مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

طراحی سامانه‌های نانوامولسیونی اسانس روغنی همراه با کیتوزان جهت کنترل فساد کپک خاکستری در توت‌فرنگی

لیلا حیدری[۱]، زهرا جوانمردی[۱]، هیمن نوربخش[۲*]، محمود کوشش‌صبا[۳]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، ایران.

[۲] استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، ایران.

[۳] دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۱۲

کلمات کلیدی:

نانوامولسیون خودبخودی،

Botrytis cinerea ،

تیمول،

شاخص آلودگی

DOI:10.22034/FSCT.21.156.49.

* مسئول مکاتبات:

h.nourbakhsh@uok.ac.ir

چکیده

توت‌فرنگی میوه‌ای فسادپذیر بوده و بیماری کپک خاکستری یکی از عوامل کاهش طول دوره نگهداری این محصول است. بدلیل محدودیت‌های استفاده از سموم شیمیایی، جهت کنترل این قارچ و حفظ کیفیت و افزایش طول دوره نگهداری، بکارگیری روش‌های ایمن مانند استفاده از اسانس‌ها و پوشش‌های خوراکی ضروری به نظر می‌رسد. همچنین فراریت بالای اسانس و ایجاد تغییرات حسی در محصولات کشاورزی استفاده مستقیم آن‌ها را برای این منظور دچار چالش کرده است. این پژوهش به منظور افزایش ماندگاری میوه توت‌فرنگی با طراحی سامانه‌های نانوامولسیونی تیمول همراه با کیتوزان بدین شکل طراحی شده است. در اولین آزمایش اثر نانوامولسیون تیمول، از اجزاء اصلی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*)، با غلظت ۵ گرم در لیتر، به تنهایی و نیز در ترکیب با زیست پلیمر کیتوزان روی قارچ *Botrytis cinerea* بررسی شد که تمامی تیمارها در مقایسه با شاهد آلوده، رشد قارچ را به‌طور مؤثری کاهش دادند. در این میان تیمار ترکیبی بیشترین میزان بازدارندگی را نشان داد. دومین آزمایش جهت بررسی تغییرات کیفی و تلفات پس از برداشت میوه‌های توت‌فرنگی پوشش داده شده با تیمول ۰/۵ درصد، نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد و نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد در ترکیب با کیتوزان ۰/۵ درصد در دمای ٤ درجه سلسیوس انجام شد. بررسی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد بکارگیری تیمارهای مورد مطالعه بر شاخص‌های فیزیکوشیمیایی و بیوشیمیایی میوه توت‌فرنگی طی دوره پس از برداشت، اثر مثبتی داشتند و سبب حفظ بهتر سفتی، جلوگیری از کاهش وزن و کاهش بار میکروبی شدند. به‌طوری که کمترین میزان کاهش وزن، بیشترین میزان سفتی بافت میوه و کمترین میزان رشد ریزاندامگان در میوه‌های پوشش داده شده با تیمار نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد+کیتوزان ۰/۵ درصد مشاهده شد. بنابراین این تیمار می‌تواند به عنوان پوشش مناسبی جهت حفظ کیفیت و کاهش ضایعات پس از برداشت میوه توت‌فرنگی پیشنهاد شود.

۱-مقدمه

میوه توت‌فرنگی به دلیل داشتن رنگ، عطر و طعم بسیار مطلوب، یکی از میوه‌های محبوب و مورد استقبال در سراسر جهان است. این میوه سرشار از انواع ترکیبات زیست‌فعال از جمله فلاونوئیدها، تانن‌ها، پلی‌فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه می‌باشد [1]. با این حال توت‌فرنگی جزو حساسترین محصولات کشاورزی و به شدت فسادپذیر بوده و مستعد صدمات فیزیکی و حمله عوامل بیماری‌زا از جمله قارچ‌هاست، به‌طوری‌که عمر ماندگاری آن در شرایط نگهداری در دمای محیط حدود ٤-٣ روز است [2]. قارچ *Botrytis. cinerea* که عامل ایجاد بیماری کپک خاکستری در میوه‌های توت‌فرنگی است آسیب‌های جبران‌ناپذیری را در طول دوره نگهداری و حمل و نقل آن بوجود می‌آورد [3]. یکی از راه‌های کنترل این قارچ، استفاده از قارچ‌کشها می‌باشد اما نگرانی رو به رشد مصرف‌کنندگان در ارتباط با وجود باقیمانده سموم شیمیایی روی میوه، استفاده از آن‌ها را با محدودیت مواجه کرده است [4].

اسانس‌های گیاهی، به طور طبیعی دارای ترکیبات ضد-میکروبی هستند که استفاده از آن‌ها به‌طور فزاینده‌ای به علت تمایل شدید به استفاده از این ترکیبات، در حال رشد است. تیمول از اجزاء اصلی اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) است. این ترکیب فنولی و آبگریز قادر است به پروتئینهای دیواره سلولی و غشای پلاسمایی متصل شده و باعث تجزیه و نفوذپذیری آنها شود [5]. تیمول به‌عنوان عامل ضد قارچ طبیعی در بسیاری از پوششها و بسته‌بندیهای فعال برای افزایش ماندگاری میوه و سبزیجات استفاده شده است [5]. فرار بودن، حلالیت پایین در آب و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی، در عمل مصرف اسانس‌ها را با مشکل مواجه می-سازد. همچنین اسانس‌ها بدلیل دارا بودن اثرات حسی، در محصولات، بو و مزه بر جای می‌گذارند [6].

اخیراً درون‌پوشانی اسانس‌ها با استفاده از سامانه‌های امولسیونی، روش مناسبی برای کاهش این اثرات می‌باشد. بر اساس اندازه قطرات امولسیون‌ها به سه گروه میکروامولسیون، نانوامولسیون و ماکروامولسیون تقسیم‌بندی می‌شوند. در این بین نانوامولسیون (اندازه قطرات حدود ۲۰۰ نانومتر) با توجه به کوچک‌تر بودن اندازه قطراتشان، پایداری و افزایش خواص ضدمیکروبی بدلیل افزایش جذب سلولی، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [7]. از فواید نانوامولسیون‌ها، می‌توان به درون‌پوشانی مواد مغذی و کاهش اکسایش آنها و استفاده از چربی کمتر، همچنین استفاده از اجزای کاملاً طبیعی و با سازگاری زیستی اشاره نمود [7]. پوشش دادن نانو ذرات با زیست‌پلیمرهای مختلف به افزایش پایداری ترکیبات درون‌پوشانی و تشکیل امولسیون‌های دوگانه، منجر می‌گردد [8].

ترکیبات و اجزاء نانوامولسیون‌ها شامل فاز آبی، فاز روغنی و سورفکتانت می‌باشد. نانوامولسیون‌ها به‌عنوان سامانه‌های انتقال مواد آب و چربی‌دوست، طعم‌دهنده و مواد ضد-باکتریایی در صنایع غذایی و دارویی به کار می‌روند [9]. روش‌هایی که برای ساخت نانوامولسیون‌ها استفاده می‌شوند، بر اساس مصرف انرژی به دو گروه انرژی بالا و انرژی پایین تقسیم‌بندی می‌شوند. روش انرژی پایین متکی به تشکیل خودبه‌خودی قطرات در لایه مرزی بین فازهای روغن و آب است که به‌شدت به طبیعت نوع ماده فعال سطحی وابسته است. امولسیون‌سازی خودبه‌خودی، غشایی، جانشین‌سازی حلال و معکوس شدن امولسیون از جمله این فنون است [10]. یکی دیگر از فنون طولانی‌کردن زمان ماندگاری میوه-های فسادپذیر همچون توت‌فرنگی، استفاده از پوشش‌های خوراکی و تجزیه‌پذیر است. این پوشش‌ها دارای منشأ طبیعی بوده و به طور مؤثری از خروج گازها و بخار آب از بافت میوه جلوگیری کرده و همچنین به حفظ طعم، بافت، رنگ و ظاهر نیز کمک می‌کنند. انواع ترکیبات زیستی شامل پلی-ساکاریدها (آلژینات، سلولز، کیتوزان)، پروتئینها (ژلاتین، زئین، ایزوله پروتئین آب پنیر) و مشتقات آنها برای ساخت پوششهای خوراکی مورد استفاده قرارگرفته است [2]. در این پژوهش به طور همزمان از دو فن نانوامولسیونه کردن تیمول

