

تأثیر نانوامولسیون اسانس دارچین در کاهش پوسیدگی‌های پس از برداشت میوه توت‌فرنگی

۱. حمیدرضا علیزاده*؛ ۲. محسن فرزانه؛ ۳. ذبیح‌الله اعظمی

۱ و ۳. استادیاران گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت

۲. استادیار گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، اوین - تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۷/۲۱)

چکیده

کاربرد اسانس‌ها در کنترل بیمارگرهای گیاهی عموماً به دلیل محلولیت پایین در آب، فشار بخار بالا و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی با دشواری‌هایی همراه است. یکی از روش‌های به‌حداقل رساندن این تأثیرات، استفاده از سیستم نانوامولسیون است. افزون بر این ضمن سهولت کاربرد و پایداری باعث افزایش خواص ضد میکروبی نیز می‌شود. در این تحقیق، پس از تهیه اسانس دارچین (Cinammon zeylanicum)، نانوامولسیون اسانس تهیه و مشخصات فیزیکی و شیمیایی آن مشخص شد. اندازه ذره‌ای نانوامولسیون ۱۱۵/۳۳±۳/۹۷ نانومتر تعیین شد. امولسیون و نانوامولسیون اسانس به‌همراه قارچ‌کش تیابندازول در غلظت‌های مختلف ماده مؤثره برای کنترل قارچ‌های *Rhizopus stolonifer* و *Botrytis cinerea* عامل پوسیدگی میوه توت‌فرنگی مطالعه شدند. نتایج در محیط کشت جامد PDA نشان داد که امولسیون و نانوامولسیون اسانس دارچین تفاوت معنی‌داری در فعالیت ضد قارچی نداشت و علیه قارچ‌های *B. cinerea* و *R. stolonifer* به ترتیب حداقل غلظت بازدارندگی کامل برابر ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر ماده مؤثره در لیتر محیط کشت نشان دادند. نتایج روی میوه نشان داد که نانوامولسیون اسانس نسبت به امولسیون اسانس، تأثیر بیشتری در کاهش پوسیدگی‌های قارچی میوه توت‌فرنگی دارد. در بالاترین غلظت کاربردی (۲ در هزار)، بین تیابندازول با نانوامولسیون اسانس دارچین تفاوت معنی‌دار در کاهش پوسیدگی ریزوپوسی میوه مشاهده نشد. در کنترل پوسیدگی خاکستری میوه ناشی از *B. cinerea*، نانوامولسیون دارچین در غلظت‌های ۲ در هزار و ۱ در هزار به ترتیب با ۳/۳۳ و ۵/۸۳ درصد پوسیدگی خاکستری میوه، بیشترین تأثیر را در کاهش پوسیدگی داشت. نانوامولسیون اسانس دارچین برای ساخت قارچ‌کش‌های طبیعی می‌تواند توصیه شود.

کلیدواژگان: اسانس دارچین، توت‌فرنگی، کنترل پوسیدگی قارچی، نانوامولسیون.

مقدمه

بسیار فسادپذیر باشد و طول عمر پایینی داشته باشد. بنابراین، کاربرد سموم شیمیایی برای کاهش خسارت ناشی از عوامل بیماری‌زای گیاهی پس از برداشت اجتناب‌ناپذیر است (Behnamian and Masiha 2002). استفاده از قارچ‌کش‌ها بهترین راه کنترل بیماری‌های پس از برداشت

گیاه توت‌فرنگی به خانواده Rosaceae و جنس *Fragaria* تعلق دارد که حساسیت آن به پوسیدگی‌های قارچی به‌خصوص *Rhizopus stolonifer* و کپک خاکستری حاصل از *Botrytis cinerea* باعث شده است که یکی از میوه‌های

در این تحقیق سعی شده است که برای به حداقل رساندن ضایعات میوه توت‌فرنگی بین محل تولید تا مصرف و کاهش باقیمانده سموم شیمیایی، تأثیر امولسیون و نانوامولسیون اسانس گیاه دارویی و ادویه‌ای دارچین بر کنترل پوسیدگی رایزوپوسی و کپک‌خاکستری میوه توت‌فرنگی بررسی شود تا در صورت حصول نتایج مطلوب، بتوان از آن به‌عنوان جایگزین قارچ‌کش‌های شیمیایی در کاهش ضایعات پس از برداشت میوه توت‌فرنگی بهره برد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی و استخراج اسانس

پوست خشک‌شده درخت دارچین از عطاری تهیه و با آسیاب خرد شد. سپس، اسانس آن به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر^۵ به مدت سه ساعت استخراج شد. استخراج اسانس برای هر نمونه در سه تکرار و برای هر تکرار ۵۰ گرم نمونه گیاهی استفاده شد. اسانس به‌دست‌آمده به کمک سولفات سدیم خشک‌آبگیری و در شیشه‌های تیره در دمای ۴ درجه سلسیوس درون یخچال تا زمان آنالیز و بررسی آزمون ضد قارچی نگهداری شد.

