بررسی اثرات ضد قارچی پوشش های خوراکی بر پایهٔ کربوکسی متیل سلولز حاوی سوربات پتاسیم بر گونه های تولید کننده آفلاتوکسین آسپرژیلوس در پسته

بابک قنبرزاده[۱*]، سارا سینجلی[۲]، شیوا قیاسی فر[۳]

۱-دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۲- دانش آموخته مقطع کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۳- مربی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۲٤ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۲۱)

چکیده

در این مطالعه، اثرات ضد میکروبی فیلم های خوراکی بر پایه کربوکسی متیل سلولز(CMC) حاوی٤-۱٪ سوربات پتاسیم بر *آسپرژیلوس فلاووس (PTCC 5004)*، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس(PTCC 5286)* و*آسپرژیلوس پارازیتیکوس (PTCC 5018)*، با استفاده از آزمون انتشار آگار مورد مطالعه قرار گرفت. فیلم های حاوی ۱ و ۲٪ سوربات، منطقه بازداری اشکاری را علیه دو کپک اول در محیط کشت پوتیتو آگار نشان دادند ولی در این سطح از سوربات، برای *آسپرژیلوس پارازیتیکوس(PTCC 5018)*، منطقه بازداری مشاهده نشد. برای تمامی کپک ها، حداکثر بازداری در فیلم های حاوی غلظت های ۳و ٤٪ سوربات مشاهده شد. سپس، پسته های تازهٔ خریداری شده از بازار محلی، با محلول CMC حاوی غلظت های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵و ۱ ٪ سوربات پتاسیم پوشش داده شدند. شمارش کپک ها نشان داد که در نمونه شاهد (پوشش داده نشده) شمارش کپک ها $۲/۰۲\times ۱۰^{۶}$ در گرم نمونه بودند در حالیکه در نمونه‌های پوشش داده شده، رشدی از کپک مشاهده نشد.

کلید واژه‌گان: پوشش ضد میکروبی، فیلم خوراکی، سوربات پتاسیم، کربوکسی متیل سلولز.

۱- مقدمه

درسال‌های اخیر، تمایل به استفاده از مواد غذایی تازه که متحمل کمترین فرایند شده باشند، افزایش چشمگیری در جهان یافته است و از طرفی بسیاری از روش‌های رایج فرایند و نگهداری مواد غذایی، قابل استفاده برای مواد غذایی تازه (مانند گوشت یا میوه‌های تازه) نیستند و یا اثرات نامطلوبی برکیفیت محصول نهایی دارند [۱]. بسته بندی های فعال (از جمله فیلمها و پوشش های خوراکی فعال) روش نوینی برای نگهداری این نوع مواد غذایی می‌باشند و در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای برای تولید و اقتصادی کردن آنها انجام گشته است [۱و۲]. بسته بندی های فعال، علاوه برداشتن ویژگی های بازدارندگی اصلی بسته بندی های معمول (مانند خواص بازدارندگی در برابر گازها، بخار آب و تنش های مکانیکی) حاوی مواد مختلف مانند مواد ضد میکروبی، آنتی اکسیدانها، مواد گیرنده اکسیژن و غیره هستند که موجب افزایش ایمنی، ماندگاری، ویژگی های حسی و کیفیت نهایی مواد غذایی می گردند [۳]. یکی از مهمترین انواع بسته بندی های فعال، بسته بندی های ضد میکروبی می باشند. آلودگی‌های میکروبی مواد غذایی، موجب کاهش ماندگاری

* مسئول مکاتبات: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

آنها گردیده و همچنین برخی ازآنها بیماریزا هستند و موجب ایجاد مسمومیت‌های غذایی و گاهی بیماریهای مرگبار می‌شوند. روش‌های غوطه وری و اسپری کردن مادهٔ ضد میکروبی بر روی مادهٔ غذایی نسبت به بسته بندی‌های ضد میکروبی، دارای معایب زیر هستند [۱و۲]:

*نفوذ سریع مادهٔ ضد میکروبی به درون مادهٔ غذایی و در نتیجه کاهش ویژگی ضد میکروبی در سطح

*خنثی شدن مادهٔ ضد میکروبی در سطح توسط مواد فعال (مانند اسیدهای چرب و امولسیفایرها)

در بسته بندی‌های ضد میکروبی، انتشار مواد ضد میکروبی از شبکه بسپارِ بسته بندی به سطح ماده غذایی، به صورت آهسته و در زمان طولانی انجام می‌شود و در نتیجه به مدت بیشتری، غلظت بالایی از مادهٔ ضد میکروبی در سطح فرآورده وجود خواهد داشت [۲و۳].