و پوشش خوراکی کیتوزان (پلی‌ساکارید کاتیونی ـدارای بار مثبت) جهت پیشگیری از رشد کپک خاکستری و طولانی کردن عمر توت‌فرنگی استفاده شده است. در واقع این ترکیب به‌منظور ساخت ماتریکس پلیمری استفاده شده است. فرض بر این بوده که پوشش کیتوزان هم کنترل‌کننده سرعت رهایش تیمول درون‌پوشانی شده باشد و هم با توجه به اثرات ضد میکروبی آن، پوشش خوراکی با ویژگی بازدارندگی کاملتری ایجاد کند.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- اثر نانوامولسیون تیمول و بیوپلیمر کیتوزان در کنترل *B. cinerea* (کپک خاکستری) روی میوه‌ی توت‌فرنگی به روش تماسی

۲-۱-۱- نمونه‌برداری:

میوه‌های توت‌فرنگی رقم پاروس با حدود ۸۰ درصد رنگ‌گیری قرمز در آبان ماه ۱۳۹۹ به صورت تصادفی از یک مزرعه‌ای واقع در روستای گزنه از توابع شهرستان سنندج برداشت شد. میوه‌ها بلافاصله به دانشکده کشاورزی منتقل و تا اعمال تیمارها در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

۲-۱-۲- قارچ بیمارگر

جدا کردن کپک خاکستری از اندام‌های آلوده بوته‌های توت-فرنگی در مزارع آلوده استان کردستان انجام شد و کلنی‌های این کپک با کشت نمونه‌های آلوده تهیه شده در محیط کشت Sabroud Dextrose Agar (SDA) و گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ تا ۵ روز تهیه گردید.

۲-۱-۳- تیمول

در این آزمایش جهت تهیه فاز آلی نانوامولسیون، ۵۰۰ میلی گرم تیمول و ٤ گرم روغن حامل (روغنMCT)(تری گلیسرید زنجیره متوسط) به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه توسط همزن مغناطیسی مخلوط و همگن گردید. سپس توئین ۸۰ (امولسیفایر) با نسبت ۲ به ۱ به فاز روغنی اضافه و همراه با همزنی مناسب به مدت ۱ ساعت با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه توسط همزن مغناطیسی مخلوط و همگن شد.

٤-۱-۲- نانوامولسیون تیمول

نانوامولسیون‌ها از ترکیب سه جزء فاز آبی، روغن حامل به اضافه تیمول (غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و امولسیفایر با نسبت ۸:٤:۸۸ به روش خودبخودی همراه با تیتراسیون فاز آلی درون فاز آبی ساخته شدند [11]. آزمایش در داخل یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری و در دمای اتاق انجام گرفت. ابتدا فاز روغنی طبق بند ۲-۱-۳ تهیه و همگن گردید. سپس اختلاط فاز روغنی و آبی انجام گرفت. در این مرحله امولسیفایر همراه با روغن حامل و تیمول (فاز روغنی) به صورت قطره قطره و با سرعت نیم میلی‌لیتر در دقیقه به فاز آبی اضافه شدند. در تمام طول اختلاط، همزنی دو فاز با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه توسط همزن مغناطیسی انجام گرفت. در نهایت پس از اتمام اختلاط دو فاز، همزنی نانوامولسیون تهیه شده در همان سرعت قبلی به مدت ۳۰ دقیقه ادامه پیدا کرد.

۵-۱-۲- ترکیب نانوامولسیون تیمول و محلول کیتوزان (CH) ۰٪/۵

همانند بند ۲-۱-۳، فاز آلی نانوامولسیون تهیه گردید. جهت تهیه محلول کیتوزان، در زیر هود، مقدار ۲ میلی‌لیتر اسید استیک به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. سپس این محلول روی دستگاه همزن مغناطیسی قرار داده شد و مقدار ۰/۵ گرم ماده کیتوزان در طی زمان ٤۵ دقیقه به آن اضافه گردید و با استفاده از مگنت تا زمان حل شدن کامل همزده شد. در ادامه فاز آلی نانوامولسیون با سرعت نیم میلی-لیتر در دقیقه به محلول کیتوزان اضافه و با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه توسط همزن مغناطیسی همزده و همگن گردید.

٦-۱-۲- اندازه قطرات نانوامولسیون

اندازه ذرات نانوامولسیون‌های آماده شده (Z-aveage) و همچنین توزیع اندازه ذرات یا همان شاخص بس پاشیدگی

(PDI) با استفاده از دستگاه پراش نور دینامیکی (DLS[1]) (Zetasizer Nano ZS 3600, Malvern Instruent, Malvern, U.K.) بدست آمد. تمام اندازه‌گیری‌ها بعد از یک شب نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق انجام گرفت.

۷-۱-۲- تهیه مایه تلقیح بیمارگر

تهیه کلنی‌های کپک *B. cinerea* با کشت نمونه‌های آلوده روی محیط کشت SDA و گرمخانه‌گذاری به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام گرفت. در مرحله بعد ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل روی محیط‌های کشت اضافه و با تیغ استریل خراشیده شد. در نهایت سوسپانسیون حاصله به منظور جدا کردن ساختارها و اندام‌های رویشی قارچ از سه لایه گاز استریل عبود داده شد. لام هموسایتومتر نیز برای تعیین جمعیت کنیدی‌های کپک استفاده گردید [12].

۸-۱-۲- تلقیح قارچ و تیمار تیمول، نانوامولسیون تیمول و نانوامولسیون‌های تیمول + زیست‌پلیمر کیتوزان

تأثیر تیمول و نانوامولسیون تیمول + زیست‌پلیمر کیتوزان علیه *B. cinerea* توت‌فرنگی روی میوه‌های رقم پاروس در شرایط آزمایشگاه انجام شد. جهت ضدعفونی کردن میوه‌های توت‌فرنگی از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲۵ ثانیه استفاده شد سپس سه بار با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. پس از خشک شدن میوه‌ها، زخم‌های کم عمقی روی سطح میوه ایجاد و۲۰ میکرولیتر از سوسپانسون اسپور قارچ بیمارگر (درغلظت 10^6 conidia/mL) روی سطح آن تلقیح شد. تیمارهای موردنظر نیز پس ازخشک شدن محل زخم میوه اعمال شدند، میوه توت‌فرنگی در محلول‌های تهیه شده غوطه ور گردید. برای نمونه شاهد منفی از آب مقطر و برای شاهد مثبت نیز از سوسپانسیون اسپور کپک بیماری‌زا استفاده گردید. در نهایت تمام تکرارها در ظروف پلاستکی چیده شده، درب آن‌ها بسته و به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند.آزمایش با سه تکرارانجام شد.

۹-۱-۲- اندازه‌گیری شاخص آلودگی

میزان آلودگی قارچی روی میوه توت‌فرنگی با استفاده از شاخص زیر بصورت بصری ارزیابی شد [13].

درجه صفر: درصد آلودگی صفر، درجه یک: کمتر از ۲۰ درصد، درجه دو: بین ٤٠-۲۰/۱ درصد، درجه سه: بین ٦٠-٤٠/۱ درصد، درجه چهار: بین ۸۰-٦۰/۱ درصد، درجه پنج: بین ۱۰۰-۸۰/۱ درصد.

