Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

مقاله پژوهشی

ارزیابی ویژگی‌های ضدباکتریایی، آنتی اکسیدانی و نوری فیلم خوراکی کامپوزیتی نشاسته - کیتوزان حاوی عصاره الکلی پوست انار

دکتر تورج مهدی زاده[۱]، دکتر حسین تاجیک[۲]*، دکتر سید مهدی رضوی روحانی[۳]، دکتر عبدالرسول ارومیه‌ای[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۳/۰۲

چکیده

پیش زمینه و هدف: بسته بندی‌های زیست سازگار بر پایه فیلم‌های خوراکی حاوی عوامل فعال به منظور بهبود کیفیت، افزایش مدت ماندگاری، کنترل عوامل بیماری‌زا و بهبود خصوصیات ارگانولپتیکی ماده غذایی استفاده می‌شوند. تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثرات عصاره پوست انار بر روی ویژگی‌های ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی، نوری و حلالیت فیلم خوراکی کامپوزیتی کیتوزان - نشاسته صورت پذیرفت.

مواد و روش کار: برای شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره از روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی استفاده گردید. فیلم‌های حاوی عصاره در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد، به روش کستینگ تهیه گردیدند. اثرات ضد میکروبی با روش انتشار آگار، آنتی اکسیدانی به روش به دام اندازی رادیکال ۲ و ۲ دی فنیل، ۱ پیکریل هیدرازیل (DPPH) ونیز میزان فنل کل، ویژگی‌های نوری و حلالیت در آب فیلم ارزیابی شدند. کلیه آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام گرفت و داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون آماری دانکن و نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فیلم‌های حاوی عصاره پوست انار موجب افزایش معنی‌داری در مساحت هاله بازدارندگی رشد باکتری‌ها در مقایسه با فیلم‌های بدون عصاره می‌شود ($p<0/05$). به طوری که بیشترین تأثیر به ترتیب بروی باکتری‌های لیستریا، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی بود. قدرت آنتی اکسیدانی فیلم کیتوزان - نشاسته با افزودن عصاره‌ها افزایش معنی‌داری می‌یافت ($p<0/05$)، ولی غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد اختلاف معنی‌داری نداشتند. با افزایش درصد عصاره میزان فنل بیشتر می‌شود ولی فیلم بدون عصاره با فیلم حاوی ۰/۵ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری از این نظر نداشتند ($p<0/05$). با افزایش غلظت عصاره در فیلم‌ها از شفافیت فیلم‌ها کاسته شده و تغییرات کلی رنگ افزایش می‌یافت ($p<0/05$). نتایج حلالیت در آب نیز نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، حلالیت در آب افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند ($p<0/05$).

بحث و نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که فیلم کامپوزیتی نشاسته – کیتوزان حاوی عصاره پوست انار دارای خواص ضدباکتریایی محسوسی بوده ضمن اینکه قدرت آنتی اکسیدانی بالایی را نیز از خود نشان می‌دهد. همچنین عصاره موجب بهبود برخی ویژگی‌های فیزیکی فیلم می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: فیلم کامپوزیتی، کیتوزان، نشاسته، عصاره پوست انار، آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و سوم، شماره سوم، ص ۳۲۳-۳۱۵، مرداد و شهریور ۱۳۹۱

آدرس مکاتبه: ارومیه، پردیس نازلو، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، تلفن: ۰۴۴۱۲۷۷۰۵۰۸

Email: h.tajik@urmia.ac.ir

مقدمه

در دهه اخیر گرایش مصرف کنندگان به محصولات غذایی با کیفیت بهتر، تازه‌تر و نیز با دسترسی آسان‌تر رو به فزونی نهاده است. در این بین صنعت بسته بندی با به‌کارگیری مواد و روش‌های بسته بندی نوین و مناسب نقش مهمی در کاهش ضایعات مواد غذایی و نیز تولید محصولات سالم تر ایفا نموده است (۱).

---

[۱] دستیار بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[۲] استاد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

[۳] استاد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[٤] دانشیار پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، گروه پلاستیک

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

از طرفی بسته بندی‌های زیست سازگار[1] بر پایه فیلم‌های خوراکی [2]، که عمدتاً از پلی ساکاریدها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و یا ترکیبی از آن‌ها ساخته می‌شوند، به دلیل دارا بودن مواد طبیعی، قابلیت تجدید پذیری و عدم ایجاد آلودگی های زیست محیطی روز به روز از اهمیت خاصی برخوردار می‌شوند (۲). از طرفی قابلیت چنین فیلم‌هایی به عنوان ناقل عوامل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی و نیز سایر عوامل فعال [3] به منظور بهبود کیفیت، افزایش مدت ماندگاری، کنترل عوامل بیماری زا ونیز بهبود خصوصیات ارگانولپتیکی ماده غذایی کاربردهای بسیاری را برای آن‌ها در صنایع بسته بندی مواد غذایی مهیا نموده است (۳).

