

تهیه و بررسی بیوفیلم بسته‌بندی زیست تخریب پذیر ضد میکروبی بر پایه نشاسته ذرت

مهران قاسملو^۱، رامین خاکسار^۲، توحید مردانی^۳، مریم شهنیا^۴، حمید راشدی^۵

۱- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، پژوهشگر مرکز پژوهش و توسعه سازمان اتکا، تهران، ایران

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

۳- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۵- دانشیار دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشگاه تهران

چکیده

سابقه و هدف: پوشش‌های زیست تخریب پذیر خوراکی می‌توانند در کاهش انتقال رطوبت، نفوذ اکسیژن، از دست دادن یا جذب فرار آرومایی یا روغن که از مشکلات مواد غذایی در طول نگهداری می‌باشد، بسیار موثر باشند. از سویی با توجه به قابلیت فیلم‌های خوراکی در حفظ و انتقال افزودنی‌های غذایی، می‌توان از این ویژگی در افزایش عمر انبار مانی فرآورده‌های غذایی استفاده نمود. به این منظور با افزودن ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی امکان بازداری از رشد میکروب‌های بیماری‌زا فراهم خواهد شد.

مواد و روش‌ها: فیلم‌های خوراکی ترکیبی بر پایه نشاسته ذرت و اسانس‌های خوراکی آویشن شیرازی و پونه در نسبت‌های ۱، ۲ و ۳٪ بر اساس امولسیون سازی و با هدف بهبود خصوصیات مکانیکی، سد شوندگی در برابر بخار آب و میکروبی تهیه شدند. داده‌ها توسط روش‌های آماری با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شد و نتایج مورد بررسی و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های تولید شده تحت تأثیر افزودن اسانس قرار گرفت به طوری که مقاومت کششی کاهش و کشیدگی به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. این مورد در مورد فیلم‌های حاوی اسانس آویشن دارای معنی‌داری بیشتری بود. ویژگی این فیلم‌ها در ارتباط با ریز ساختارشان به وسیله‌ی میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده شد. مطالعه ریز ساختار نیز تأثیر حضور اسانس‌های خوراکی را روی سطح داخلی و خارجی فیلم تأیید کرد که این امر کاهش نفوذ پذیری به بخار آب در فیلم حاوی مواد لیپیدی را توجیه می‌کند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که اسانس‌های خوراکی می‌توانند نقش مهمی در سازگاری ویژگی این فیلم‌ها برای کاربردهای موجود در فناوری غذا داشته باشند. بنابراین، اختلاط آن‌ها می‌تواند این فیلم‌ها را برای دستیابی به کاربردهای صنایع غذایی که نیازمند به تمایل ترکیبی کمتری با آب می‌باشد، مناسب سازد.

واژگان کلیدی: نشاسته ذرت، فیلم خوراکی، اسانس خوراکی، آویشن شیرازی

مقدمه

بسته‌بندی به معنای تهیه ظروف، محافظ یا سیستمی است که سلامت کالای محتوی خود را در فاصله تولید تا مصرف حفظ نموده و آن را از ضربات، صدمات، لغزش، فشار و ارتعاش مصون نگه دارد. هدف اصلی از بسته‌بندی مواد غذایی از نظر تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان این است که ضایعات یا به عبارتی میزان زباله را کاهش دهند. برای این منظور می‌توان روش‌های نوینی در سیستم بسته‌بندی ارائه نمود. جایگزین کردن سیستم‌های جدید بسته‌بندی می‌تواند برای کلیه

مصرف‌کنندگان و حتی تولیدکنندگان مهم‌ترین هدف به شمار آید (۱).

در سال‌های اخیر، صنایع غذایی و بسته‌بندی تلاش‌های زیادی جهت کشف روش‌های نو به منظور حفاظت از غذاها از شرایط محیطی و تنش‌های مکانیکی انجام داده‌اند. این راهکارها در راستای افزایش تقاضای مصرف‌کننده برای کیفیت و ماندگاری بالای محصولات و نیز افزایش آگاهی آن‌ها نسبت به موضوعات محیطی حائز اهمیت است (۲). در پاسخ به موضوعات مطرح شده، بیوپلیمرهایی نظیر پروتئین‌ها، پلی

مطالعاتی صورت گرفته است. اما در هیچ یک از این مطالعات نشاسته ذرت به عنوان پایه فیلم بسته بندی به کار نرفته است. بنا به دانش ما، هیچ تحقیق ویژه ای بر روی اثرات اسانس های خوراکی ضد میکروبی روی ویژگی های فیلم نشاسته ذرت گزارش نشده است. در سال های اخیر، نگرش های نوینی بر استفاده از ترکیبات ضد میکروبی جدید برای تولید فیلم و ترکیب آن ها با سایر ترکیبات مورد تأکید قرار گرفته است. هدف از انجام این مطالعه، توسعه یک فیلم جدید خوراکی بر پایه اختلاط لیپیدی نشاسته ذرت از طریق فرآیند امولسیون سازی بود. در طی این فرآیند، تأثیر اسانس های آویشن شیرازی و پونه روی خصوصیات ریزساختار محلول های تشکیل دهنده فیلم تعیین شد. به علاوه، خصوصیات مربوط به تناسب این فیلم خوراکی جدید با پوشش دهنده مواد غذایی در قالب ویژگی های نفوذپذیری در برابر بخار آب، مکانیکی، میکروبی و ریزساختار مورد بررسی قرار گرفته است. این نتایج برای ارزیابی کاربردهای ممکن به عنوان ماده بسته بندی حائز اهمیت است.

