

اثر اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج بر خصوصیات فیلم نانوکامپوزیت کاراژینان-ژلاتین / نانورس جهت استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی

اعظم صیامیان^{۱*}، سید مهدی اجاق^۲، مهدی عبدالهی^۳

تاریخ دریافت مقاله: اردیبهشت ماه ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش مقاله: تیر ماه ۱۳۹۵

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی مقایسه تأثیرات افزودن مقادیر مختلف اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج بر خصوصیات فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر کاپاکاراژینان-ژلاتین / نانورس صورت پذیرفت. نانوکامپوزیت کاپاکاراژینان-ژلاتین / نانورس با افزودن دو سطح ۱/۵ و ۲ درصد وزنی - وزنی (wt%) اسانس اسطوخودوس و اسانس پوست نارنج ماتریس پلیمری تهیه گردید. ویژگی‌های فیزیکی (درصد رطوبت و حلالیت، نفوذپذیری و جذب آب)، ظاهری (رنگ، کدورت و انتقال نور)، مکانیکی شامل (مقاومت کشش و ازدیاد طول در نقطه شکست) و ویژگی میکروبی فیلم‌ها مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد، فیلم مرکب کاپاکاراژینان-ژلاتین / نانورس حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج بیشترین فعالیت ضد میکروبی را داشته است. همچنین این فیلم واجد ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی قابل قبول و بهتری نسبت به سایر نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس بوده است.

زیست محیطی ناشی از بسته‌بندی‌های بر پایه مواد نفتی و دفع مواد زائد پس از مصرف هستند. این پلیمرها تجدید پذیر بوده، دوستدار محیط زیست هستند و دارای ویژگی‌های جالب و جذاب که می‌توانند ماندگاری مواد غذایی را در قالب فیلم بهبود بخشند. علاوه بر این، پلیمرهای زیستی حامل بسیار مناسبی برای طیف گسترده‌ای از مواد افزودنی، مانند آنتی‌اکسیدان‌ها، عوامل ضد قارچ، عوامل ضد میکروبی، رنگ و دیگر مواد مغذی هستند. همچنین این مواد زیست تخریب‌پذیر می‌توانند کیفیت مواد غذایی را بهبود یا با حداقل رساندن رشد میکروبی منجر به افزایش ماندگاری در محصول شوند. مواد ضد میکروبی به دو دلیل در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند:

- ۱) کنترل فرآیند فساد طبیعی (حفاظت از مواد غذایی).
- ۲) پیشگیری یا کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها از جمله میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (ایمنی مواد غذایی) [۱].

واژه‌های کلیدی

کاپاکاراژینان^۴، ژلاتین ماهی^۵، نانورس، اسانس پوست نارنج، اسانس اسطوخودوس^۶، بسته‌بندی

۱- مقدمه

بیوپلیمرها و فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر به یک موضوع مورد علاقه در سراسر جهان تبدیل شده‌اند، زیرا در حال حاضر آن‌ها یک راه‌حل مناسب برای مشکلات

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان.

(* نویسنده مسئول: azam.siamian91@gmail.com)

۲- دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان (Mahdi_ojagh@yahoo.com).

۳- دانش آموخته دانشگاه تربیت مدرس، نور (Abdollahi.mkh@gmail.com).

4- K_carrageenan, Sigma-Aldric

5- Gelatin from Cold Water Fish Skin, Sigma-Aldrich

6- Lavandulaangustifolia

و تانگارتین^۷ می‌باشد و همچنین ترکیبات اصلی پوست نارنج شامل لیمونن، میرسن^۹، لینالول^{۱۰}، بتاپن^{۱۱}، آلفاپنن، ساینن، اکتانال^{۱۲} و دکانال می‌باشد که لیمونن و بتامیرسن به عنوان اجزای اصلی پوست گزارش شده‌اند. علاوه بر این، مطالعات متعدّد در مورد استفاده‌های پزشکی به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد قارچی، حشره‌کشی^[۳] ضدتوموری^[۳]، ضدانگلی، ضدالتهابی از چندین ترکیب موجود در اسانس و سایر ترکیبات جدا شده از پوست نارنج گزارش شده است.

اسطوخودوس با نام علمی *لاواندولا آنگاستیفولیا*، گیاهی با بوی بسیار مطبوع و طعم تلخ است. قسمت‌های هوایی این گیاه نسبت به سایر بخش‌های آن اثر ضد میکروبی قوی‌تری دارد. علاوه بر دیترپن، حاوی مقادیر زیادی الکل‌های حلقوی، فلاونوئیدها و اسیدهای آلی مثل کارزنوئیک اسید و ساپونین است که در این بین ساپونین‌ها خاصیت ضدباکتریایی مؤثری دارند. لینولیل استات و لینالول از جمله فراوان‌ترین مواد تشکیل دهنده اسانس اسطوخودوس می‌باشند. ترکیب لینالول دارای خواص بیولوژیکی متفاوت از جمله اثر آرام‌بخشی و آنتی‌اکسیدانی دارد. در این تحقیق سعی شده تأثیر افزودن اسانس اسطوخودوس و اسانس پوست نارنج بر خواص فیزیکی و ظاهری نانوکامپوزیت کاپاکاراژینان-ژلاتین/رس مورد بررسی قرار گیرد.

۲- مواد و روش کار

۲-۱- مواد مصرفی

کاپاکاراژینان (شرکت سیگما)، ژلاتین ماهی (شرکت سیگما)، نانورس (مونت موریلونیت)^{۱۳} (شرکت سادرن کلی ساخت آمریکا)، اسانس پوست نارنج (تعاونی مازندران

افزودن نگهدارنده‌های طبیعی در بسته‌بندی‌های خوراکی یک روش مؤثر جهت کنترل رشد پاتوژن‌ها^۱، جلوگیری از کاهش کیفیت و آلودگی مواد غذایی بوده و در دهه گذشته یکی از موارد مهم تحقیقاتی در زمینه بسته‌بندی غذا بوده است. یک دسته از مواد ضد میکروبی طبیعی، اسانس‌های گیاهی می‌باشند که ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی این ترکیبات می‌توانند نقش مهمی را در فعالیت ضد میکروبی آن‌ها ایفا نمایند. اسانس‌های گیاهی، مایعات روغنی فراری هستند که دارای خواص ضد میکروبی بوده و تاکنون مطالعات متعددی نیز جهت استفاده از آن‌ها به منظور کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زای منتقل شده از غذا و باکتری‌های مولد فساد ارائه شده است.