تهیه فرمولاسیون نانوامولسیون اسانس

فرمولاسیون نانوامولسیون اسانس دارچین (حاوی ۱۰ درصد اسانس)، از گروه مهندسی شیمی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد (Ardalan 2014). برای تهیه نانو ذرات اسانس از دستگاه پروب شرکت امواج فراصوت، با ژنراتور مدل MTI سوئیس، ۴۰۰ وات، ۲۲۰ ولت، فرکانس ۲۰/۵ کیلوهرتز، دامنه ۳۰ درصد و قطر پروب ۱۹ سانتی‌متر استفاده شده بود. برای تهیه نانوامولسیون از اسپن^۶، تویین ۸۰^۷ و ولسیتین^۸ استفاده شده بود. در انتها، ظروف حاوی نانوامولسیون به‌خوبی پوشانده و در دمای یخچال و دور از نور نگهداری شدند.

است. سم‌پاشی میوه‌ها پیش از برداشت با بنومیل^۱ و بلافاصله پس از برداشت با تیابندازول^۲، شستن میوه‌ها با سدیم اورتوفنیل فئات^۳ یا ایمزالیل^۴ به‌صورت محلول یا تیمارهای واکسی در خطوط بسته‌بندی و جعبه‌زنی کارخانه‌ها رایج‌ترین روش کنترل بیماری‌های پس از برداشت هستند (Narayanasamy 2006). کاربرد این سموم شیمیایی، زیان‌هایی چون مسمومیت حاد یا مزمن برای موجودات غیرهدف از جمله انسان در پی دارد که با خاصیت تجمعی در بدن موجودات زنده یا خاصیت سرطان‌زایی همراه است. از طرف دیگر افزایش مقاومت به قارچ‌کش مورد استفاده در جمعیت بیمارگرهای پس از برداشت نیز یک مشکل جدی است (Barkai-Golan 2001, Ill and Kruger 1999).

امروزه، به‌دلیل توجه ویژه به سلامتی انسان و محیط زیست، انگیزه‌ها برای یافتن روش‌های جایگزین سموم بسیار بیشتر شده است. بنابراین، تقویت هرچه بیشتر روش‌های طبیعی و استفاده از فرآورده‌های گیاهی که خاصیت ضد قارچی دارند نیز بسیار مورد توجه است (Gyawali and Ibrahim 2014). اسانس‌ها به‌دلیل تأثیرگذاری در فاز بخار، امکان کنترل بیماری‌های پس از برداشت محصولات کشاورزی و غذایی را به صورت تدخینی نیز فراهم می‌کنند (Paster et al. 1995, Hammer et al. 1999, Tripathi et al. 2008).

مصرف اسانس‌ها عموماً به‌دلیل محلولیت پایین در آب، فشار بخار بالا و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی با دشواری‌هایی در کاربرد همراه است (Ardalan 2014). علاوه بر این، اسانس‌ها در محصولات ایجاد بو و مزه می‌کنند که این امر خوشایند مصرف‌کنندگان نیست؛ بنابراین، امروزه تلاش می‌شود تا تأثیرات نامطلوب اسانس‌ها کاسته شود. یکی از روش‌های به‌حداقل‌رساندن این تأثیرات نامطلوب، استفاده از نانوامولسیون آن‌هاست که سبب افزایش پایداری ترکیبات فرار، محافظت آن‌ها در برابر تأثیرات متقابل با سایر ترکیبات و افزایش خواص ضد میکروبی از طریق افزایش جذب سلولی می‌شود (Donsi et al. 2011).

5. Clevenger
6. Span 80
7. Tween 80
8. Lecithin

1. Benlate
2. TBZ
3. SOPP
4. Lmazalil

قارچ‌های مذکور تهیه شدند و یک دیسک قارچ در قسمت وسط ظروف پتری حاوی محیط کشت قرار داده شد. پتری‌های مایه‌زنی در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از گذشت بیست و چهار ساعت، رشد رویشی هاله قارچ تا زمانی اندازه‌گیری شد که سطح محیط کشت پتری‌های شاهد توسط قارچ به‌طور کامل اشغال شد. در انجام این آزمایش برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