فیلم ها و پوشش های خوراکی از پلی ساکاریدها، پروتئین ها، چربی ها و یا مخلوطی از آنها تولید می شوند. در اکثر موارد آنها برای جایگزینی کامل بسته بندی های سنتی بکار نمی روند بلکه برای کمک به افزایش ماندگاری مواد غذایی بهمراه بسپار پلیمر سنتزی مورد استفاده قرار می گیرند. آنها می توانند مهاجرت رطوبت، گازها، لیپیدها و رشد میکروبها را کنترل کنند و همچنین حامل مواد افزودنی مانند مواد ضد میکروبی، آنتی اکسیدان ها، مواد گیرنده اکسیژن و حتی مواد مغذی و طعمی باشند [٤]. افزودن مواد ضد میکروبی به محلول، توانایی فیلم و پوشش نهایی را در کنترل میکروبها را به شدت افزایش می دهد[۱و۳].

یکی از مشتقات مهم سلولز، کربوکسی متیل سلولز[1] (CMC) است که از طریق واکنش سلولز با هیدروکسید سدیم و اسید کلرواستیک تولید می شود. سلولز به علت ساختار شیمیایی خاص خود، بسیار کریستالی و نامحلول است اما کربوکسی متیل سلولز محلول در آب بوده و به تنهایی فیلم های انعطاف پذیر و مستحکمی را تشکیل می دهد [۵و٦]. همچنین کربوکسی متیل سلولز یکی از ارزان ترین بسپارهای زیستی (بیوپلیمر) است که بصورت صنعتی تولید می شود [٦].

سوربات پتاسیم یک نگهدارنده ضد میکروبی است که بصورت گسترده در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می گیرد و از طرف FDA[2] به عنوان یک ماده GRAS[3] شناخته شده است. این ماده اکثراً در غلظت های ۰/۰۵ تا ۰/۳ درصد وزنی در فرآورده های غذایی متنوعی مانند فرآورده های لبنی، گوشتی و ماهی، نانوایی و ترشیها به عنوان یک ماده ضد مخمر، کپک و باکتری بکار می رود. آن اگرچه در pH های پایین موثرتر است ولی تا pH ٦/٥ فعالیت ضد میکروبی دارد[۷-۱۰].

آفلاتوکسین‌ها گروهی از متابولیت‌های ثانویهٔ سرطان زا و سمی تولید شده توسط کپک ها از جمله گونه‌هایی از آسپرژیلوس‌ها مانند *آسپرژیلوس فلاووس*[4]، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*[5]، *آسپرژیلوس نومیوس*[6] و *آسپرژیلوس سودوتاماری*[7]، می‌باشند [۱۱]. کپک آسپرژیلوس در شرایط مساعد(مانند رطوبت بالا) به فرآورده‌های آجیلی مختلف مانند مغز پسته و بادام زمینی، حمله می‌کند و با فاسد کردن آن منجر به تولید سم آفلاتوکسین می‌شود که این سم می‌تواند در بافت‌های کبدی تجمع کرده و باعث سرطان کبد شود [۱۱-۱۲].

پسته مهمترین محصول کشاورزی صادراتی و سومین کالای غیر نفتی صادراتی در ایران است. میزان صادرات پسته از ایران، سالانه در حدود ۱۲۰ هزار تن است که بر اساس آمار موجود، در حدود ۲۰ درصد از آن، صادرات پسته به کشورهای اروپایی است که قوانین و مقررات سختگیرانه ای را در مورد سم آفلاتوکسین در پسته اعمال می‌کنند [۱۱]. درحال حاضر، مهمترین مشکل برای صادرات پسته، وجود آفلاتوکسین در مقادیر نسبتاً بالا در پسته ایرانی می‌باشد که در سال‌های اخیر، این مسئله بسیار مورد توجه قرار گرفته است. اگرچه تلاش های بسیاری برای کاهش آفلاتوکسین در پسته به عمل آمده است، اما میزان آلودگی پسته ایران به این سم، همچنان بالاست. مطابق قوانین ایالات متحده آمریکا، حداکثر میزان آفلاتوکسین درپسته، حدود ۲۰ نانوگرم به ازای هرگرم پسته بوده و این مقدار مطابق قوانین کشورهای اروپایی حدود ٤ نانوگرم به ازای هر گرم می باشد و این در حالی است که متوسط آلودگی پستهٔ ایران به آفلاتوکسین به حدود ١٦ نانو گرم به ازای هر گرم پسته می رسد [۱۱]. در چنین شرایطی، برگشت محصول پسته به علت عدم انطباق با استانداردهای مصرف کنندگان اروپایی، زیان‌های غیر مستقیم اقتصادی زیادی