برای بهبود عمر مفید محصولات غذایی، تحقیقات^[۲] پیرامون ترکیبات طبیعی مانند عصاره‌های گیاهی و روغن‌های ضروری به عنوان یک جایگزین برای ترکیبات مصنوعی متمرکز شده است. علاوه بر این، نفوذ آب و ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های خوراکی ممکن است از طریق گنجاندن ترکیبات ضد میکروبی طبیعی مانند اسانس گیاهان بهبود یابد. به طور خاص، افزودن این ترکیبات ضد میکروبی اجازه می‌دهد تا ایمنی مواد غذایی بهبود و مدت ماندگاری با کاهش رشد عوامل بیماری‌زا و عامل فساد میکروارگانیسم افزایش یابد. اثرات آنتی‌باکتریایی ترکیبات گیاهی مانند اسانس‌ها و ادویه‌جات به اثبات رسیده است. به عنوان مثال مشخص شده که اسانس ریحان، زیره سیاه، میخک، دارچین، مرزنجوش، اکلیل کوهی و آویشن فعالیت ضدباکتریایی بالایی دارند.

نارنج با نام علمی سیتروس آئورانتیوم^۲ نام درخت و میوه‌ای از جنس مرکبات (خانواده روتاسه^۳) می‌باشد. پوست نارنج عمدتاً شامل لیمونن (به عنوان ترکیب عمده موجود در اسانس)، فلاونوئیدها^۴، نارینجین^۵، نئوهسپریدین^۶، هسپریدین^۷

- 7- Hesperidin
- 8- Tangartyn
- 9- Myrcene
- 10- Linalool
- 11- Btaphn
- 12- Ethanol
- 13- Montmorillonite, Southern Clay, American

- 1- Pathogen
- 2- Citrusaurantium
- 3- Rutaceae
- 4- Flavonoid
- 5- Naringin
- 6- Neohesperidin

گستر)، اسانس اسطوخودوس (شرکت زرد بند)، توئین ۸۰ (شرکت مرک آلمان)، گلیسرول، محیط‌های کشت پلیت کانت آگار^۱ و مولر هیتون آگار^۲ و برین هارت اینفیوژن^۳ (BHI)، باکتری‌های لیستریا مونوسییتوزنز^۴ (PTCC 1162)؛ اشریشیاکلاهی^۶ (PTCC 1533)، استافیلوکوکوس اورئوس^۷ تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (بازار ماهی‌فروشان گرگان)، کاغذ صافی بدون خاکستر^۸ واتمن ۴۲، فویل آلومینیومی، آب مقطر و مواد شیمیایی از شرکت مرک تهیه شدند.

۲-۲- تهیه فیلم‌ها

در تحقیق حاضر به منظور تولید فیلم‌های حاوی درصد‌های مختلف از اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج، ابتدا محلول کاپاکاراژینان ۱ درصد وزنی- وزنی^۹ از طریق حل کردن ۱ گرم پودر کاپاکاراژینان در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر و حرارت‌دهی در دمای ۹۰-۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ دقیقه تهیه گردید. محلول ژلاتین ۳ درصد وزنی- وزنی از طریق هم‌زدن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد [۵]، روی همزن مغناطیسی آماده‌سازی گردید. سپس محلول‌های آماده شده با نسبت ۵۰:۵۰ کاپاکاراژینان به ژلاتین با هم مخلوط و ترکیب این دو پلیمر به مدت ۵۰ دقیقه در دمای ۹۰-۸۵ درجه سانتی‌گراد حرارت‌دهی شد. نانورس با نسبت ۳ درصد وزن پلیمر خشک در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر، به مدت ۲۴ ساعت به وسیله هم‌زدن شدید به کمک همزن مغناطیسی با سرعت بالا پراکنده گردید. سپس محلول آماده شده به محلول کاپاکاراژینان-ژلاتین اضافه شد و به مدت ۳ دقیقه به وسیله هم‌زن‌نایزر با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در

دقیقه هم‌وزن^{۱۰} و ۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط همزن مغناطیسی ترکیب گردید. سپس گلیسرول به میزان ۰/۳ میلی‌لیتر به ازای هر گرم پلیمر خشک (۳۰٪) [۶] به محلول افزوده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد عمل هم‌زدن ادامه یافت. سپس توئین ۸۰^{۱۱} به میزان ۰/۷۵ میلی‌لیتر به ازای هر میلی‌لیتر اسانس به عنوان امولسیفایر^{۱۲} به محلول‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه توسط یک همزن مغناطیسی هم‌وزن گردید. سپس اسانس‌ها با نسبت‌های ۱/۵ و ۰/۲ (انتخاب بر اساس آزمون‌های اولیه و حذف درصد‌های کمتر به دلیل ناکارآمدی) به محلول فیلم‌ها افزوده و توسط هم‌زن‌نایزر^{۱۳} به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق هم‌وزن (روش اصلاح شده) [۷] و همچنین به مدت ۲۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی مخلوط گردید. pH محلول خنثی و پس از هواگیری، محلول فیلم‌ها درون ظروف پلی‌اتیلن قالب‌گیری و درون آون (ممرت^{۱۴}) با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. فیلم‌ها پس از جدا شدن، جهت تعدیل رطوبتی (رسیدن به وزن ثابت) در دسیکاتور^{۱۵} نیترات منیزیم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰٪ نگهداری شدند. آزمون‌های ظاهری، فیزیکی، مکانیکی و میکروبی روی آن‌ها جهت مقایسه بین بهترین تیمار انجام پذیرفت.

۳- آنالیز

۳-۱- سنجش ضخامت فیلم‌ها

ضخامت نمونه‌ها با یک ریزسنج دیجیتالی (۰/۰۰۱ میلی‌متر، میتوتویو^{۱۶} ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت محاسبه شد و در تعیین مقاومت کششی و

- 10- Homogen
- 11- Tween 80
- 12- Emulsifiers
- 13- Homogenizer
- 14- Memmert
- 15- Desiccator
- 16- Mytutoyo

- 1- Plate Count Agar
- 2- Muller Hinton Agar
- 3- Brain Heart Infusion
- 4- Monocytogenes
- 5- Listeria Monocytogenes
- 6- Escherichia Coli
- 7- Staphylocococus Aureos
- 8- Ashless
- 9- wt%

نفوذپذیری به بخار آب استفاده گردید.