بررسی خاصیت ضد قارچی روی میوه توت‌فرنگی

میوه‌های توت‌فرنگی (یکسان از نظر اندازه و شاخص رسیدگی) رقم سلوا^۲، بدون هرگونه عارضه فیزیکی و شیمیایی از گلخانه‌ای واقع در شهر جدید هشتگرد، استان البرز، تهیه شدند. برای ضدعفونی سطحی، میوه‌ها در هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد به مدت ۳۰ ثانیه غوطه‌ور و سپس، دوبار با آب مقطر سترون شست‌وشو شدند. پس از خشک‌شدن، در شرایط سترون طی دو آزمایش جداگانه در سوسپانسیون اسپور قارچ *R. stolonifer* و سوسپانسیون اسپور *B. cinerea* (به غلظت ۱۰^۴ اسپور در هر میلی‌لیتر آب مقطر سترون) به مدت یک دقیقه فرو برده شدند. سپس، غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد از امولسیون و نانوامولسیون اسانس (معادل ۰/۵، ۱ و ۲ در هزار ماده موثره اسانس) در آب مقطر سترون تهیه و میوه‌های مایه‌زنی‌شده، به روش محلول‌پاشی تیمار شدند.

قارچ‌کش تیا بندازول^۳ (تکتو ۶۰) در آب مقطر سترون (در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ در هزار ماده موثره) به‌عنوان شاهد به کار برده شد. دیگر تیمارهای شاهد شامل آلوده (میوه‌های سالم مایه‌زنی‌شده با اسپور بیمارگر+محلول‌پاشی با آب مقطر سترون حاوی ۰/۵ درصد توپین ۸۰) و شاهد سالم (میوه‌های سالم+محلول‌پاشی با آب مقطر سترون حاوی ۰/۵ درصد توپین ۸۰) بودند (Lee et al. 2007). هر پنج عدد میوه به‌عنوان یک تکرار در ظرف پلاستیکی شفاف به ابعاد ۱۴×۱۱×۱۴ سانتی‌متر قرار داده شد (Reddy et al. 1997). آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. درصد پوسیدگی ریزوپوسی در میوه‌های

تعیین اندازه ذره‌های نانوامولسیون‌ها

اندازه ذره‌های نانوامولسیون تهیه‌شده به کمک دستگاه DLS^۱ تعیین شد. همچنین، محدوده توزیع ذرات به کمک دستگاه به‌دست آمد (Ghaderi 2014).

تهیه زادمایه بیمارگر

دو قارچ عامل پوسیدگی پس از برداشت میوه توت‌فرنگی *SBU205 B. cinerea* و *R. stolonifer SBU204* از کلکسیون میکروبی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهیه شدند. برای تهیه زادمایه جدایه مورد نظر، از کشت یک هفته‌ای آن روی محیط PDA نگه‌داری‌شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره نوری معمولی (دوازده ساعت روشنایی، دوازده ساعت تاریکی) استفاده شد. سوسپانسیون اسپور در آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توپین ۸۰ تهیه و سپس، به کمک هماسیتومتر به غلظت ۱۰^۴ اسپور در هر میلی‌لیتر آب مقطر سترون تعیین شد.

بررسی اثر ضد قارچی امولسیون و نانوامولسیون اسانس در آزمایشگاه

اثر ضد قارچی امولسیون و نانوامولسیون اسانس دارچین روی قارچ‌های عامل کپک‌خاکستری و پوسیدگی نرم توت‌فرنگی به روش اختلاط اسانس با محیط کشت PDA بررسی شد. به این منظور از اسانس مورد نظر در محلول توپین ۸۰ (۰/۵ درصد)، امولسیون ۱۰ درصد تهیه شد. همچنین، محلول توپین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA پس از اتوکلاو، در دمای اتاق قرار داده شدند تا دمای آن‌ها به ۴۲-۴۵ درجه سلسیوس تنزل یابد. غلظت‌های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد از امولسیون و نانوامولسیون اسانس که به ترتیب معادل ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر اسانس در لیتر است، به‌طور جداگانه در فلاسک‌های حاوی محیط PDA تهیه و به هم زده شدند تا یکنواخت شوند. محیط‌های حاصل بلافاصله درون ظروف پتری به قطر ۹ سانتی‌متری تقسیم و اجازه داده شدند تا محیط جامد شود. سپس، دیسک‌های قارچی به قطر ۵ میلی‌متر توسط چوب‌پنبه سوراخ‌کن از کشت‌های جوان

