بررسی خواص فیزیکی، ضد اکسایشی و ضدمیکروبی فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر پلی‌ساکارید سویا حاوی اسانس مرزه

حسن برزگر[1*]، وحید علیزاده[2]

۱- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(تاریخ دریافت: ۹٤/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۳۰)

چکیده

در این پژوهش، فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر پلی‌ساکارید محلول سویا حاوی اسانس مرزه در غلظت‌های ۰، ۱، ۲ و ۳ درصد (حجمی/ حجمی)، تولید شد و خواص فیزیکی، مکانیکی، فنل کل، ضداکسایشی و ضدمیکروبی آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. در غلظت ۳ درصد اسانس، فیلم‌های پلی‌ساکارید محلول سویا، کمترین میزان حلالیت در آب (٤۷/۲٦ درصد)، مقاومت‌کششی (۹/٤۳ مگاپاسکال) و نفوذپذیری نسبت به بخار آب ($۱/٦۰ \times ۱۰^{-۱۰}$ g/m.s.Pa) و بیشترین میزان ضخامت (۰/۰۸۹ میلی‌متر) و کرنش تا نقطه پاره شدن (۳۵/٤۰ درصد) را نشان دادند. خواص ضداکسایشی و ضدمیکروبی فیلم‌ها با افزودن اسانس به طور معنی‌داری افزایش یافت به طوری که فیلم حاوی ۳ درصد اسانس بیشترین فعالیت ضد اکسایشی به میزان ۷۳/۳۱ درصد را از خود نشان داد، همچنین اثر مهارکنندگی فیلم‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود. نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس مرزه به عنوان یک ماده ضدمیکروب و ضد اکسایش طبیعی، پتانسیل بالایی برای ساخت فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر دارد.

کلید واژگان: پلی‌ساکارید محلول سویا، اسانس مرزه، فعالیت ضدمیکروبی، فعالیت ضداکسایشی

* مسئول مکاتبات: barzegarha@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر توجه به استفاده از پلیمرهای مشتق شده از ترکیبات نفتی که در تولید و توسعه بسته‌بندی‌های مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، بصورت روزافزون در حال افزایش است. اما به دلیل زیست‌تخریب‌پذیری پایین، این مواد باعث افزایش آلودگی محیط زیست شده‌اند که برای حل این مشکل، محققان به فکر استفاده از مواد زیست‌سازگار[1] به جای پلیمرهای نفتی افتاده‌اند. در طی چند دهه گذشته، فیلم‌ها و پوشش‌های زیست‌تخریب‌پذیر[2] تولید شده از بیوپلیمرهایی از قبیل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و لیپیدها مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند [۱].

پلی‌ساکارید محلول سویا[3]، از مواد دیواره سلولی دانه سویا استخراج می‌شود که از لحاظ ساختاری مشابه پکتین می‌باشد و متشکل از ستون گالاکتورونان هموگالاکتورونان (آلفا ۱-٤ گالاکتورونان) و رامنوگالاکتورونان (واحدهای تکرار شونده آلفا ۱ و ۲ رامنوز و آلفا ۱ و ٤ گالاکتورونیک اسید) که توسط بتا ۱ و ٤ گالاکتان و آلفا ۱ و ۳ یا آلفا ۱-۵ آرابینان شاخه‌دار، است. توانایی تشکیل فیلم این پلی‌ساکارید بسیار خوب بوده و قادر به تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر با خواص ساختاری و فیزیکی مطلوب می‌باشد [۲]. قابلیت فیلم‌های تجدیدپذیر به عنوان حامل ترکیبات ضد اکسایشی، ضدمیکروبی و سایر عوامل فعال[4] به منظور کنترل عوامل بیماری‌زا، بهبود کیفیت و افزایش مدت‌ماندگاری مواد غذایی کاربردهای بسیاری را برای آن‌ها در صنایع بسته‌بندی مهیا نموده است [۳]. از سوی دیگر بیماری‌های ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌ها در زنجیره‌های عرضه‌کننده موادغذایی، تهدیدی جدی برای سلامت عموم مردم به حساب می‌آید [٤]. اسانس‌های گیاهی به دلیل اثر ضدمیکروبی و ضد اکسایشی به طور گسترده در تولید فیلم‌های خوراکی استفاده می‌شوند. در این میان، اسانس‌های میخک (Clove)، آویشن (Thyme)، پونه کوهی (Oregano)، رزماری (Rosemary)، مریم گلی (Sage) و مرزه (Summer savoury) از مهمترین ترکیبات ضدمیکروب در برابر میکروارگانیسم‌ها می‌باشند [۵].

گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) با نام فارسی مرزه باغی و نام انگلیسی Summer Savory از خانواده گیاهی لامیاسه (نعناعیان) و از گونه‌هایی با خواص ضد اکسایشی چشمگیر می‌باشد. بر طبق شواهد موجود این گیاه اولین بار در ایتالیا کشت شده است. مرزه باغی گیاهی علفی، یکساله، معطر و دارویی است که به عنوان یکی از سبزیجات مطبوع معرفی شده است و مدت‌هاست که به عنوان ادویه و طعم‌دهنده مواد غذایی در صنایع کنسرو، نوشابه، فرآوری گوشت و انواع سوسیس استفاده می‌شود. میزان اسانس در اندام‌های هوایی مرزه بسته به شرایط اقلیمی و محل رویش گیاه متفاوت و بین ۲-۱ درصد می‌باشد [٦]. کارواکرول با ۹۳/۹ درصد به عنوان ترکیب اصلی اسانس مرزه خوزستانی گزارش شده است [۷].