۳-۲- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب (WVTR)^۱

سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب مطابق روش شماره E96 مصوب ای اس تی ام^۲ (ASTM) صورت گرفت. درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری^۳، ۳۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته شد و سپس سطح سلول به وسیله فیلم با استفاده از گریس پوشانده شد و سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی سلیکاژل^۴ قرار گرفتند. آب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۱۰۰٪ ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اختلاف فشار بخاری معادل $10^3 \times 2/337$ پاسکال ایجاد می‌کند. تغییرات وزن سلول‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. در تمام نمونه‌ها با رسم منحنی تغییرات وزن سلول نسبت به زمان، یک خط راست ($R^2 > 0/99$) حاصل شد. نرخ انتقال بخار آب بر حسب ($\text{متر}^{-1} \text{ثانیه}^{-1}$ گرم) معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول بود و از رابطه (۱) حاصل شد. سطح سلول‌ها ۰/۰۷۰۶۵ متر مربع بود.

$$(1) \text{ سطح سلول / شیب خط} = \text{نرخ انتقال بخار آب}$$

از ضرب نمودن نرخ انتقال بخار آب در ضخامت روکش‌ها و تقسیم آن در اختلاف فشار موجود در دو سمت روکش، میزان نفوذپذیری بخار آب به دست آمد و به صورت $\text{پاسکال}^{-1} \text{متر}^{-1} \text{ثانیه}^{-1}$ گرم ($\text{gm}^{-1} \text{ pas}^{-1} \text{s}^{-1}$) گزارش شد.

۳-۳- سنجش میزان حلالیت در آب

وزن اولیه نمونه‌های فیلم $2/5 \times 2/5$ سانتی‌متر مربع پس از خشک شدن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد و سپس نمونه‌های فیلم در ظروف حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. ظروف به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق

۲۵ درجه در جای ثابت قرار داده شد. پس از این مدت نمونه‌ها به وسیله کاغذهای صافی که قبلاً خشک شده بود فیلتر و مجدداً در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. میزان حلالیت فیلم‌ها به کمک رابطه (۲) محاسبه گردید.

(۲) $100 \times (\text{وزن ماده خشک اولیه} - \text{وزن فیلم پس از غوطه‌وری} - \text{وزن ماده خشک اولیه}) = \text{درصد حلالیت}$

۳-۴- سنجش میزان رطوبت فیلم‌ها

نمونه‌ها با اندازه $2/5 \times 2/5$ سانتی‌متر مربع و وزن مشخص درون پلیت‌های شیشه‌ای که از قبل به تعادل رطوبتی رسیده و توزین شده بودند، قرار گرفت. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. نمونه همراه با پلیت پس از این مدت خارج شده و پس از سرد شدن در دسیکاتور مجدداً توزین گردید. محتوای رطوبت روکش‌ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه زیر محاسبه گردید [۷].

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

۳-۵- ارزیابی منحنی جذب آب

محاسبه منحنی جذب رطوبت توسط فیلم‌ها به کمک روش توصیف شده صورت گرفت. نمونه‌های فیلم به صورت قطعات کوچک $2/5 \times 2/5$ سانتی‌متر مربع برش داده شد و به مدت یک شب در دسیکاتور سلیکاژل قرار داده شد. سپس نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ توزین گردید تا وزن خشک اولیه نمونه‌ها محاسبه گردد و پس از آن نمونه در ظرف درب‌دار حاوی ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر با $\text{pH}=7$ و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به منظور تعیین میزان جذب، نمونه‌ها به صورت دوره‌ای از ظرف خارج شده و پس از خشک کردن سطح آن‌ها به وسیله دستمال کاغذی دوباره توزین شده و سپس به ظرف آب بازگردانده می‌شد. فرآیند توزین برای هر تیمار با دو مرتبه با فاصله زمانی ۵ دقیقه تکرار گردید. آزمون جذب آب برای هر تیمار در سه تکرار ارزیابی گردید. محتوای رطوبت فیلم نسبت به زمان از طریق رابطه زیر محاسبه گردید.

(۴) $100 \times (\text{وزن فیلم خشک اولیه} - \text{وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری}) = \text{جذب رطوبت}$
وزن خشک اولیه روکش

- 1- Water Vapor Transmission Rate (WVTR)
- 2- American Society for Testing and Materials
- 3- Diffusion cell
- 4- Silica

۳-۶- اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمایشات کشش با استفاده از دستگاه تجزیه و تحلیل بافت^۱ انجام گرفت. قبل از انجام آزمایشات، کشش تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل گردیدند. فیلم‌ها به شکل مستطیل به ابعاد ۱۰×۲/۵ سانتی متر مربع بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵ سانتی متر و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰ میلی متر بر دقیقه انتخاب شد. عواملی شامل مقاومت کششی، درصد کرنش در نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) مطابق روش شماره 01-D882 ASTM از روی منحنی‌های نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمدند.

(۵) (عرض فیلم×مخامات فیلم) / حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن = مقاومت کششی

(۶) (فاصله بین دو فک دستگاه) × ۱۰۰ / ازدیاد طول در نقطه شکست = درصد ازدیاد طول

۳-۷- سنجش رنگ سطحی و شفافیت فیلم‌ها

ابتدا دستگاه توسط کاشی مخصوص کالیبره شد و سپس نمونه‌های فیلم به منظور سنجش رنگ درون دستگاه رنگ‌سنج^۲ ساخت انگلستان قرار داده شدند و سه عامل^۳ L^* ، a^* و b^* نشان داده شده توسط دستگاه رنگ سنج یادداشت گردید. برای محاسبه اختلاف رنگ نمونه‌ها با پلیت سفید داده‌های به دست آمده برای سه عامل فوق مربوط به مرجع و نیز سه فاکتور L^* ، a^* و b^* مربوط به هر نمونه در رابطه زیر قرار داده شد [۷].

(رابطه ۷)

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2}$$

(رابطه ۸)

$$100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} = \text{شاخص سفیدی}$$

به منظور سنجش میزان شفافیت فیلم‌ها و عبور نور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۴۰×۹ میلی متر در درون سلول‌های

- 1- TexVol, Swiss
- 2- Loviband CAM-System 500
- 3- Lightness

اسپکتروفوتومتری^۴ قرار گرفت و به منظور سنجش میزان عبور نور در طول موج‌های ۶۰۰-۲۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسکن گردید. همچنین به منظور محاسبه میزان شفافیت فیلم‌ها از رابطه زیر استفاده گردید.

