

بررسی ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، نوری و آنتی اکسیدانی فیلم بتاگلوکان حاوی عصاره میوه درخت بلوط

ژیان شیخی^۱، شمیم بازیاری شورابی^۲، مهدی فرهودی^۳، سعیده شجاعی علی آبادی^۴، مهرناز امینی فر^۵، مرتضی مشایخ^۴، خدیجه عبدالملکی^۶

۱- دانشجوی دکتری بهداشت و ایمنی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: farhoodi@sbmu.ac.ir

۴- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- استادیار گروه پژوهشی مواد غذایی، پژوهشکده غذایی و کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران

۶- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۹/۵/۱۷

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به تمایل به فیلم‌های بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر و افزایش قابلیت ضد میکروبی آنها در سال‌های اخیر، این مطالعه با هدف بررسی قابلیت به کارگیری بتاگلوکان جهت تولید فیلم ضد میکروبی حاوی عصاره میوه درخت بلوط، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، نوری و آنتی اکسیدانی فیلم بتاگلوکان حاوی غلظت‌های مختلف ۱، ۲ و ۴ درصد عصاره میوه درخت بلوط بررسی شد. همچنین اثر ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده بر چهار باکتری بیماری‌زا بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در اثر افزودن عصاره میوه درخت بلوط ضخامت فیلم‌ها افزایش و میزان نفوذپذیری به بخار آب آنها کاهش معنی‌داری داشت. فیلم‌های حاصله در اثر افزودن عصاره، انعطاف‌پذیری بیشتری را از خود نشان دادند در حالی که مقاومت آنها به شکست کاهش معنی‌داری نشان داد. حلالیت فیلم‌ها با افزایش مقدار عصاره افزوده شده، کاهش معنی‌داری نشان داد. افزودن عصاره موجب افزایش معنی‌دار رنگ قرمز فیلم‌ها و کاهش معنی‌دار روشنی و زردی رنگ آنها شد. فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های ترکیب شده با عصاره افزایش معنی‌داری را نشان داد. فیلم‌های حاوی عصاره میوه درخت بلوط به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری کردند.

نتیجه‌گیری: عصاره میوه درخت بلوط به عنوان یک عامل ضدباکتری طبیعی دارای پتانسیل استفاده در فیلم به منظور بسته‌بندی گسترده‌ی وسیعی از فرآورده‌های غذایی، به ویژه مواد غذایی حساس به اکسیژن، می‌باشد.

واژگان کلیدی: فیلم بتاگلوکان، فعالیت ضد میکروبی، عصاره میوه درخت بلوط، فعالیت آنتی اکسیدانی

• مقدمه

شده است (۱). در طول سال‌های گذشته پیشرفت‌های زیادی در زمینه توسعه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی که حای عوامل ضد میکروبی هستند، جهت بهبود نگهداری مواد غذایی، مشاهده شده است (۲). فیلم‌های خوراکی قابلیت زیادی برای حمل ترکیبات فعال مانند عوامل ضد میکروبی دارند. این فیلم

فیلم‌ها و پوشش‌های پلیمری مصنوعی شیمیایی به طور وسیعی در بسته‌بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما مشکل اساسی این فیلم‌ها عدم تجزیه‌پذیری در طبیعت می‌باشد. لذا امروزه توجه زیادی به ساخت و تولید بسته‌بندی‌های زیست تخریب‌پذیر تحت عنوان فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی (پروتئینی، لیپیدی و پلی ساکاریدی)

ها برای محصولات غذایی تازه یا فرآوری شده استفاده شده و باعث بهبود ویژگی‌های ظاهری می‌شوند (۳).

پلی‌ساکاریدها فیلم‌هایی پایدار از نظر فیزیکی تولید می‌کنند و قابلیت کاهش انتقال اکسیژن را دارا می‌باشند. هر چند که، آنها موانع خوبی برای بخار آب نمی‌باشند. این ویژگی قابل ملاحظه موانعت‌کنندگی از اکسیژن، پلی‌ساکاریدها را برای محافظت مواد غذایی از اکسیداسیون مناسب می‌کند. فیلم‌های پلی‌ساکاریدی را به عنوان عوامل فداکارانه (sacrificing agents) می‌شناسند. پلی‌ساکاریدهای که عمدتاً در تشکیل فیلم مورد استفاده قرار می‌گیرند، نشاسته، سلولز و مشتقات آن، آلژینات، کاراگینان، پکتین‌ها، کیتوزان می‌باشند (۴، ۵).

بتاگلوکان یک هموپلی‌ساکارید غیرنشاسته‌ای متشکل از پیوندهای بتا-۱، ۳ پلی‌گلوکزها است که در دیواره سلولی دانه‌های غلات مثل برنج، گندم، جو دوسر، چاودار و سورگوم وجود دارد. این پلی‌ساکارید نوعی هیدروکلونید است که توانایی تشکیل ژل و حفظ ژل را دارد. این ترکیب محلول در آب بوده و محلول آن از ویسکوزیته بالایی برخوردار است. پژوهش‌های پیشین نشان داده است که بتاگلوکان دارای خواص فراسودمند و تغذیه‌ای نظیر تقویت سیستم ایمنی بدن، کاهش میزان کلسترول مضر و همچنین اثر ضدسرطانی است. این پلیمر با داشتن گروه‌های فنولیک می‌تواند رادیکال‌های آزاد را به دام ببندد. بتاگلوکان در صنعت غذا به عنوان پایدارکننده، بافت‌دهنده و تشکیل‌دهنده ژل به کار می‌رود. این ترکیب فیبری از سرطان معده و روده نیز جلوگیری می‌کند (۶).