در سال‌های اخیر، مطالعاتی روی خواص فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر حاوی اسانس‌های گیاهی صورت گرفته است. در یکی از پژوهش‌های صورت گرفته در این زمینه، Jouki و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که استفاده از اسانس پونه کوهی در فیلم بر پایه موسیلاژ دانه به، باعث بهبود اثر ضدمیکروبی، ضد اکسایشی و همچنین بهبود برخی ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های تولید شده می‌گردد [۸]. در تحقیقی دیگر، Atef و همکاران (۲۰۱۵) خصوصیات فیزیکی، ساختاری و ضدمیکروبی فیلم نانوکامپوزیت آگار- نانورس حاوی اسانس مرزه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این محققین نیز نشان داد که با استفاده از اسانس مرزه حلالیت در آب، کرنش تا نقطه شکست و اثر ضدمیکروبی بهبود یافت [۹]. در پژوهشی دیگر، Salarbashi و همکاران (۲۰۱٤) نیز نشان دادند که افزودن اسانس آویشن شیرازی و نعناع به فیلم‌های بر پایه پلی‌ساکارید سویا، اثر ضدمیکروبی و ضد اکسایشی فیلم‌های حاصله را نسبت به فیلم شاهد بهبود می‌دهد [۲]. با توجه به مطالعات کتابخانه‌ای، تاکنون تحقیقی در مورد تاثیر افزودن اسانس مرزه بر ویژگی‌های فیلم‌های بر پایه پلی‌ساکارید دانه سویا صورت نگرفته است. از این رو، هدف از تحقیق حاضر، بررسی امکان بهبود خواص فیزیکی، ضدمیکروبی و ضد اکسایشی فیلم خوراکی پلی‌ساکارید دانه سویا محتوی اسانس مرزه بود.

1. Biocompatible
2. Biodegradable
3. Soluble Soybean Polysaccharide
4. Active agent

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

پلی‌ساکارید آرد سویا که از دانه سویا استخراج می‌شود از شرکت روغن فوجی[1] (ساخت کشور ژاپن) تهیه شد. گلیسرول، توئین ۸۰، سدیم کلرید و کلسیم کلرید از شرکت مرک آلمان خریداری گردید. باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه *استافیلوکوکوس‌اورئوس*، *باسیلوس‌سرئوس*، *اشریشیاکلی* و *سالمونلاتیفی‌موریوم* بودند و همگی از دانشکده علوم‌دامی و صنایع‌غذایی دانشگاه منابع طبیعی و کشاورزی رامین خوزستان تهیه گردیدند. محیط‌کشت‌های مولر هینتون براث[2] و مولر هینتون آگار[3] نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تهیه اسانس مرزه

جهت استخراج اسانس مرزه از روش تقطیر با آب و دستگاه اسانس‌گیری کلونجر استفاده گردید. برای این کار ۱۰۰ گرم از گیاه خشک مرزه را در بالن دستگاه کلونجر ریخته و ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد، بالن کلونجر را به دستگاه تقطیر کلونجر متصل و محتویات آن به مدت ۳ ساعت حرارت داده شد.

۲-۲-۲- آماده‌سازی فیلم

فیلم پلی‌ساکارید دانه سویا به روش Salarbashi و همکاران (۲۰۱٤) تهیه شد [۲]. محلول ۳ درصد فیلم به وسیله حل کردن ۳ گرم پلی‌ساکارید سویا در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد و برای حل شدن کامل پلی‌ساکارید، به مدت ٤۰ دقیقه در دمای ٤٥ °C تحت هم زدن قرار گرفت. گلیسرول به عنوان نرم‌کننده به میزان ۵۰ درصد پودر پلی‌ساکارید به محلول اضافه شد و هم‌زدن در دمای ۸۰°C به مدت ۱۵ دقیقه ادامه یافت. در مرحله بعد، توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر، به میزان ۰/۲ درصد (حجمی/حجمی) از اسانس، به محلول اضافه گردید و همزدن آرام صورت گرفت تا امولسیفایر به طور یکنواخت درون محلول پخش شود. پس از سرد شدن محلول، اسانس مرزه (۱، ۲ و ۳ درصد حجمی/حجمی) به محلول پلی‌ساکارید سویا افزوده و ۵ دقیقه هم‌زده شد و سپس به مدت دو دقیقه با ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه با استفاده از دستگاه هموژنایزر التراتوراکس، به هم زده شد. برای خروج حباب‌های هوا از هم‌زدن آرام با استفاده از هات‌پلیت استفاده شد. بعد از خشک شدن، نمونه‌های فیلم از ظروف پلکسی‌گلاس جدا شدند و برای آزمایش‌های بعدی در دسیکاتور با رطوبت نسبی ٥٤ درصد در دمای ۲٥ °C نگهداری شدند. از محلول اشباع نیترات منیزیم جهت ایجاد رطوبت نسبی ٥٤ درصد استفاده شد.