(۹) ضخامت فیلم/میزان جذب در ۶۰۰ نانومتر = کدورت فیلم

۳-۸- سنجش خواص ضد میکروبی فیلم‌ها

به منظور بررسی فعالیت ضد میکروب فیلم‌های تولیدی از روش نفوذ در محیط آگار^۵ استفاده گردید. جهت فعال‌سازی سویه‌های باکتریایی، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از استوک^۶ هر یک از سه گونه باکتری لیستریا مونوسایتوجنز، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشاکلای در شرایط استریل به لوله‌های فالکون^۷ حاوی ۱۰ سی‌سی محیط کشت برین هارت اینفیوژن^۸ منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور^۹ نگهداری شد تا تعداد باکتری‌ها به اندازه کافی افزایش یابد. سپس محیط کشت حاوی باکتری به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و مایع رویی برداشته و محلول ۰/۹ درصد آب نمک جایگزین آن گردید و به مدت ۵ دقیقه با همان دور سانتریفیوژ^{۱۰} گردید. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتری‌ها، دوباره محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه با همان دور سانتریفیوژ گشت. سپس جهت تعیین تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین، از روش کدورت سنجی به وسیله اسپکتروفوتومتر^{۱۱} در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده شد و تعداد باکتری‌ها به 10^8 رسانیده شد. میزان جذب به عنوان شاخصی از بار باکتریایی استفاده گردید. به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس، از تست چاهک به روش نفوذ در محیط آگاردار استفاده شد. بدین منظور، پس از آماده‌سازی سویه‌های باکتری (10^8 cfu/ml)، عمل کشت سطحی با

- 4- Spectrophotometry
- 5- Agar
- 6- Stoke
- 7- Falcon
- 8- Hart Infusion
- 9- Incubator
- 10- Centrifuge
- 11- Spectrophotometer

ضدباکتریایی اسانس‌ها، دو مقدار ۱/۵ و ۲ درصد از دو اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج جهت آزمون‌های میکروبی، فیزیکی، مکانیکی و ظاهری به فیلم‌ها افزوده شد و نتایج حاصل از آزمون‌های انجام شده به شرح زیر گزارش شد.

۴-۱- ضخامت فیلم‌ها

همانطور که مشاهده می‌شود با افزودن اسانس به طور کلی افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) در ضخامت نانوکامپوزیت‌های زیستی مشاهده شد (جدول ۱). ضخامت نانوکامپوزیت فاقد اسانس ۰/۰۸ میلی‌متر بود در حالی که ضخامت نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ و ۲٪ اسانس پوست نارنج به ترتیب (۰/۱۱۸ و ۰/۱۴۲) و نانوکامپوزیت‌های حاوی ۱/۵ و ۲٪ اسانس اسطوخودوس به ترتیب (۰/۱۲۸ و ۰/۱۷۱) میلی‌متر بوده است. این افزایش ضخامت در نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس اسطوخودوس بیشتر از درصدهای مشابه آن در نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس پوست نارنج بوده است که با نتایج همخوانی داشت [۹ و ۱۰].

۴-۲- درصد رطوبت و حلالیت

با توجه به (جدول ۱) افزودن اسانس موجب کاهش میزان درصد رطوبت از ۳۲/۸۳ در فیلم نانوکامپوزیت فاقد اسانس به ترتیب به ۲۷/۹۱، ۳۰/۹۲ در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ و ۲٪ درصد اسانس پوست نارنج و به ترتیب ۲۵/۲۱ و ۲۶/۸۲ درصد در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ و ۲٪ اسانس اسطوخودوس گردید. نانوکامپوزیت‌های حاوی درصدهای مختلف اسانس پوست نارنج و اسطوخودوس در مقایسه با نانوکامپوزیت فاقد اسانس از نظر میزان درصد رطوبت اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) داشتند. افزودن اسانس موجب کاهش معنی‌دار در میزان درصد رطوبت نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس شد. که با نتایج حاصل از تحقیق محققان در سال ۲۰۱۰ پیرامون افزودن اسانس دارچین به فیلم زیست تخریب‌پذیر کیتوزان همخوانی دارد [۷]. به نظر می‌رسد در نتیجه افزودن اسانس به دلیل ایجاد اتصالات قوی بین زنجیره‌های پلیمری ساختار فشرده‌ای ایجاد شده و این

استفاده از سوآب استریل^۱ به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر کشت مایع حاوی ۱۰^۶ باکتری‌های موردنظر (لیستریا مونوسایتوجنز، اشریشیاکلائی و استافیلوکوکوس اورئوس) بر روی محیط کشت مولر هیتون^۲ آگار انجام گرفت. سپس پلیت‌ها به دو دسته تقسیم شدند. جهت انجام تست چاهک، با استفاده از سرسمپلرهای^۳ استریل یک سی‌سی، چاهک‌هایی با قطر ۰/۶ سانتی‌متر ایجاد و به میزان ۵۰ میکرولیتر از اسانس موردنظر به درون چاهک‌ها اضافه گردید. دیسک‌هایی به قطر ۱/۴ سانتی‌متر از فیلم‌ها که از قبل در شرایط استریل تهیه شده بود نیز بر روی پلیت‌های دیگر قرار داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده از قطر دیسک‌ها به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی روکش‌ها در نظر گرفته شد.

۳-۹- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار^۴ (SPSS) نسخه ۲۰ انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون (کولموگراف-اسمیرنوف^۵) و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون (لون^۶) انجام گردید که نتایج این آزمون‌ها جهت آنالیز^۷ آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. جهت مقایسه شاخص‌های بیان شده و بررسی معنی‌داری اختلاف در سطوح مختلف اسانس از آزمون آنالیز واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها (آزمون دانکن^۸) استفاده شد. سطح معنی‌داری در مورد تمامی شاخص‌ها ($p < 0/05$) در نظر گرفته شد.