1. Carboxymethyl cellulose
2 . Food and drug administration (FDA)

3 . Generally Recognized as Safe
4. Aspergillus flavus
5. Aspergillus parasiticus
6. Aspergillus nomius
7. Aspergilus pseudotamari

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

دارد که می‌توان به از دست دادن بازارهای نهایی اشاره کرد که پیامدهای اجتماعی و فرهنگی منفی ناشی از آن، گریبانگیر تولید کنندگان و صادر کنندگان پستهٔ کشور خواهد شد.

در این مطالعه، کربوکسی متیل سلولز به عنوان زیست بسپار تشکیل دهندهٔ فیلم و پوشش و سوربات پتاسیم به عنوان یک نگهدارندهٔ متداول، مورد استفاده قرار گرفت و انتشار آن از فیلم و اثرات ضد میکروبی آن بر سه گونهٔ کپک آسپرژیلوس با استفاده از روش انتشار در محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار و اندازه گیری قطر منطقهٔ بازداری، مورد بررسی قرار گرفت. نهایتاً، پسته های تازه با محلولهای فیلم ساز پوشش داده شدند و اثر ضد میکروبی این پوشش ها بر روی شمارش کلی کپک و مخمر بررسی شدند.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

کربوکسی متیل سلولز با وزن مولکولی متوسط ٤١٠٠٠ از شرکت کارگام پارسیان ، سوربات پتاسیم با درجهٔ غذایی ۹۰٪ (مرک)، گلیسرول ۸۰٪ (مرک) به عنوان پلاستی سایزر، برای تولید محلول فیلم ضد میکروبی تهیه شدند.

پستهٔ تازه از بازار محلی تبریز خریداری شد و تا هنگام استفاده در بسته بندی های پلی اتیلنی درب بندی شده در دمای٤ċ نگهداری شدند.

۲-۲- تهیه سوسپانسیون استاندارد شده از اسپور کپکها

کپک های مورد استفاده در آزمون یعنی *آسپرژیلوس فلاووس (PTCC 5004)*، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس (PTCC 5286)* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس (PTCC 5018)* به صورت کشت خالص لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون گونه های میکروبی ایران(PTCC) وابسته به سازمان پژوهشهای علمی صنعتی ایران خریداری گردید.

برای فعال سازی کشت لیوفیلیزه، آمپول حاوی قارچ در شرایط استریل شکسته و در پلیت حاوی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار[1](PDA) کشت داده شد. پس از رشد کامل کپک و ظاهر شدن کلونیها، به صورت نقطه ای در لوله حاوی پوتیتو دکستروز آگار که به صورت شیب دار (اسلنت)[2] ریخته شده بود، کشت داده شدند. لوله ها به مدت۷ روز در دمای۲۵ درجهٔ سانتی گراد نگهداری شدند تا کپک ها رشد کرده و تولید اسپور نمایند.

جهت استخراج اسپور های قارچی، در هر لولهٔ کشت تعدادی گوی شیشه ای استریل همراه با حدود ۱۰ میلی لیتر محلول استریل توئین۸۰ (۰/۱ درصد) ریخته و پس از بستن درب لوله ها، چند دقیقه به هم زده شدند تا اسپورها در اثر برخورد با گوی ها از سطح کلونی کنده شده و وارد محلول شوند. سپس محلول حاصل توسط کاغذ صافی شماره ۱ در شرایط استریل صاف گردید تا قطعات میسلیوم کپک و ذرات کنده شده از محیط کشت جدا شوند و محلول حاوی اسپورهای قارچ در زیر صافی جمع آوری شد. محلول حاوی اسپور توسط محلول توئین۸۰ (۰/۱ درصد) رقیق گردید تا سوسپانسیونی با غلظت 10^4 اسپور در میلی لیتر بدست آید. از این سوسپانسیون در مراحل بعدی کاراستفاده گردید [۱۱].