2. Selva

3. Thiabendazole (Tecto 60®)

1. Dynamic Light Scattering

تجزیه و تحلیل آماری

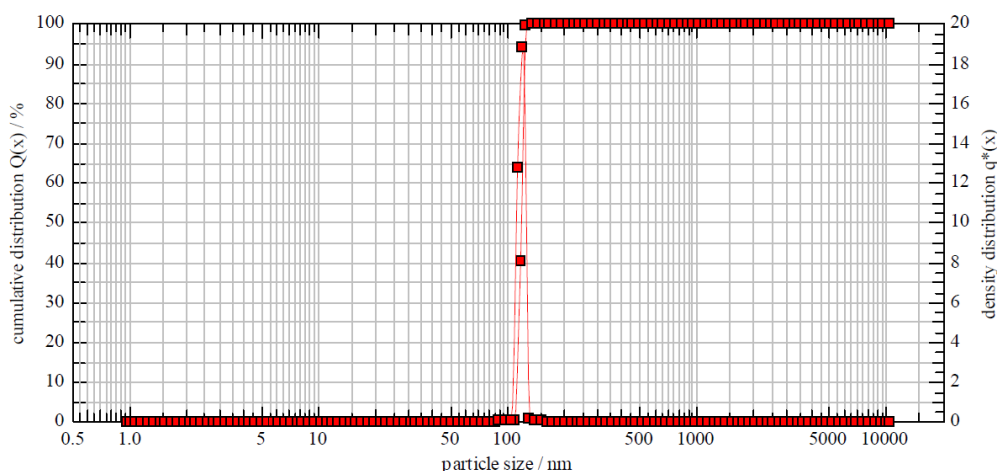
برای تجزیه داده‌ها از دو نرم‌افزار به تفکیک کارهای مورد نیاز استفاده شد. در ابتدا، نرمال بودن داده‌ها به کمک نرم‌افزار Mini-tab مشخص شد. برای تجزیه واریانس از نرم‌افزار SAS و به روش GLM استفاده شد. پس از تجزیه واریانس، میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۱ و ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

بررسی پراکنش اندازه ذرات نانومولسیون تهیه‌شده

طبق شکل ۱، میانگین اندازه ذرات نانومولسیون دارچین برابر با $115/33 \pm 3/97$ نانومتر است. محدوده توزیع اندازه ذره‌ای نیز در نانومولسیون دارچین $15/56 \pm 3/90$ است. هرچه محدوده توزیع اندازه ذره‌ای حاصل بیشتر باشد، نانومولسیون ناپایدارتر است، نانومولسیون‌ها به‌طور معمول با دو مکانیسم مجزای برگشت‌ناپذیر ناپایدار می‌شوند.

توت‌فرنگی پس از پنج روز نگهداری و درصد پوسیدگی خاکستری پس از ده روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد. آلودگی هر میوه براساس میزان لهیدگی و پوسیدگی سطح میوه بود؛ بدین‌صورت که هر میوه به هشت قسمت تقسیم شد، علایم بیماری در هر قسمت برابر با ۱۲/۵ درصد برآورد شد (Huang et al. 2011). به عبارتی شدت بیماری میوه‌های توت‌فرنگی آلوده‌شده بین ۰ تا ۸ ارزیابی شد. عدد صفر نشان‌دهنده میوه سالم و اعداد ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ به‌ترتیب نشان‌دهنده پوسیدگی کمتر از ۱۲/۵ درصد، بین ۱۲/۵ تا ۲۵ درصد، بین ۲۵ تا ۳۷/۵ درصد، بین ۳۷/۵ تا ۵۰ درصد، بین ۵۰ تا ۶۲/۵ درصد، بین ۶۲/۵ تا ۷۵ درصد، بین ۷۵ تا ۸۷/۵ درصد و بیش از ۸۷/۵ درصد است. در تمامی تیمارها میزان آلودگی میوه ثبت شد و میزان کنترل در تیمارهای مختلف با استفاده از نسبت میزان آلودگی در تیمار به میزان آلودگی در شاهد آلوده و کاستن آن از عدد ۱ محاسبه شد.



شکل ۱. میانگین اندازه ذره‌ای و توزیع اندازه ذره‌ای نانومولسیون (برحسب نانومتر) به‌دست‌آمده از دستگاه DLS

با توجه به نتایج، امولسیون و نانومولسیون اسانس دارچین با حداقل غلظت بازدارندگی کامل برابر ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر محیط کشت، فعالیت ضد قارچی علیه قارچ *B. cinerea* نشان داد؛ در حالی‌که، علیه قارچ *R. stolonifer* در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر محیط کشت، بازدارندگی کامل نشان داد (جدول ۱). نتایج به‌دست‌آمده از واکنش دیسک‌های قارچی در تیمارهایی که رشد قارچی در آنها مشاهده نشد

بررسی اثر ضد قارچی امولسیون و نانومولسیون اسانس در آزمایشگاه

نتایج به‌دست‌آمده از بررسی اثر ضد قارچی امولسیون و نانومولسیون اسانس دارچین بر رشد قارچ‌ها نشان داد که به‌طور کلی با افزایش غلظت اسانس، میزان فعالیت ضد قارچی افزایش یافت. میزان شدت افزایش خاصیت بازدارندگی روی قارچ *B. cinerea* مشهودتر بود (جدول ۱).