۴- نتایج

بر اساس آزمون‌های مقدماتی انجام شده بر روی خواص

- 1- Sterile Swab
- 2- Mueller Hinton
- 3- The Sample
- 4- Statistical Package For the Social Sciences
- 5- Kolomogorav-Smirnov
- 6- Leven
- 7- Analyze
- 8- Duncan

ساختار به مولکول‌های آب اجازه حضور نداده و لذا منجر به کاهش رطوبت فیلم‌ها می‌شود.

حلالیت نانوکامپوزیت‌ها با افزودن مقادیر مختلف اسانس به جز در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) نشان داد. کمترین میزان درصد حلالیت مربوط به نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج به میزان ۳۸/۷۱٪ و بیشترین مقدار حلالیت ۶۴/۴۲٪ در نانوکامپوزیت حاوی ۲ درصد اسانس اسطوخودوس بود. به طور کلی افزودن اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج به بستر نانوکامپوزیت به جز در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج باعث افزایش حلالیت فیلم‌ها گردید (جدول ۱). نتایج حاصل با مشاهدات حاصل از پژوهش محققان پیرامون افزودن اسانس‌های متفاوت در پلیمرهای مختلف همخوانی نداشت که می‌تواند به دلیل غلظت بالای اسانس بکار گرفته در نانوکامپوزیت‌ها باشد [۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱]. افزودن اسانس در درصد‌های پایین منجر به کاهش حلالیت می‌گردد که ناشی از افزایش ترکیبات آبگریز در ماتریس بیوپلیمری می‌باشد. همچنین غلظت بالای اسانس می‌تواند منجر به تخریب ساختار بیوپلیمرها و ایجاد ترک و حباب در فیلم‌ها گردد که در این حالت، نفوذ آب در ساختار فیلم‌های تولیدی افزایش می‌یابد و در نهایت منجر به افزایش میزان حلالیت فیلم‌ها خواهد شد.

۳-۴- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب

نتایج مربوط به نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها در (جدول ۱) نشان می‌دهد که نفوذپذیری به بخار آب با

افزودن اسانس‌ها تغییر معنی‌دار ($p < 0/05$) داشته است. نفوذپذیری به بخار آب بطور معنی‌داری از $2/59 \times 10^{-10}$ پاسکال \times متر \times ثانیه گرم) در نانوکامپوزیت فاقد اسانس تا $1/29 \times 10^{-10}$ پاسکال \times متر \times ثانیه گرم) در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج کاهش یافت. این درحالی است که نفوذپذیری فیلم‌ها در حضور اسانس اسطوخودوس افزایش یافت به گونه‌ای که بیشترین نفوذپذیری به بخار آب در نانوکامپوزیت‌های حاوی ۱/۵ و ۲ درصد اسانس اسطوخودوس بوده است. افزودن اسانس پوست نارنج منجر به کاهش نفوذپذیری به بخار آب نانوکامپوزیت‌های تولیدی گردید که با نتایج مطالعات محققین پیرامون افزودن اسانس‌های مختلف به بیوپلیمرها همخوانی داشت [۷، ۸، ۹ و ۱۲]. نفوذ آب در فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر از طریق بخش‌های آبدوست آن‌ها صورت می‌پذیرد، در حالی که اسانس‌ها دارای طبیعت آبگریز بوده و از طریق افزایش نسبت نواحی آبگریز به آبدوست می‌توانند میزان نفوذپذیری به بخار آب را کاهش دهند. از سوی دیگر افزودن اسانس اسطوخودوس منجر به افزایش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی گردید که با نتایج مطالعات محققان پیرامون افزودن اسانس بر میزان نفوذپذیری فیلم‌های تولیدی مطابقت داشت [۱۰]. این افزایش در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب به دلیل تخریب ساختار فیلم و ایجاد ترک و منفذ در فیلم‌ها است. از آنجایی که اسانس‌ها در دمای اتاق معمولاً به صورت مایع هستند با حضور در ساختار فیلم به راحتی می‌توانند

جدول ۱- خواص فیزیکی و مکانیکی نانوکامپوزیت‌های زیست‌فعال حاوی مقادیر مختلف اسانس

نوع فیلم	ضخامت (میلی‌متر)	رطوبت (%)	حلالیت (%)	نفوذ پذیری به بخار آب	مقاومت کششی (مگاپاسکال)	افزایش طول (%)
*ک-ژ-ر	$0/08 \pm 0/04^d$	$32/83 \pm 0/76^a$	$41/17 \pm 2/59^c$	$2/59 \pm 0/4^b$	$3/76 \pm 0/47^a$	$43/61 \pm 6/08^c$
**ک-ژ-ر-ن ۱/۱۵	$0/118 \pm 0/017^c$	$27/91 \pm 3/73^{bc}$	$28/71 \pm 0/81^c$	$1/98 \pm 0/1^c$	$2/24 \pm 0/14^b$	$64/61 \pm 4/17^a$
ک-ژ-ر-ن ۲	$0/142 \pm 0/012^b$	$30/92 \pm 4/71^{ab}$	$49/42 \pm 3/78^b$	$2/91 \pm 0/39^b$	$1/66 \pm 0/27^c$	$54/65 \pm 11/18^b$
***ک-ژ-ر-س ۱/۱۵	$0/128 \pm 0/018^{bc}$	$25/21 \pm 0/85^c$	$60/55 \pm 8/15^a$	$3/67 \pm 0/2^a$	$1/52 \pm 0/09^c$	$47/78 \pm 5/36^{bc}$
ک-ژ-ر-س ۲	$0/171 \pm 0/009^a$	$26/82 \pm 0/95^{bc}$	$64/42 \pm 5/07^a$	$3/94 \pm 0/3^a$	$0/63 \pm 0/05^d$	$27/104 \pm 2/36^d$

*کاپاکاراژینان-ژلاتین-نانورس، **کاپاکاراژینان-ژلاتین-نانورس-اسانس پوست نارنج، ***کاپاکاراژینان-ژلاتین-نانورس-اسانس اسطوخودوس

تغییر شکل داده و باعث انعطاف‌پذیری و تحرک زنجیره‌های مولکولی شوند. در نتیجه تحرک بیشتر، انتقال مولکول‌های آب از طریق فیلم آسان‌تر می‌شود.

۴-۴- جذب آب فیلم‌های تولیدی

نتایج آزمون جذب آب در فیلم‌های نانوکامپوزیت حاوی اسانس نشان داد که فیلم‌ها پس از ۵ دقیقه غوطه‌وری در آب، به طور کامل متلاشی شدند و مقادیر جذب آب آن‌ها قابل اندازه‌گیری نبود.