۲-۲-۳- اندازه‌گیری ضخامت

ضخامت فیلم‌ها با استفاده از میکرومتر دیجیتالی ساخت شرکت Mitutoyo کشور ژاپن اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در حداقل ۱۰ نقطه تصادفی هر فیلم تکرار و میانگین ضخامت محاسبه شده در تعیین نفوذپذیری نسبت به بخار آب و مقاومت‌کششی فیلم‌ها استفاده گردید.

۲-۲-٤- اندازه‌گیری حلالیت در آب

ابتدا تکه‌های فیلم با ابعاد ٤×۱ سانتی‌متر مربع در آون با دمای ۱۰٥ °C به مدت ۲٤ ساعت به منظور رسیدن به یک وزن ثابت قرار گرفتند. پس از آن فیلم‌های خشک شده در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور و در حالی که به صورت مقطعی هم‌زده می‌شد، در دمای ۲٥ °C به مدت ٦ ساعت قرار گرفتند. در نهایت تکه‌های فیلم به وسیله کاغذ صافی از آب جدا شده و پس از خشک کردن در دمای ۱۰٥ °C به مدت ۲٤ ساعت، توزین شدند. درصد حلالیت فیلم‌ها از رابطه ۱ محاسبه گردید [۱۰].

$$\text{درصد حلالیت} = \frac{(\text{وزن خشک نهایی} - \text{وزن خشک اولیه})}{\text{وزن خشک اولیه}} \times 100$$

۲-۲-۵- اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب

1. Fuji Oil
2. Mueller–Hinton Broth
3. Mueller–Hinton agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

سرعت انتقال بخار آب مطابق روش ASTM E96 اندازه‌گیری شد [۱۱]. برای این کار از فنجانک‌های مخصوصی با قطر داخلی ۳ cm و ارتفاع ۳/۵ cm استفاده گردید. سطح فنجانک‌ها به وسیله فیلم‌های بدون سوراخ و چروکیدگی پوشانده شد و سپس با استفاده از گریس و گیره فلزی درب‌بندی شدند. کلسیم کلرید که رطوبت نسبی صفر ایجاد می‌کند، در داخل فنجانک‌ها قرار داده شد. سپس فنجانک‌ها در دسیکاتور با رطوبت نسبی ۷۵ درصد که با استفاده از کلرید سدیم ایجاد شده بود، قرار گرفتند. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد فشار بخاری معادل ۱۷۵۳/۵۵ پاسکال ایجاد می‌کند. تغییرات وزن فنجانک‌ها در طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. با رسم منحنی تغییرات وزن نسبت به زمان، یک خط راست بر حسب ($R^2 \geq$ ۰/۹۹) حاصل شد. از تقسیم شیب خط مربوط به هر فنجانک به سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، نرخ انتقال بخار آب (WVPR)[1] محاسبه گردید. نفوذپذیری به بخار آب (g/m.s.pa) از رابطه‌ی (۲) محاسبه گردید.

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{\Delta P} \quad (۲)$$

در این معادله X: ضخامت فیلم (متر) و ΔP: اختلاف فشار جزئی بین درون و بیرون فنجانک (پاسکال) است.

۲-۲-۶- اندازه‌گیری خواص مکانیکی

برای اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها از دستگاه سنجش بافت (Stable Micro System[2]، مدل TA.XT.PLUS، ساخت انگلستان) و طبق استاندارد ASTM D882-02 استفاده شد [۱۲]. نمونه‌های فیلم قبل از انجام آزمون مکانیکی به مدت ۴۸ ساعت در رطوبت نسبی ۵۳ درصد قرار گرفتند. سپس، نمونه‌های فیلم با ابعاد ۶×۱ سانتی‌متر مربع بین دو فک دستگاه قرار گرفتند. فاصله اولیه بین دو فک دستگاه ۴۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک بالایی ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه بود. مقادیر مقاومت‌کششی[3] و حداکثر طول در نقطه پارگی[4] با استفاده از منحنی‌های تنش - کرنش محاسبه شدند و به ترتیب بر حسب مگاپاسکال و درصد گزارش گردیدند.