نتایج با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

شاخص آلودگی =درصد (٤×٦) / (درجه × تعداد میوه آلوده) Σ × ۱۰۰

۲-۲- تاثیر تیمارها بر تغییرات کیفی و ضایعات پس از برداشت میوه توت‌فرنگی

۱-۲-۲- اعمال تیمارها

میوه‌های توت‌فرنگی رقم پاروس با حدود ۸۰ درصد رنگ-گیری قرمز به صورت تصادفی از یک مزرعه‌ای واقع در روستای گزنه از توابع شهرستان سنندج برداشت شد. میوه‌ها بلافاصله به دانشکده کشاورزی منتقل شدند. برای اعمال تیمارها از میوه‌های سالم و عاری از هر گونه آسیب مکانیکی و یکسان از نظر رنگ و اندازه استفاده گردید و پس از شستشو با آب مقطر سترون جهت اعمال تیمارها به ٤ گروه تقسیم شدند. میوه‌های توت‌فرنگی به مدت ۲۰ ثانیه در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) در تیمارهای تیمول ۰/۵ درصد، نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد، نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد+CH ۰/۵ درصد آب مقطر (تیمار شاهد) غوطه‌ور شدند. این میوه‌ها جهت خشک شدن به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس میوه‌های هر تیمار (تکرار) در داخل ظروف پلاستیکی درب‌دار چیده شده و به مدت ۱۵ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس در رطوبت ۷۵ درصد در سردخانه نگهداری شدند. نمونه‌برداری به صورت دوره‌ای و در روزهای ۰، ۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵ انجام و خصوصیات

1. Dynamic Light Scattering

کیفی و ضایعات پس از برداشت اندازه‌گیری شد (روز صفر روز برداشت از مزرعه).

۲-۲-۲- کاهش وزن

جهت بررسی میزان کاهش وزن، توزین بسته‌های میوه قبل از نگهداری با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ به عنوان وزن اولیه انجام گردید. علاوه بر این، در روزهای نمونه‌برداری نیز توزین تیمارهای مربوط به آن زمان پس از خروج از سردخانه به عنوان وزن ثانویه انجام شدند. در نهایت درصد کاهش وزن میوه با استفاده از رابطه زیر طبق استاندارد AOAC[2] [14] محاسبه گردید.

وزن اولیه/(وزن ثانویه- وزن اولیه) ×۱۰۰= درصد کاهش وزن

۳-۲-۲- سفتی بافت میوه

دستگاه بافت‌سنج (Santam. STM-1, Iran) با میله‌ای با سر محدب و قطر ۸ میلی‌متر و حرکت با سرعت ثابت ۲۰ میلی‌متر بر دقیقه جهت اندازه‌گیری سفتی بافت میوه استفاده شد. تا عمق ۸ میلی‌متر نفوذ میله دستگاه به داخل میوه انجام شد این عمل در طرف دیگر همه میوه‌ها در همه زمان‌ها تکرار شد. در نهایت میانگین اندازه‌گیری هر تیمار بر حسب نیوتن (N) بیان گردید.

٤-۲-۲- مواد جامد محلول

در دوره‌های مشخص نمونه برداری، تکه‌های میوه از نمونه‌های موجود در یک تیمار جدا وآب آن‌ها بصورت دستی استخراج و جمع‌آوری گردید. پس از صاف کردن، آب‌میوه بدست آمده برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول و اسیدیته تیترپذیر استفاده گردید. لندازه‌گیری بریکس با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دستی (Atago ATC, Japan) و در دمای ۲۲ درجه سلسیوس انجام شد.

۵-۲-۲- اسیدیته تیترپذیر

برای تعیین اسیدیته قابل تیتراسیون، ۳ میلی‌لیتر از آب میوه تهیه شده با ۲۷ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و با NaOH ۰/۱ نرمال تا رسیدن pH به ۸/۱ الی ۸/۲ تیتر شد. در نهایت اسیدیته بر حسب درصد اسیدسیتریک با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید [15]:

حجم آب‌میوه مصرفی /(میلی اکی‌والان گرم اسید غالب ×میزان سود مصرفی ×نرمالیته سود مصرفی)× ۱۰۰= درصد اسیدیته قابل تیتراسیون

٦-۲-۲- آزمون بار میکروبی

در این آزمون رقت‌سازی (10^{-1}) با مخلوط کردن ۱۰ گرم از هر تیمار با ۹۰ میلی‌لیتر آب پپتونه سترون انجام گرفت. در مراحل بعدی نیز رقت‌های 10^{-2} و 10^{-3} با استفاده از آب پپتون تهیه شد. برای شمارش کپک و مخمرهای کل از روش کشت سطحی و محیط کشت PDA (Potato dextrose agar, Merck, Germany) استفاده گرید. برای این آزمایش نیزمحیط کشت PDA طبق دستورالعمل، تهیه (۳۹ گرم محیط کشت در ۱ لیتر آب) و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. سپس محیط کشت جامد مذاب در دمای ٤۰ الی ٤۵ درجه سلسیوس تحت شرایط استریل به پلیت‌ها اضافه گردید. در مرحله بعد نیز پس از بسته شدن محیط کشت، ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط آب پپتون سترون و بافت میوه به پتری دیش تلقیح وتوسط میله‌ای L شکل استریل روی سطح محیط کشت پخش گردید. در نهایت پتری دیش‌ها به صورت وارونه و به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در داخل انکوباتور نگهداری شدند. در این آزمون نیز سه تکرار اعمال گردید. پس از گرمخانه‌گذاری، شمارش تعداد کلنی‌های انجام گرفت و نتایج نهایی بر اساس لگاریتم تعداد کلنی در هر گرم میوه گزارش شد [16].

۷-۲-۲- تحلیل آماری

آنالیز آماری بخش اول آزمایش‌ها در قالب طرح کامل با تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار MSTATC صورت گرفت و جهت مقایسه میانگین‌ها از

2. Association of Official Analytical Chemists

آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) استفاده شد. آزمایش دوم با دو عامل تیمار و زمان در قالب طرح فاکتوریل با سه تکرار انجام گردید. عامل اول تیمارها در ٤ سطح (تیمول ۰/۵ درصد، نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد، نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد+CH ۰/۵ درصد و شاهد) و عامل دوم زمان نگهداری در ٦ سطح (روزهای ۰، ۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵) بودند. تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار MSTATC انجام شد و پس از بررسی نتایج جداول ANOVA مقایسه میانگین‌ها در سطح یک یا پنج درصد صورت گرفت و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel مجموعه Office 2013 استفاده شد.

۳-نتایج و بحث

۱-۳- اثر نانوامولسیون تیمول و بیوپلیمر کیتوزان در کنترل *B. cinerea* روی میوه‌ی توت‌فرنگی به روش تماسی

۱-۱-۳- بررسی اندازه ذرات نانوامولسیون

اندازه ذرات نانوامولسیون‌های تهیه شده به وسیله دستگاه DLS تعیین گردید. طبق نتایج حاصل، شاخص اندازه متوسط ذره برای تیمارهای نانوامولسیون تیمول و نانوامولسیون تیمول + کیتوزان به ترتیب برابر با ۲/۱ ± ٦۰/٤۵ و ۱/۹ ± ۷۷/٦۱ نانومتر قرار داشتند (جدول ۱). همانطور که نتایج DLS نشان می‌دهد تولید نانوامولسیون با موفقیت توسط روش خودبخودی انجام گرفته است. این روش در پژوهش‌های دیگری نیز به صورت موفقیت‌آمیز برای تولید امولسیون با قطرات در محدوده نانومتری مورد استفاده قرار گرفته است [17, 18].