۴-۵- اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها (مقاومت کشش، افزایش طول)

نتایج مقاومت کششی و درصد افزایش طول فیلم‌های تولیدی در (جدول ۱) مشاهده می‌شود، مقاومت کششی نانوکامپوزیت‌ها با افزودن اسانس کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) داشت. به طوری که بیشترین مقاومت کشش مربوط به نانوکامپوزیت فاقد اسانس با ۳/۷۶ مگاپاسکال و کمترین میزان مربوط به نانوکامپوزیت حاوی ۲ درصد اسانس اسطوخودوس با ۰/۶۳ مگاپاسکال بوده است. افزودن اسانس به طور کلی باعث کاهش معنی‌دار میزان مقاومت کشش نانوکامپوزیت‌های زیستی شد که این کاهش در نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس اسطوخودوس شدیدتر از نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس پوست نارنج بود. افزودن اسانس بیش از حد به پلیمر غالباً منجر به ایجاد ساختار ناهمگن در فیلم از جمله ناپیوستگی و یا بی‌نظمی در ساختار فیلم می‌گردد که با نتایج [۸] همخوانی داشت. همچنین با افزودن اسانس به نانوکامپوزیت‌ها از دیاد طول به شکل معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس شدت بیشتری داشت و با نتایج محققین پیرامون افزودن اسانس به فیلم‌های ژلاتینی همخوانی داشت [۸]. همچنین با افزودن اسانس به نانوکامپوزیت‌ها از دیاد طول به شکل معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس شدت بیشتری داشت که با نتایج مطالعات محققین پیرامون افزودن اسانس رزماری به فیلم زیست تخریب پذیر کیتوزان همخوانی

داشت [۱۱]. در حالی که در نانوکامپوزیت حاوی ۲ درصد اسانس اسطوخودوس به طور معنی‌داری کاهش یافته است. درصد از دیاد طول نانوکامپوزیت‌ها با افزودن اسانس تغییر چشمگیری داشت. به طوری که با افزودن اسانس پوست نارنج به مقدار قابل توجهی ($p < 0/05$) افزایش یافت. مقادیر افزایش طول با افزودن ۱/۵ درصد اسانس اسطوخودوس افزایش یافت؛ اما این افزایش چشمگیر نبود. همچنین افزودن ۲ درصد اسانس اسطوخودوس منجر به کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) افزایش طول نانوکامپوزیت‌ها گردید. بیشترین افزایش طول مربوط به نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج با ۶۴/۶۱ درصد و کمترین میزان ۲۷/۰۴ درصد مربوط به نانوکامپوزیت حاوی ۲ درصد اسانس اسطوخودوس بود.

به طور کلی این پدیده را می‌توان این‌گونه تشریح کرد که پیوند میان مولکول‌های قطبی، بسیار قوی‌تر از پیوند بین مولکول‌های غیرقطبی اسانس و یا پیوند بین مولکول‌های قطبی پلیمر با مولکول‌های غیرقطبی اسانس می‌باشد که منجر به کاهش یکنواختی ساختاری در فیلم‌ها می‌گردد. به طور عمومی اضافه نمودن مواد افزودنی به جز مواد اتصال‌دهنده عرضی، باعث کاهش شاخص (TS) می‌شوند. تأثیر افزودن اسانس بر رفتارهای مکانیکی، بستگی به ویژگی‌های اسانس و توانایی آن در واکنش با پلیمرهای تشکیل‌دهنده فیلم خوراکی دارد. از طرف دیگر اسانس‌ها عموماً در دمای اتاق به حالت مایع می‌باشد و به دلیل اینکه در ساختار فیلم به صورت قطرات روغن حضور دارد، به آسانی تغییر شکل داده و باعث افزایش انعطاف‌پذیری فیلم خوراکی و به عبارتی، موجب افزایش درصد افزایش طول یا کرنش در فیلم‌ها می‌شود.

۴-۶- رنگ سطحی، کدورت و نفوذپذیری نسبت

به نور

مقادیر a^* ، L^* و b^* هانتر^۲ و اختلاف رنگی کل (ΔE) فیلم‌ها در (جدول ۲) مشاهده می‌شود. افزودن اسانس

1- Technical Specification

2- Hunter

جدول ۲- ویژگی‌های رنگ سطحی نانوکامپوزیت‌های زیست فعال حاوی مقادیر مختلف اسانس

WI	EA	b*	a*	L*	نوع فیلم
94/34 ± 0/37 ^a	3/78 ± 0/05 ^c	-0/4 ^d	2/7 ^a	95/05 ± 0/42 ^a	ک-ژ-ر
82/37 ± 0/72 ^d	14/48 ± 0/05 ^a	13/76 ± 0/28 ^a	2/26 ± 0/36 ^b	89/05 ± 1/12 ^c	ک-ژ-ر-سن 1/5%
82/61 ± 0/41 ^d	14/31 ± 0/43 ^a	13/7 ± 0/43 ^a	1/79 ± 0/54 ^c	89/45 ± 0/4 ^c	ک-ژ-ر-ن 2%
92/37 ± 0/39 ^b	4 ± 0/19 ^c	1/2 ^c	2/7 ^a	92/96 ± 0/42 ^b	ک-ژ-ر-اس 1/5%
87/64 ± 0/71 ^c	7/76 ± 0/74 ^b	4/7 ± 0/74 ^b	2/18 ± 0/33 ^b	88/8 ± 0/61 ^c	ک-ژ-ر-اس 2%

* کاپاکاراژینان-ژلاتین - نانورس، ** کاپاکاراژینان-ژلاتین- نانورس-اسانس پوست نارنج، *** کاپاکاراژینان-ژلاتین-