مواد و روش ها

مواد لازم: نشاسته خوراکی ذرت از شرکت گلوکوزان قزوین تهیه شد. اسانس گیاه آویشن شیرازی، و پونه که در این طرح مورد استفاده قرار گرفت از شرکت بارچ کاشان که تولیدکننده اسانس می باشد تهیه شد. به علت حساسیت اسانس های گیاهی به نور تمامی آن ها در بطری های کوچک تیره ی شیشه ای، درون یخچال در دمای ۴ تا ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سایر مواد لازم برای این تحقیق از نماینده شرکت سیگما و مرک در ایران تهیه شد.

باکتری های مورد استفاده و روش نگهداری آن ها:

باکتری های مورد استفاده در این تحقیق *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 و *Escherichia coli* ATCC 25923 بودند که از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. باکتری ها روی محیط نوترینت آگار شیب دار (مرک آلمان) کشت شده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. به منظور حفظ قابلیت زیستی باکتری ها، هر بیست روز کشت مجدد آن ها صورت گرفت. جهت تهیه محیط کشت مایع مورد استفاده در آزمون های میکروبی از روش دابل استرنگ استفاده شد. در واقع محیط کشت در محلول دو برابر میزان توصیه شده توسط شرکت تولید کننده در نظر گرفته

ساکاریدها و چربی ها به کار گرفته شده اند. گروه های تحقیقاتی بسیاری تلاش نموده اند تا بتوانند از آن ها در این صنایع استفاده کنند. پوشش ها و فیلم های زیست تخریب پذیر خوراکی می توانند انتقال رطوبت، اکسیژن، دی اکسید کربن، چربی ها و ترکیبات طعمی را کنترل کرده و با حفظ کیفیت، ماندگاری محصولات غذایی را افزایش دهند. مطالعات چندی در زمینه استفاده از پلی ساکاریدها از منابع مختلف جهت آماده سازی فیلم ها و پوشش ها با ویژگی های متفاوت صورت پذیرفته است که همگی بر استفاده از آن ها به عنوان موادی نوید بخش در این عرصه یاد می کنند.

نشاسته از جمله پلی ساکاریدهایی است که به وفور در طبیعت یافت و به عنوان مهم ترین منبع ذخیره ای در گیاهان مطرح می شود. مهم ترین منابع آن عبارتند از: دانه های غلات، حبوبات، گیاهان غده ای نظیر سیب زمینی. نشاسته اولین منبع تولید انرژی از دانه های غلات می باشد. نشاسته به دلیل فراوانی، قیمت ارزان، قابلیت تجدید شونده و بازیافت زیستی یکی از مواد خام جذاب برای استفاده در بسته بندی های خوراکی محسوب می شود، علاوه بر این نشاسته حساسیتزا نبوده و به دلیل داشتن ماهیت پلیمری قابلیت فیلم سازی خوبی دارد و این پوشش های بسته بندی، بسیار محکمتر و انعطاف پذیرتر از فیلم های پروتئینی هستند.

با وجود پیشرفت های نوین در صنعت غذا به منظور افزایش ایمنی و عمر انبارمائی محصولات، هم چنان بیماری ها و فساد میکروبی ناشی از غذا و ترکیبات نامطلوب حاصل از اکسیداسیون چربی ها یکی از نگرانی های اصلی در حوزه سلامت غذایی محسوب می شود. بنابراین دلایل یافتن روش هایی کارآمدتر برای کاستن فساد میکروبی و اکسیداسیونی غذا همچنان یکی از دغدغه های اصلی صنعت غذا می باشد. بسته بندی های هوشمند ضد میکروبی - آنتی اکسیدانی یکی از راهکارهای موثر و مهم حفاظت مواد غذایی در برابر تغییرات نامطلوب شیمیایی و میکروبی است. تحقیقات متعددی بر روی انواع پوشش های زیست تخریب پذیر و جایگزین های طبیعی ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی صورت گرفته است (۳، ۴، ۵).