Table 1: Average Particle Size (Z-Average) and polydispersity index (PDI) of nanoemulsion obtained from DLS.

Treatment	Z-Average (d.nm)	PDI
NanoEm-Thy 0.5%	60.45 ± 2.1	0.5
NanoEm-Thy 0.5% + Ch 0.5%	77.61 ± 1.9	0.45

۲-۱-۳- ارزیابی اثر تیمارها بر کپک خاکستری توت‌فرنگی به روش تماسی در شرایط آزمایشگاه

طبق نتایج، تمامی تیمارهای مورد مطالعه، در مقایسه با شاهد آلوده، رشد قارچ را به‌طوری مؤثری کاهش دادند. ولی از بین آن‌ها، تیمار ترکیبی نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد به همراه کیتوزان ۰/۵ درصد بیشترین بازدارندگی از پوسیدگی کپک خاکستری میوه را داشته است (شکل ۱).

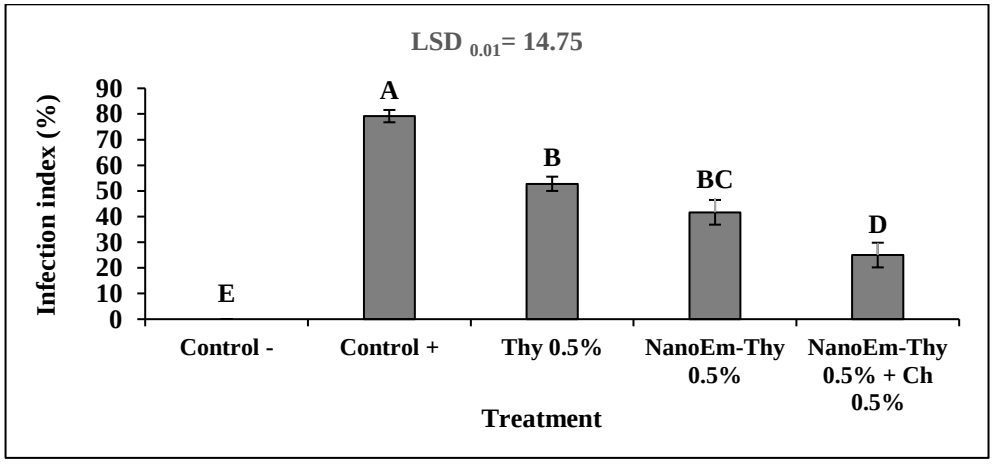


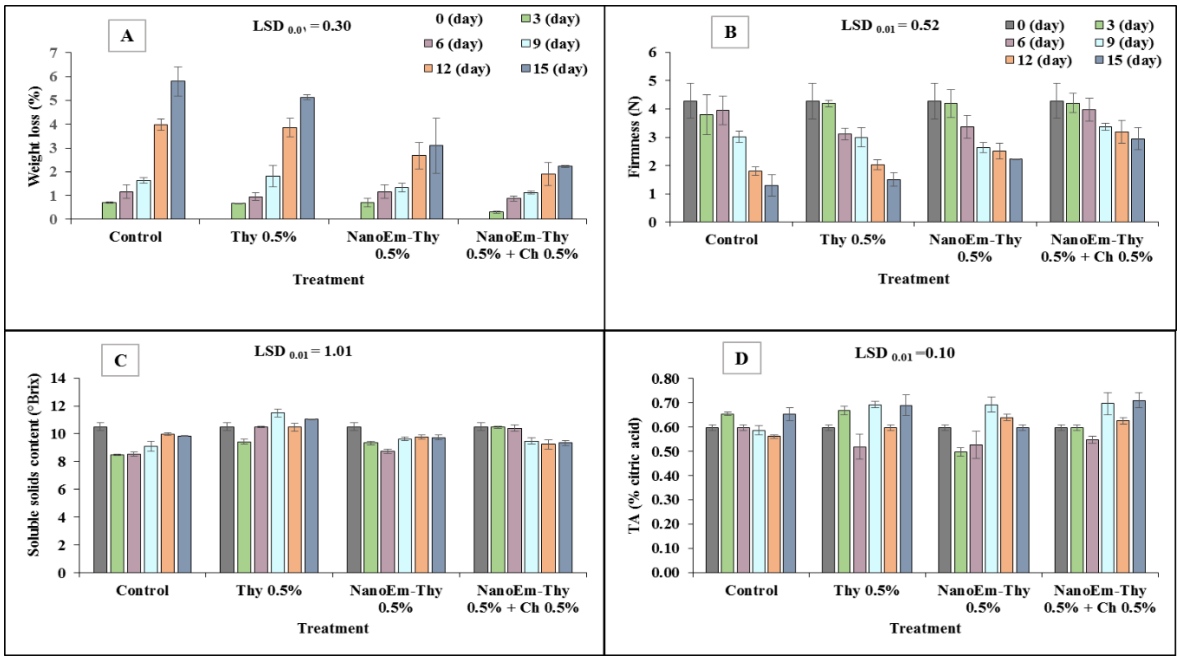
Fig 1. Influence of thymol (Thy), thymol nanoemulsion (NanoEM-Thy) and thymol nanoemulsion + chitosan (NanoEM-Thy + Ch) on strawberry fruit inoculated with *B.cinerea*. Fruit stored at 25 °C up to 7 days. The same letters are not significantly different ($p < 0.01$) according to the LSD test.

اخیرا تحقیقات زیادی در جهت کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه‌ها به‌وسیله‌ی تیمول همراه بیوپلیمر کیتوزان صورت گرفته است [19, 20]. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که درون پوشانی کردن قطرات تیمول از طریق نانوامولسیفیکاسیون اثر ضدقارچی تیمول را در برابر *B. cinerea* افزایش داده است. استفاده از نانوامولسیون اسانس‌ها، با توجه به کوچک‌تر بودن اندازه ذرات نقش مؤثری درافزایش جذب سلولی دارد،که در نتیجه‌ی آن خواص ضدمیکروبی اسانس افزایش می‌یابد [7]. در پژوهشی استفاده از نانوامولسیون اسانس لیمو که با روش همگن‌سازی در فشار بالا تهیه شده بود، به‌طور قابل توجهی از جوانه‌زنی هاگ و رشد میسلیوم قارچ *Phomopsis* sp که عامل پوسیدگی پس از برداشت میوه کیوی می‌باشد، جلوگیری کرده بود [21]. همچنین در پژوهش دیگری از امولسیون و نانوامولسیون اسانس دارچین[3] به همراه قارچ‌کش تیابندازول جهت کنترل رشد کپک‌های دو قارچ *B. cinerea* و *Rhizopus stolonifera* در توت‌فرنگی استفاده کردند. نتایج روی میوه نشان داد که نانوامولسیون اسانس نسبت به امولسیون اسانس تأثیر بیشتری در کاهش پوسیدگی‌های قارچی توت‌فرنگی دارد. همچنین نانوامولسیون اسانس دارچین در بالاترین غلظت کاربردی (۰/۲ درصد) در مقایسه با تیابندازول، فعالیت ضدقارچی بیشتری نشان داد [22]. در این پژوهش، بیشترین فعالیت ضدمیکروبی در تیمار نانوامولسیون تیمول به همراه زیست‌پلیمر CH مشاهده شد. همچنین رهایش کنترل‌شده تیمول درون‌پوشانی‌شده داخل نانوقطرات در طول مدت نگهداری می‌تواند در افزایش ماندگاری توت‌فرنگی مؤثر بوده باشد. برهمکنش بین بارهای مثبت کیتوزان و بارهای منفی غشاهای سلولی میکروبی باعث به هم ریختن ساختار دیواره سلولی شده و در نهایت مرگ سلول را به دنبال دارد [19].