۲-۳- تهیه فیلم ضد میکروبی

ابتدا محلول ۱٪ کربوکسی متیل سلولز(CMC) تهیه شد و بعد از افزودن سوربات پتاسیم در غلظت های ۱-٤ درصد و گلیسرول در غلظت ٤۰٪ وزنی- وزنی (۰/٤ گرم گلیسرول به ازاء گرم CMC)، محلول‌های فوق به مدت۳۰ دقیقه در دمای۸۰-۹۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شدند تا محلول-های کاملاً شفافی به دست آیند. سپس محلول‌ها در پلیت های شیشه ای ریخته شده و در آون ۳۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند و نهایتاً بعد از خشک شدن، فیلم‌ها از سطح پلیت به آرامی جدا گردیدند[3] و در یک فویل آلومینیومی تا زمان استفاده نگهداری شدند. ضخامت فیلمها توسط میکرومتر(ALTON) اندازه گیری شد و در جدول۱ ارائه شده است.

1. Potato Dextrose Agar

2. Slant
3. Peeling

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

جدول۱ ضخامت فیلم‌های تولید شده

فیلم	ضخامت ($\times 10^{-5}$ m)
کنترل (۱٪ CMC + ۰/٤ گلیسرول (W/W)	۲/۲
کنترل + ۱٪ سوربات پتاسیم	۵
کنترل + ۲٪ سوربات پتاسیم	۷/۲
کنترل + ۳٪ سوربات پتاسیم	۸/۱
کنترل + ٤٪ سوربات پتاسیم	۱۰

۲-٤- اندازه گیری اثرات ضد میکروبی فیلم های کربوکسی متیل سلولز

آزمون منطقهٔ بازداری بر روی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار جامد، برای تعیین اثرات ضد میکروبی فیلم های ضد میکروبی تهیه شده در مقابل کپک های آسپرژیلوس فلاووس (PTCC 5004)، آسپرژیلوس پارازیتیکوس (PTCC 5018 و PTCC 5286) مورد استفاده قرار گرفت. ۰/۱میلی لیتر سوسپانسیون اسپور هر یک از کپک ها (با شمارش اسپوری 10^4 اسپور در میلی لیتر)، بصورت سطحی در محیط کشت PDA بصورت جداگانه کشت داده شدند. فیلم‌های دیسکی شکل با قطر۱ سانتی متر در مرکز پلیت قرار گرفتند. پلیت ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. قطر مناطق بازداری با استفاده از کولیس اندازه گیری شدند.

۲-۵- پوشش دهی پسته ها و آزمون های شمارش کپک و مخمر

برای تعیین اثرات ضد قارچی پوشش ها بر شمارش کلی کپک ومخمر در پسته طی نگهداری، نمونه های پسته در سه گروه زیر تهیه شدند:

* پسته های پوشش داده شده با محلول CMC حاوی سوربات؛
* پسته های پوشش داده شده با محلولCMC بدون سوربات؛
* پسته های پوشش داده نشده.

پسته های گروه اول در محلول فیلم ساز ضد میکروبی با غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد سوربات، به مدت ۲ دقیقه غوطه ور شدند. نمونه‌های شاهد بدون پوشش و پوشش داده شده بدون سوربات هم آماده شدند. نمونه های پوشش داده شده، قبل از آزمون میکروبی، به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی گراد خشک شدند. آزمون شمارش کپک و مخمر مطابق با استانداردهای ملی شماره۱۰۸۹۹ [۱۳]، ۲۱۸ [١٤] و ۸۹۲۳ [۱۵] انجام شد.

۲-٦- آنالیزهای آماری

آزمون آماری بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی برای ٤ تیمار (فیلمها با ٤سطح مختلف سوربات پتاسیم) و در ۳ تکرار برای هر تیمارانجام گرفت. آنالیز واریانس و مقایسهٔ میانگین داده‌ها (آزمون دانکن) توسط نرم افزار SPSS نسخهٔ ۱۱/۵ انجام شد.