کیتوزان به عنوان یک پلیمر زیستی[4] و پلی ساکارید پلی کاتیونی، از استیل زدایی کیتین (دومین پلی ساکارید از لحاظ فراوانی در طبیعت) ساخته می‌شود. این پلی ساکارید زیست تخریب پذیر علاوه بر غیر سمی بودن دارای خصوصیات منحصر به فردی از جمله ضدمیکروب، آنتی اکسیدان و تشکیل دهنده فیلم بوده و منشأ تحقیقات بسیاری در زمینه فیلم‌های فعال و ضدمیکروبی بوده است.

نشاسته یک پلی ساکارید تجزیه پذیر و قابل حل در آب بوده که قابلیت‌های تشکیل فیلم آن نیز به خوبی شناسایی شده است. بسته بندی‌های ساخته شده بر پایه نشاسته علاوه بر ارزان بودن با توجه به منشأ طبیعی آن، از دسترسی آسان در مقیاس وسیع نیز برخوردار می‌باشند.

اخیراً ترکیب کیتوزان با نشاسته در قالب فیلم‌های کامپوزیتی [5] با هدف پوشش معایب فیزیکی مانند حساسیت به رطوبت کیتوزان و شکنندگی فیلم نشاسته و در نتیجه بهبود ویژگی‌های فیزیک و مکانیکی توسط برخی محققین مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج رضایت بخشی نیز بدست آمده است (۶-۴).

بسیاری از ادویه‌ها و گیاهان و نیز عصاره آن‌ها دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانتی می‌باشند. بنابراین استفاده از عصاره‌های طبیعی گیاهی به عنوان یک روش مطلوب برای توسعه محصولات جدید غذایی ونیز به عنوان نگهدارنده و عامل فعال در بسته بندی هم از طرف تولید کنندگان وهم مصرف کنندگان به خاطر مضرات و نگرانی‌های مطرح در ارتباط با مواد نگهدارنده شیمیایی مورد توجه قرار گرفته و در چندین تحقیق مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۹-۷).

انار[6] که در جهان به عنوان بومی ایران شناخته می‌شود منبع مهمی از ترکیبات فعال زیستی [7] می‌باشد و در طول قرن‌های متمادی در طب سنتی مورد استفاده بوده و خواص درمانی آن در بسیاری از موارد مورد اثبات قرار گرفته است (۱۰). انار با داشتن ترکیبات پکتین، آسکوربیک اسید، تانن ها، آنتوسیانین‌ها و فلاوونوئیدها[8] اثرات آنتی اکسیدانی بالایی را نشان داده است (۱۱). در این میان عصاره پوست انار مشخصاً دارای قابلیت و ظرفیت مهار یا ممانعت بیشتری در مقابل آنیون‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و پروکسیل بوده و قدرت محدود کردن اکسیداسیون لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین توسط عصاره پوست انار نسبت به سایر بخش‌های آن مثل میوه درونی بیشتر است (۱۲). تحقیقات انجام گرفته نشان داده است که عصاره پوست انار دارای خواص ضد باکتریایی (۱۴،۱۳)، ضد ویروسی (۱۰)، ضد جهش زایی[9] (۱۵) و آنتی اکسیدانی (۱۷،۱۶) بوده و می‌تواند به عنوان ترکیب نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی و غذا داروها[10] مورد استفاده قرار گیرد. به طوری که در این رابطه Naveena و همکاران و نیز Sweetie و همکاران اثرات آنتی اکسیدانی عصاره پوست انار را در نمونه گوشت مرغ (۱۹،۱۸) و Devatkal و همکاران در گوشت بز خام و پخته مورد بررسی قرا داده‌اند (۲۱،۲۰).

ولی هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با استفاده از عصاره انار در ترکیب فیلم‌های کامپوزیتی - خوراکی وجود ندارد لذا هدف این تحقیق توسعه و تهیه فیلم خوراکی کامپوزیتی نشاسته – کیتوزان حاوی عصاره پوست انار به منظور مطالعه اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و برخی خصوصیات فیزیکی آن شامل رنگ، شفافیت و حلالیت در آب بوده است.

مواد و روش کار

تهیه و آنالیز عصاره الکلی: برای این منظور پس از خریداری انارهای رسیده پوست به طور دستی جداسازی گردید و در هوار آزاد خشک گردید سپس توسط آسیاب به صورت پودر در آمده و از الک به اندازه ۶۰ مش [11] عبور داده شد سپس ۲۵۰ گرم پودر در یک لیتر الکل اتانول خالص ساخت شرکت مرک[12] حل شده و به مدت شش ساعت در روتاری شیکر با دور ۱۵۰ Rpmقرار داده شد

[1] Biodegradable
[2] Edible film
[3] Active agent
[4] Biopolymer
[5] Composite films

[6] Punica granatum
[7] Bioactive agent
[8] Flavonoids
[9] Antimutagenic
[10] Nutraceuticals
[11] Mesh
[12] Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

بعد از این مدت از کاغذ واتمن شماره ۴۱[13] عبور داده شده و سپس در تبخیر کننده با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای حذف حداقل ۹۰ درصد حلال قرار داده شد و در نهایت برای تغلیظ نهایی در دسیکاتور خلأ قرار داده شد و تا زمان استفاده در شیشه‌های عایق نور و هوا در دمای یخچال نگهداری گردید. جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی[14] استفاده گردید.