به منظور بررسی قارچ کش یا قارچ ایستابودن غلظت اسانس، نشان داد امولسیون و نانوامولسیون اسانس دارچین در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر ماده مؤثره در لیتر محیط کشت، فعالیت قارچ کشی علیه هر دو قارچ دارد.

جدول ۱. بررسی تأثیر غلظت های مختلف امولسیون و نانوامولسیون اسانس دارچین در بازدارندگی از رشد قارچ های *Botrytis cinerea* و *Rhizopus stolonifer* در محیط کشت PDA

درصد بازدارندگی		ماده مؤثره (میکرولیتر در لیتر)	تیمار
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>		
۴۳/۲۲±۰/۲۵	۳/۰۷±۰/۳۲	۱۲۵	امولسیون اسانس
۶۴/۸۷±۰/۸۳	۲۸/۴۳±۰/۹۱	۲۵۰	
۱۰۰ nd	۶۴/۸±۰/۹۸	۵۰۰	
۱۰۰ nd	۱۰۰ nd	۱۰۰۰	
۴۸/۰۲±۰/۴۶	۹/۲۱±۰/۱۸	۱۲۵	نانوامولسیون اسانس
۶۹/۱۲±۰/۸۲	۴۴/۷۴±۰/۷۵	۲۵۰	
۱۰۰ nd	۷۰/۳۳±۱/۰۲	۵۰۰	
۱۰۰ nd	۱۰۰ nd	۱۰۰۰	

nd نشان دهنده نبودن پرگنه قارچی قابل اندازه گیری است. هر عدد میانگین سه تکرار است.

در غلظت های ۱ و ۲ در هزار بیشترین میزان بازدارندگی از پوسیدگی خاکستری میوه را نشان دادند و با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند، اما با سم تیابندازول تفاوت معنی دار داشتند. نانواسانس دارچین در غلظت ۲ در هزار با شاهد سالم که میزان آلودگی میوه در آن صفر درصد بود، تفاوت معنی دار نشان نداد. قارچ کش تیابندازول در بالاترین غلظت (۲ در هزار) با ۱۰/۸۳ درصد آلودگی میوه، تأثیر کمتری نسبت به نانوامولسیون نشان داد.

بررسی کارایی امولسیون و نانوامولسیون اسانس در کاهش پوسیدگی خاکستری میوه توت فرنگی
میزان پوسیدگی خاکستری میوه در شاهد آلوده برابر با ۹۸/۳۳ درصد محاسبه شد. طبق نتایج حاصل از جدول ۲، از نظر میزان پوسیدگی خاکستری میوه، بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. به طور کلی با افزایش غلظت امولسیون و نانوامولسیون اسانس فعالیت ضد قارچی افزایش یافت. امولسیون اسانس در غلظت ۲ در هزار و نانواسانس

جدول ۲. مقایسه میانگین تأثیر غلظت های مختلف نانوامولسیون اسانس دارچین بر کاهش میزان پوسیدگی میوه توت فرنگی ناشی از *Botrytis cinerea* پس از ده روز نگهداری در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس

میزان آلودگی میوه (%)				تیمار
۲ در هزار	۱ در هزار	۰/۵ در هزار	ماده مؤثره:	
۵/۸۳±۱/۶۹ fg	۱۰/۸۳±۱/۶۹ e	۴۱/۷±۱/۶۹ b		امولسیون اسانس
۳/۳۳±۰/۸۵ g	۵/۸۳±۱/۴۷ fg	۱۲/۵۰±۱/۴۷ d		نانوامولسیون اسانس
۹۷/۵۰±۰/۸۵ a	۹۶/۶۶±۰/۸۵ a	۹۸/۳۳±۰/۸۵ a		تویین ۸۰ (۰/۰۵ درصد)
۱۰/۸۳±۱/۶۹ e	۱۳/۳۳±۰/۸۵ e	۲۲/۵۰±۲/۵۴ c		تیابندازول

* هر عدد میانگین سه تکرار است

** حروف غیر متشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح $p \leq 0.05$ است.

درصد داشتند (جدول ۳). نتایج حاصل از بررسی اسانس ها در کاهش پوسیدگی ناشی از *R. stolonifer* در روز پنجم پس از انبارداری نشان داد، به طور کلی با افزایش غلظت اسانس، فعالیت ضد قارچی افزایش یافت

بررسی کارایی امولسیون و نانوامولسیون اسانس در کاهش پوسیدگی رایزوپوسی میوه توت فرنگی
امولسیون و نانوامولسیون اسانس اثر معنی داری بر میزان آلودگی ناشی از قارچ *R. stolonifer* در سطح احتمال ۱

غلظت، فعالیت ضد قارچی افزایش یافت، به طوری که نانوامولسیون دارچین در غلظت ۲ در هزار با ۱۲/۵ درصد آلودگی، بیشترین میزان کنترل را نشان داد.