۲-۲-۷- اندازه‌گیری رنگ

اندازه‌گیری پارامترهای رنگی با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج[5] سری CR-۴۰۰، ساخت ژاپن انجام گرفت. رنگ نمونه‌ها، با استفاده از پارامترهای رنگی بر حسب روشنایی (L)، قرمزی-سبزی (a) و زردی-آبی (b) بیان شد. شاخص سفیدی (WI) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

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

۲-۲-۸- بررسی فعالیت ضدمیکروبی

به منظور اندازه‌گیری اثر ضدمیکروبی فیلم‌ها از روش انتشار آگار[6] استفاده شد. با استفاده از یک قالب، نمونه‌های فیلم به دیسک‌هایی به قطر ۱۰ میلی‌متر تبدیل شدند. قبل از قرار دادن دیسک‌ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع محتوای تقریبا CFU/mL 10^8 از هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش صورت گرفت. دیسک‌ها در شرایط کاملا استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار قرار گرفتند و در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C نگهداری شدند. اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده از قطر دیسک‌ها به عنوان شاخص فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها در نظر گرفته شد. در مواردی که هاله‌ای تشکیل نشده بود یعنی فعالیت ضدمیکروبی وجود نداشت، اختلاف مساحت برابر صفر در نظر گرفته شد. برای اطمینان از عدم آلودگی محیط‌های کشت از یک پلیت فاقد باکتری استفاده گردید. همچنین برای اطمینان از رشد یکنواخت باکتری‌ها بر سطح پلیت برای هر کدام از باکتری-های مورد آزمایش یک پلیت کشت داده شده فاقد فیلم، در نظر گرفته شد [۱۳].

1. Water Vapor Transmission Rate (WVTR)
2. Texture Analyzer
3.Tensile Strength
4. Elongation at break
5. Chroma meter
6. Agar Diffusion Method

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۲-۲-۹- تعیین فعالیت ضد اکسایشی به روش DPPH[1]

برای تعیین درصد به دام‌اندازی رادیکال ۲ و ۲- دی فنیل، ۱- پیکریل هیدرازیل از روش Shojaee-Aliabadi و همکاران (۲۰۱۳) استفاده گردید [۱]. در این روش به طور خلاصه، ۲۵ میلی‌گرم از هر نمونه فیلم در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی هم‌زده شد و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره محلول فیلم به ۳/۹ میلی‌لیتر محلول DPPH (محلول متانولی ۰/۱ میلی‌مولار) افزوده شد. بعد از این مرحله لوله‌های آزمایش به مدت ٦۰ دقیقه در اتاق تاریک نگهداری شدند. میزان جذب نمونه در مقابل متانول خالص و در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-VIS 1601, Japan) اندازه‌گیری شد. درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام‌اندازی رادیکال آزاد توسط ضد اکسایش مربوطه است. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

در این فرمول A blank جذب شاهد (که فاقد اسانس می‌باشد) و A sample جذب نمونه حاوی اسانس می‌باشد.

۲-۲-۱۰- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی تام

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی تام از معرف فولین سیوکالتو استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه فیلم بیان شد [۱٤]. به طور خلاصه ۲۵ میلی‌گرم از هر نمونه فیلم در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی هم‌زده شد و سپس محلول عصاره (۰/۱ میلی‌لیتر)، آب مقطر (۷ میلی‌لیتر) و معرف فولین سیوکالتو (۰/۵ میلی‌لیتر) مخلوط شدند و به مدت ۸ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند و بعد از این مرحله ۱/۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم (۲ درصد وزنی/حجمی) اضافه و حجم مخلوط نهایی با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. لوله‌های آزمایش در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت نگهداری شد و سپس میزان جذب در طول موج ۷٦۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-VIS 1601, Japan) خوانده شد. نتایج با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$T = (C \times V / M)$$

در این فرمول T= میزان کل ترکیبات فنلی

C= غلظت اسید گالیک به دست آمده از منحنی استاندارد (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)

V= حجم عصاره (میلی‌لیتر)

M= وزن فیلم (گرم) است.

۲-۲-۱۱- آنالیز آماری

آزمایشات در سه تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس نتایج نیز با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن[2] در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ضخامت

نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که افزودن اسانس مرزه اثر معنی‌داری بر میزان ضخامت نمونه‌های فیلم دارد (جدول ۱). با افزایش غلظت اسانس از ۰ به ۳ درصد، میزان ضخامت فیلم‌ها از ۰/۰٦۱ میلی‌متر به ۰/۰۸۹ میلی‌متر افزایش یافت که این افزایش ضخامت را می‌توان به محبوس شدن ریزقطره‌های اسانس در ماتریس پلی‌ساکارید نسبت داد که منجر به تشکیل فیلم با ساختار بیرون‌زده و ماتریس نرم می‌شود و به دنبال آن ضخامت فیلم‌ها افزایش پیدا می‌کند [۱۳ و ۱۵]. نتایج حاصل از پژوهش Shojaee-Aliabadi و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان از افزایش ضخامت فیلم‌های کاپا کاراگینان در اثر افزودن اسانس مرزه بود [۱].

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

2. Duncan

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

Table 1 Physical properties of soluble soybean polysaccharide / essential oil films.