۲-۳- اثر تیمارها بر شاخص‌های کمی، کیفی و بیوشیمیایی میوه توت‌فرنگی طی دوره نگهداری

۱-۲-۳- کاهش وزن

طی دوره نگه‌داری میزان درصد کاهش وزن در همه تیمارها افزایش یافت. با این وجود، درصد کاهش وزن پایین‌تری در میوه‌های توت‌فرنگی پوشش‌دار شده در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده گردید. به‌طوری که پس از پایان دوره نگه‌داری بیشترین و کمترین درصد کاهش وزن به ترتیب در میوه‌های شاهد و میوه‌های تیمار شده با نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد + CH ۰/۵ درصد با ۵/۸۰ و ۲/۲۳ درصد، مشاهده شد (شکل ۲).



3. *Cinnamon zeylanicum* L.

Fig 2. Weight loss (A), firmness (B), Soluble solids content (C) and titratable acidity (D) in strawberry fruit untreated or treated with thymol (Thy), thymol nanoemulsion (NanoEM-Thy) and thymol nanoemulsion + chitosan (NanoEM-Thy + Ch). Fruit stored at 4 ± 1 °C up to 15 days. Data represent the means ± SE, n = 3.

طی دوره نگهداری درصد کاهش وزن میوه‌ها و سبزی‌ها، عمدتا به دلیل تنفس و تبخیر رطوبت از سطح میوه افزایش می‌یابد که به دما و رطوبت انبار نیز بستگی دارد [23]. همچین میزان درصد کاهش وزن بسته به نوع محصول، رقم و خصوصیات بافت محصول می‌تواند متفاوت باشد [24]. میوه توت‌فرنگی حساسیت بالایی به کاهش وزن دارد و در نتیجه‌ی آن کیفیت میوه کاهش می‌یابد [25]. پوشش‌های خوراکی با ایجاد یک مانع فیزیکی در برابر از دست دادن رطوبت و محافظت از پوست در برابر صدمات مکانیکی و ترمیم زخم‌های کوچک، موجب کاهش از دست رفتن وزن می‌شوند [6, 23].

گزارش‌هایی در خصوص اثرات مثبت پوشش‌های خوراکی برکاهش میزان افت وزن در طیف وسیعی از میوه‌ها مانند توت‌فرنگی [23]، آلو [26]، انار [27] و مرکبات [28] طی دوره نگهداری وجود دارد. همچنین اسانس‌های گیاهی با کاهش شدت تنفس و به تأخیر انداختن پیری سبب کنترل کاهش وزن محصول می‌شوند [29]. در پژوهشی استفاده از اژنول و تیمول موجب تأخیر فرآیندهای رسیدگی و پیری در میوه انگور نسبت به میوه شاهد شده استد [30]. علاوه بر این‌ها، آلودگی میکروبی نیز از عوامل مهم کاهش وزن میوه طی دوره انبارداری می‌باشد[31]. کاربرد پوشش کیتوزان به همراه اسانس دارچین در میوه عناب پوسیدگی را کنترل و باعث کاهش افت وزن طی دوره نگهداری شد [32].

نتایج کاهش وزن نشان داد که پوشش‌های خوراکی به‌عنوان مانع فیزیکی در برابر خروج رطوبت به محیط خارج عمل کرده و در نتیجه آن میزان از دست‌دهی آب میوه کاهش می‌یابد. علاوه بر این، استفاده از تیمارهای نانوامولسیون تیمول به همراه کیتوزان می‌تواند نقش مؤثرتری در کاهش از دست‌دهی رطوبت از سطح میوه توت‌فرنگی داشته باشند. همچنین این احتمال وجود دارد که تیمار ترکیبی با کاهش شدت تنفس و به تأخیر انداختن پیری مانع کاهش وزن میوه طی دوره نگه‌داری شده‌اند [19].

۲-۲-۳- سفتی

سفتی بافت میوه در همه میوه‌های پوشش داده شده و فاقد پوشش در طول دوره نگه‌داری روند کاهشی داشت. با این حال سفتی بافت میوه در تیمار ترکیبی نانوامولسیون تیمول به همراه کیتوزان با سرعت کمتری طی دوره نگهداری کاهش یافت. به‌طوری که پس از ۱۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس بیشترین سفتی بافت در میوه‌های تیمار شده با نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد + کیتوزان ۰/۵ درصد (۲/۹۵ نیوتن) و کمترین میزان سفتی بافت در میوه‌های شاهد (۱/۳۰ نیوتن) و میوه‌های تیمار شده با تیمول ۰/۵ درصد (۱/۵۰ نیوتن) مشاهده شد (شکل۲).

سفتی بافت، یکی ازمهمترین ویژگی‌های کیفی میوه توت-فرنگی است. معمولا طی دوره نگهداری فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پکتین مانند پلی‌گالاکتروناز و پکتین متیل استراز باعث تخریب دیواره سلولی و کاهش سفتی بافت میوه می-شود [33]. همچنین کاهش سرعت تنفس سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی می‌شود [34]. به طور کلی، پوشش‌های خوراکی روند نرم شدن میوه را کند می‌کنند، که احتمالا به دلیل خواص ممانعتی پوشش در برابر انتقال گازها بین میوه و محیط است که منجر به کاهش فعالیت‌های متابولیکی از جمله تنفس شده و در نتیجه موجب افزایش ماندگاری محصول می‌شود [35]. در حقیقت سفتی بافت میوه توت‌فرنگی ارتباط مستقیمی با کاهش وزن و پوسیدگی دارد [36].

اسانس‌های گیاهی با حفظ فشار آماسیدگی سلولی و در نتیجه کنترل کاهش وزن، نقش مؤثری در تأخیر نرم‌شدگی میوه دارند [37]. گزارش شده است که کاربرد کیتوزان به همراه اسانس گیاه سداب[4] سبب کاهش تعرق، حفظ فشار آماسیدگی و در نهایت حفظ سفتی بافت میوه گواوا طی دوره

4. *Ruta graveolens*

نگهداری می‌شود [38]. همچنین گزارش شده است که پوشش‌دهی میوه آوکادو با CMC از طریق کاهش فعالیت قارچ و کاهش رشد میسیلیوم‌های قارچ روی سطح میوه از نرم شدن بافت میوه جلوگیری می‌کند [39]. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از تیمار نانومولسیون تیمول به تنهایی و در ترکیب با کیتوزان می‌تواند به حفظ سفتی میوه توت‌فرنگی طی دوره نگهداری کمک کند. این کاهش تغییرات سفتی ممکن است به دلیل ایجاد مانعی در مقابل انتقال رطوبت، اکسیژن و دی‌اکسید کربن و کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی انجام بگیرد.

۳-۲-۳- مواد جامد محلول

میزان مواد جامد محلول طی دوره نگهداری در همه تیمارها روند نسبتا ثابتی داشت و اختلاف معنی‌داری در میزان مواد جامد محلول بین روز برداشت و پایان دوره نگهداری مشاهده نشد (شکل ۲).

مواد جامد محلول حاوی اجزای مهمی به ویژه قندها و اسیدهای آلی می‌باشد، که مسئول طعم و در نتیجه پذیرش محصول از سوی مصرف‌کننده هستند [40]. در توت‌فرنگی که میوه‌ای نافرازگرا است، مواد جامد محلول در فرآیند تنفس پس از برداشت مصرف می‌شود و متقاعبا میزان آن کاهش پیدا می‌کند [41]. همچنین خروج آب و افزایش غلظت ناشی از آن می‌تواند باعث افزایش بریکس شود [42]. در سوی مقابل، میزان بریکس با هیدرولیز نشاسته و تبدیل به گلوکز که با رسیدن میوه و تخریب دیواره سلولی شدت پیدا می‌کند، افزایش می‌یابد[43]. کاربرد پوشش کیتوزان و CMC در مرکبات از طریق تأثیر بر تنفس، موجب حفظ میزان اسیدیته و مواد جامد محلول در طول دوره نگهداری گردیدند [44].

