل رشد قارچ شدند و حتی باعث کشتن قارچ در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر شدند، اما امولسیون اسانس نعناع-فلفلی در این غلظت خاصیت قارچ‌کشتی (مرگ کامل قارچ) نشان نداد. به عبارتی تاثیر قارچ‌کشی نانوامولسیون نعناع‌فلفلی بیشتر از امولسیون آن بود. مشابه این نتیجه مشخص شده است که گرچه اسانس نعناع‌فلفلی دارای خواص ضد قارچی قابل‌توجهی در برابر *A. flavus* بوده اما به دلیل طبیعت فرار و ناپایداری اسانس در برابر عوامل محیطی، کپسوله‌سازی عملکرد آن را به میزان قابل توجهی بهبود می‌بخشد بطوریکه حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آزاد و کپسوله شده علیه *A. flavus* در شرایط آزمایشگاهی به ترتیب ۲۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم برلیتر گزارش شده است (Beyki *et al*. 2014). روش نانوامولسیون کردن، اسانس را به ذرات با اندازه کوچکتر تبدیل می کند و پایداری و ماندگاری ترکیبات فعال آن را افزایش می‌دهد تا فعالیت ضد میکروبی و جذب سلولی آنها را افزایش دهد. اندازه ذرات کوچک ممکن است برهمکنش بین ترکیبات فعال با غشاهای بیولوژیکی را افزایش دهد و همچنین یکپارچگی غشای سلولی را مختل کند (Moghimi *et al*. 2016). علاوه براین، نانوامولسیون‌ها را می‌توان به گونه‌ای طراحی کرد که پایداری جنبشی خوب و کدورت کم داشته باشد و برای طیف وسیعی از کاربردهای تجاری ازقبیل نگهدارنده‌ها در غذاها، نوشیدنی‌ها، لوازم آرایشی و دارویی مناسب باشد (Solans *et al*. 2005).

در تحقیق حاضر تیمارهای نانوامولسیون‌های اسانس مزره و اسانس نعناع‌فلفلی در غلظت٪۰/۱ در ترکیب با پوشش کتیرا بیشترین تاثیر را در مهار پوسیدگی پنیسیلیومی میوه گوجه فرنگی طی ۲۰ روز انباری نشان داده و در خور توجه می باشند. طبق تحقیقات مشخص شده است که اسانس‌های کپسوله‌شده زمانی که تحت شرایط طبیعی (غیر آزمایشگاهی) مورد استفاده قرار گرفتند عملکرد بهتری نشان داده و در غلظت ۸۰۰ پی‌پی‌ام رشد قارچ *A. flavus* را مهار کردند در حالی که امولسیون‌ها در محدوده غلظت آزمایش‌شده (تا ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام) قادر به مهار کامل نبودند (Beyki *et al*. 2014).

در تحقیق ما تأثیرات مثبت پوشش کتیرای حاوی نانوامولسیون‌های اسانس مرزه خوزستانی و نعناع‌فلفلی روی برخی شاخص‌های کیفی از قبیل سفتی میوه و همچنین TSS مشخص شد. مشابه آن، در تحقیقات متعددی گزارش شده است که پوشش اسانس روی میوه در محافظت از خصوصیات فیزیکوشیمیایی از قبیل سفتی، اسیدیته قابل تیتراسیون، pH، کاهش وزن، سرعت تنفس و محتویات فنلی کل میوه، همراه با حفظ ویژگی‌های ارگانولپتیک و کیفیت تغذیه ای آن موثر است (Sozer & Kokini 2009).

فعالیت آنتی اکسیدانی قوی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از قبیل کارواکرول (ترکیب اصلی اسانس در *Satureja* spp.) ممکن است ماندگاری غذا و میوه‌های تازه را افزایش دهد (Tajkarimi *et al*. 2010). با این حال، اسانس‌ها در غلظت بالا می‌تواند خواص حسی مواد غذایی را تغییر دهند (Gyawali & Ibrahim 2014). روش نانو پراکندگی، برای غلبه بر این چالش معرفی شده است (Shah *et al*. 2012; Shah *et al*. 2013; Xue *et al*. 2013) و برای مثال فعالیت ضد میکروبی اوژنول و تیمول را در مواد غذایی با روش نانو پراکندگی بهبود داده شده است. در تمام سیستم‌های غذایی آزمایش‌شده، اسانس‌های محصورشده در ساختار نانوکپسول، نسبت به اسانس‌های آزاد به طور یکنواخت‌تر توزیع می‌شوند، در نتیجه اثر ضد میکروبی بالاتری را به همراه دارد (Gyawali & Ibrahim 2014).