Essential oil (%)	Thickness (mm)	Solubility (%)	WVP ($g/msPa\times10^{-10}$)	Elongation at break (%)	Tensile strength (MPa)
0	0.061 ± 0.003^{c}	74.35 ± 2.65^{a}	2.54 ± 0.08^{a}	22.71 ± 1.55^{d}	$15.41\pm1.11^{a*}$
1	0.066 ± 0.004^{c}	61.41 ± 4.03^{b}	2.13 ± 0.12^{b}	25.14 ± 2.01^{c}	14.11 ± 1.15^{a}
2	0.078 ± 0.005^{b}	53.13 ± 3.15^{c}	1.86 ± 0.13^{c}	29.82 ± 1.95^{b}	12.05 ± 0.89^{b}
3	0.089 ± 0.003^{a}	47.26 ± 2.80^{d}	1.60 ± 0.09^{d}	35.40 ± 3.10^{a}	9.43 ± 0.81^{c}

*Different superscripts within the same column indicate significant differences among formulations ($p < 0.05$)

۳-۲- حلالیت در آب

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، میزان حلالیت در آب فیلم پلی‌ساکارید سویا شاهد، برابر ۷٤/۳۵ درصد است که با افزودن ۳ درصد اسانس مرزه، میزان آن به طور معنی‌داری تا ٤۷/۲٦ درصد کاهش می‌یابد. افزودن اسانس مرزه در سطوح ۱ و ۳ درصد منجر به کاهش حلالیت در آب نمونه‌های فیلم تولید شده به ترتیب به میزان ۱۷ درصد و ۳٦ درصد شد. این پدیده ناشی از ماهیت آبگریز اسانس و برهمکنش بین ترکیبات اسانس و گروه‌های هیدروکسیل بسپار می باشد [۹]. نتایج مشابهی توسط Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) در مورد فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس دارچین مشاهده شد [۱٦]. در پژوهشی دیگر Dashipour و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر افزودن اسانس آویشن شیرازی به فیلم کربوکسی متیل سلولز عنوان کردند که حلالیت در آب با افزایش مقدار اسانس کاهش می‌یابد [۱۳].

۳-۳- نفوذپذیری به بخار آب (WVP[1])

میزان WVP فیلم‌های پلی‌ساکارید سویا حاوی غلظت‌های مختلف اسانس مرزه در جدول ۱ نشان داده شده است. WVP برای فیلم شاهد $g/m.s.Pa$ ۱۰$^{-۱۰}$ × ۲/٥٤ محاسبه شد که در فیلم حاوی ۳ درصد اسانس، ۲٦/۲۸ درصد کاهش یافته است. فیلم حاوی ۳ درصد اسانس، کمترین میزان WVP برابر با $g/m.s.Pa$ ۱۰$^{-۱۰}$ × ۱/٦۰ را نشان داد. اسانس‌ها مانند ترکیبات چربی به دلیل ماهیت آب‌گریز خود باعث بهبود خواص ممانعت‌کنندگی بسپار در برابر آب می‌شوند. فاز چربی باعث افزایش فاکتور انحناء و پیچ و خم برای انتقال آب می‌شود که متعاقب آن فاصله عبور ملکول‌های آب از طریق ماتریس فیلم افزایش می‌یابد. با افزایش میزان اسانس و همچنین کاهش اندازه قطرات اسانس، میزن فاکتور انحناء و پیچ و خم افزایش می‌یابد [۱۷]. نتایج مشابهی توسط Shen و همکاران (۲۰۱۵) در مورد فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس‌های سنبل هندی و چوب سدر مشاهده شد [۱۸]. Salarbashi و همکاران (۲۰۱۳) هم نتایج مشابهی در مورد فیلم‌های پلی‌ساکارید سویا محتوای اسانس‌های آویشن شیرازی و پونه به دست آوردند [۲].

۳-٤- خواص مکانیکی

جدول ۱، تاثیر افزودن اسانس مرزه را بر مقاومت‌کششی و درصد ازدیاد طول فیلم‌های پلی‌ساکارید سویا نشان می‌دهد. با افزودن اسانس از صفر تا ۳ درصد، میزان مقاومت‌کششی از ۱٥/٤۱ تا ۹/٤۳ مگاپاسکال کاهش یافت. نتایج این پژوهش منطبق با گزارشات Hosseini و همکاران (۲۰۱٥) بود که ثابت کردند افزودن اسانس مرزنجوش به فیلم‌های ترکیبی کیتوزان-ژلاتین میزان مقاومت‌کششی را کاهش می‌دهد [۱۹]. این امر را می‌توان به جایگزینی جزئی پیوندهای قوی پلیمر- پلیمر پلی‌ساکارید سویا با پیوندهای ضعیف پلیمر- روغن در ماتریس فیلم در حضور اسانس نسبت داد که ممکن است پیوستگی شبکه پلیمر را کاهش دهد و به دنبال آن کاهش مقاومت‌کششی فیلم‌ها صورت گیرد [۱]. در مقابل، درصد ازدیاد طول فیلم‌ها با افزایش میزان اسانس مرزه به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد و مقدار آن برای فیلم شاهد ۲۲/۷۱ محاسبه شد که برای فیلم حاوی ۳ درصد اسانس برابر ۳٥/٤۰ درصد بود. Tongnuanchan و همکاران (۲۰۱۲) هم با افزودن اسانس به فیلم‌های بر پایه ژلاتین پوست ماهی مشاهده کردند که درصد ازدیاد طول با افزایش میزان اسانس افزایش می‌یابد [۲۰]. این پدیده را می‌توان به اثر نرم کنندگی اسانس مرزه نسبت داد که باعث افزایش کشش‌پذیری فیلم‌های تولید شده می‌شود [۸].