٤-۲-۳- اسیدیته تیترپذیر

میزان اسیدیته تیترپذیر از ۰/٦۰ درصد در روز برداشت به ۰/٦۹ و ۰/۷۱ درصد به ترتیب در میوه‌های تیمار شده با تیمول ۰/۵ درصد و نانومولسیون تیمول ۰/۵ درصد + کیتوزان ۰/۵ درصد افزایش یافت اما در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در میزان اسیدیته قابل تیتراسیون بین روز برداشت و پایان دوره نگه‌داری مشاهده نشد (شکل ۲).

در مطالعه‌های صورت گرفته پیشین کاهش اسیدیته تیترپذیر طی دوره نگهداری توت‌فرنگی به‌واسطه تغییرات سوخت و ساز در میوه و مصرف اسیدهای آلی در حین تنفس سلولی گزارش شده است که البته در این مطالعه با توجه به کنترل میزان تنفس با استفاده از پوشش‌دهی مناسب و ممانعت از فعالیت قارچ‌ها، چنین روندی مشاهده نشد [45, 46]. همچنین گزارش شده است که در توت‌فرنگی‌های پوشش داده شده با کیتوزان شدت افت اسیدیته کاهش می‌یابد، و دلیل آن را به کاهش شدت تنفس نسبت دادند [2]. همچنین عدم کاهش اسیدیته و جلوگیری از تغییرات آن در انگور و موز پوشش‌دار شده با اسانس آویشن گزارش شده است [47]. در حالی که، پوشش‌دهی میوه توت‌فرنگی با اسانس زیره سبز روی افزایش اسیدیته در طول دوره نگهداری اثر قابل توجهی داشته است [48].

۵-۲-۳- آزمون بار میکروبی

جمعیت کپک و مخمرهای کل میوه‌های توت‌فرنگی در روز برداشت ۳/۷٦ Log CFU/g بود. در مقایسه با روز برداشت، در پایان دوره نگه‌داری جمعیت کپک و مخمرهای کل در تیمارهای شاهد، تیمول ۰/۵ درصد و نانومولسیون تیمول ۰/۵ درصد افزایش یافت و نسبت به هم در یک سطح آماری قرار داشتند، و در تیمار نانومولسیون تیمول ۰/۵ درصد + کیتوزان ۰/۵ درصد بین جمعیت کپک و مخمرهای کل روز صفر و روز ۱۵ دوره نگه‌داری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین جمعیت کپک و مخمرهای کل در پایان دوره نگه‌داری در میوه‌های تیمار شده با نانومولسیون تیمول ۰/۵ درصد + کیتوزان ۰/۵ درصد (٤ Log CFU/g) مشاهده گردید (شکل ۳).

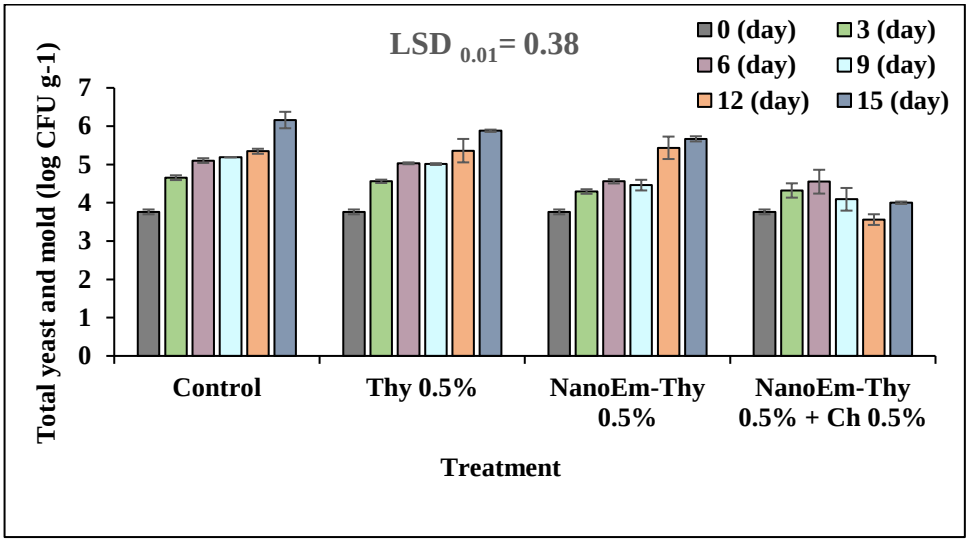


Fig 3. Total yeast and mold in strawberry fruit untreated or treated with thymol (Thy), thymol nanoemulsion (NanoEM-Thy) and thymol nanoemulsion + chitosan (NanoEM-Thy + Ch). Fruit stored at 4 ± 1 °C up to 15 days. Data represent the means ± SE, n = 3

.

کپک و مخمرها یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کیفیت و افزایش ضایعات پس از برداشت میوه توت‌فرنگی به شمار می‌روند؛ بنابراین کاهش آن‌ها در سطح میوه می‌تواند موجب حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری محصولات شود [49]. در حقیقت رشد ریزاندامگان روی سطح میوه با تولید فراوان آنزیم‌های مترشحه خارج سلولی نظیر پکتیناز و سلولاز و تخریب دیواره سلولی، افزایش فساد و کاهش کیفیت محصول را به‌دنبال خواهد داشت [50]. نگه‌داری میوه توت-فرنگی در دمای پایین، رشد ریزاندامگان را به تعویق می-اندازد [51].

امروزه پوشش‌های خوراکی فعال به‌طور گسترده جهت افزایش عمر انبارمانی محصولات باغی مورد استفاده قرار می‌گیرند. خواص ضدقارچی و ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی علیه انواع مختلفی از ریزاندامگان گزارش شده است [52]. همچنین اسانس‌های گیاهی قادر هستند که کاهش سفتی و روند پیری را به تأخیر انداخته و حساسیت بافت را نسبت به ریزاندامگان کاهش دهند [53]. در پژوهشی کاربرد پوشش خوراکی حاوی تیمول و کلرید کلسیم سبب افزایش عمر انبارمانی میوه توت‌فرنگی گردید [54]. در پژوهشی دیگر استفاده از پوشش خوراکی حاوی کیتوزان روی میوه توت‌فرنگی می‌تواند از رشد سریع میکروب‌ها طی دوره نگهداری جلوگیری کند [2]. همچنین استفاده از پوشش CMC روی میوه گلابی در شرایط انبار سبب کاهش قابل توجهی در رشد قارچ‌ها گردید [55]. بنابراین پوشش‌های خوراکی با ممانعت از رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و کاهش شدت تنفس، تأخیر در فساد و در نهایت افزایش عمر انبارداری توت‌فرنگی را به دنبال خواهند داشت.

٤-نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از نانوامولسیون تیمول به تنهایی و یا در ترکیب با زیست‌پلیمر CH می‌تواند نقش مهمی در حفظ کیفیت و کاهش ضایعات پس از برداشت میوه توت‌فرنگی داشته باشد. نتایج حاصل از آزمایش اثر تیمارهای مورد مطالعه علیه قارچ *B. cinerea* عامل بیماری کپک خاکستری توت‌فرنگی در شرایط آزمایشگاه نشان داد که همه تیمارها رشد قارچ را به‌طوری مؤثری کاهش دادند، اما از بین آن‌ها، تیمار ترکیبی نانوامولسیون تیمول به همراه CH بیشترین درصد بازدارندگی را در رشد قارچ *B. cinerea* داشت. نتایج حاصل از اثر تیمارهای مورد مطالعه بر شاخص‌های کمی، کیفی و بیوشیمیایی میوه توت‌فرنگی طی دوره نگهداری نشان داد که بیشترین درصد کاهش وزن میوه طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس در میوه-

کاهش داده است. بنابراین پوشش نانوامولسیون تیمول ۰/۵ درصد + کیتوزان ۰/۵ درصد می‌تواند به‌عنوان مناسب‌ترین پوشش جهت حفظ کیفیت و کاهش ضایعات پس از برداشت میوه توت‌فرنگی به‌کار برده شود.