در این راستا اسانس های گیاهی یکی از انواع این جایگزین ها می باشند که به دلیل اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، از آن ها در پوشش های خوراکی استفاده می شوند. هم چنین در مورد پوشش های خوراکی حاوی اسانس های گیاهی و اثر آن ها بر افزایش عمر انبار مانی مواد غذایی

یک آون آزمایشگاهی تعیین شد. آنالیز میزان رطوبت فیلم‌ها برای هر تیمار اعمال شده بر روی فیلم‌های نشاسته در سه تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری حلالیت فیلم‌ها در آب: پس از تعیین میزان رطوبت موجود در هر فیلم میزان مواد جامد موجود در هر روکش قابل تعیین بود. تکه‌های فیلم را پس از توزین درون ۵۰ سی‌سی آب مقطر انداخته و به مدت ۶ ساعت عمل هم‌زدن آرام در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس مجموعه بر روی یک کاغذ صافی که قبلاً به وزن ثابت رسیده و دقیقاً توزین شده بود صاف شد. کاغذ صافی به همراه نمونه در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا به وزن ثابت برسد. درصد حلالیت روکش‌ها در آب از رابطه زیر محاسبه شد (۶).

نفوذپذیری به بخار آب: آزمون اندازه‌گیری نفوذپذیری با استفاده از روش اصلاح شده‌ی شماره E96 مصوب ASTM (۷) انجام گرفت. برای انجام آزمایش درون سل‌های شیشه‌ای کلرید کلسیم بدون آب ریخته شد. سپس سطح سلول به‌وسیله فیلم با استفاده از پارافین مذاب پوشانده شد. به این ترتیب درون سلول‌ها رطوبت نسبی ۰٪ وجود داشت. سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی آب نمک اشباع قرار گرفتند. آب نمک اشباع در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رطوبت ۷۵٪ ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرادیانت فشار بخاری معادل ۱۷۵۳/۵۵ پاسکال ایجاد می‌کند. تغییر در وزن سلول‌ها با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ ثبت و نمودار آن به صورت تابعی از زمان رسم شد. یک سلول فاقد کلرید کلسیم، که توسط فیلم پوشانده شده بود به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. هدف اندازه‌گیری رطوبتی بود که جذب فیلم شده اما از آن عبور نکرده است.

شد تا از رقیق شدن محیط کشت در هنگام اضافه شدن بخش حاوی اسانس در طی آزمون جلوگیری به عمل آید.

آماده‌سازی محلول تولید بیوفیلم بسته بندی: جهت تهیه فیلم خوراکی بر پایه نشاسته، ۳۰ گرم نشاسته را به تدریج به ۱۶۶ میلی لیتر آب مقطر و ۵ سی سی گلیسرول (به منظور افزایش انعطاف‌پذیری فیلم بسته بندی) در یک بشر افزوده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق توسط مگنت هم زده شد تا به صورت محلول یکنواخت در آید. سپس مخلوط را به مدت ۳۶ دقیقه در دمای ۹۰ درجه در داخل حمام آب جوش با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه هم زده و از مخلوط حاصل به میزان ۷۰ میلی لیتر در پلیت با قطر ۱۵ سانتی متر ریخته و به مدت ۱۶ روز در دمای ۴ درجه قرار داده و به دسیکاتور منتقل کردیم تا به دمای محیط برسد. غلظت‌های مختلف اسانس‌های آویشن شیرازی و پونه (۱٪، ۲٪، ۳٪) با امولسیون کردن مقدار معین هر یک از آن‌ها با آب و به کمک توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر به میزان ۳۰٪ وزن اسانس با استفاده از یک هموژنایزر (اولترا تراکس T-۲۵، آلمان) به مدت ۳ دقیقه در ۲۰۰۰ دور بر دقیقه تهیه شد و سپس به محلول فیلم مورد نظر اضافه شد. اختلاط اسانس بدون حرارت دهی و در دمای اتاق به‌منظور اجتناب از اکسیداسیون انجام گرفت. پس از تشکیل فیلم‌ها، عمل جدا کردن آن‌ها از پلیت صورت گرفت. سپس فیلم‌ها برای تعدیل رطوبتی (رسیدن به وزن ثابت) در دسیکاتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰٪ نگهداری شدند. برای ایجاد رطوبت نسبی ۵۰٪ از محلول اشباع نیترات منیزیم استفاده شد.

ضخامت فیلم: ضخامت فیلم‌ها با استفاده از نوعی میکرومتر دیجیتال دستی با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. این اندازه‌گیری‌ها حداقل در ۱۰ موقعیت مکانی فیلم به طور تصادفی صورت پذیرفت و به طور میانگین ارائه شد.

محتوای رطوبتی فیلم‌ها: محتوای رطوبتی فیلم‌ها با اندازه‌گیری میزان وزن فیلم‌ها قبل و بعد از خشک کردن در

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

وسیله یک میکروسکوپ الکترونی در بزرگ‌نمایی‌های مختلفی انجام گرفت.

آنالیز آماری: آزمایشات بر اساس طرح فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی به اجرا درآمدند. نوع و غلظت اسانس‌های استفاده شده به عنوان متغیرهای غیرمستقل در نظر گرفته شدند. داده‌ها بر اساس روش تجزیه آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌های خصوصیات فیلم با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد انجام گرفت.