۳-٥- رنگ‌سنجی

تاثیر افزودن اسانس مرزه بر روی پارامترهای رنگی (L^* , a^* , b^*) و شاخص شفافیت (WI) در جدول ۲ نشان داده شده است. با افزایش غلظت اسانس از ۰ به ۳ درصد، میزان L^* فیلم‌ها

1.Water Vapor Permeability

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

از ۸۹/۲۲ تا ۷۹/٦۳ کاهش پیدا کرد. نتایج پارامتر a^* نشان می-دهد که با افزودن اسانس به ماتریس فیلم، یک کاهش معنی‌دار در این پارامتر رخ می‌دهد. پارامتر b^* در اثر افزودن اسانس، افزایش پیدا کرد که این تغییرات از ۱۳/۰۸ برای فیلم شاهد تا ۲۵/۰۹ برای فیلم حاوی ۳ درصد اسانس مرزه محاسبه شد. شاخص شفافیت (WI) که درجه شفافیت فیلم را نشان می‌دهد با افزودن اسانس به طور معنی‌داری کاهش یافت. فیلم‌های حاوی اسانس ظاهری متمایل به زرد داشتند که افزایش در پارامتر b^* بیانگر این ظاهر زرد رنگ می‌باشد. این پدیده را می توان به ترکیبات فنولی موجود در اسانس نسبت داد که در طول موج‌های پایین توانایی جذب نور دارند [۱]. نتایج این تحقیق با یافته‌های Jouki و همکاران (۲۰۱٤) همخوانی داشت [۸].

Table2 Color of soluble soybean polysaccharide / essential oil films.

Essential oil concentration (%)	L*	a*	b*	WI
0	89.22±2.51[a]	-1.27±0.12[a]	13.08±0.96[c]	86.76±1.07[a]
1	83.10±1.02[b]	-2.94±0.33[b]	18.52±1.08[b]	80.52±1.31[b]
2	80.92±0.57[c]	-3.31±0.18[c]	22.10±2.03[a]	77.98±0.95[c]
3	79.63±0.64[d]	-3.85±0.11[d]	25.09±1.21[a]	75.06±0.80[d]

*Different superscripts within the same column indicate significant differences among formulations ($p < 0.05$)

۳-٦- خواص ضدمیکروبی

در جدول ۳ فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های تولید شده در برابر باکتری‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. فیلم پلی‌ساکارید سویا خالص، اثر بازدارندگی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش نشان نداد. افزودن اسانس مرزه در غلظت ۱ درصد منجر به ایجاد نواحی شفاف بازدارندگی در اطراف فیلم‌ها شد، به طوری که بیشترین تاثیر به ترتیب بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *اشریشیاکلی* بود، اما این فیلم هیچ گونه اثر بازدارندگی بر رشد باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* نداشتند.

Table 3 Antimicrobial activity of soluble soybean polysaccharide / essential oil films.

Essential oil (%)	Inhibition zone (mm^2)			
	S. aureus	*B. cereus*	*E. coli*	*S. typhimurium*
0	0.00[d*]	0.00[d]	0.00[d]	0.00[c]
1	29.13 ± 3.25[c]	22.54 ± 2.16[c]	17.72 ± 2.80[c]	0.00[c]
2	145.42 ± 13.78[b]	121.63 ± 10.34[b]	102.09 ± 8.64[b]	73.34 ± 9.82[b]
3	256.35 ± 21.05[a]	187.27 ± 13.09[a]	171.32 ± 22.45[a]	114.53 ± 15.10[a]

*Different superscripts within the same column indicate significant differences among formulations ($p < 0.05$)

با افزایش غلظت اسانس، اثر ممانعت‌کنندگی فیلم‌ها در برابر باکتری‌ها افزایش یافت. فیلم‌های حاوی ۲ و ۳ درصد اسانس مرزه در برابر تمام باکتری‌های مورد مطالعه موثر بودند و در بین باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق، *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسترین و *سالمونلا تیفی‌موریوم* مقاوم‌ترین باکتری در برابر اسانس مرزه بودند. اثر مهارکنندگی فیلم‌های تولید شده بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود. علت این پدیده تفاوت در ساختار دیواره سلولی این دو نوع باکتری می باشد.

دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از پپتیدوگلیکان و مقدار کمی پروتئین ساخته شده است اما در باکتری‌های گرم منفی دیواره سلولی با وجود ضخامت کمتر، پیچیده‌تر بوده و علاوه بر پپتیدوگلیکان حاوی پروتئین‌ها، لیپیدها و پلی‌ساکاریدهای مختلفی است. همچنین دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی با یک غشاء خارجی پوشانده شده است که مجموعه این عوامل باعث ایجاد اختلاف در مقاومت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌شود [۲۱]. نتایج مشابهی توسط سایر محققین گزارش شده است [۱ و ۹].