فرآوری نامناسب و آلودگی میکروبی، ماندگاری ماده غذایی را کاهش می‌دهد و منجر به افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از مصرف غذا می‌گردد. به همین دلیل پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه ساخت بسته‌بندی‌های فعال و دارای عوامل ضد میکروب صورت گرفته است. استفاده از فیلم‌های ضد میکروب در مقایسه با افزودن مستقیم ماده ضد میکروب بسیار مؤثرتر است زیرا ترکیب ضد میکروب به کندی از سطح بسته‌بندی به ماده غذایی آزاد می‌شود و در غلظت مورد نیاز برای جلوگیری از رشد میکروبی حفظ می‌گردد (۷).

درخت بلوط با حداکثر ۲۴ متر ارتفاع بیشتر در مناطق سرد رشد می‌کند. بیش از ۳۴۴ گونه از این درخت در ناحیه مدیترانه و اروپا و ۲۴۴ گونه در ایران رشد می‌کند. در ایران از پوست و میوه‌ی این درخت برای درمان بیماری‌های پوستی،

اگزاما و واریس استفاده می‌شود. فعالیت زیستی قسمت‌های مختلف درخت بلوط باعث شده است تا به عنوان یک ماده کاربردی در صنعت به آن نگاه شود. گزارش‌ها نشان می‌دهد که ترکیبات اصلی گونه‌های مختلف بلوط شامل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، تانن‌ها، ترکیبات فنولیکی، ساپونین‌ها، ترپن‌ها و استروئیدها هستند و همچنین گونه‌های مختلف این درخت دارای فعالیت ضد میکروبی، ضد ویروسی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. نتایج پژوهش‌ها حاکی از آن است که فعالیت ضد میکروبی قسمت‌های مختلف درخت بلوط به دلیل وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در آن است. قسمت‌های مختلف درخت بلوط محتوی بالایی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشند (۷-۹).

Vinha و همکاران در سال ۲۰۱۶ ترکیبات شیمیایی و پروفایل آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های مختلف چهار گونه متفاوت درخت بلوط را مورد مطالعه قرار دادند. عصاره قسمت‌های مختلف با استفاده از حلال الکل-آب در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و زمان یک ساعت به دست آمد. نتایج نشان داد که بین قسمت‌های مختلف درخت بلوط، هسته میوه بلوط دارای بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (۱۰). Muskhazli و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطالعه مقایسه‌ای بر روی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی و متانولی گال درخت بلوط علیه باکتری *Cellulosimicrobium cellulans* انجام دادند. نتایج حاکی از آن بود که هر دو عصاره اثر معناداری بر روی کاهش رشد این باکتری داشتند (۱۱).

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، تاکنون پژوهشی مبنی بر بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ترکیبات موجود در عصاره میوه درخت بلوط در فیلم بسته‌بندی بر پایه بتاگلوکان صورت نگرفته است بنابراین هدف از پژوهش حاضر ارزیابی ویژگی‌های فیلم بتاگلوکان و قابلیت اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن در اثر افزودن عصاره میوه درخت بلوط می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

میوه بلوط از کوه‌های اطراف شیراز تهیه گردید. بتاگلوکان و گلیسرول و متانول از شرکت مرک (Merck) آلمان خریداری شدند. محیط کشت مولر-هینتون آگار از شرکت سیگما آلدردیج (Sigma-Aldrich) آمریکا تهیه گردید.

روش استخراج عصاره: مطابق روش اشاره شده به وسیله Amessis-Ouchemoukh و همکاران در سال ۲۰۱۷، انجام گرفت. بدین منظور نمونه میوه بلوط به وسیله آسیاب به صورت پودر درآمده و جهت استخراج عصاره ۱ گرم از پودر

اندازه‌گیری حلالیت فیلم‌ها در آب: نمونه های فیلم در ابعاد ۲×۲ بریده شده و پس از تعیین وزن اولیه در دمای ۱۱۰°C، نمونه‌ها درون ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفته و تحت شرایط ثابت در دمای ۲۵°C تحت هم‌زدن ملایم به مدت ۶ ساعت قرار گرفت. محلول حاصله توسط کاغذ صافی که قبلاً به وزن ثابت رسیده و توزین شده بود صاف گردید. درصد حلالیت فیلم در آب از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۵).

$$\text{درصد حلالیت} = \frac{\text{وزن ماده خشک اولیه} - \text{وزن ماده خشک پس از غوطه‌وری}}{\text{وزن ماده خشک اولیه موجود در فیلم}} \times 100$$

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب: میزان نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب با استفاده از روش شماره E96 مصوب ASTM تعیین گردید. نمونه فیلم روی ظروف شیشه‌ای با مساحت دهانه ۰/۰۰۲۸۷ متر مربع حاوی کلرید کلسیم بدون آب قرار داده شد و با کمک پارافین مایع دربندی گردید تا امکان ورود رطوبت از جایی غیر از سطح فیلم ممکن نباشد. ظروف شیشه‌ای حاوی فیلم درون دسیکاتور حاوی آب نمک اشباع قرار گرفتند. به علت وجود کلرید کلسیم در داخل سلول‌ها و وجود آب نمک اشباع در دسیکاتور، به ترتیب رطوبت نسبی ۰ و ۷۵ درصد در ظرف شیشه‌ای و دسیکاتور ایجاد شد. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای ۲۵°C، فشار بخاری معادل ۱۷۵۳/۵۵ پاسکال ایجاد کرد. در بازه‌ی زمانی ۱۰ ساعت، هر ساعت یک بار ظرف‌ها را از دسیکاتور خارج کردیم و تغییر در وزن ظروف با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ ثبت شد سپس نمودار تغییرات وزن ظرف نسبت به زمان، رسم گردید. با تقسیم شیب خط حاصله بر سطح فیلم مورد بررسی نرخ انتقال بخار آب بدست آمد. سپس ضخامت فیلم‌ها اندازه‌گیری شد. هدف اندازه‌گیری رطوبتی بود که جذب فیلم شده اما از آن عبور نکرده بود (۱۶). میزان نفوذپذیری بخار آب توسط معادله زیر محاسبه گردید:

$$\text{ضخامت فیلم} \times \text{نرخ انتقال بخار آب وزن} = \frac{\text{نرخ انتقال بخار آب}}{\text{اختلاف فشار موجود در دو سمت فیلم}}$$

اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها: ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها شامل قدرت کشش (مگاپاسکال) و افزایش طول تا نقطه شکست (%) نمونه‌های فیلم توسط دستگاه Testometric تعیین گردید. تمام برش های (۱۰ × ۱/۵

مذکور در ۵۰ میلی لیتر اتانول حل شده و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت روی هم‌زن قرار داده شد. پس از آن محلول به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شده (۶۸۰۰ دور در دقیقه) و این عملیات استخراج سه مرتبه انجام گرفت. سپس عصاره های حاصله دربندی شده و در دمای ۴°C تا زمان مورد استفاده نگهداری شدند (۱۲).

تهیه فیلم: برای تهیه فیلم بتاگلوکان روش شجاعی علی آبادی و همکاران با انجام اصلاحات لازم بکار رفت. بطور خلاصه، ۱ گرم بتاگلوکان به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد و سپس در ۸۲°C عمل هم‌زدن به آرامی انجام شد، تا بتاگلوکان به طور کامل حل شود. پس از ۱۵ دقیقه گلیسرول به میزان ۵۰ درصد حجمی/حجمی وزن پلیمر به عنوان نرم‌کننده افزوده شد. برای تهیه فیلم‌های دارای عصاره به ترتیب ۱، ۲ و ۴ درصد حجمی/حجمی، عصاره بلوط به محلول بتاگلوکان افزوده شد سپس ۵۰ میلی لیتر از هر محلول به آرامی در داخل قالب‌های شیشه‌ای ریخته شد. قالب‌ها در یک سطح کاملاً تراز قرار داده شدند تا در دمای محیط خشک شده و فیلم‌ها تشکیل شوند. سپس این فیلم‌ها روی فویل آلومینیومی قرار داده شده و برای تعدیل رطوبتی (رسیدن به وزن ثابت) در دسیکاتور در دمای ۲۵°C و رطوبت نسبی ۵۳٪ نگهداری شدند. برای ایجاد رطوبت نسبی ۵۳٪ از محلول اشباع نیترات منیزوم استفاده شد. سپس آزمون‌های مورد نظر روی آن‌ها انجام پذیرفت (۱۳).

ضخامت فیلم‌ها: ضخامت فیلم‌ها با میکرومتر (میتوتو - ژاپن) تعیین گردید. اندازه‌گیری‌ها در ۶ نقطه مختلف در هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین قدرت کششی، نفوذپذیری به بخار آب استفاده گردید.

اندازه‌گیری میزان رطوبت فیلم‌ها: پس از آنکه فیلم‌ها به تعادل رطوبتی رسیدند، میزان رطوبت آنها، تعیین شد. برای انجام این آزمایش، ظروف آلومینیومی خالی در دمای ۱۱۰°C به وزن ثابت رسیده و پس از سرد شدن توزین شدند. نمونه‌های فیلم درون کپسول‌ها قرار داده شده و با ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شدند. کپسول‌های حاوی فیلم در آون در دمای ۱۱۰°C قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. پس از سرد شدن در دسیکاتور، مجموعه وزن گردید. محتوای رطوبت فیلم‌ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۴).

$$\text{درصد رطوبت بر مبنای وزن مرطوب} = \frac{100 \times \text{وزن آب}}{\text{وزن نمونه مرطوب}}$$

سانتی‌متر مربع) نمونه‌های مورد آزمایش قبلاً در دمای 25°C و رطوبت نسبی ۵۳٪ که توسط دسیکاتور دارای محلول اشباع نیترات منیزیم فراهم شده بود به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شده بودند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵ سانتی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد. مقاومت کششی روکش‌ها از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۷).

$$\text{ضخامت فیلم} \times \text{عرض فیلم} = \frac{\text{حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن}}{\text{قدرت کششی}}$$

بررسی رنگ فیلم‌ها: رنگ فیلم‌ها مطابق روش نوری و همکاران بررسی شد. رنگ فیلم‌ها از طریق ویژگی‌های روشنی (L)، قرمزی (a) و زردی (b) با استفاده از رنگ سنج مدل TES – 135 A ساخت کشور تایوان ارزیابی شد. اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام گرفت (۱۸).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها: فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطابق روش برند ویلیامز و همکاران تعیین شد. بطور خلاصه ۲۵ میلی‌گرم از هر نمونه فیلم در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره فیلم به ۳/۹ میلی‌لیتر محلول DPPH (محلول متانولی ۰/۱ میلی‌مولار) اضافه شده، و سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. سپس جذب آن در ۵۱۷ نانومتر در مقابل متانول خوانده شد و درصد فعالیت خورندگی رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{Ablank} - \text{sample})}{\text{Ablank}} \times 100$$

که بلانک A جذب بلانک (محلول متانولی DPPH) و نمونه A جذب نمونه را نشان می‌دهند (۱۹).