۵- منابع

[1] Shahbazi, Y. 2018. Application of carboxymethyl cellulose and chitosan coatings containing Mentha spicata essential oil in fresh strawberries. International Journal of Biological Macromolecules, 112: 264-272.

[2] Gol, N.B., Patel, P.R. and Rao, T.R. 2013. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. Postharvest Biology and Technology, 85: 185-195.

[3] Dhital, R., Mora, N.B., Watson, D.G., Kohli, P. and Choudhary, R. 2018. Efficacy of limonene nano coatings on post-harvest shelf life of strawberries. LWT- Food Science and Technology, 97: 124-134.

[4] Huang, R., Li, G.Q., Zhang, J., Yang, L., Che, H.J., Jiang, D. H. and Huang, H. C. 2011. Control of postharvest Botrytis fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of Candida intermedia. Phtopathology, 101(7): 859-869.

[5] Robledo, N., Vera, P., López, L., Yazdani-Pedram, M., Tapia, C. and Abugoch, L. 2018. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. Food Chemistry, 246: 211-219.

[6] Javanmardi, Z., Koushesh Saba, M., Nourbakhsh, H. and Amini, J. 2023. Efficiency of nanoemulsion of essential oils to control Botrytis cinerea on strawberry surface and prolong fruit shelf life. International Journal of Food Microbiology, 384, 109979.

[7] Donsi, F., Annunziata, M. Sessa, M., and Ferrari, G. 2011. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. LWT-Food Science and Technology, 44(9): 1908-1914.

[8] Froiio, F., Mosaddik, A., Morshed, M.T., Paolino, D., Fessi, H., and Elaissari, A. 2019. Edible polymers for essential oils encapsulation: Application in food preservation. Industrial & Engineering Chemistry Research, 58(46): 20932-20945.

[9] Ghosh, V., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N. 2013. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. Ultrasonics Sonochemistry, 20(1): 338-344.

[10]Chang, Y., McLandsborough, L. and McClements, D.J. 2013. Physicochemical properties and antimicrobial efficacy of carvacrol nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(37): 8906-8913.

[11] Anton, N., and Vandamme, T. F. 2009. The universality of low-energy nano-emulsification. International journal of pharmaceutics, 377(1-2): 142-147.

[12] Chalfoun, N. R., Castagnaro, A. P., and Ricci, J. D. 2011. Induced resistance activated by a culture filtrate derived from an avirulent pathogen as a mechanism of biological control of anthracnose in strawberry. Biological Control, 58(3): 319-329.

[13] Huang, R., Li, G.Q., Zhang, J., Yang, L., Che, H.J., Jiang, D. H. and Huang, H. C. 2011. Control of postharvest Botrytis fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of Candida intermedia. Phtopathology, 101(7): 859-869.

[14] AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA.

[15] Selcuk, N., and Erkan, M. 2015. The effects of 1-MCP treatment on fruit quality of medlar fruit (Mespilus germanica L. cv. Istanbul) during long term storage in the palliflex storage system. Postharvest biology and technology, 100: 81-90.

[16] Sogvar, O.B., Koushesh Saba, M., Emamifar, A. and Hallaj. R. 2016a. Influence of nano-ZnO on microbial growth, bioactive content and postharvest quality of strawberries during storage. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 35: 168-176.

[17] Yuliani, S., Wahyuningsih, K., Herawati, H., and Noveriza, R. 2023. Spontaneous Emulsification of Citronella Oil: Effect of Processing Conditions and Production Scale. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1172, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.

[18] Rasti, F., Ahmadi, E., Safari, M., Abdollahi, A., Satvati, S., Ranjbar, R., and Osanloo, M. 2023. Anticancer, antioxidant, and antibacterial effects of nanoemulsion of Origanum majorana essential oil. Iranian Journal of Microbiology, 15(4): 565–573.

[19] Robledo, N., López, L., Bunger, A., Tapia, C., and Abugoch, L. 2018. Effects of antimicrobial edible coating of thymol nanoemulsion/quinoa protein/chitosan on the safety, sensorial properties, and quality of refrigerated strawberries (Fragaria× ananassa) under commercial storage environment. Food and Bioprocess Technology, 11: 1566-1574.

[20] Saki, M., ValizadehKaji, B., Abbasifar, A., & Shahrjerdi, I. 2019. Effect of chitosan coating combined with thymol essential oil on physicochemical and qualitative properties of fresh fig (Ficus carica L.) fruit during cold storage. Journal of Food Measurement and Characterization, 13: 1147-1158.

[21] Meng, F. B., Gou, Z. Z., Li, Y. C., Zou, L. H., Chen, W. J., and Liu, D. Y. 2022. The efficiency of lemon essential oil-based nanoemulsions on the inhibition of Phomopsis sp. and reduction of postharvest decay of kiwifruit. Foods, 11(10): 1510.

[22] Yousef, N., Niloufar, M., & Elena, P. 2019. Antipathogenic effects of emulsion and nanoemulsion of cinnamon essential oil against Rhizopus rot and grey mold on strawberry fruits. Foods and Raw materials, 7(1): 210-216.

[23] Hernandez-Munoz, P., Almenar, E., Valle, V. Del, Velez, D. and Gavara, R. 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) quality during refrigerated storage. Food Chemistry, 110(2): 428–435.

[24] Ergun, M. and Satici, F. 2012. Use of Aloe vera gel as biopreservative for 'Granny Smith'and 'Red Chief'apples. Journal Anim Plant Science, 22(2): 363-368.

[25] Aday, M.S., Caner, C. and Rahvali, F. 2011. Effect of oxygen and carbon dioxide absorbers on strawberry quality. Postharvest Biology and Technology, 62(2): 17

[26] Panahirad, S., Naghshiband-Hassani, R., Bergin, S., Katam, R., and Mahna, N. 2020. Improvement of postharvest quality of plum (Prunus domestica L.) using polysaccharide-based edible coatings. Plants, 9(9): 1148.

[27] Malekshahi, G., and ValizadehKaji, B. 2021. Effects of postharvest edible coatings to maintain qualitative properties and to extend shelf-life of pomegranate (Punica granatum. L). International Journal of Horticultural Science and Technology, 8(1): 67-80.

[28] Arnon, H., Zaitsev, Y., Porat, R. and Poverenov, E. 2014. Effects of carboxymethyl cellulose and chitosan bilayer edible coating on postharvest quality of citrus fruit. Postharvest Biology and Technology, 87: 21-26.

[29] Gómez-Contreras, P., Figueroa-Lopez, K. J., Hernández-Fernández, J., Cortés Rodríguez, M., and Ortega-Toro, R. 2021. Effect of different essential oils on the properties of edible coatings based on yam (Dioscorea rotundata L.) starch and its application in strawberry (Fragaria vesca L.) preservation. Applied Sciences, 11(22): 11057.

[30] Valero, D., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S. and Serrano, M. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. Postharvest Biology and Technology, 41(3): 317-327.

[31] Montero-Prado, P., Rodriguez-Lafuente, A. and Nerin, C. 2011. Active label-based packaging to extend the shelf-life of "Calanda" peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity. Postharvest Biology and Technology, 60(3): 211-219.

[32] Zhang, Y., Zhang, M., and Yang, H. 2015. Postharvest chitosan-g-salicylic acid application alleviates chilling injury and preserves cucumber fruit quality during cold storage. Food chemistry, 174, 558-563.