۳-۷- تعیین فعالیت ضد اکسایشی به روش DPPH

فعالیت ضد اکسایشی فیلم‌های تولید شده به صورت درصد به دام‌اندازی رادیکال DPPH در نمودار ۱ قابل مشاهده است. فیلم پلی‌ساکارید سویا خالص فعالیت ضد اکسایشی پایینی را از خود نشان داد که احتمالا به دلیل وجود پلی‌فنل‌های طبیعی موجود در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

آن است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH افزایش می‌یابد. Gómez-Estaca و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که میزان قدرت ضد اکسایشی فیلم‌های تولید شده متناسب با مقدار افزودنی ضد اکسایش اضافه شده است که نتایج پژوهش حاضر نیز موید آن است و فیلم حاوی ۳ درصد اسانس بیشترین فعالیت ضد اکسایشی به میزان ۷۳/۳۱ درصد را از خود نشان داد [۲۲]. نتایج مشابهی توسط Jouki و همکاران (۲۰۱٤) برای فیلم موسیلاژ دانه به حاوی اسانس پونه کوهی و Salarbashi و همکاران (۲۰۱٤) در مورد فیلم پلی‌ساکارید سویا حاوی اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزنجوش به دست آمده است [۸ و ۲]. قدرت ضد اکسایشی اسانس‌ها، معمولا به دلیل وجود ترکیبات فنولی آن‌ها می‌باشد [۸]. ترکیبات فنولی اسانس مرزه به دلیل وجود کارواکرول، گاما ترپینن و پی سیمین می‌باشد که قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشند [۱].

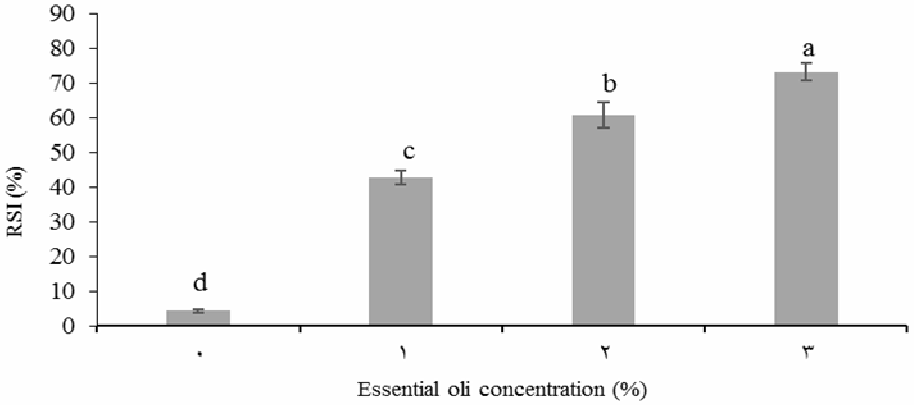

Fig. 1: DPPH radical scavenging activity of soluble soybean polysaccharide / essential oil films.

۳-۸- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی کل

میزان ترکیبات فنلی کل نمونه‌های فیلم تولید شده در نمودار ۲ گزارش شده است. میزان ترکیبات فنلی برای نمونه شاهد ۲/۲٦ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه فیلم بود. با افزایش غلظت اسانس، میزان ترکیبات فنلی کل افزایش یافت و بیشترین مقدار برای فیلم حاوی ۳ درصد اسانس مرزه به میزان ۱۷/۱۲ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه فیلم محاسبه شد. نتایج نشان داد که بین ترکیبات فنلی و قدرت ضد اکسایشی رابطه مستقیمی وجود دارد.

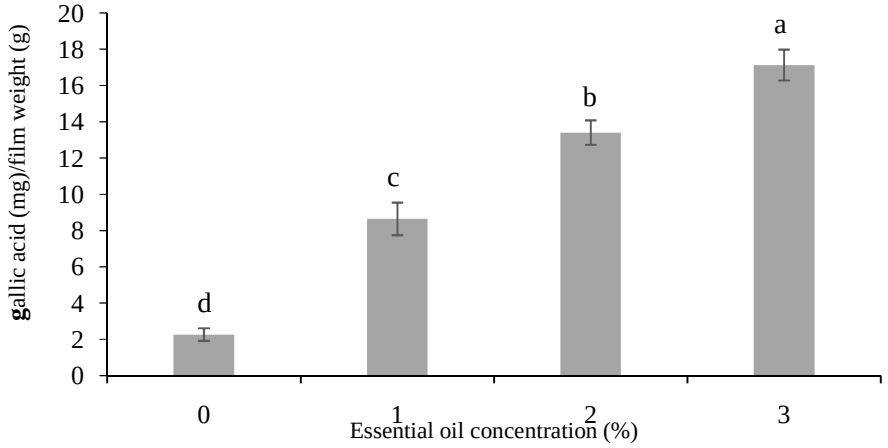

Fig. 2: Total phenolic content of soluble soybean polysaccharide / essential oil films.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۳-۹- نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس مرزه به عنوان یک ماده ضدمیکروب و ضد اکسایش طبیعی می‌تواند در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر مورد استفاده قرار بگیرد. افزودن اسانس مرزه به فیلم پلی‌ساکارید دانه سویا، استحکام‌کششی، حلالیت در آب و نفوذپذیری نسبت به بخار آب را به طور معنی‌داری کاهش داد، اما درصد ازدیاد طول و ضخامت افزایش پیدا کرد. همچنین افزودن اسانس، میزان روشنایی و شاخص شفافیت فیلم‌های حاصله را کاهش و زردی آن‌ها را افزایش داد به طوری که فیلم‌های پلی‌ساکارید سویا ظاهری متمایل به زرد پیدا کردند. اثر بازدارندگی فیلم‌ها روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* بیش از باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* بود. فیلم‌های حاوی اسانس خواص ضد اکسایشی بالایی را از خود نشان دادند و این خواص با افزودن ۳ درصد اسانس به ماتریس فیلم‌ها به طور چشمگیری بهبود پیدا کرد.