بررسی فعالیت ضد میکروبی به روش دیسک انتشاری: فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی در حالت تماس مستقیم به صورت کمی با استفاده از روش آگار دیسک دیفیوژن (Solid Disc Diffusion Method) تعیین شد. فیلم‌های ضد میکروبی تحت شرایط اسپتیک به صورت دیسک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر برش داده شده و بر روی محیط کشت مولر-هینتون آگار قرار داده شدند. قبل از قرار دادن دیسک‌ها بر روی سطح محیط کشت، کشت سطحی با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع محتوی تقریباً 10^8 CFU/ml از هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش انجام گرفت. سپس پلیت‌ها در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. منطقه بازداری که از اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده از قطر دیسک‌ها محاسبه گردید، به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها در نظر گرفته شد (۱۹).

آنالیز آماری: کلیه آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد و نتایج با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و در صورت لزوم آزمون تعقیبی دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ($\alpha=0/05$) مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS 17 vs انجام شد.

• یافته‌ها

ویژگی‌های فیزیکی (ضخامت، مقدار رطوبت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب) و مکانیکی (افزایش طول در نقطه شکست و قدرت کششی) فیلم‌های کنترل (شاهد)، ۱، ۲، و ۳ به ترتیب دارای ۰، ۱، ۲ و ۴ درصد حجمی/حجمی عصاره در جدول ۱ ذکر شده است. در جدول ۲ مقادیر پارامترهای رنگی L، a، b فیلم‌های شاهد و دارای عصاره درخت بلوط ارائه شده است.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها (n=۳)

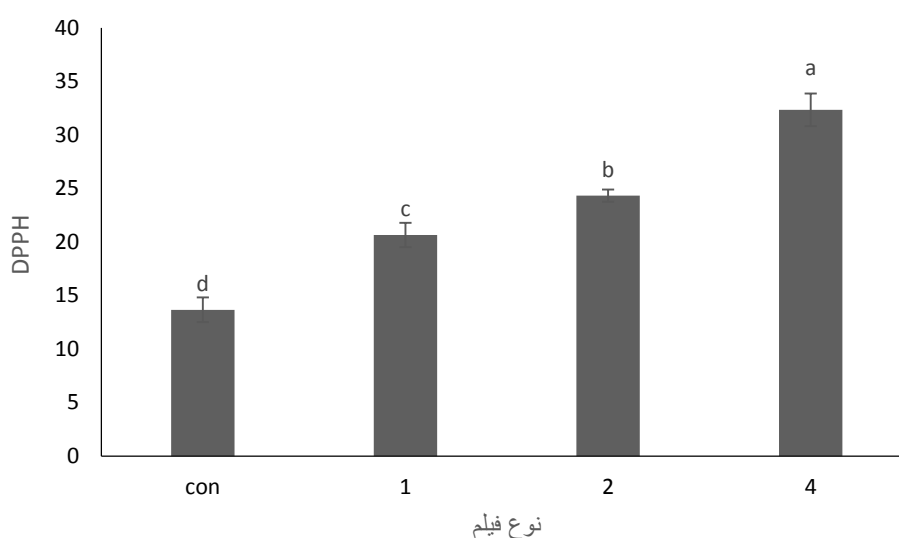
نوع فیلم	ضخامت (mm)	مقدار رطوبت (%)	حلالیت (%)	WVP $\text{g s}^{-1}\text{m}^{-1}\text{Pa}^{-1} \times 10^{-10}$	افزایش طول در نقطه شکست (%)	قدرت کششی (MPa)
شاهد	0.043 ± 0.001^d	15.08 ± 0.26^a	30.93 ± 0.15^a	8.34 ± 0.83^a	13.91 ± 0.46^d	25.76 ± 0.65^a
۱	0.053 ± 0.001^c	14.48 ± 0.55^a	29.93 ± 0.09^b	1.17 ± 0.16^b	15.01 ± 0.11^c	23.18 ± 0.33^b
۲	0.076 ± 0.001^b	14.62 ± 0.52^a	29.17 ± 0.71^b	1.42 ± 0.08^b	16.59 ± 0.29^b	19.65 ± 0.37^c
۴	0.095 ± 0.001^a	13.14 ± 0.33^b	27.34 ± 0.41^c	1.66 ± 0.07^b	17.94 ± 0.21^a	15.58 ± 0.34^d

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار ویژگی‌های نوری فیلم‌ها (n=۳)