[33] Peretto, G., Du, W.X., Avena-Bustillos, R.J., Sarreal, S.B.L., Hua, S.S.T., Sambo, P. and McHugh, T.H. 2014. Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. Postharvest Biology and Technology, 89: 11–18.

[34] Hussain, P.R., Suradkar, P.P., Wani, A.M. & Dar, M.A. 2016. Potential of carboxy methyl cellulose and γ-irradiation to maintain quality and control disease of peach fruit. International Journal of Biological Macromolecules, 82: 114-126.

[35] Sogvar, O.B., Koushesh Saba, M., Emamifar, A. and Hallaj. R. 2016b. Aloe vera and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology. 114: 29-35

[36] Caner, C., Aday, M.S. and Demir, M. 2008. Extending the quality of fresh strawberries by equilibrium modified atmosphere packaging. European Food Research and Technology, 227(6): 1575–1583.

[37] Castillo, S., Perez-Alfonso, C.O., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M. and Valero, D. 2014. The essential oils thymol and carvacrol applied in the packing lines avoid lemon spoilage and maintain quality during storage. Food Control, 35(1): 132-136.

[38] Grande Tovar, C.D., Delgado-Ospina, J., Navia Porras, D.P., Peralta-Ruiz, Y., Cordero, A.P., Castro, J.I. and Chaves López, C. 2019. Colletotrichum gloesporioides inhibition in situ by chitosan-Ruta graveolens essential oil coatings: Effect on microbiological, physicochemical, and organoleptic properties of guava (*Psidium guajava* L.) during room temperature storage. Biomolecules, 9(9): 399.

[39] Tesfay, S.Z. and Magwaza, L.S. 2017. Evaluating the efficacy of moringa leaf extract, chitosan and carboxymethyl cellulose as edible coatings for enhancing quality and extending postharvest life of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. Food Packaging and Shelf Life, 11: 40-48.

[40] Garcia, L.C., Pereira, L.M., de Luca Sarantópoulos, C.I. and Hubinger, M.D. 2012. Effect of antimicrobial starch edible coating on shelf-life of fresh strawberries. Packaging Technology and Science, 25(7): 413-425.

[41] Aday, M.S. and Caner, C. 2014. Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorine dioxide on strawberry storage life. LWT-Food Science and Technology, 57(1): 344-351.

[42] Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M. and Valero, D. 2009. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. Postharvest Biology and Technology, 53(3): 152-154.

[43] Guerreiro, A.C., Gago, C.M., Faleiro, M.L., Miguel, M.G. and Antunes, M.D. 2015. The use of polysaccharide-based edible coatings enriched with essential oils to improve shelf-life of strawberries. Postharvest Biology and Technology, 110: 51-60.

[44] Arnon, H., Zaitsev, Y., Porat, R. and Poverenov, E. 2014. Effects of carboxymethyl cellulose and chitosan bilayer edible coating on postharvest quality of citrus fruit. Postharvest Biology and Technology, 87: 21-26.

[45] Khalifa, I., Barakat, H., El-Mansy, H.A. and Soliman, S.A. 2016. Improving the shelflife stability of apple and strawberry fruits applying chitosan-incorporated olive oil processing residues coating. Food Packaging and Shelf Life, 9: 10–19.

[46] Maftoonazad, N., Ramaswamy, H.S., Moalemiyan, M. and Kushalappa, A.C. 2007. Effect of pectin-based edible emulsion coating on changes in quality of avocado exposed to *Lasiodiplodia theobromae* infection. Carbohydrate Polymers, 68(2): 341-349.

[47] Maqbool, M., Ali, A., Alderson, P.G., Zahid, N. and Siddiqui, Y. 2011. Effect of a novel edible composite coating based on gum arabic and chitosan on biochemical and physiological responses of banana fruits during cold storage. Journal of agricultural and food chemistry, 59(10): 5474-5482.

[48] Asghari Marjanlo, A., Mostofi, Y., Shoeibi, S. and Fattahi, M. 2009. Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. Journal of Medicinal Plants, 3(31): 25-43.

[49] Romanazzi, G., Feliziani, E., Baños, S.B. and Sivakumar, D. 2017. Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. Critical reviews in food science and nutrition, 57(3): 579-601.

[50] Al-Qurashi, A.D. and Awad, M.A. 2015. Postharvest chitosan treatment affects quality, antioxidant capacity, antioxidant compounds and enzymes activities of 'El-Bayadi'table grapes after storage. Scientia Horticulturae, 197P: 392-398.

[51] Han, C., Zhao, Y., Leonard, S.W. and Traber, M.G. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria* × *ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). Postharvest Biology and Technology, 33(1): 67–78.

[52] Palhano, F.L., Vilches, T.T.B., Santos, B.R., Orlando, M.T.D., Ventura, J.A. and Fernandes, P.M.B. 2004. Inactivation of *colletotrichum gleosporiodes* spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. International Journal of Food Microbiology, 95: 61-66.

[53] Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M. and Landi, L. 2013. Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. Postharvest Biology and Technology, 75: 24–27.

[54] Amal, S.H.A., El-Mogy, M.M., Aboul-Anean, H.E. and Alsanius, B.W. 2010. Improving strawberry fruit storability by edible coating as a carrier of thymol or calcium chloride. Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants, 2(3): 88-97.

[55] Kowalczyk, D., Kordowska-Wiater, M., Zięba, E. and Baraniak, B. 2017. Effect of carboxymethyl cellulose/candelilla wax coating containing potassium sorbate on microbiological and physicochemical attributes of pears. Scientia Horticulturae, 218: 326-333.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Design of nanoemulsion systems of essential oil alongside chitosan to control gray mold spoilage in strawberries

Leila Heidary[1], Zahra Javanmardi[1], Himan Nourbakhsh[2*], Mahmoud Koushesh Saba[3],

[1] Master's graduate, Department of Horticultural Science. Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
[2] Assistant professor, Food Science and Engineering Department, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
[3] Associate professor, Department of Horticultural Science. Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2024/1/23
Accepted:2024/6/1

Keywords:

Spontaneous nanoemulsion,

Botrytis cinere,

thymol,

spoilage index

DOI: **10.22034/FSCT.21.156.49.**

*Corresponding Author E-h.nourbakhsh@uok.ac.ir

ABSTRACT

Strawberry is a perishable fruit and gray mold is one of the main reasons which reducing its shelf life. Due to the limitations of using chemical poisons, it seems necessary to use safe methods such as the use of essential oils (EOs) and edible coatings to control this fungus maintain the quality, and increase the storage period. However, the high volatility of EOs and organoleptic effects on agricultural products have hindered the direct application of EOs. This study is designed to enhance the shelf life of strawberries by designing nanoemulsion systems of EO with chitosan as follows: in the first experiment, the effect of nanoemulsion of the thymol, one of the main components of thyme, with a concentration of 5 g/L, alone and in combination with chitosan (CH) biopolymer was investigated on Botrytis cinerea. All treatments significantly reduced fungal growth compared to the control sample. Also, combined treatment showed the highest level of inhibition of B. cinerea. The second experiment was performed to evaluate the quality changes and post-harvest wastes of strawberries during storage. In this section, the fruits were coated with thymol 0.5%, thymol nanoemulsion 0.5%, and thymol nanoemulsion 0.5% + CH 0.5% and kept at 4 °C. Results presented that the application of the applied treatments had a positive effect on the physicochemical and biochemical indicators of strawberry fruit during the post-harvest period and caused better preservation of firmness, prevented weight loss and reduced microbial load. Also, the lowest rate of weight loss, the highest rate of firmness, and the lowest rate of growth of microorganisms were observed in covered fruits with treatment of thymol nanoemulsion 0.5% + CH 0.5%. Finally, this treatment can be suggested as a suitable cover to maintain the quality and reduce post-harvest waste of strawberries.