برای تهیه فیلم کامپوزیتی، پس از خریداری کیتوزان ساخت شرکت فلوکا [15] با وزن مولکولی متوسط (کد: ۲۲۷۴۲)، به صورت دو درصد وزنی/ حجمی، در اسید استیک یک درصد حل شده و به مدت ۶ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر روی هات پلیت آهنربادار قرار داده شد پس از این مدت محلول فوق برای جداسازی ذرات حل نشده احتمالی در شرایط خلأ از کاغذ صافی واتمن شماره ۳ عبور داده شد. برای تهیه محلول نشاسته سوسپانسیون آبکی نشاسته ذرت با ۲۷ درصد آمیلوز (سیگما-آلدریخ[16]) با درصد ۳/۵ درصد وزنی /وزنی با آب مقطر استریل تهیه شده و در ۹۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبگرم ترمو استاتیک به طور اتوماتیک مرتباً هم زده شد تا ژلاتینه گشته و سپس تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد خنک گردید (۴). در مرحله بعدی بعد از افزودن پلاستیسایز گلیسرول به میزان ۳۰ درصد وزنی/وزنی با ازای ماده‌های خشک تشکیل دهنده فیلم، محلول‌های کیتوزان و نشاسته به نسبت ۵۰/۵۰ بر روی بهم زن آهنربا دار مخلوط شده و در نهایت عصاره انار با درصدهای ۰/۵، ۱، و ۲ اضافه گشته و با هموژنیزاتور در دور ۱۲۰۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه هم زده شد. برای تهیه فیلم به روش کستینگ[17] بعد از خارج کردن حباب‌های هوای داخل آن در شرایط خلأ و همچنین با استفاده از گاز نیتروژن، محلول فیلم بر روی قالب‌های تفلون نچسب و مقاوم به حرارت (پلی تترا فلورو اتیلن[18]) در شرایط کاملاً مسطح ریخته شده و تا زمان خشک شدن در دمای اطاق قرار داده شدند پس از خشک شدن کامل، فیلم‌ها از داخل قالب جدا شده، و در شرایط رطوبت ثابت ۵۸درصد و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع نمک برومید سدیم به مدت ۴۸ ساعت قبل از انجام آزمایش‌های مربوطه نگهداری گردیدند.

[13] Whatman No.41
[14] Gas chromatography- Mass Spectrometers
[15] Fluka Chemika. Sigma-Aldrich Chemie GmbH.Pt. D-89555 Steinheim Germany
[16] Sigma-Aldrich Chemie GmbH. Eschenstrasse 582024. Taufkirchen Germany
[17] Casting
[18] PolyTetraFluorEthylen (PTFE)

برای تعیین اثرات ضدمیکروبی فیلم از روش انتشار آگار [19] استفاده گردید. بدین ترتیب که فیلم‌ها به اندازه دیسک‌های ۱۵ میلی متری بریده شده و سپس بر روی پلیت‌های مولرهینتون آگار حاوی هر کدام از باکتری‌ها شامل لیستریا مونو سیتوژنز، اشریشیاکلی O157:H7، استافیلوکوکوس اورئوس قرار گرفتند. باکتری‌ها را قبل از استفاده به طور متوالی دو بار در محیط مولرهینتون براث [20] تجدید کشت نموده و سپس پلیت‌ها با ۰/۱ سی سی از محیط کشت براث (10^6–10^5 CFU/mL) حاوی باکتری ها که شب قبل آماده شده است تلقیح گردیدند و در دمای ۳۷ C° به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. در هر پلیت نیز نمونه های کنترل حاوی کاغذ واتمن آغشته به آب مقطر استریل قرار داده شدند. بعد از این مدت هاله ممانعت از رشد[21] توسط یک کولیس دقیق اندازه گیری و مساحت آن بر حسب میلی مترمربع بعد از کسر از مساحت خود فیلم گزارش گردید (۲۲). لازم به ذکر است که قبل از ارزیابی اثرات ضد میکروبی و به منظور رفع آلودگی‌های ثانویه، فیلم‌ها در داخل هودلامینار فلو به مدت ۱۰ دقیقه در معرض اشعه ماوراء بنفش نوع C قرار داده شدند.

برای اندازه گیری ترکیبات فنلی فیلم، از روش رنگ سنجی فولین سیوکالتو[22] استفاده شد. ۲۵ میلی گرم از فیلم در سه میلی-لیتر آب مقطر دیونیزه قرار داده و به مدت ۵ دقیقه به آرامی به هم زده شد. سپس یک میلی لیتر از عصاره فیلم، با هفت میلی لیتر آب مقطر دیونیزه در داخل لوله آزمایشگاهی ریخته و سپس پنج میلی‌لیتر از معرف فولین (ساخت شرکت مرک) اضافه کرده و با هم مخلوط شد. پس از گذشت هشت دقیقه یک و نیم میلی لیتر محلول کربنات سدیم اشباع و نیم سی سی آب مقطر دیونیزه مجدداً به لوله‌ها اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد و سپس مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. از اسید گالیک با غلظت‌های صفر تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد (۲۳). برای تعیین درصد به دام انداز ی رادیکال ۲ و ۲ دی فنیل، ۱ پیکریل هیدرازیل[23] از روش تغییر یافته Blois استفاده گردید (۲۴).