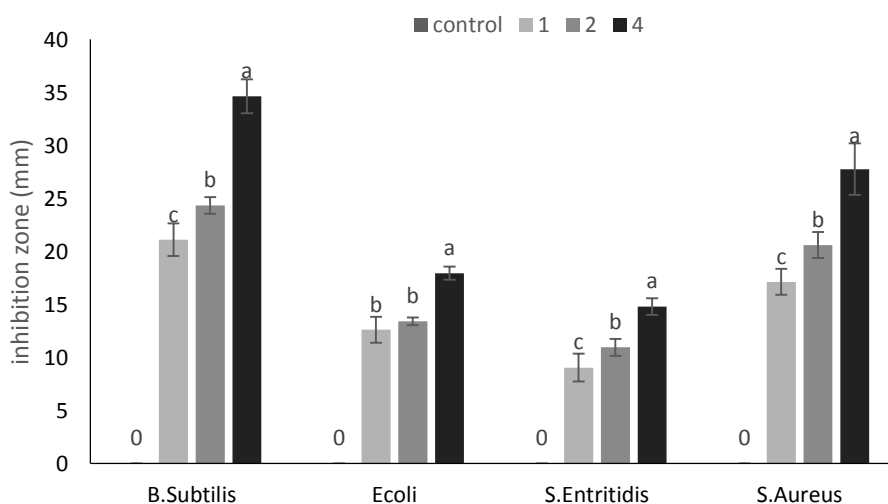
نوع فیلم	L	a	b
شاهد	۸۹/۶۵ ± ۰/۳۶ ^a	۰/۶۲ ± ۰/۰۱ ^d	۱۶/۵۷ ± ۰/۲۶ ^a
۱	۸۵/۳۴ ± ۰/۳۷ ^b	۳/۳۹ ± ۰/۲۴ ^c	۱۵/۷۴ ± ۰/۱۶ ^b
۲	۷۹/۸۲ ± ۰/۳۵ ^c	۴/۴۳ ± ۰/۲۹ ^b	۱۵/۰۲ ± ۰/۱۴ ^c
۴	۶۷/۴۳ ± ۰/۲۸ ^d	۶/۲۸ ± ۰/۳۹ ^a	۱۲/۴۱ ± ۰/۱۷ ^d

شکل ۱ فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم شاهد و فیلم‌های دارای غلظت‌های مختلف از عصاره بلوط را نشان می‌دهد. نتایج به‌دست آمده از بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های

حاصله بر ۴ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیاکلی و سالمونلا اتریتیدیس نیز در شکل ۲ ارائه شده است.



شکل ۱. فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم شاهد و فیلم‌های دارای غلظت‌های مختلف از عصاره بلوط (n=۳) مقادیر با حروف متفاوت بر اساس آزمون دانکن در سطح (p < ۰/۰۵) با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.



شکل ۲. فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های حاصله بر ۴ باکتری بیماری‌زا (n=۳) مقادیر با حروف متفاوت بر اساس آزمون دانکن در سطح (p < ۰/۰۵) با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.

• بحث

ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها: ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. ضخامت فیلم شاهد (فاقد عصاره) 0.43 میلی‌متر بود که با افزودن عصاره و متناسب با غلظت آن به طور معنی‌داری افزایش یافت، به گونه‌ای که بیشترین ضخامت مربوط به فیلم‌های دارای 4% عصاره بود. افزایش ضخامت فیلم‌ها در حضور عصاره احتمالاً به علت افزایش میزان مواد جامد موجود در آن‌ها است. البته نحوه قرارگیری مولکول‌های عصاره در فیلم نیز در افزایش ضخامت مؤثر است. مطالعات متعدد نیز با افزودن عصاره و اسانس به فیلم‌ها افزایش ضخامت را مشاهده نموده‌اند که دلایل احتمالی را، به دام افتادن ترکیبات فنولی با وزن مولکولی بالا موجود در عصاره و اسانس موجود در فیلم، و همچنین عصاره غلیظ‌تر اضافه شده در فیلم، دانسته‌اند (۲۰، ۲۱).

میزان رطوبت فیلم‌ها در محدوده $13/14 - 15/08\%$ بود. افزودن 4% عصاره سبب کاهش معنی‌داری در میزان رطوبت فیلم‌ها گردید ($p < 0.05$). در حضور عصاره، درصد حلالیت فیلم‌ها بطور معنی‌داری کاهش نشان داد. علت کاهش میزان رطوبت و حلالیت فیلم‌های عصاره را می‌توان به ماهیت هیدروفوب عصاره مورد استفاده نسبت داد که سبب کاهش نسبت بخش هیدروفیل به هیدروفوب فیلم می‌شود. همچنین برهمکنش میان ترکیبات عصاره و گروه‌های هیدروکسیل پلیمر بتاگلوکان را نیز باید در نظر داشت زیرا وجود این برهمکنش‌ها خود منجر به کاهش دسترسی مولکول‌های آب به گروه‌های هیدروکسیل شده و لذا تولید فیلم‌های مقاوم‌تر به آب را سبب می‌شود (۲۲، ۱۳).

نفوذپذیری به بخار آب به عنوان نرخ انتقال آب به نیروی محرکه فشار بخار تعریف می‌شود و معمولاً از طریق یک روش گرانشی اندازه‌گیری می‌شود. فرآیند بخار آب به نسبت آبدوست-آبگریز ترکیبات فیلم بستگی دارد (۲۳). میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم بتاگلوکان خالص 10^{-10} گرم بر ثانیه متر پاسکال بود و حضور عصاره در فیلم‌ها صرف نظر از غلظت، کاهش معنی‌داری را در نفوذپذیری به بخار آب سبب گردید ($p < 0.05$). علت این پدیده را می‌توان به ماهیت آبگریزی عصاره نسبت داد که سبب کاهش تمایل مولکول‌های آب به فیلم می‌شود. همچنین برهمکنش هیدروژنی و کووالان بین شبکه بتاگلوکان و ترکیبات عصاره بلوط، دسترسی گروه‌های هیدروژن را برای تشکیل پیوندهای هیدروژنی با آب کم کرده و منجر به کاهش تمایل فیلم

بتاگلوکان به آب و لذا کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب می‌شود (۲۴).