٤- منابع

[1] Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M. and Khaksar, R. 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-Carrageenan films containing *satureja hortensis* essential oil, International journal of biological macromolecules, 52:116-124.

[2] Salarbashi, D., Tajik, S., Shojaee-Aliabadi, S., Ghasemlou, M., Moayyed, H., Khaksar, R., and Noghabi, M. S. 2014. Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporated Zataria multiflora Boiss and Mentha pulegium essential oils, Food chemistry, 146: 614-622.

[3] Cha, D. S., Choi, J. H., Chinnan, M. S. and Park, H. J. 2002. Antimicrobial films based on Na-alginate and κ-carrageenan, LWT-Food Science and Technology, 35(8): 715-719.

[4] De Moura, M. R., Mattoso, L. H. and Zucolotto, V. 2012. Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging, Journal of Food Engineering, 109(3): 520-524.

[5] Marino, M., Bersani, C., and Comi, G. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae, International Journal of Food Microbiology, 67(3):187-195.

[6] Dorman, H., and Hiltunen, R. 2004. Fe (III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis L.*) extract and subfractions, Food chemistry, 88(2): 193-199.

[7] Farsam, H., Amanlou, M., Radpour, M., Salehinia, A., and Shafiee, A. 2004. Composition of the essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzistanica* Jamzad from Iran, Flavour and fragrance journal, 19(4): 308-310.

[8] Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. and Koocheki, A. 2014. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties, Food Hydrocolloids, 36: 9-19.

[9] Atef, M., Rezaei, M., and 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.

[10] Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M. and Hashemi, M. 2014. The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefiran–whey protein by nanoparticle incorporation, Carbohydrate polymers, 109: 118-125.

[11] ASTM. 1995. Standard test methods for water vapor transmission of material, E96-95, Annual book of ASTM standards designation , Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

[12] ASTM., 2002, Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, D882, Annual book of ASTM standards designation, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

[13] Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K. and Khaksar, R. 2015. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil, International Journal of Biological Macromolecules, 72: 606-613.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[14] Siripatrawan, U., and 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.

[15] Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T. and Agustini, T. W. 2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils, Food Hydrocolloids, 28(1): 189-199.

[16] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and 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, Food Chemistry, 122(1): 161-166.

[17] Peng, Y. and Li, Y. 2014. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films, Food Hydrocolloids, 36: 287-293.

[18] Shen, Z. and Kamdem, D. P. 2015. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils, International Journal of Biological Macromolecules, 74: 289-296.

[19] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M. and Farahmandghavi, F. 2015. Bio-based composite edible films containing Origanumvulgare L. essential oil, Industrial Crops and Products, 67: 403-413.

[20] Tongnuanchan, P., Benjakul, S., and Prodpran, T. 2012. Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils, Food Chemistry, 134(3): 1571-1579.

[21] Hosseini, M. H., Razavi, S. H., and Mousavi, M. A. 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils, Journal of Food Processing and Preservation, 33(6): 727-743.

[22] Gómez-Estaca, J., Bravo, L., Gómez-Guillén, M. C., Alemán, A., and Montero, P. 2009. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts, Food Chemistry, 112(1): 18-25.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

Characterization of physical, antioxidant and antimicrobial properties of biodegradable soluble soybean polysaccharide films containing *Satureja hortensis* essential oil

Barzegar, H. [1*], Alizadeh, V. [2]

1. Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan.
2. MSc. Student, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources Universityof Khuzestan.

(Received: 2016/01/30 Accepted: 2016/06/19)

In this study, biodegradable soluble soybean polysaccharide based films containing *Satureja hortensis* essential oil at concentrations of 0%, 1%, 2% and 3% (v/v) were developed to examine their physical, mechanical, total phenol, antioxidant and antimicrobial properties. At the level of 3% of essential oil, soluble soybean polysaccharide films showed the lowest water solubility (47.26%), tensile strength values (9.43 MPa) and water vapor permeability (1.60 g/m.s.Pa × 10^{-10}) and the highest values for thickness (0.089 mm) and strain-to-break (35.40%). Antioxidant and antibacterial characteristics significantly increased by the inclusion of essential oil. Our observation showed that essential oil containing films at a level of 3% had the highest antioxidant activity (73.31%). The films exhibited highest inhibition against gram positive bacteria than gram negative bacteria. The results of the present work showed that *Satureja hortensis* essential oil as a natural antibacterial and antioxidant agent has the great potential to make biodegradable films.

Keywords: Soluble soybean polysaccharide, *Satureja hortensis* essential oil, Antimicrobial activity, Antioxidant activity.

* Corresponding author E-Mail Address: barzegarha@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]