برای اندازه گیری رنگ از دستگاه رنگ سنج کونیکا – مینولتا مدل CR-400 [24]استفاده گردید شاخص‌های L×؛ شفافیت نمونه (۰= سیاه و ۱۰۰ = سفید) a×، قرمزی (۶۰ - = سبز و ۶۰ + =

[19] Agar diffusion method
[20] Mueller hinton Broth
[21] Inhibition Zone
[22] Folin- Ciocalteu
[23] 2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)
[24] Konica Minolta Sensing, Inc. 3-91 Daisennishimachi, Sakai-ku,Sakai, Osaka, JAPAN

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

قرمز) و× b زردی (۶۰ -= آبی و ۶۰ += زردی) در چهار نقطه از فیلم (سه نقطه در کنار و یکی در میانه) تعیین و برای محاسبه اختلاف رنگ کل (ΔE)، شاخص زردی (YI) و شاخص سفیدی (WI) بر اساس روش Bolin وHuxsoll استفاده گردیدند (۲۵).

اندازه گیری شفافیت [25]: از روش Han و Floros استفاده گردید بدین ترتیب که پس از بریدن فیلم به شکل مربع در داخل سل[26] اسپکتروفتومتر قرار داده شده و پس از قرائت جذب در ۶۰۰ نانومتر با تقسیم آن بر ضخامت فیلم به میلی متر، شفافیت گزارش گردید (۲۶).

اندازه گیری حلالیت در آب: طبق روش Rhim و همکاران با کمی تغییر انجام پذیرفت. قطعه‌ای به اندازه ۴×۴ سانتی‌متر از فیلم بریده شده و در ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت خشک گردید و سپس وزن شد (W1). سپس فیلم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه قرار گرفت و گاه‌گاهی هم زده شد. سپس محلول از فیلتر واتمن شماره ۴ عبور داده شد و سپس وزن آن دوباره با خشک کردن در اوون بدست آمد (W2) و با فرمول زیر درصد حلالیت محاسبه گردید (۲۷):

$$\text{حلالیت\%} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

کلیه آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه[27] و نرم افزار SPSS [28] تجزیه و تحلیل شدند. آزمون آماری دانکن [29] برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

از بین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره، ۱۰ ترکیب که شامل ۹۴/۵۸ درصد می‌باشد شناسایی گردید. ۲-Furancarboxaldehyde, 5- (hydroxymethyl)- بیشترین ترکیب تشکیل دهنده بود (۴۱ درصد) و ترکیبات دیگر شامل Furfural (۸/۵۵ درصد)، Octadecenoic acid (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester, cis-9 (۹/۴۲ درصد)، Pyrogallol (۱۱/۲۲ درصد)، Gamma.Sitosterol (۳/۱۴ درصد)، Linoleic acid ethyl ester (۹/۱۵ درصد)، Palmitic acid (۱/۵۸ درصد)، D- (+)-Melezitose (۷/۲۹ درصد)، Ethyl palmitate (۰/۹۸ درصد)، Ethyl iso-allocholate (۱/۷۱ درصد) بودند. نتایج اثرات ضد میکروبی فیلم‌های کامپوزیتی در محیط مولرهینتون آگار، در جدول ۱ آورده شده است.

بر اساس نتایج این تحقیق فیلم‌های حاوی عصاره پوست انار موجب افزایش معنی‌داری در مساحت هاله بازدارندگی رشد باکتری‌ها در محیط کشت در مقایسه با فیلم‌های بدون عصاره می‌شود ($p<0/05$). به طوری که بیشترین تأثیر به ترتیب بروی باکتری‌های لیستریا، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی می‌باشد. همچنین فیلم کیتوزان بدون عصاره و نیز غلظت ۰/۵ درصد هیچ گونه اثر ممانعت کنندگی بر روی باکتری اشریشیاکلی نداشتند و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد ($p<0/05$). بر اساس جدول ۱ اثرات ضد باکتریایی فیلم‌های بدون عصاره و غلظت ۰/۵ درصد بر روی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز نیز اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند ($p<0/05$). نمودار ۱ میزان فنل کل فیلم کیتوزان - نشاسته حاوی عصاره پوست انار در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش درصد عصاره میزان فنل بیشتر می‌شود. ولی فیلم بدون عصاره با فیلم حاوی ۰/۵ عصاره اختلاف معنی‌داری از این نظر ندارند ($p<0/05$). ندارد فعالیت آنتی اکسیدان فیلم‌ها به صورت درصد به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل در نمودار ۲ ملاحظه می‌گردد. بر این اساس تمامی فیلم‌های تهیه شده، دارای توانایی به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل بودند. قدرت آنتی اکسیدان فیلم کیتوزان - نشاسته با افزودن عصاره‌ها افزایش معنی‌داری یافت ($p<0/05$)، ولی غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد اختلاف معنی‌داری نداشتند.