۲- نتایج و بحث

۲-۱- تعیین اثر فیلم های ضد میکروبی بر کپک آسپرژیلوس

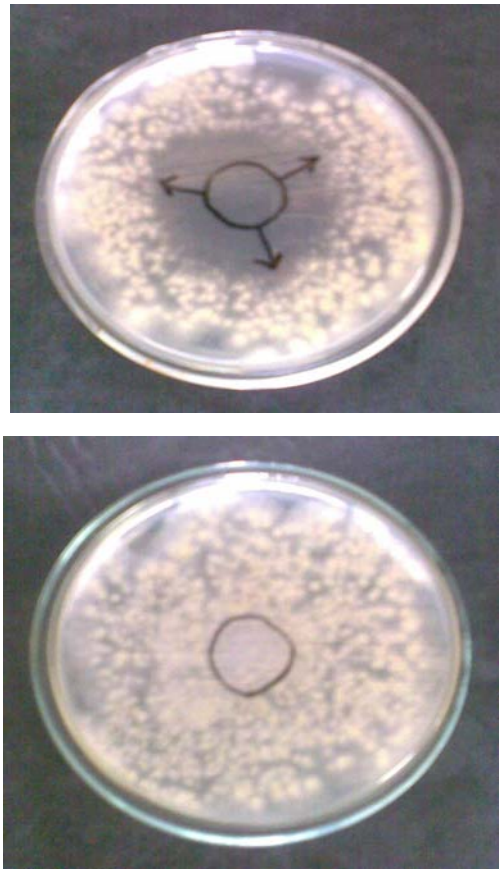
میزان فعالیت بازدارندگی فیلم ها بر اساس اندازه گیری قطر منطقهٔ شفاف ایجاد شده در اطراف فیلم دیسکی شکل، اندازه گیری شد (جدول۲). اگر منطقهٔ شفافی اطراف فیلم تشکیل نشود، این به معنای عدم تشکیل منطقهٔ بازداری است و مقدار آن در اندازه گیری صفر محسوب می شود. لازم به ذکر است که زمانیکه رطوبت آگار مورد استفاده بیشتر از فیلم باشد، فیلم متورم میشود و قطر دیسک فیلم از مقدار اولیه (که در این مطالعه ۱ سانتی متر بود) به علت جذب آب آزاد محیط، ۳-۲ سانتی متر افزایش می‌یابد. در این آزمون، فیلم شاهد (بدون سوربات) هیچ منطقهٔ بازداری را نشان نداد در حالیکه فیلم‌های ضد میکروبی دارای منطقهٔ بازداری مشخصی بودند (شکل ۱). حداقل مقدار سوربات [1] که منطقهٔ بازداری ۱/۰۷ و ۱/۱۱ میلی متر را به ترتیب برای آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس (۵۰۰٤)، نشان داد، ۱٪ بود در حالیکه این مقدار و حتی ۲٪ سوربات برای آسپرژیلوس پارازیتیکوس (۵۰۱۸) هیچ منطقهٔ بازداری ایجاد نکردند. حداکثر منطقهٔ بازداری ایجاد شده در مقادیر ۳ و ٤ درصد سوربات برای هر سه کپک بود.

1. Minimal inhibitory concentration

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

با افزایش غلظت سوربات، منطقهٔ بازداری به طور آشکاری افزایش یافت. در هر سه کپک، با افزایش غلظت سوربات پتاسیم از ۲٪ به ۳٪ اختلاف معنی داری در اندازهٔ قطر منطقهٔ بازداری ایجاد شد ($P < ۰/۰۵$) و برای سطوح ۱ و ۲ درصد سوربات پتاسیم، قطر منطقهٔ بازداری ایجاد شده در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. عدم تشکیل منطقهٔ بازداری در غلظت های ۱ و ۲ درصد سوربات برای آسپرژیلوس پارازیتیکوس (۵۰۱۸)، احتمالاً مقاومت بیشتر این کپک به مقادیر پایین سوربات را نشان می دهد و در واقع حداقل غلظت بازداری برای این کپک در غلظت ۳٪ سوربات به دست آمد در حالیکه این فاکتور برای آسپرژیلوس پارازیتیکوس (۵۲۸٦) و آسپرژیلوس فلاووس (۵۰۰٤)، ۱٪ سوربات و یا حتی کمتر بود. لیمجارون [۱۳] گزارش کرد که حداقل غلظت سوربات پتاسیم برای جلوگیری از رشد لیستریا مونو سایتوژنز ۲٪ بود که منطقه بازداری به قطر ۱۸/۳۳ میلی متر ایجاد می کرد و افزایش غلظت سوربات پتاسیم منجر به افزایش منطقهٔ بازداری برای هر ٤ گونهٔ لیستریا مونوسایتوژنز نگردید.