همچنین حضور قطرات هیدروفوب عصاره پراکنده شده در ماتریکس فیلم سبب افزایش فاکتور انحنا (Tortuosity Factor) برای انتقال جرم در ماتریکس پیوسته فیلم می‌شود (یعنی افزایش مسافت طی شده توسط مولکول‌های آب) که به نوبه خود سبب بهبود ویژگی‌های بازدارندگی فیلم در برابر بخار آب می‌گردد (۲۴).

از طرف دیگر نفوذپذیری به بخار آب پلیمرهای آبدوست به میزان زیادی تحت تأثیر میزان رطوبت پلیمر قرار می‌گیرد. با افزایش میزان رطوبت، تحرک مولکول‌های آب در ساختار پلیمر افزایش می‌یابد به همین دلیل بخار آب بیشتری عبور می‌کند، اگرچه در این بررسی با افزودن عصاره بلوط میزان رطوبت فیلم‌ها کاهش یافته و سبب کاهش معنی‌دار نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها گردید (۱۴).

از سوی دیگر، برخی از پژوهشگران گزارش نموده‌اند که وجود عصاره در ماتریکس فیلم منجر به کاهش نیروی پیوستگی مولکولی شبکه پلیمر و کاهش انسجام ساختار فیلم و لذا افزایش نفوذپذیری به بخار آب می‌شود (۲۵). در مطالعه حاضر هر چند مقاومت کششی فیلم‌های بتاگلوکان بر اثر افزودن عصاره کاهش نشان داد، این یافته‌ها نشان می‌دهد که ماهیت آبگریزی عصاره بر افت انسجام ساختار فیلم ناشی از وجود عصاره غلبه کرده و سبب تولید فیلم‌هایی با نفوذپذیری کمتر به بخار آب گردیده است.

فیلم بدون عصاره دارای مقاومت کششی برابر $25/76$ مگاپاسکال بود. بدون توجه به مقدار، وجود عصاره سبب کاهش مقاومت کششی فیلم‌ها گردید در حالی که درصد افزایش طول را بطور معنی‌داری افزایش داد ($p < 0.05$)، بدین ترتیب منجر به تولید فیلم‌هایی با مقاومت کمتر نسبت به شکسته شدن اما با قابلیت کشش بالاتر گردید. Sánchez-González و همکاران (۲۰۱۰) اشاره نمودند که رخ دادن برهمکنش‌های ضعیف میان پلیمر قطبی و ترکیبات غیرقطبی سبب کاهش تعداد برهمکنش‌های قوی‌تر میان زنجیره‌های پلیمر می‌شود. این امر به نوبه خود تضعیف سازماندهی مولکولی شبکه و لذا کاهش مقاومت کششی را سبب می‌شود (۲۴).

افزایش معنی‌دار درصد افزایش طول نسبت به فیلم کنترل که با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. به نظر می‌رسد که وجود عصاره، اثر نرم‌کنندگی بر فیلم‌های بتاگلوکان داشته که بالانس نیروهای برهمکنش در شبکه پلی‌ساکاریدی را تغییر

سویتیلیس در هر سه غلظت مورد بررسی حساس‌ترین باکتری نسبت به عصاره درخت بلوط بود. فیلم دارای ۱ و ۲٪ عصاره بر بازداری از رشد ایکولای تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p < 0.05$). Bahador و همکاران (۲۰۱۱) نیز به طور مشابهی اثر بازدارندگی عصاره الکلی بلوط را بر باکتری بیماری‌زا مشاهده نمودند (۳۱). بر اساس مطالعات پیشین بر روی ترکیبات فعال میوه بلوط که اثر ضدباکتری دارند، تانن فراوان ترین ماده اشاره شده می‌باشد. ترکیبات فیتوشیمیایی مانند تانن‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ترکیبات دیگر از جمله متابولیت‌های ثانویه گیاهان می‌باشند اثر دفاعی بر بسیاری از میکروارگانیسم‌ها دارند. در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شده است که چندین فلاونوئید فعال زیستی مانند فروکومارین و فورانوکومارین و همچنین ترکیبات فنولی دیگر نیز اثر ضدباکتریایی را از خود نشان می‌دهند. فروکومارین‌ها از طریق برهمکنش با DNA و تخریب کدبرداری DNA از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کنند. از طرفی دیگر ویژگی آب‌گریزی ترکیبات فنولی قابلیت بر هم‌زدن عملکرد سلولی و یکنواختی غشا را دارد (۳۲).

بطور کلی فیلم ضد میکروبی مورد مطالعه بر باکتری‌های گرم مثبت مؤثرتر از منفی عمل نمود که در تطابق با نتایج سایر محققین است. با توجه به مکانیسم عمل ذکر شده برای عصاره میوه درخت بلوط، این پدیده به علت وجود لایه خارجی لیپوپلی ساکاریدی اطراف دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی است که نفوذ ترکیبات هیدروفیل را محدود نموده و لذا کارایی اثر ضد میکروبی عصاره کاهش می‌یابد. باید توجه داشت که به علت تنوع وسیع ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره نمی‌توان اثر ضد میکروبی آن را به یک مکانیسم خاص نسبت داد (۳۲).

یافته‌های بدست‌آمده از این پژوهش نشان داد که افزودن عصاره میوه درخت بلوط به فیلم بر پایه بتاگلوکان بطور موفقیت‌آمیزی سبب تولید فیلم‌هایی با ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مطلوب گردید، به گونه‌ای که بر باکتری‌های مورد بررسی مؤثر بود. غلظت‌های بالاتر عصاره در این زمینه کارآمدتر بود.