تأثیرات اضافه نمودن عصاره پوست انار بر روی شاخص‌های رنگ هانتر، تغییرات کلی رنگ، شاخص زردی، شاخص شفافیت و نیز درصد حلالیت در آب در جدول ۲ آورده شده است. مقایسه نتایج رنگ سنجی نشان می‌دهد که فیلم‌های حاوی عصاره اختلاف معنی‌داری با نمونه کنترل در تمام شاخص‌ها ونیز تغییرات کلی رنگ دارند ($p<0/05$). ضمن اینکه به غیر از غلظت‌های ۱ و ۲ درصد در شاخص سفیدی، سایر غلظت‌ها در تمام شاخص‌ها اختلاف معنی‌داری با همدیگر داشته و با افزایش غلظت عصاره در فیلم‌ها از شفافیت فیلم‌ها کاسته شده و تغییرات کلی رنگ افزایش می‌یابد ($p<0/05$). نتایج حلالیت در آب فیلم‌ها نیز نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، حلالیت در آب فیلم‌ها افزایش معنی‌داری پیدا می‌کرد ($p<0/05$) اما غلظت‌های ۰/۵ و یک درصد اختلاف معناداری از این نظر نداشتند.

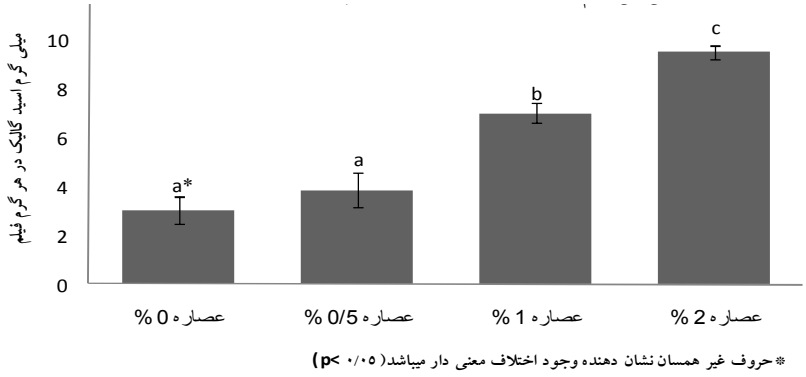
[25] Transparency
[26] Cell
[27] ANOVA
[28] IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Statistics 19
[29] Duncan's new multiple range test

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

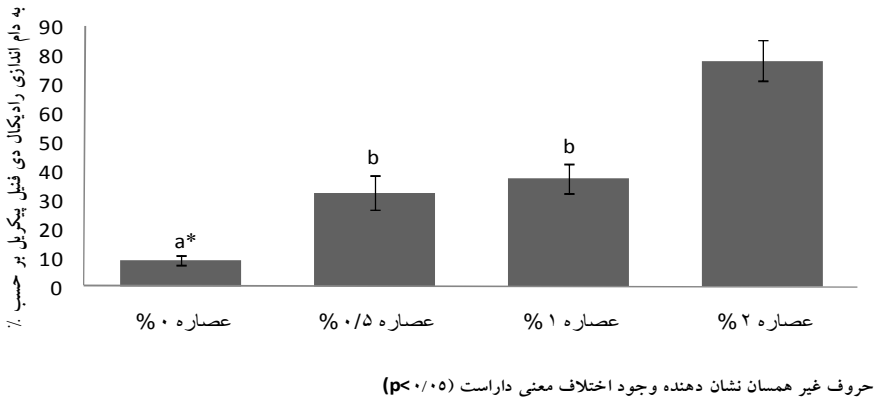
جدول شماره (۱): اثر ضدمیکروبی فیلم کیتوزان - نشاسته حاوی عصاره الکلی پوست انار به روش انتشـار در محیط مولرهینتون آگار

باکتری	میزان عصاره بر حسب٪	مساحت هاله ممانعت از رشد برحسب mm^2
لیستریا مونوسیتوژنز	۰	۲۸/۴۳±۴/۷ [a*]
	۰/۵	۲۹/۳۳±۱/۶ [a]
	۱	۴۳/۳۸±۳/۷ [b]
	۲	۹۶/۳۲±۴/۹ [c]
اشریشیاکلی O157:H7	۰	۰.۰ ± ۰.۰ [a]
	۰/۵	۰.۰ ± ۰.۰ [a]
	۱	۱۰/۳۴±۱/۲ [b]
	۲	۱۴/۲۹±۱/۵ [c]
استافیلوکوکوس اورئوس	۰	۱۲/۸۴±۱/۳ [a]
	۰/۵	۲۸/۳۳±۳/۹ [b]
	۱	۳۷/۷۰±۲/۳ [c]
	۲	۸۱/۶۴±۴/۶ [d]

* میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵)



نمودار شماره (۱): میزان فنل کل فیلم کیتوزان نشاسته حاوی عصاره پوست انار



نمودار شماره (۲): میزان به دام اندازی رادیکال DPPH فیلم کیتوزان نشاسته حاوی عصاره پوست انار

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

جدول شماره (۲): شاخص‌های مربوط به رنگ، شفافیت و حلالیت فیلم کیتوزان - نشاسته حاوی عصاره پوست انار