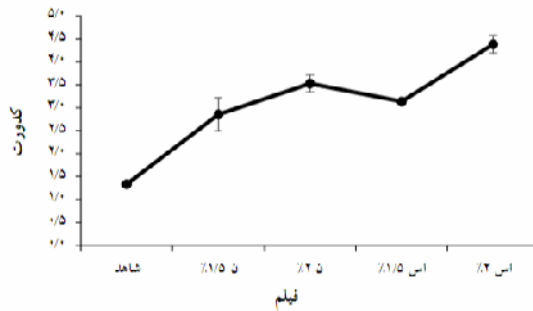
نانورس- اسانس اسطوخودوس

^{a,b,c} حروف کوچک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0/05$

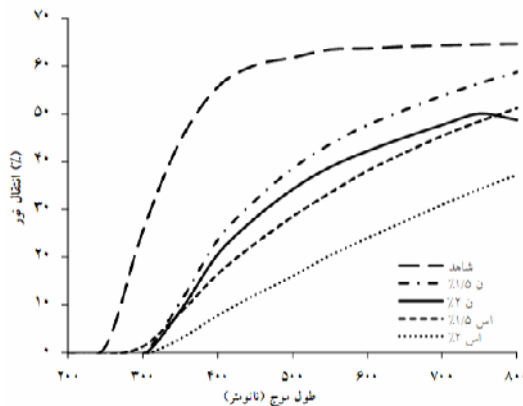
دادند که با نتایج حاصل از تحقیقات [۷، ۹ و ۱۰] همخوانی داشت. کدورت نانوکامپوزیت‌ها با افزودن اسانس به طور معنی‌دار ($p < 0/05$) افزایش یافت. میزان کدورت در نانوکامپوزیت فاقد اسانس ۱/۳۳ بود که این میزان در نانوکامپوزیت‌های حاوی ۱/۵ و ۲٪ اسانس پوست نارنج و ۱/۵ و ۲٪ اسانس اسطوخودوس به ترتیب ۲/۸۶ و ۳/۵۳ و (۳/۱۴ و ۴/۳۸) بود.

نتایج کدورت حاصل از افزودن اسانس پوست نارنج و اسطوخودوس به نانوکامپوزیت کاپاکاراژینان-ژلاتین/ نانورس در (شکل ۱) مشاهده می‌شود. افزودن اسانس به نانوکامپوزیت‌ها کدورت را به طور معنی‌داری افزایش داد به طوری که بیشترین کدورت مربوط به فیلم حاوی ۲ درصد اسانس اسطوخودوس بوده است. مقادیر نفوذپذیری نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس نسبت به نور در طول موج‌های بین ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر در (شکل ۲) نشان داده شده است. افزودن اسانس موجب کاهش نفوذپذیری نانوکامپوزیت‌ها به نور در طول موج‌های مختلف، مخصوصاً در ناحیه فرابنفش و طول موج‌های کمتر از ۳۵۰ نانومتر گردید. همچنین عبور نور در فیلم‌های حاوی اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج نیز کاهش یافت. نتایج حاصل از کدورت و انتقال نور نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج با نتایج حاصل از تحقیقات [۱۰ و ۱۱] همخوانی داشت.

منجر به تغییر معنی‌دار ($p < 0/05$) در L^* ، a^* و b^* در نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس گردید. روشنایی فیلم‌ها با افزودن اسانس کاهش یافت. به طور کلی، با افزودن اسانس مقادیر a^* به شکل معنی‌دار ($p < 0/05$) کاهش یافت و مقادیر b^* با افزودن اسانس افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) پیدا کرد که این افزایش در نانوکامپوزیت حاوی اسانس پوست نارنج بیشتر بود و نشان‌دهنده زرد شدن رنگ فیلم‌ها می‌باشد. میزان اختلاف رنگی کل فیلم‌ها به صورت معنی‌دار ($p < 0/05$) از ۳/۷۷ در فیلم نانوکامپوزیت فاقد اسانس تا ۱۴/۳۱ در نانوکامپوزیت حاوی ۲ درصد اسانس پوست نارنج تغییر نمود. شاخص معنی‌دار ($p < 0/05$) شدت کاهش شاخص سفیدی در نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس پوست نارنج بیشتر از سایر نانوکامپوزیت‌ها بود. افزودن اسانس به طور کلی منجر به کاهش معنی‌دار شاخص L^* در فیلم‌های نانوکامپوزیت گردید. عامل a^* (قرمزی) به طور معنی‌دار در نانوکامپوزیت حاوی اسانس پوست نارنج کاهش پیدا کرد و در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس اسطوخودوس تغییری مشاهده نشد و در ۲ درصد اسطوخودوس این تغییر معنی‌دار بود. افزودن اسانس همچنین منجر به افزایش معنی‌دار در پارامتر b^* گردید. شاخص ΔE نیز با افزودن اسانس افزایش معنی‌داری یافت به طوری که در نانوکامپوزیت‌های حاوی درصد‌های مختلف اسانس پوست نارنج بیشترین مقدار اختلاف رنگ را نشان



شکل ۱ - مقادیر کدورت نانوکامپوزیت‌های زیست فعال حاوی مقادیر مختلف اسانس



شکل ۲ - درصد انتقال نور نانوکامپوزیت‌های زیست فعال حاوی مقادیر مختلف اسانس

نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود اسانس پوست نارنج توانست باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس^۱ و اشیریشیاکلای^۲ را به طور مناسبی مهار کند و اثر آن بر گونه لیستریا مونوسیتوجنز^۳ ضعیف بود. همچنین اسانس اسطوخودوس تأثیر ضعیفی بر لیستریا مونوسیتوجنز داشته و بر دو گونه دیگر اثر مهارکنندگی نداشت. جدول (۴) نتایج اثر ضدباکتریایی نانوکامپوزیت فاقد اسانس و نانوکامپوزیت‌های حاوی ۱/۵ و ۲ درصد

اختلاط فاز کوچک‌تر و وابسته (اسانس) در فاز پیوسته، باعث کم شدن میزان شفافیت و افزایش میزان ماتی فیلم‌ها می‌شود که این پدیده مربوط به توزیع نور توسط قطرات چربی موجود در اسانس از میان شبکه فاز پیوسته فیلم می‌باشد.