یافته‌ها

ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های خوراکی: در این تحقیق روکش‌های خوراکی نازک و انعطاف پذیر تولید شدند. تمام روکش‌ها به راحتی از پلیت جدا و سطوح صافی را نشان دادند. ضخامت روکش‌ها همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است در دامنه‌ای بین ۰/۱۵ و ۰/۲۶ میلی‌متر متغیر بودند. روکش‌های حاوی اسانس به علت افزایش میزان مواد جامد موجود در آن‌ها به طور معنی‌داری ضخامت بیشتری داشتند. میزان رطوبت موجود در پوشش‌های خوراکی تعیین شد که مقادیر آن در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود میزان رطوبت موجود در روکش‌ها به نوع اسانس به کار رفته بستگی داشت. میزان رطوبت روکش‌ها در محدوده ۱۳/۲۱ و ۲۱/۹۵٪ قرار داشت. با افزودن اسانس میزان رطوبت موجود در روکش‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت. علت این پدیده افزایش میزان مواد جامد و نیز اثر دافع اسید چرب موجود در اسانس بود. اسید چرب موجود در اسانس با پوشاندن گروه‌های فعال نشاسته سبب از دسترس خارج نمودن آن‌ها شده و لذا از اتصالات هیدروژنی توسط مولکول‌های آب با آن گروه‌ها جلوگیری می‌کرد. جدول ۱، مقادیر نفوذ پذیری به آب را برای فیلم‌های امولسیفیه شده نشان می‌دهد. اضافه کردن اسانس روغنی به محلول‌های تشکیل دهنده فیلم منجر به کاهش معنی‌داری در نفوذ پذیری فیلم‌های ساخته شده می‌شود. برای مثال، فیلم‌های امولسیون شده با ۳٪ اسانس دارای نفوذ پذیری کمتری در مقایسه با فیلم‌های امولسیفیه شده با ۱٪ اسانس بود.

تعیین ویژگی‌های مکانیکی فیلم: آزمون کشش چندین پارامتر مهم مکانیکی فیلم نظیر قدرت کششی، افزایش طول تا نقطه شکست و مدول ینگ را اندازه گیری کند. مقاومت به کشش برابر است با ماکزیمم نیرویی که در طی تنش سبب گسیختگی می‌شود، تقسیم بر سطح مقطع نمونه. در واقع بیش‌ترین استرس کششی است که فیلم می‌تواند تحمل کند. کشش ماکزیمم بسته بندی، استرس کششی است که در آن اولین تغییر شکل غیرالاستیک رخ می‌دهد. یک پارامتر بحرانی در بر هم کنش بین ماشین بسته بندی و فیلم است هنگامی که گیر کردن فیلم لایه لای ماشین بسته‌بندی ممکن است باعث ایجاد تخریب دائمی در ماشین شود. ویژگی‌های مکانیکی نمونه‌های فیلم از طریق آزمون‌های کششی با استفاده از یک دستگاه بافت‌سنج (اینسترا ساخت انگلستان) بر اساس دستورالعمل روش استاندارد (ASTM D882 (۸) تعیین شد. برای آزمایش کششی، فیلم‌ها در ابعاد مستطیلی بریده شدند. همی نوارهای فیلم برای ۴۸ ساعت در رطوبت نسبی ۵۱٪ با استفاده از محلول نیترات منیزیم اشباع به حالت تعادل رسیدند. فیلم‌ها با یک جابه‌جایی اولیه ۵۰ میلی‌متر ثابت شد و سپس با سرعت ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه کشیده شدند. منحنی تنش در برابر کرنش توسط رایانه‌ی متصل به دستگاه ثبت شد. استحکام کششی با تقسیم حداکثر بار در این فیلم قبل از شکست سطح مقطع نمونه اولیه محاسبه شد. درصد کشیدگی به عنوان تغییر درصد در طول نمونه به طول اولیه بین دو گیره تعریف می‌شود. حداقل ۵ تکرار در هر یک از فیلم‌ها مورد آزمون قرار گرفتند.

بررسی ریزساختار فیلم تولید شده به کمک میکروسکوپ اسکنی: به منظور بررسی تاثیر افزودن اسانس به روی ریز ساختار فیلم‌های تولید شده، تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح و مقطع عرضی فیلم‌ها تهیه شد. برای تهیه تصاویر میکروسکوپی از سطح فیلم‌ها آن‌ها را به کمک چسب دو طرفه بروی پایه آلومینیومی چسباندیم. در آماده‌سازی نمونه‌ها برای تصویربرداری از مقطع عرضی ابتدا نمونه‌ها را در ازت مایع شکسته و سپس از سمت مقابل قسمت شکسته شده به کمک چسب دو طرفه به روی پایه آلومینیومی چسباندیم. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده به مدت پنج دقیقه با طلا پوشش داده شدند. تصویربرداری از نمونه‌ها به