عصاره٪	شاخص b	شاخص a	شاخص L	اختلاف رنگ کل	شاخص زردی	شاخص سفیدی	شفافیت	حلالیت در آب ()
۰	۱۱/۳۸[a*]	-۱/۲۳[a]	۸۷/۶۲[d]	۱۳/۱۳ [a]	۱۸/۵۵ [a]	۸۳/۱۳[c]	۱/۰۳[a]	۱۲/۵۴[a]
۰/۵	۳۱/۰۷[b]	۵/۳۶[b]	۶۹/۴۳[c]	۳۹/۷۷ [b]	۶۳/۶۶[b]	۵۶/۳۱[b]	۱/۷۲[b]	۱۶/۵۵[b]
۱	۳۲/۸۸[c]	۷/۹۹[c]	۶۲/۰۵[b]	۴۶/۱۷ [c]	۷۵/۲۴ [c]	۴۹/۳۲[a]	۲/۹۳[c]	۱۴/۲۶[b]
۲	۳۴/۸۴[c]	۸/۸۳[c]	۵۶/۸۶[a]	۴۹/۹۳ [d]	۸۷/۵۳[d]	۴۳/۸۵[a]	۴/۱۸[d]	۲۰/۳۰[c]

× میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

بسته بندی ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی نوعی از سیستم بسته بندی فعال می‌باشد که توانایی، کاهش، ممانعت و به تأخیر انداختن رشد میکرو ارگانیسم‌های بیماری‌زا و فساد زا ونیز کاهش فعالیت‌های منجر به کاهش کیفیت محصولات غذایی ناشی از اکسیداسیون را در بسته بندی دارا می‌باشد. امروزه تلاش‌های زیادی برای گنجاندن عوامل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی در قالب سیستم‌های بسته بندی فعال و در پوشش مواد پلیمری در حال انجام است. در این شکل این مواد به آرامی در سطح ماده غذایی آزاد شده و در نتیجه مدت زمان طولانی تری کارایی خود را حفظ می‌نمایند (۹). وجود ترکیبات فعال مانند استرول، فلاوونوئید، تری ترپن، فنول، تانین و پونیگالاکین با خواص مختلف ثابت شده مانند ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی در عصاره پوست انار امکان استفاده از آن را در قالب این فیلم‌ها امکان پذیر می‌سازد. بررسی نتایج هاله ممانعت از رشد به عنوان معیار اثرات ضد باکتریایی فیلم حاوی عصاره پوست انار نشان داد که بیشترین تأثیر با غلظت ۲ درصد و بر روی باکتری لیستریامونوسیتوژنز با هاله ۹۶/۳۲±۴/۹ میلی مترمربع بوده و سپس باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با هاله ۸۱/۶۴±۴/۶ واشریشیاکلی مقاوم‌ترین با هاله ۱۴/۲۹±۱/۵ میلی مترمربع قرار دارند. کنترل این سه باکتری که عامل چندین نوع بیماری با منشأ مواد غذایی می‌باشند از اهمیت زیادی در ارتباط با بهداشت مواد غذایی برخوردار است. در بررسی که توسط Mekkerdchoo و همکاران انجام شد اثرات ضد باکتریایی عصاره پوست انار در فیلم پکتین بررسی شد و نتایج نشان داد که غلظت‌های ۲ تا ۶ درصد عصاره قادر به مهار رشد جزیی باکتری‌های اشریشیاکلی و سودوموناس بوده و بر روی سالمونلا و لاکتوباسیلوس تأثیری ندارند (۲۸). نتایج مطالعه دیگر توسط Al-Zoreky مشخص کرد که عصاره پوست انار قابلیت مهار رشد به ترتیب لیستریامونوسیتوژنز، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و یرسینیاانتروکولیتیکا را دارد درحالی‌که بروی سالمونلا اینتریتیدیس اثر چندانی ندارد (۱۳). مطالعه Dahham و همکاران نیز نشان داد که عصاره الکلی پوست انار دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی وسیعی به خصوص بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و آسپرژیلوس نیجر می‌باشد (۲۹). نتایج این محققین با یافته این تحقیق که نشان دهنده اثر ضدباکتریایی قوی تر عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی است تطابق دارد. مهم‌ترین علت این اختلاف تفاوت ساختاری در غشاء سیتوپلاسمی و دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌باشد به طوری که باکتری‌های گرم منفی دارای یک غشاء سلولی سرتاسری می‌باشند که برخلاف باکتری‌های گرم مثبت از انتشار ترکیبات آبگریز به داخل پوشش لیپوساکاریدی ممانعت به عمل می‌آورد (۳۰). یافته دیگر این تحقیق وجود اثر ضد باکتریایی در فیلم کیتوزان – نشاسته بدون عصاره بر روی لیستریامونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد که علت آن می‌تواند به علت رهایش گلوکز آمین واحد تشکیل دهنده کیتوزان با خواص ضدمیکروبی از فیلم بر روی محیط کشت باشد که نتیجه مشابهی نیز توسط مرادی و همکاران گزارش گردیده است (۳۱). نتایج بررسی اثراتانتی اکسیدانی فیلم‌ها نشان داد که وجود عصاره پوست انار با دارا بودن ترکیبان پلی فنلی، اثرات آنتی اکسیدانی بالایی را از خود نشان می‌دهد به طوری که فیلم حاوی ۲ درصد عصاره ۷۸/۲۴درصد که معادل ۸/۵ برابر نمونه کنترل می‌باشد، قدرت به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل را دارا می‌باشد که به عنوان معیاری برای بررسی قدرت آنتی اکسیدانی مطرح می‌باشد. اساس این تست بر پایه احیاء و تغییر رنگ رادیکال DPPH به رنگ زرد در حضور مواد آنتی اکسیدان می‌باشد (۳۲). سرمایه یافته‌های این تحقیق خود فیلم کیتوزان نیز