سپاسگزاری: این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی گرایش کنترل کیفی و بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد.

داده و متعاقباً سبب افت پیوستگی فیلم شده و لذا حرکت زنجیره‌ها را هنگام کشیدن فیلم تسهیل می‌کند (۲۶، ۲۷).

ویژگی‌های نوری فیلم‌ها: جدول ۲ ویژگی‌های نوری شامل L، a، b، فیلم‌های بتاگلوکان با و بدون حضور عصاره را نشان می‌دهد. L شاخص روشنایی رنگ، a شاخص قرمزی، b شاخص زردی می‌باشد. فیلم کنترل شفاف بود. افزودن عصاره سبب افزایش a اما کاهش L و b گردید. افزودن عصاره به کاررفته سبب ایجاد ظاهر کمی تیره‌تر شد علت این تغییرات رنگ را احتمالاً می‌توان به وجود ترکیبات فنلی عصاره نسبت داد. گزارش شده است که افزودن فاز پراکنده غیر قابل امتزاج به پراکنش تشکیل‌دهنده فیلم سبب کاهش شفافیت فیلم بدست آمده نسبت به فیلم خالص می‌شود. احتمالاً این پدیده با افزایش پراکنش نور توسط قطرات عصاره توزیع شده در ماتریکس فیلم مرتبط است (۲۸).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها: همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده، فیلم کنترل فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیفی را نشان داد که احتمالاً به علت پلی‌فنل‌های طبیعی موجود در آن می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم بتاگلوکان با افزودن عصاره درخت بلوط بطور قابل توجهی بهبود یافت. بطور کلی قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های خوراکی دارای عصاره با غلظت عصاره موجود در آن‌ها متناسب است (۲۹). بررسی مطالعه ما در تأیید این نتیجه نشان داد که فیلم‌های دارای ۴٪ عصاره بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بودند. نتایج مشابهی در مورد فیلم‌های ژلاتین فرموله شده با عصاره‌های ارگانو و رزماری توسط Gómez-Estaca و همکاران (۲۰۰۹) گزارش گردید (۲۹). قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها عمدتاً ناشی از ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها است که توسط Dimitrios و همکاران (۲۰۰۶) بررسی شده است (۳۰). بنا به نتایج به دست آمده این مطالعه نشان داد که عصاره درخت بلوط پتانسیل افزوده شدن به فیلم بتاگلوکان را به منظور بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن دارا می‌باشد.

فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها: فیلم کنترل هیچ گونه اثر بازداری بر باکتری‌های مورد مطالعه نشان نداد. نتایج نشان داد که در روش تماس مستقیم تمام فیلم‌های دارای عصاره توانستند از رشد چهار باکتری مورد مطالعه بازداری کنند. همان‌طور که انتظار می‌رفت فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها در غلظت‌های بالاتر عصاره تقویت شد به گونه‌ای که بزرگ‌ترین هاله بازداری در غلظت‌های ۴٪ عصاره دیده شد. باسیلوس

• References

1. Sheikhi Z, Hosseini SM, Khani MR, Farhoodi M, Abdolmaleki K, Shokri B, Shojaei-Aliabadi S, Mirmoghtadaie L. Treatment of starch films with a glow discharge plasma in air and O₂ at low pressure. *Food Science and Technology International*. 2021;27(3):276-85.
2. Payan M, Hamed M. Application of active packaging in foods-A review. 2013; 49-68.
3. Sawangkan K, Sittikijyothin W, Satirapipathkul C, editors. *Natural Polysaccharide-Based Films and their Antibacterial Activities*. *Advanced Materials Research: Trans Tech Publ* 2012; 506: 397-400)
4. Gontard N, Guilbert S, CUQ JL. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *Journal of food science*. 1992;57(1):190-5.
5. Gennadios A, Weller CL, Gooding CH. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of food engineering*. 1994;21(4):395-410.
6. Wu C, Chu B, Kuang L, Meng B, Wang X, Tang S. Synthesis of β -1, 3-glucan esters showing nanosphere formation. *Carbohydrate polymers*. 2013;98(1):807-12.
7. Thondre PS, Ryan L, Henry CJK. Barley β -glucan extracts as rich sources of polyphenols and antioxidants. *Food Chemistry*. 2011;126(1):72-7.
8. Mohammadzadeh A, Samadi-Maybodi A, Khodadoust S. Determination of trace elements in soil, leaves and fruits of *Quercus brantii* grown in southwestern Iran by atomic spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013;113:423-6.
9. Touati R, Santos SA, Rocha SM, Belhamel K, Silvestre AJ. The potential of cork from *Quercus suber* L. grown in Algeria as a source of bioactive lipophilic and phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*. 2015;76:936-45.
10. Vinha A, Costa A, Barreira JC, Pacheco R, Oliveira MBP. Chemical and antioxidant profiles of acorn tissues from *Quercus* spp.: Potential as new industrial raw materials. *Industrial Crops and Products*. 2016;94:143-51.
11. Muskhazli M, Nurhafiza Y, Nor Azwady A, Nor Dalilah E. Comparative study on the in vitro antibacterial efficacy of aqueous and methanolic extracts of *Quercus infectoria* Galls against *Cellulosimicrobium cellulans*. *J Biol Sci*. 2008;8(3):634-8.
12. Amessis-Ouchemoukh N, Ouchemoukh S, Meziant N, Idiri Y, Hernanz D, Stinco CM, et al. Bioactive metabolites involved in the antioxidant, anticancer and antipain activities of *Ficus carica* L., *Cerantonia siliqua* L. and *Quercus ilex* L. extracts. *Industrial Crops and Products*. 2017;95:6-17.
13. Shojaei-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar MA, Mohammadi A, Ghasemlou M, Ojagh SM, et al. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International journal of biological macromolecules*. 2013;52:116-24.
14. Farhoodi M, Beikzadeh S. Effect of using cold plasma treatment on the surface and physicochemical properties of starch-chitosan composite film. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2020;15(1):103-11.
15. Sheikhi Z, Mirmoghtadaie L, Khani M, Farhoodi M, Beikzadeh S, Abdolmaleki K, et al. Physicochemical characterization of argon plasma-treated starch film. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2020;22(4):999-1008.
16. Astm E. Standard test methods for water vapor transmission of materials. ASTM International: West, Conshohocken, PA. 96
17. Properties ASDoM, editor Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting 1995: American Society for testing and Materials.
18. Nouri L, Nafchi AM. Antibacterial, mechanical, and barrier properties of sago starch film incorporated with betel leaves extract. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;66:254-9.
19. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. 1995;28(1):25-30.
20. Rahmani B, Hosseini H, Khani M, Farhoodi M, Honarvar Z, Feizollahi E, et al. Development and characterisation of chitosan or alginate-coated low density polyethylene films containing *Satureja hortensis* extract. *International journal of biological macromolecules*. 2017;105:121-30.
21. Honarvar Z, Farhoodi M, Khani MR, Mohammadi A, Shokri B, Ferdowsi R, et al. Application of cold plasma to develop carboxymethyl cellulose-coated polypropylene films containing essential oil. *Carbohydrate polymers*. 2017;176:1-10.
22. Ying R, Saulnier L, Bouchet B, Barron C, Ji S, Rondeau-Mouro C. Multiscale characterization of arabinoxylan and β -glucan composite films. *Carbohydrate polymers*. 2015;122:248-54.
23. Fallah M, Rouhi M, Sadeghi E, Sarlak Z, Mohammadi R. Effects of *Olibanum* Essential Oil on Physicochemical, Structural, Antioxidant and Microbial Characteristics of Gelatin Edible Films. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2020;15(4):93-102.
24. Sánchez-González L, González-Martínez C, Chiralt A, Cháfer M. Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films. *Journal of Food Engineering*. 2010;98(4):443-52.