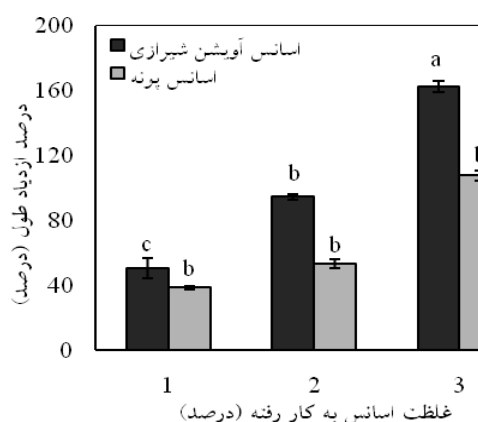
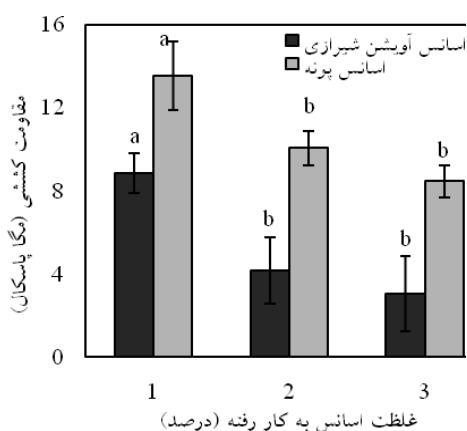
جدول ۱. بررسی خصوصیات فیزیکی فیلم‌های امولسیفیه شده نشاسته ذرت در نتیجه استفاده از اسانس‌های مختلف

نوع فیلم	میزان اسانس	مقدار ضخامت (میلی متر)	نفوذپذیری به بخار آب ($\times 10^{-11} \text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{pa}^{-1}$)	میزان رطوبت (درصد)
نشاسته ذرت خالص	۰	$d0/15 \pm 0/0041$	$b8/95 \pm 0/13$	$d21/95 \pm 1/69$
نشاسته + اسانس آویشن	٪۱	$bc0/17 \pm 0/0098$	$b5/04 \pm 0/18$	$c17/59 \pm 2/11$
نشاسته + اسانس آویشن	٪۲	$bc0/19 \pm 0/0070$	$a4/55 \pm 0/21$	$b15/47 \pm 2/89$
نشاسته + اسانس آویشن	٪۳	$ab0/26 \pm 0/0095$	$a3/88 \pm 0/10$	$a14/04 \pm 1/56$
نشاسته + اسانس پونه	٪۱	$ab0/18 \pm 0/0025$	$c5/21 \pm 0/37$	$d17/02 \pm 1/28$
نشاسته + اسانس پونه	٪۲	$a0/21 \pm 0/0020$	$d4/61 \pm 0/35$	$d14/62 \pm 0/93$
نشاسته + اسانس پونه	٪۳	$a0/24 \pm 0/0045$	$d3/67 \pm 0/11$	$d13/21 \pm 0/47$

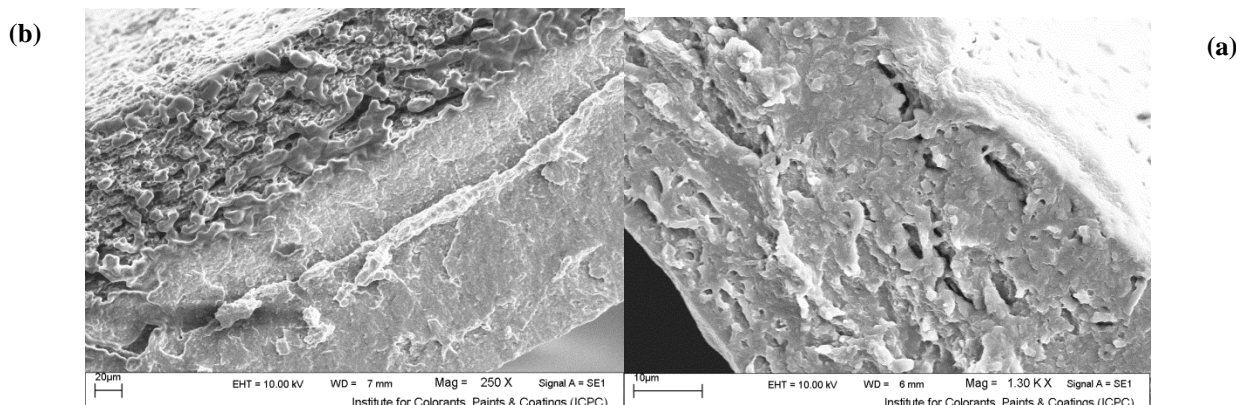
الکترونی روبشی (SEM) به منظور تجسم توپوگرافی سطح و مقطع عرضی همه فیلم‌های آماده شده از نشاسته ذرت به کار گرفته شد. ریزساختار فیلم‌های شاهد نشان داد که این فیلم‌ها دارای سطوحی صاف و یکنواخت بوده و هیچ‌گونه خلل و فرج و ترکی در آن‌ها مشاهده نمی‌شود. عکس SEM حاصل از سطح رویی از فیلم هیدروفوب ساختاری ناصاف برآمده و سه بعدی را در روی سطح فیلم نشان داد. در واقع بر روی سطح فیلم برجستگی‌های تپه ماندنی وجود دارند که نشان دهنده‌ی حضور اسید چرب در این قسمت می‌باشد. شکل ۲، میکروگراف‌های سطح بیرونی را برای فیلم‌های حاوی اسانس آویشن و پونه به عنوان نمونه نشان می‌دهد.

ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های خوراکی: خصوصیات مکانیکی منعکس کننده دوام فیلم‌ها و توانایی آن‌ها به منظور افزایش انسجام مکانیکی غذاها می‌باشد. شکل ۱، اثرات تلفیقی غلظت‌های مختلف اسانس‌های آویشن و پونه را روی خصوصیات مکانیکی فیلم‌های نشاسته‌ای نشان می‌دهد. همان‌طوری که در شکل ۱ نشان داده شده است، کشیدگی فیلم‌ها با افزایش غلظت اسانس به طور معنی‌داری کاهش یافت. فیلم‌های امولسیفیه شده همچنین به طور معنی‌داری دارای مقاومت کمتری در برابر نیرو در مقایسه با فیلم‌های حاوی غلظت اسانس کمتر بودند.

ویژگی‌های ساختاری فیلم‌های تولید شده: در تلاش برای مطالعه تغییرات ریزساختاری در فیلم‌ها، میکروسکوپ



شکل ۱. خصوصیات مکانیکی فیلم‌های امولسیون شده نشاسته ذرت نتیجه استفاده از اسانس‌های مختلف. حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۹۵ درصد می‌باشند.



شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از روکش نشاسته ذرت با افزودن اسانس آویشن شیرازی (a) و با افزودن اسانس پونه (b)

می‌دهد. در بین فیلم‌های امولسیفیه شده، بیشترین میزان بازدارندگی در حضور ۳ درصد مشاهده شد که به طور معنی‌داری از انواع دارای ۱ درصد اسانس آویشن بیشتر بودند. هم‌چنین در فیلم‌های دارای اسانس پونه، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین بازدارندگی را در غلظت ۳ درصد نشان داد.

ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی فیلم‌های تولید شده:

اسانس‌های به کار برده شده در این تحقیق خواص ضد میکروبی متفاوتی را از خود نشان دادند. به طور کلی روکش‌های حاوی اسانس آویشن دارای بالاترین خاصیت ضد میکروبی بوده و پس از آن روکش‌های حاوی اسانس پونه قرار داشتند. جداول ۲ و ۳ اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی و پونه را بر روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمون نشان

جدول ۲. اثر ضد میکروبی روکش‌های خوراکی حاوی اسانس آویشن شیرازی روی سوش‌های میکروبی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس

میزان بازدارندگی (میلی متر مربع)		میزان اسانس	نوع فیلم
استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیا کلی E.coli		
.	.	.	نشاسته ذرت خالص
c5/54 ± 115/45	c9/89 ± 95/12	%1	نشاسته + اسانس آویشن شیرازی
ab32/87 ± 125/34	b23/56 ± 109/12	%2	نشاسته + اسانس آویشن شیرازی
a 17/76 ± 166/67	a2/67 ± 154/98	%3	نشاسته + اسانس آویشن شیرازی

- نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است
- میانگین‌هایی که در یک ستون با حروف کوچک نشان دار شده اند براساس آزمون دانکن در سطح $P < 0/05$ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۳. اثر ضد میکروبی روکش‌های خوراکی حاوی اسانس پونه روی سوش‌های میکروبی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس

میزان بازدارندگی (میلی متر مربع)		میزان اسانس	نوع فیلم
استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیا کلی E.coli		
.	.	.	نشاسته ذرت خالص
c12/56 ± 98/76	c3/97 ± 52/16	%1	نشاسته + اسانس پونه
ab15/76 ± 101/56	b4/19 ± 76/56	%2	نشاسته + اسانس پونه
a4/43 ± 112/90	a6/73 ± 98/59	%3	نشاسته + اسانس پونه

- نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است
- میانگین‌هایی که در یک ستون با حروف کوچک نشان‌دار شده‌اند براساس آزمون دانکن در سطح $P < 0/05$ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