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

دارای قدرت آنتی اکسیدانی می‌باشد (۱۳/۹٪) که علت آن واکنش گروه‌های آمین NH2 با رادیکال‌های آزاد و تولید ماکرومولک‌های پایدار و تولید آمونیوم (NH3) با جذب هیدروژن توسط NH2 می‌باشد. نتایج محققین دیگر نیز که بر روی اثرات آنتی اکسیدانی پوست انار در محیط آزمایشگاه به روش‌های مختلف انجام گرفته نتایج این تحقیق را تایید می‌کند، به طوری که بر اساس نتایج تحقیقات Singh و همکاران (۱۷)، Li و همکاران (۱۲) و قاسمیان و همکاران که در مطالعات جداگانه و به روش‌های مختلف بر روی اثرات آنتی اکسیدانی پوست انار انجام پذیرفته خواص آنتی اکسیدانی بالایی به خصوص در مورد عصاره‌های الکلی پوست انار گزارش گردیده است که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۱۶). رنگ و شفافیت فیلم بسته بندی یکی از عوامل مهم تأثیر گذار از لحاظ مصرف کننده می‌باشند. با توجه به رنگ زرد متمایل به قرمز عصاره پوست انار همان‌طور که از نتایج مشخص است با افزودن غلظت عصاره ضمن کاهش معنی‌دار میزان شفافیت و سفیدی، شاخص‌های مربوط به زردی و قرمزی فیلم‌ها نیز افزایش پیدا می‌کرد. در تحقیقی که از عصاره رنگی دانه هسته انگور حاوی ترکیبات فنلی در تهیه فیلم‌های خوراکی استفاده کرده بودند نیز نتایج مشابهی بدست آمده است (۳۲). در هر حال آزمون‌های حسی می‌تواند میزان مقبولیت رنگ و شفافیت فیلم‌های حاوی عصاره‌های رنگی را مشخص نماید. آخرین پارامتر مورد بررسی در این تحقیق قابلیت حلالیت فیلم‌ها در آب بود. بر طبق نتایج مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره میزان حلالیت در آب نیز افزایش پیدا می‌کند (جدول ۲) به طوری که در غلظت‌های ۰/۵ و ۲ درصد اختلاف معنی‌دار است ($p<0/05$). دلیل این حالت می‌تواند به این صورت توضیح داده شود که با افزایش غلظت عصاره در فیلم مولکول‌های بیشتری از عصاره در زمان حل شدن در آب می‌توانند از شبکه پلیمری فیلم آزاد شده و در نتیجه میزان حلالیت افزایش می‌یابد. به طور کلی حلالیت در آب یک فاکتور مهم در مشخص کردن امکان استفاده از یک فیلم به عنوان بسته بندی می‌باشد. بر طبق نظر محققین حلالیت بالای فیلم در آب به خصوص برای بسته بندی محصولات تازه و یخزده دارای اگزودا یک عیب محسوب می‌شود در حالی که بالا بودن این معیار برای برخی کاربردهای بسته بندی نیز یک مزیت محسوب می‌گردد Jutaporn؛ و همکاران نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره چوب گیاه پایوم، کیام در فیلم خوراکی میزان حلالیت در آب فیلم افزایش می‌یابد که با داده‌های این تحقیق هم‌خوانی دارد (۳۳، ۳۴).

این اولین تحقیقی بود که بر روی اثرات ضد باکتریایی وانتی اکسیدانی عصاره پوست انار در فیلم‌های خوراکی انجام پذیرفت و نشان داد که فیلم کامپوزیتی نشاسته – کیتوزان حاوی عصاره پوست انار دارای خواص ضد باکتریایی محسوسی بوده ضمن اینکه قدرت آنتی اکسیدانی بالایی را نیز از خود نشان می‌دهد. به طوری که با تحقیقات بیشتر و گسترده‌ترمانند جداسازی ترکیبات مؤثره عصاره و بررسی سایر خصوصیات فیزیکومکانیکی فیلم مانند مورفولوژی، تداخل بین مواد تشکیل دهنده و نیز بررسی اثرات در نمونه‌های مدل غذایی می‌توان امکان بهره گیری از آن را به عنوان نگهدارنده طبیعی در قالب پوشش‌های طبیعی فراهم آورد.

تشکر و قدردانی

وظیفه خود می‌داند از بخش تحصیلات تکمیلی و دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه به خاطر پشتیبانی مالی این طرح تحقیقاتی، کمال تشکر و قدردانی را به عمل آورد. هم چنین از همکاری‌های صمیمانه آقایان دکتر حسن حسن زاد آذر، دکتر عباس حسنی، مهندس هادی قاسم مهدی و مهندس فرهاد فرهنگ پژوه سپاسگزاری می‌گردد.