و اسانس در غلظت ۲ در هزار بیشترین میزان بازدارندگی از رشد قارچ را نشان داد که با سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌دار داشت. در نانو اسانس‌ها نیز با افزایش

جدول ۳. مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف امولسیون و نانوامولسیون اسانس دارچین بر کاهش میزان پوسیدگی نرم میوه توت‌فرنگی ناشی از *Rhizopus stolonifer* پس از پنج روز نگهداری در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس

میزان آلودگی میوه (%)			تیمار	ماده مؤثره
۲ در هزار	۱ در هزار	۰/۵ در هزار		
۳۱/۶۶±۱/۶۹ e	۶۳/۳۳±۲/۲۴ d	۹۱/۶۶±۰/۸۵ a	امولسیون اسانس	
۱۲/۵۰±۱/۴۷ g	۶۵/۰۰±۱/۴۷ d	۹۱/۶۶±۲/۲۴ a	نانوامولسیون اسانس	
۹۱/۶۶±۲/۲۴ a	۹۱/۶۶±۲/۲۴ a	۹۱/۶۶±۲/۲۴ a	توبین ۸۰ (۰/۰۵ درصد)	
۱۹/۱۶±۳/۰۶ f	۶۹/۱۶±۰/۸۵ c	۸۷/۵۰±۱/۴۷ b	تیابندازول	

حروف غیر متشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $p \leq 0.05$ است.

* میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD بدون اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

کنترل پوسیدگی‌های خاکستری و رایزوپوسی میوه توت‌فرنگی نشان داد. اثر اسانس در جلوگیری از رشد قارچ مربوط به وجود مواد مؤثره آن‌هاست. نتایج آنالیز اسانس نشان داده است که ترکیب غالب اسانس دارچین ماده سینامالدهید است که خاصیت ضد قارچی و ضد میکروبی آن ثابت شده است (Bendahou et al. 2008, Tajkarimi et al. 2010). متأسفانه، مصرف اسانس‌ها عموماً به دلیل محلولیت پایین در آب، فشار بخار بالا و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی با دشواری‌هایی در کاربرد همراه است. همچنین، اسانس‌ها تأثیرات ارگانولپتیک نیز دارند و در محصولات ایجاد بو و مزه می‌کنند (Hyldgaard et al. 2012). یکی از روش‌های به حداقل رساندن این تأثیرات، استفاده از نانوامولسیون آن‌هاست که با توجه به کوچک‌تر بودن اندازه ذرات در افزایش پایداری و نیمه عمر ماده مؤثره و سهولت رسیدن به موضع اثر نقش مهمی دارد. افزون بر این ضمن سهولت کاربرد (امولسیون‌شدن آسان و سریع)، باعث افزایش خواص ضد میکروبی از طریق افزایش جذب سلولی می‌شود (Donsi et al. 2011). از طرفی اندازه ذره‌ای نانوامولسیون معیاری برای میزان پایداری آن است، هرچه اندازه ذره‌ای بزرگ‌تر و محدوده توزیع اندازه ذره‌ای حاصل بیشتر باشد، نانوامولسیون ناپایدارتر است؛ چون ذرات بزرگ‌تر به هم پیوسته‌اند و تجمع پیدا می‌کنند و باعث ناپایداری نانوامولسیون می‌شوند (Wilkinson 1994). در این تحقیق توزیع اندازه ذرات

بحث و نتیجه‌گیری

تولید و مصرف گیاهان دارویی در صنایع دارویی و غذایی به علت داشتن ترکیبات فعال بیولوژیک رو به گسترش است. علاوه بر این تحقیقات گسترده‌ای آغاز شده است که نشان می‌دهند، متابولیت‌های ثانویه برخی گیاهان دارویی در جلوگیری از رشد قارچ‌های بیمارگر گیاهی مؤثر و جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی هستند (Archer 2002). تاکنون، تأثیر اسانس‌های برخی گیاهان دارویی از قبیل مرزه، آویشن، دارچین، مرزنجوش، ریحان و غیره در کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه‌جات در انبار گزارش شده است (Ziedan and Farrag 2008, Tripathi et al. 2008, Defera et al. 2002, Bouchra et al. 2003, Chebli et al. 2004, Ozan, 2003, Vagelas et al. 2009, Tajkarimi et al. 2012, Charles et al. 2010). در ایران کاربرد اسانس‌هایی از قبیل ریحان، رازیانه، زیره سبز، مرزه، نعناقلی و آویشن در کنترل *B. cinerea* و *R. stolonifer* مؤثر شناخته شده است (Asghari-Marjanlo et al. 2008, Behnam et al. 2006, Farzaneh et al. 2007, Ranjbar et al. 2008). مشابه آن کاربرد اسانس‌های گیاهی از قبیل مرزنجوش و دارچین در آب شست‌وشوی سبزیجات، موفقیت زیادی در کنترل کپک‌ها و بیمارگرهای سبزیجات داشته است (Burt 2004, Goni et al. 2009). در این تحقیق نیز اسانس دارچین، فعالیت ضد قارچی چشمگیری در