بحث

یک شبکه خارج شود، ماده دیگری در جهت عکس حرکت کرده و وارد شبکه می‌شود. در این جا نیز رطوبت موجود در سطح محیط کشت وارد روکش‌ها شده و ترکیبات ضد میکروبی از روکش به سمت محیط کشت حرکت می‌کنند. روکش‌های حاوی اسید چرب رطوبت کمتری را به درون خود راه داده و کمتر دچار تورم می‌شدند لذا خاصیت ضد میکروبی کمتری را نشان دادند (۱۲). چنین تاثیری در تحقیق حاضر کاملاً مشخص بود، به عنوان نمونه در روکش‌های حاوی اسانس پونه در مقدار ۱٪، چون بخش زیادی از ترکیبات فنولی تیمول و کارواکرول با توئین ۸۰ واکنش داده بود؛ این روکش‌ها بر روی باکتری‌های مورد آزمایش تاثیر ضد میکروبی زیادی نداشتند. اما روکش‌های حاوی اسانس آویشن بر روی میکروارگانیزم‌های مورد آزمون تاثیر ضد میکروبی نسبتاً بالایی داشتند چون توئین ۸۰ نمی‌توانست اثر ضد میکروبی سینام آلدئید را تضعیف نماید. با افزایش غلظت اسانس‌ها اثر ضد میکروبی روکش‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. سرعت این افزایش در روکش‌های حاوی اسانس آویشن سریع‌تر از روکش‌های حاوی اسانس پونه بود. چنین پدیده‌ای به علت ریزساختار هر کدام از روکش‌ها بود. روکش‌های حاوی اسانس آویشن ساختاری متخلخل دارند لذا با افزایش غلظت اسانس، نفوذ ترکیبات به سطح محیط کشت با شدت بیشتری افزایش می‌یافت. اما روکش‌های حاوی اسانس پونه ساختار متراکم‌تر و نفوذناپذیرتری داشتند. لذا میزان نفوذ ترکیبات به سطح محیط کشت به نسبت افزایش درصد اسانس، افزایش پیدا نمی‌کرد. اثر ضد میکروبی روکش‌های تولید شده در تحقیق حاضر بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود. علت این پدیده به دیواره سلولی این دو گروه از باکتری‌ها مربوط می‌شود. باکتری‌های گرم منفی به دلیل داشتن غشاء خارجی در اطراف دیواره سلولی حساسیت کمتری را به ترکیبات ضد میکروبی دارا می‌باشند. غشاء خارجی نفوذ ترکیبات هیدروفوب را از پوشش لیپوبلی ساکاریدی محدود می‌کند. ترکیب اصلی دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت پپتیدوگلیکان به همراه مقدار کمی پروتئین است؛ اما دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی با وجود ضخامت کمتر، پیچیدگی بیشتری داشته و علاوه بر پپتیدوگلیکان حاوی ترکیبات دیگری مثل پلی‌ساکاریدهای مختلف، پروتئین‌ها و لیپیدها می‌باشند (پرانوتو و همکاران، ۲۰۰۵) (۱۳). اضافه نمودن مستقیم افزودنی‌های ضد میکروبی

با افزایش میزان اسانس در فیلم‌های نشاسته‌ای، میزان رطوبت، حلالیت کاهش یافت. این موضوع احتمالاً به دلیل آن است که گاهی اوقات زنجیره‌های پلیمری سبب کاهش ترک پلیمر می‌شود از این رو با کاهش انتشار از طریق آب از طریق فضای میانی زنجیره‌های نشاسته موجب کاهش نفوذپذیری می‌شود. این موضوع می‌تواند با شکل‌گیری شبکه برهم‌کنشی چربی در ساختار فیلم کربوهیدراتی توضیح داده شود. حضور یک فاز پراکنده آب‌گریز، هر چند در نسبت‌های کوچک با افزایش چروکیدگی میان زنجیره‌ها سبب کاهش انتقال جرم و در نتیجه کاهش نفوذ پذیری فیلم‌ها می‌شود (۹، ۱۰). با افزودن اسانس خوراکی به درون روکش به علت قرارگیری اسید چرب به جای زنجیر پلیمری در ساختار روکش و نقش روان‌کنندگی آن، درصد افزایش طول روکش به طور معنی‌داری افزایش یافت. اسانس‌ها شبکه روکش را تضعیف کرده و سبب می‌شدند که روکش تا لحظه پاره شدن طول بیشتری داشته باشند. با افزایش غلظت اسانس آویشن درصد افزایش طول روکش‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت. افزودن اسید چرب به درون روکش سبب شد که مقاومت کششی روکش‌ها به طور معنی‌داری کاهش یابد. این نتیجه قابل انتظار بود زیرا افزودن ترکیبات مختلف به درون شبکه روکش سبب می‌شود ساختار سطحی فشرده‌تری داشته باشد. با کاهش فشرده‌گی سطحی میزان مقاومت روکش در برابر نیروی وارد شده کاهش می‌یابد. هر چه میزان مواد افزوده شده به درون روکش افزایش یابد میزان مقاومت کششی روکش کاهش بیشتری پیدا میکند زیرا این گونه مواد استحکام ساختار روکش را تضعیف می‌کنند. مقاومت کششی تمام روکش‌های حاوی اسانس آویشن بالاتر از نمونه کنترل بود. بر اساس تحقیقات سیدیم و همکاران در سال ۲۰۰۶ (۱۱) با گذشت زمان به علت تبخیر آب از درون روکش‌های خوراکی و کریستالیزاسیون مجدد زنجیره‌های پلیمری، میزان مقاومت کششی روکش افزایش می‌یابد. در این تحقیق نیز روکش‌هایی که حاوی رطوبت کمتری بودند مقاومت کششی بیشتری را نشان دادند. این پدیده می‌تواند دلیل دیگری بر اثبات اثر پلاستی‌سایزری آب باشد. اساس روش بررسی خواص ضد میکروبی استفاده شده در تحقیق حاضر، نفوذ ترکیبات ضد میکروبی بر روی سطح محیط کشت می‌باشد. در چنین مواردی پدیده انتقال جرم یک جریان دو سویه می‌باشد. به این معنی که هرگاه ماده‌ای به واسطه شیب غلظت از درون