25. Bonilla J, Atarés L, Vargas M, Chiralt A. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Food hydrocolloids*. 2012;26(1):9-16.
26. Atarés L, Bonilla J, Chiralt A. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*. 2010;100(4):678-87.
27. Monedero FM, Fabra MJ, Talens P, Chiralt A. Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. *Journal of Food Engineering*. 2009;91(4):509-15.
28. Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A, Cháfer M. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*. 2009;23(8):2102-9.
29. Gómez-Estaca J, Bravo L, Gómez-Guillén M, Alemán A, Montero P. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chemistry*. 2009;112(1):18-25.
30. Dimitrios B. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in food science & technology*. 2006 Sep 1;17(9):505-12.
31. Bahador N, Baserisalehi M. The effect of *Quercus castaneifolia* extract on pathogenic enteric bacteria. *Anaerobe*. 2011;17(6):358-60.
32. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*. 2004;94(3):223-53.

Study of Mechanical, Physical, Optical and Antioxidant Characteristics of β -Glucan Based Films Containing Extracts of Oak Trees

Sheikhi Zh¹, Bazyari-Shurabi Sh², Farhoodi M^{*3}, Shojaei-Aliabadi S⁴, Aminifar M⁵, Mashayekh M⁴, Abdolmaleki Kh⁶

1-PhD Student in Food Safety and Hygiene, Department of Food Science and Technology, Faculty of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2-Graduated from Master of Science in Food, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- *Corresponding author: Associated Prof, Dept. of Food Sciences & Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: farhoodi@sbmu.ac.ir

4- Dept. of Food Sciences & Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5-Dept. of Food Science & Technology, Faculty of Food Industry and Agriculture, Standard Research Institute (SRI), Karaj, Iran

6-Dept. of Food Science and Technology, School of Nutrition Science and Food Technology, Kermanshah University of Medical Science, Kermanshah, Iran.

Received 7 Aug, 2020

Accepted 30 Dec, 2020

Background and Objectives: In recent years, studies have focused on biodegradable packaging films and increase of their antimicrobial ability. Therefore, this study was carried out to investigate usability of beta-glucan to produce antimicrobial films incorporated with extracts of oak trees.

Materials & Methods: In this study, physical, mechanical, optical and antioxidant characteristics of β -glucan based films incorporated by 1, 2 and 4% of oak tree extracts were investigated. Moreover, antimicrobial effects of the prepared films on four pathogens were studied.

Results: Results showed that by addition of oak tree extracts, film thickness and water permeability rate significantly increased and decreased, respectively. Prepared films were more flexible, while their elongation in breaks significantly decreased. Film solubility decreased with increases in quantity of the added extracts. Addition of oak tree extracts increased redness and decreased lightness and yellowness parameters. Films incorporated with the extracts showed significant increases in antioxidant characteristics. Prepared films significantly ($p < 0.05$) inhibited the bacterial growth.

Conclusion: Oak tree extracts as natural antibacterial inhibitors include good potentials to incorporate into films of packaging to extend food shelf-life, in particular the oxygen sensitive foods.

Keywords: Beta-glucan films, Oak tree extracts, Antimicrobial effects, Antioxidant characteristics