۴-۷- خواص ضد میکروب فیلم‌ها

نتایج بررسی اثر اسانس اسطوخودوس و پوست نارنج بر سه گونه باکتریایی طی آزمایش چاهک در (جدول ۳)

جدول ۳- خواص ضد میکروبی اسانس در آزمایش چاهک

نوع اسانس	لیستریا مونوسایتوجنز	استافیلوکوکوس اورئوس	اشیریشیاکلای
اسطوخودوس	+	-	-
پوست نارنج	+	++	++

++ اثر مهارکنندگی خوب، + اثر مهارکنندگی ضعیف و - فاقد اثر مهارکنندگی

- 1- S. aureus
- 2- E. coli
- 3- L. monocytogenes

اسانس پوست نارنج و اسطوخودوس را نشان می‌دهد. فیلم نانوکامپوزیت فاقد اسانس نتوانست هیچ یک از سه گونه باکتری را مهار کند و فیلم نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسطوخودوس اثر مهارکنندگی ضعیفی را در مقابل لیستریا مونوسایتوجنز نشان داد. نانوکامپوزیت حاوی ۲ درصد اسانس اسطوخودوس نیز به طور جزئی باکتری لیستریا مونوسایتوجنز را مهار کرد در غلظت ۱/۵ و ۲ درصد اسطوخودوس اثر مهارکنندگی بر دو باکتری اشریشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس نشان نداد. نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ و ۲ درصد پوست نارنج خاصیت مهارکنندگی مشابهی را در برابر سه باکتری ذکر شده از خود نشان دادند. در مجموع می‌توان گفت فیلم‌ها دارای اثر ضدباکتریایی متوسطی در غلظت ۱/۵ درصد اسانس بودند.

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها در مقابل باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسایتوجنز و اشریشیاکلاهی نشان داد که فیلم حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج، مؤثرترین فیلم برای مهار رشد باکتری‌ها بود و فعالیت بازدارندگی نسبتاً خوبی را در برابر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و فعالیت بازدارندگی ضعیفی را در برابر باکتری گرم منفی اشریشیاکلاهی و باکتری گرم مثبت لیستریا مونوسایتوجنز داشته است. قابلیت آبگریزی که یکی از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها و ترکیبات موجود در آن‌هاست که اسانس‌ها را قادر می‌سازد به قسمت‌های

حاوی لیپید غشای سلول باکتری نفوذ کرده و با اختلال در ساختار غشای سلول باکتری باعث نفوذپذیری آن‌ها شوند که منجر به نشت یون‌ها و سایر محتویات سلول باکتری می‌گردد. علاوه بر این، ترکیبات موجود در اسانس می‌توانند روی پروتئین‌های سلولی موجود در غشای سیتوپلاسمی^۱ باکتری نیز اثر بگذارند. از جمله این پروتئین‌ها آنزیمی به نام آنزیم تجزیه‌کننده آدنوزین تری فسفات^۲ است که در مجاورت چربی‌های غشای سیتوپلاسمی قرار گرفته است. تجمع هیدروکربن‌های چربی دوست اسانس در این لایه چربی و واکنش با بخش آبگریز زنجیره پروتئینی و یا تأثیر مستقیم بر روی بخش‌های آبگریز پروتئین، می‌تواند عملکرد آن را مختل کنند. بیشترین مقاومت به اسانس در برابر باکتری اشریشیاکلاهی بوده که این مقاومت به خاطر نقش حفاظتی غشای لیپوپلی ساکاریدی دیواره سلولی یا پروتئین‌های غشای بیرونی است.

۵- نتیجه گیری

در تحقیق حاضر جهت بهبود ویژگی‌های فیلم کارازینان-ژلاتین/نانورس اثر ترکیب دو سطح از هر کدام از اسانس‌های اسطوخودوس و پوست نارنج در غالب پنج تیمار بر خواص فیزیکی، مکانیکی، ظاهری و میکروبی نانوکامپوزیت‌ها به منظور انتخاب بهترین درصد اسانس جهت تعیین روکش زیست‌تخریب‌پذیر بهینه مورد مطالعه و

جدول ۴- خواص ضد میکروبی فیلم‌های تولیدی در آزمایش دیسک

نوع فیلم	لیستریا مونوسایتوجنز	استافیلوکوکوس اورئوس	اشریشیاکلاهی
شاهد	-	-	-
* ن ۱/۵	+	++	+
ن ۲	+	++	+
** اس ۱/۵	+	-	-
اس ۲	+	-	-

* اسانس پوست نارنج، ** اسانس اسطوخودوس

++ اثر مهارکنندگی خوب، + اثر مهارکنندگی ضعیف و - فاقد اثر مهارکنندگی

1- Cytoplasmic Membrane

2- ATPase

- Food Chemistry, 122(1): 161-166.
8. Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., & Agustini, T. W. (2012a). "Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils." Food Hydrocolloids, 28(1), 189-199.
 9. Bahram, S., Rezaei, M., Soltani, M., Kamali, A., Ojagh, S. M., & Abdollahi, M. (2013). "Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil." Journal of Food Processing and Preservation.
 10. Atef, M., Rezaei, M., & Behrooz, R. (2015). "Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil." Food Hydrocolloids, 45, 150-157.
 11. Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). "Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging." International Journal of Food Science & Technology, 47(4), 847-853.
 12. Shojaee-Aliabadi, S., Mohammadifar, M. A., Hosseini, H., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S. M., ... & Khaksar, R. (2014). "Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with (Zataria multiflora) essential oil and nanoclay." International journal of biological macromolecules.

آدرس نویسنده

مازندران- شهرستان ساری- بلوار طالقانی-
 خیابان سلمان فارسی- میدان اول- کوچه
 شهید دانش- پلاک ۳- کد پستی
 ۴۸۱۸۹۳۳۹۹۶.

بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، افزودن اسانس می‌تواند بر روی خصوصیات و ویژگی‌های فیلم اثر مثبت داشته باشد و افزودن ترکیبات آنتی‌باکتریال^۱ همانند اسانس اسطوخودوس و اسانس پوست نارنج می‌تواند از شدت فعالیت‌های باکتریایی بکاهد. بهترین خصوصیات فیلم در نانو کامپوزیت حاوی اسانس پوست نارنج بوده است که بیشترین کارایی در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس پوست نارنج مشاهده شده است.

۶- منابع

1. Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). "Antimicrobial herb and spice compounds in food." Food control, 21(9), 1199-1218.
2. Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). "Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract." Food Hydrocolloids, 24(8), 770-775.
3. Shahidi, F., & Zhong, Y. (2012). "Citrus oils and essences." Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.
4. Wei, A., & Shibamoto, T. (2010). "Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils." Journal of agricultural and food chemistry, 58(12), 7218-7225.
5. Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W., & Li, D. (2012). "Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films." Food Hydrocolloids, 27(1): 22-29.
6. Martins, J. T., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Souza, B. W., & Vicente, A. A. (2012). "Synergistic effects between kappa-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof." Food Hydrocolloids, 29(2): 280-289.
7. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). "Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water."