در صنایع آرایشی - بهداشتی به کار می‌روند (Ghosh *et al.* 2013). این ذرات با دیواره سلولی بیمارگر آمیخته می‌شوند و تخریب آن‌ها را آغاز می‌کنند. این مکانیسم غیرتخصصی سبب ایجاد مقاومت در سویه‌ها نیز نمی‌شود. از طرفی درباره کاربرد شدن اسانس‌ها به‌عنوان قارچ‌کش‌های گیاهی، تهیه سیستم همگن آبی پایدار حاوی اسانس به‌منظور تسهیل استفاده تجاری آن ضروری است و سهولت کاربرد به‌واسطه رقیق کردن سریع امولسیون در آب توسط کشاورز و دیگر مصرف‌کنندگان امکان‌پذیر می‌شود (Seifi *et al.* 2014).

در پایان، براساس نتایج این پژوهش، نانوامولسیون دارچین برای کنترل قارچ‌های انباری میوه توت‌فرنگی در شرایط پس از برداشت پیشنهاد می‌شود. پس از تکمیل مطالعه تأثیرات آن روی خصوصیات کیفی میوه و حصول نتایج مطلوب، پیشنهاد می‌شود به‌عنوان جایگزین قارچ‌کش‌های شیمیایی پرمصرف در کاهش ضایعات پس از برداشت میوه توت‌فرنگی، به‌صورت تجاری تولید و استفاده شود.

سپاسگزاری

بودجه و امکانات این تحقیق از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه جیرفت، طرح شماره ۴-۹۲-۲۸۲۰، تأمین شده است. از همه عزیزانی که برای اجرای این تحقیق ما را یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

REFERENCES

- Ardalan F** (2014) Formulation of nanoemulsions 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)
- Asghari Marjanlo A, Mostofi Y, Shoeibi Sh, Fattahi M** (2008) Effect of basil essence on controlling gray rot and postharvest quality of strawberries. *Journal of Medicinal Plants*, 8(1): 131-139.
- Barkai-Golan R** (2001) *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables, Development and Control*. Elsevier Science B.V. Amsterdam 22: 39-46.
- Behnam S, Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Tehrani AS** (2006) Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavendula angustifolia* on post-harvest phytopathogenes. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 71: 1321-1326.
- Behnamian M, Masiha S** (2002) *Strawberry*. Sotodeh Publishing. Tabriz, Iran. Pp.120. (in Persian)
- Bendahou M, Muselli A, Grignon-Dubois M, Benyoucef M, Desjobert JM, Bernardini AF** (2008) Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydro distillation. *Food Chemistry* 106: 132-139.
- Bouchra C, Achouri M, Idrissi-Hassani LM, Hmamochi M** (2003) Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatea against *Botrytis cinerea* Pers : Fr. *Journal of Ethnopharmacology* 89: 165-169.
- Burt S** (2004) Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3): 223-253.

نانوامولسیون اسانس حدود ۱۱۵ نانومتر بود که نشان از پایداری آن است. نانوامولسیون اسانس‌ها از نظر خصوصیات ساختاری و فیزیکی با امولسیون آن‌ها تفاوت دارند. استفاده از کمک حلال‌ها در تهیه نانو ذرات اسانس‌ها، به تولید فرمولاسیونی با ویسکوزیته و پایداری مناسب منجر می‌شود (Mandal and Bera 2012). علاوه بر این، کوچک بودن اندازه ذرات نیز برای افزایش پایداری و نیمه عمر ماده مؤثره و سهولت رسیدن به موضع اثر بسیار مورد توجه است (Mason *et al.* 2006).

در این تحقیق، نانوامولسیون اسانس دارچین در مقایسه با اسانس، فعالیت ضد قارچی بیشتری در کنترل پوسیدگی خاکستری و پوسیدگی نرم میوه توت‌فرنگی نشان داد. مشابه نتایج ما، کارایی مؤثر نانوامولسیون اسانس‌های دارچین، مرزه خوزستانی و آویشن دنیایی در کنترل باکتری‌های بیمارگر انسانی به اثبات رسیده است (Ardalan 2014, Ghaderi 2014, Pourhossein-Alamdary 2012). همچنین، کاربرد نانوامولسیون‌های اسانس آویشن دنیایی و مرزه خوزستانی در کنترل پوسیدگی نرم رایزوپوسی توت‌فرنگی مؤثر شناخته شده است (Seifi *et al.* 2014).