References:

1. Ozdemir M, Kocaeli G, Floros DJ. Active Food Packaging Technologies. Crit Rev Food Sci Nutr 2004; 44:185-193.
2. Ahvenainen R. Novel food packaging techniques. In: Ahvenainen R. Editors. Active and intelligent packaging: an introduction. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd; 2003. P. 5-21.
3. Cha DS, Choi JH, Chinnan MS, Park HJ. Antimicrobial films based on na-alginate and κ-carrageenan. Lebensm Wiss Technol 2002; 35(8): 715-19.
4. Xu YX, Kim KM, Hanna MA, Nag D. Chitosan-starch composite film: preparation and characterization, Industrial Crops and Products 2005; 21(2): 185-92.
5. Garcia, MA, Pinotti A, Zaritzky NE. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. Starch - Stärke 2006; 58: 453-63.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

6. Bourtoom T, Chinnan MS. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. LWT - Food Sci Technol 2008; 41 (9): 1633-41.
7. Kim S, Ruengwilysup C, Fung DYC. Antibacterial effect of water-soluble tea extracts on foodborne pathogens in laboratory medium and in a food model. J Food Protect 2004; 67: 2608-12.
8. Hong IS, Park JD, Kim DM. Antimicrobial and physical properties of food packaging films incorporated with some natural compounds. Food Sci Biotechnol 2000; 9: 38-42.
9. Pyla R, Kim TJ, Silva JL, Jung Yg. Enhanced antimicrobial activity of starch-based film impregnated with thermally processed tannic acid, a strong antioxidant, Int J Food Microbiol 2010; 137(2-3) : 154-60.
10. Martos MV, López JF, Álvarez JAP. Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. Comprehens Rev Food Sci Food Safety 2010; 9(6): 635-54.
11. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modification to LDL and platelet aggregation: studies in human and in atherosclerotic apolipoprotein deficient mice. Am J Clin Nutr 2000; 71: 1062-76.
12. Li Y, Guo C, Yang J, Wei J, Xu J, Cheng S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chem 2006; 96: 254-60.
13. Al-Zoreky NS. Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels. Int J Food Microbiol 2009; 134: 244-8.
14. Danae L, Lilian W. Anti-Listeria monocytogenes activity of heat-treated lyophilized pomegranate juice in media and in ground top round beef. J Food Protect 2009; 72 (12): 2508-16.
15. Lansky EP, Newman RA. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 2007; 109(2): 177-206.
16. Ghasemian A, Mehrabian S, Majd A. Peel extracts of two Iranian cultivars of pomegranate (Punica granatum) have antioxidant and antimutagenic activities. Pakistan J Biol Sci 2006; 9: 1402-5.
17. Singh RP, Chidambara MKN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (punica granatum) peel and seed extracts using in vitro models. J Agric Food Chem 2002; 50 (1): 81-6.
18. Naveena BM, Sen AR, Vaithiyanathan S, Babji Y, Kondaiah N. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. Meat Sci 2008; 80 (4): 1304-8.
19. Sweetie K, Ramesh CH, Arun SH. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. Int J Food Sci Technol 2010; 45 (2): 216-22.
20. Devatkal SK, Narsaiah K, Borah A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. Meat Sci 2010; 85 (1): 155-9.
21. Devatkal SK, Naveena BM. Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. Meat Sci 2010; 85 (2): 306-11.
22. 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.
23. Siripatrawan U, Harte BR. Physical properties and antioxidant activity of an active film from

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:11 +0430 on Sunday June 24th 2018

chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids 2010; 24 (8): 770-5.

24. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958; 181: 1199-200.
25. Bolin HR, Huxsoll CC. Control of minimally processed carrot (Dascus carota) surface discoloration caused by abrasion peeling. J Food Sci 1991; 56: 416-8
26. Han JH, Floros JD. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. J Plastic Film Sheet 1997; 13:287-98.
27. Rhim JW, Wu Y, Weller CL, Schnepf M. Physical characteristics of a composite film of soy protein isolate and propyleneglycol alginate. J Food Sci 1999; 64: 149-52.
28. Mekkerdchoo O, Patipasena P, Borompichaichartkul Ch. Liposome encapsulation of antimicrobial extracts in pectin film for inhibition of food spoilage microorganisms. J Food Ag-Ind 2009; 2(04): 817-38.
29. Dahham SS, Ali MN, Tabassum H, Khan M. Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (Punica granatum L.). Am-Eur J Agric Environ Sci 2010; 9 (3): 273-81.
30. Orak HH, Demirci AŞ, Gümüş T. Antibacterial and antifungal activity of pomegranate (punica granatum L.CV.) peel. AFChe E 2011;10 (3): 1958-69.
31. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR, Malekinejad H, Aliakbarlu J, Hadian M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. LWT - Food Sci Technol 2012; 46(2): 477-84.
32. Jutaporn CT, Suphitchaya, C, Thawien, W. Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (Cotyleobium lanceotatum) extract. LWT - Food Sci Technol 2011; 44(1): 284-92.
33. Jutaporn CT, Suphitchaya C, Thawien W. Antimicrobial activity and characteristics of edible films incorporated with Phayom wood (Shorea tolura) extract. Int Food Res J 2011; 18: 39-54.
34. Sivarooban T, Hettiarachchy NS, Johnson MG. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. Food Res Int 2008; 41(8): 781-5.