نیسین به عنوان ماده ضد میکروبی مورد بررسی قرار دادند. اسید استتاریک به عنوان اسید چرب مناسب انتخاب شد. علت آن توانایی این اسید چرب در کاهش نرخ انتقال بخار آب بود ولی این ماده اثر ضد میکروبی روکش را بر روی سوش های میکروبی به علت برهم کنش بین نیسین کاتیونی و اسید استتاریک آنیونی دچار اختلال نمود (۱۴).

به روکش های بسته بندی ابزار مناسب است که به کمک آن فعالیت ضد میکروبی حاصل می شود. چندین ترکیب پیشنهاد شده و یا برای استفاده در بسته بندی های ضد میکروبی آزمایش شده اند. در سال ۲۰۰۱ کما و همکاران خصوصیات ضد میکروبی و نیز بازداری در مقابل رطوبت را در روکش های کامپوزیت هیدروکسی پروپیل متیل سلولز/ اسید چرب حاوی

References

1. Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 1998, 38: 299-13.
2. Yu L, Dean K, Li L. Polymer blends and composites from renewable resources. *Prog. Polym. Sci*, 2006, 31(6): 576-02.
3. Kristo E, Koutsoumanis, K P, Biliaderis CG. Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocolloid*, 2008, 22(3): 373-86.
4. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res. Int*, 2006, 39(5): 639-44.
5. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR., Malekinejad H, Aliakbarlu J, et al. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT – Food Sci. and Technol*. 2012, 46: 477–84.
6. Ghasemlou M, Khodaiyan F, Oromiehie A, Yarmand, MS. Characterization of edible emulsified films with low affinity to water based on kefir and oleic acid. *Int. J. Biol. Macromol*. 2011, 49(3): 378-84.
7. ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of material, E 96-95. Annual book of ASTM. 1995, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material.
8. ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard D882. Annual book of ASTM. 2001, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
9. Shojaee-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. *Int. J. Biol. Macromol*, 2013, 52(1): 116-24.
10. Atarés L, De Jesús C, Talens P, Chiralt, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *J. Food Eng*. 2010, 99(3): 384-91.
11. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res. Int*. 2006, 39: 639-44.
12. Fabra, MJ, Talens P, Chiralt A. Tensile and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *J. Food Eng*, 2008, 85: 393–400.
13. Pranato Y, Salokhe, VM, Rakshit, SK. Physical and antibacterial properties of alginate- based edible film incorporated with garlic oil. *Food Res. Int*. 2005, 38: 267-72.
14. Coma V, Sebti I, Pardon P, Deschamps A Pichavant FH. Antimicrobial edible packaging based on cellulosic ethers, fatty acids and nisin incorporation to inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. *J Food Prot*. 2001, 64(4): 470 - 475.

Preparation and Investigation of Antimicrobial Biodegradable Edible Film Based on Corn Starch

Ghasemlou M¹, Khaksar R^{*2}, Mardani T³, Shahnian M⁴, Rashedi H⁵

1- M.Sc in Food Science and Technology, Center of Advance Research & Development of Elite Affairs, Tehran, Iran

2- *Corresponding author: Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: r.khaksar@sbtmu.ac.ir

3- Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- M.Sc. in Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5. Associate prof, Dept. of Biotechnology, School of Chemical engineering, college of Engineering, University of Tehran, Iran

Abstract

Background and Objective: Edible, biodegradable films, by acting as barriers to control the transfer of moisture, oxygen, lipids, and flavours, can prevent quality deterioration and increase the shelf life of food products. On the other hand, regarding edible film capacity in transferring food additives, extending shelf-life of food products could be considered. So by adding antimicrobial-antioxidants compounds, the possibility of prevention of pathogenic microorganisms will be provided.

Materials and Methods: Composite edible films based on corn starch different concentrations of Zataria multiflora Boiss and Mentha pulegium (1,2,3%) were prepared by emulsification with the aim of improving the mechanical, water barrier and microbial properties. Data were analyzed using the SAS for Windows program.

Results: The mechanical properties were influenced by adding essential oils as tensile strength decreased and elongation increased significantly. This was more evident in case of Zataria multiflora essential oil. The properties of these film in relation to their structure were observed by scanning electron microscopy (SEM). SEM observation confirmed the presence of essential oil in both the internal and surface parts of the films which explained decreasing water barrier properties of films containing lipidic compounds.

Conclusion: Results show that essential oil can have important role in application of these film for food technology. Therefore, essential oil could be incorporated into these films for some food-technology applications that need a low affinity toward water.

Keywords: Corn starch, Edible film, Essential oil, Zataria multiflora boiss