پوشش‌های پلیمری با ایجاد یک مانع روی سطح میوه، دسترسی آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز درون سلول به اکسیژن را محدود می‌کنند و بنابراین از اکسیداسیون و مصرف فنلها در طول دوره نگهداری جلوگیری می‌کنند (Fernandez-Panchon 2008). بنابراین جلوگیری از روند کاهشی میزان فنل کل میوه تیمار شده با کتیرا یک درصد +نانوامولسیون اسانس احتمالا ناشی از اثر هم افزایی بین پلی ساکارید پوشش دهنده میوه و اسانس گیاهی باشد.

به هر حال میوه گوجه‌فرنگی به‌ویژه در مراحل پس از برداشت، مستعد پوسیدگی قارچی است و اخیراً استفاده از اسانس‌های گیاهان دارویی به عنوان جایگزینی برای قارچ‌کش-های شیمیایی برای بهبود ماندگاری میوه مطرح شده است. در مطالعه ما گرچه اسانس مرزه خوزستانی (غنی از کارواکرول) و اسانس نعناع‌فلفلی (غنی از منتون و منتول) از پتانسیل بالایی در مهار قارچ‌های پوسیدگی میوه برخوردار بودند و در غلظت بالا توانستند پوسیدگی میوه را به طور کامل مهار کند، اما ممکن است باعث اثر ارگانولپتیک (از دست دادن خواص کیفی) میوه شود. برای غلبه بر این چالش، سیستم تحویل آهسته-رهایش اسانس در مقیاس نانو با افزایش فعالیت ضد قارچی در دوز کمتر، کارایی اسانس‌ها را افزایش می‌دهد تا خواص کیفی میوه را کاهش ندهد. علاوه بر این، سیستم نانو امولسیون محدودیت های دیگر اسانس از جمله حلالیت ضعیف در آب و طعم نامطلوب و همچنین ناپایداری شیمیایی و فیزیکی آن را بهبود می بخشد. در نهایت، گرچه پوشش کتیرا حاوی نانو امولسیون اسانس نعناع‌فلفلی و یا مرزه خوزستانی به عنوان یک قارچ کش پایدار و دوستدار محیط زیست از طریق ایجاد پوشش روی سطح میوه و اعمال خواص ضدقارچی و آنتی اکسیدانی، جهت کنترل پوسیدگی پس از برداشت و افزایش ماندگاری میوه گوجه‌فرنگی توصیه می‌شود، ضرورت انجام آزمایش و ارزیابی شاخص‌های حسی از قبیل عطر، طعم و رنگ این میوه‌های تیمار شده برای تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود.

References

Adams RP, 2007. Identification of essential oils components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectrometry. 4th edition, Allured Publishing Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois. 804 pp.

Al-Mariri A, Safi M, 2014. *In vitro* antibacterial activity of several plant extracts and oils against some Gram-negative bacteria. *Iran Journal of Medical Science* 39: 36–43.

Ardalan F, 2014. Formulation of nano-emulsions from essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* in treatment of *Helicobacter pylori* infection. Master of Science thesis, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University. Pp.72. (In Persian with English abstract).

Atrash A, Ramezanian A, Rahemi M, 2018. Antifungal Effects of Savory Essential Oil, Gum Arabic, and Hot Water in Mexican Lime Fruits. *Hortscience* 53(4): 524–530.

Aumelas A, Serrero A, Durand A, Dellacherie E, Leonard M, 2007. Nanoparticles of hydrophobically modified dextrans as potential drug carrier systems. *Colloids Surf B Biointerfaces* 59(1): 74–80.

Beykia M, Zhaveha S, Khalilib S T, Rahmani-Cheratic T, Abollahic A, 2014. Encapsulation of *Menha piperita* essential oils in chitosan–cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Industrial Crops & Products* 54: 310–319.

British Pharmacopoeia, 2015. Vol. IV. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA), London. 762 pp.

Chang Y, McLandsborough L, McClements D, 2012. Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nanoemulsions: Influence of ripening inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (48): 12056–12063.

Chang Y, McLandsborough L, McClements DJ, 2013. Physicochemical properties and antimicrobial efficacy of carvacrol nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 61 (37): 8906–8913.

Enayati S, Davari M, Habibi-Yangjeh A, Ebadollahi A, 2023. Mycelial inhibitory effects of five essential oils and two antagonistic *Trichoderma* species against some plant pathogenic *Fusarium* species. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11 (4): 29–42.

FAO. 2021. FAOSTAT: Crops. In: FAO. Rome. fao.org/faostat/en/#data/QC

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

Fernandez-Panchón MS, Villano D, Troncoso A, M García-Parrilla MC, 2008. Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. *Critical Reviews in Food Science* 48: 649–671.

Ghaderi L, 2014. Formulation of nanoemulsions from essential oil of *Thymus daenensis* in treatment of sinusitis. Master of Science thesis, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University. Pp.96. (In Persian with English abstract)

Gyawali R, Ibrahim SA, 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Journal of Food Control* 46: 412–429.