نانوامولسیون‌ها به‌عنوان سیستم‌های انتقال مواد چربی‌دوست در صنایع داروسازی، به‌عنوان طعم‌دهنده و مواد آنتی‌باکتریال در صنایع غذایی، حل کردن آفت‌کش‌های نامحلول در آب در صنایع کشاورزی و به‌عنوان حامل‌های مراقبت از پوست و محصولات شخصی

- Charles A, Onyeani SO, Osunlaja OO, Oworu AO** (2012) Evaluation of effect of aqueous plant extract in the control of storage fungi. *International Journal of Science and Technology* 1(6): 72-82.
- Chebli B, Hmamouchi M, Achouri M, Idrissi-Hassani LM** (2004) Composition and in vitro fungitoxic activity of 19 essential oils against two post-harvest pathogens. *Journal of Essential Oils Research* 16: 507-511.
- Defera DJ, Zigas BN, Polission MG** (2002) The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection* 22: 39-44.
- Donsi F, Annuanziata M, Sessa M, Ferrari G** (2011) Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *Food Science and Technology* 44: 1908-1914.
- Farzaneh M, Ranjbar H, Hadian J, Mirjalili MH** (2007) Biological control of some postharvest diseases of strawberry fruit by essential oils. 59th international symposium on crop protection, Ghent University 273.
- 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)
- Ghosh V, Mukherjee A, Chandrasekaran N** (2013) Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrasonics Sonochemistry* 20(1): 338-344.
- Goni P, Lopez P, Sanchez C, Gomez-Lus R, Becerril R, Nerin C** (2009) Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry* 116: 982-89.
- Gyawali R, Ibrahim SA** (2014) Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* 46: 412-429
- Hammer KA, Carson CF, Riely TV** (1999) Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* 86: 985-990.
- Huang R, Li GQ, Zhang J, Yang L, Che HJ, Jiang DH, Huang HC** (2011) Control of postharvest Botrytis fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology* 101(7): 859-869.
- Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL** (2012) Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology* 3: 1-12.
- Lee SO, Choi GJ, Jang KS, Lim HK, Cho KY, Kim JC** (2007) Antifungal activity of five plants essential oils as fumigant against postharvest and soil borne plant pathogenic fungi. *Plant Pathology Journal* 23(2): 97-102.
- Mandal A, Bera A** (2012) Surfactant stabilized nanoemulsion: Characterization and application in enhanced oil recovery. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 67: 21-26.
- Mason TG, Wilking JN, Meleson K, Chang CB, Graves S** (2006) Nanoemulsions: formation, structure and physical properties. *Journal of Physics: condensed matter* 18: 35-66.
- Narayanasamy P** (2006) Postharvest pathogens and disease management. John Wiley and Sons Inc. Hoboken, New Jersey.
- Ozan M** (2003) Antifungal effects of some Turkish spice essential oils on *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea* growth. *Agrimedia GmbH* 8: 173-175.
- Paster N, Menasherov M, Ravid U, Juven B** (1995) Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *Journal of Food Protection* 58: 81-85.
- Pourhossein-Alamdary M** (2012) Design formulation of *Satureja khuzistanica* essential oil nanoemulsions in treatment of sinusitis. Master of Science thesis, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University. Pp.116. (in Persian)
- Ranjbar H, Farzaneh M, Hadian J, Mirjalili MH, Sharifi R** (2008) Antifungal activity of the some essential oils on postharvest diseases of strawberry fruit. *Pajouhesh and Sazandegi* 81: 54-60. (in Persian)
- Reddy MVB, Angers P, Gosselin A, Arul J** (1997) Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry* 47: 1515-1520.
- Seifi F, Farzaneh M, Rafati H, Rezaadoost H** (2014) Antifungal potency of some medicinal plants essential oils nanoemulsions to control soft rot in strawberry fruit caused by *Rhizopus stolonifer*. *Biocontrol in Plant Protection* 01 2(1): 69-79. (in Persian)
- Tajkarimi M, Ibrahim S, Cliver D** (2010) Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 21(9): 1199-1218.
- Tripathi 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 and Biotechnology* 24: 39-46.
- Vagelas I, Papachatzis A, Kalorizou H, Wogiatzi E** (2009) Biological control of *Botrytis cinerea* fruit rot (Gray mold) on strawberry and red pepper by olive oil mill wastewater. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 23(4): 1489-1491.
- Wilkinson JB** (1994) *Harry's Cosmeticology*, Longman Scientific and Technical, 588-625.
- Will F, Kruger E** (1999) Fungicide residues in strawberry processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(3): 858-61.
- Ziedan EHE, Farrage ESH** (2008) Fumigation of peach fruits with essential oils to control postharvest decay. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 4(5): 512-519.