Huang R, Li GQ, Zhang J, 2011. Control of postharvest Botrytis fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology* 101 (7): 859–869.

Kader AA, 2004. Increasing food availability by reducing postharvest losses of fresh produce. *V International Postharvest Symposium* 682: 2169–2176.

Kanetis L, Förster H, Adaskaveg, J E, 2007. Comparative efficacy of the new postharvest fungicides azoxystrobin, fludioxonil, and pyrimethanil for managing citrus green mold. *Plant Disease*. 91:1502–1511.

Matan N, Rimkeeree H, Mawson A, Chompreeda P, Haruthaithanasan V, Parker M, 2006. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *International Journal of Food Microbiology* 107(2): 180–185.

Mazumdar BC, 2003. Methods on physico-chemical analysis of fruit, Daya Publishing House, Delhi. 187pp.

McClements DJ, 2016. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques. 3rd ed. New York: CRC Press Publ. 1–26.

Mckay DL, Blumberg JB, 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.)". *Phytotherapy Research Protection*. 20(7): 519–530.

Moghimi R, Ghaderi L, Rafati H, Aliahmadi A, McClements DJ, 2016. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Journal of Agricalture & Food Chemistry* 194: 410–415.

Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H, 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control* 18 (12): 1518–1523.

Onyuksel H, Krishnadas A, Rubinstein I, 2003. Sterically stabilized phospholipid mixed micelles: *In*

vitro evaluation as a novel carrier for water-insoluble drugs. *Pharmaceutical Research* 20(2): 297–302.

Pandey S, Ashutosh VP, Tripathi A, Kumari M, Narayan S, 2020. Early blight disease management by herbal nanoemulsion in *Solanum lycopersicum* with bio-protective manner. *Industrial Crops Products* 150: 112– 121.

Pourhossein-Alamdary M, 2012. Design formulation of *Satureja khuzistanica* essential oil nano-emulsions in treatment of sinusitis. MSc thesis, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Pp.116. (in Persian with English abstract).

Reddy M, Angers VB, Gosselin PA, Arul J, 1998. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Photochemistry* 47 (8): 1515– 1520.

Sanjarian M, Rakhshandehroo F, Rezaee S, 2021. The effect of persian lilac and fig plant crude aquatic and ethanolic extracts on disease caused by *Cucumber mosaic virus* in cucumber (*Cucumis sativus*) plants under greenhouse condition. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (2): 47–61.

Shah B, Davidson, PM, Zhong QJA, 2012. Nano-dispersing thymol for enhanced dispersibility and antimicrobial effectiveness against *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* in model food systems. Applied *Environmental Microbiology* 78(23): 8448–53.

Shah B, Davidson PM, Zhong QJ, 2013. Antimicrobial activity of nanodispersed thymol in tryptic soy broth. *Journal of Food Protection*.76 (3): 440–447.

Sharifi-tehrani A, Farzaneh M, 2018. Fungicides (history, mode of action, resistance and application in plant protection), University of Tehran, Tehran. (in Persian). 443pp.

Slinkard K, Singleton VL, 1977. Total phenol analyses:

Aautomation and comparison with manual methods. American. *Journal of Enology & Viticulture* 28: 49–55.

Sokovic M, van Griensven, LJLD, 2006. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *European Journal of Plant Pathology* 116: 211–224.

Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar N, Garcia-Celma M J, 2005. Nano-Emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 10(3–4): 102–110.

Sozer N, Kokini, JL, 2009. Nanotechnology and its applications in the food sector. *Journal of Colloid & Interface Science* 27(2): 82–89.

Stević T, Berić T, Katarina Šavikin K, Soković M, Gođevac D, 2014. Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant. *Industrial Crops & Products* 55: 116–122.

Tajkarimi M, Ibrahim SA, Cliver DJ, 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Journal of Food Control* 21(9): 1199–1218.

Tripath P, Dubey NK, Shukla AK, 2008. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mold of grapes caused by *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 21(1): 1 39–46.

Valková V, úranová H Dˇ, Vukovic N L, Vukic M, Kluz M, Kaˇcániová M, 2022. Assessment of chemical composition and anti-penicillium activity of vapours of essential oils from *Abies alba* and Two Melaleuca Species in Food Model Systems. *Molecules* 27: 3101.

Wills R, Golding J, 2016. Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables. 6th edition, CABI, Boston, USA. 320 pp.

Xue Y, Liu Q, He G, Xu K, Jiang L, 2013. Excellent electrical conductivity of the exfoliated and fluorinated hexagonal boron nitride nanosheets. *Nanoscale Research* Letter 8: 49.

Znidarcic, D., Ban, D., Oplanic, M., Karic, L. Pozrl, T, 2010. Influence of postharvest temperatures on physicochemical quality of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Food Agriculture & Environmental* 8(1): 21–25.

This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)