علاوه بر ایجاد منطقهٔ بازداری، حضور فیلم های ضد میکروبی در محیط کشت هر سه کپک، تولید رنگدانه و اسپورزایی را به تعویق انداخت. در پلیت‌های حاوی فیلم شاهد، بعد از ٤٨ ساعت گرم خانه گذاری، اسپورزایی که همراه با تولید رنگ سبز بود، آغاز می‌شد در حالیکه برای پلیت‌های حاوی فیلم ضد میکروبی، تولید رنگدانه ۲-۳ روز به تعویق افتاد و کلنی-های کپک ها به رنگ سفید- زرد بودند. علاوه بر اندازه‌گیری قطر منطقهٔ بازداری، رشد یا عدم رشد کپک در منطقهٔ تماس[1] نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. منطقهٔ تماس جهت ارزیابی بازداری از رشد در زیر قطعات فیلم که در تماس مستقیم با ریز سازواره (میکروارگانیسم) هدف قرار گرفته است، تعیین می‌شود [۱٤و۱۵]. در این مطالعه هیچ کدام از کپک‌ها در زیر دیسک فیلم‌های ضد میکروبی رشد نکردند. اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی با استفاده از منطقهٔ بازداری شفاف اطراف فیلم، به سرعت انتشار مادهٔ ضد میکروبی از فیلم، اندازه و شکل فیلم بستگی دارد [۱۵].



شکل ۱تشکیل منطقهٔ بازداری توسط فیلم حاوی ٤٪ سوربات پتاسیم (الف) و عدم تشکیل آن توسط فیلم شاهد(ب) در پلیت حاوی آسپرژیلوس فلاووس

جدول ۲ فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های کربوکسی متیل سلولز حاوی سوربات پتاسیم بر روی ۳ گونهٔ کپک آسپرژیلوس*

میکروارگانیسم هدف	درصد سوربات (w/v)	منطقهٔ بازداری (mm)
	۱	^{a}۱/۰۷
آسپرژیلوس پارازیتیکوس ۵۲۸٦ PTCC	۲	^{a}۲/۱٦
	۳	^{b}٦/۱۱
	٤	^{b}٦/۳۱
آسپرژیلوس پارازیتیکوس ۵۰۱۸ PTCC	۱	^{a}۰
	۲	^{a}۰
	۳	^{b}٦/٦٦
	٤	^{b}٦/۹۲
آسپرژیلوس فلاووس ۵۰۰٤ PTCC	۱	^{a}۱/۱۱
	۲	^{a}۱/۹۵
	۳	^{b}۵/٦۵
	٤	^{b}٦/۹٤

*حروف غیر مشابه نشان دهندهٔ وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می باشد.

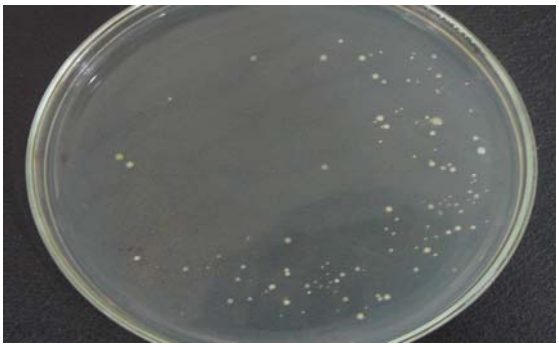
1. Contact area

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

۳-۱- تعیین اثر پوشش دهی پسته ها بر شمارش کپک ومخمر

با تأیید کارایی خواص ضد میکروبی فیلم‌های CMC ضد میکروبی تهیه شده بر گونه‌های مختلف آسپرژیلوس، آزمون‌های میکروبی جهت تعیین اثر پوشش ضد قارچی بر شمارش کپک و مخمر در نمونه‌های پستهٔ تازه (با پوسته طبیعی)، انجام شدند. در پستهٔ خام بدون پوشش، بعد از کشت در محیط کشت و بعد از ٤٨ ساعت گرم خانه گذاری در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی گراد، رشد کپک و مخمر به مقدار چشمگیری مشاهده شد. در این نمونه ها، تعداد کپک شمارش شده در رقت ۰/۰۰۱، $۲/۰۲\times۱۰^{٦}$ در هر گرم پسته بود، درحالیکه در پسته‌های پوشش داده شده با محلول فیلم ضد میکروبی، هیچ رشدی از کپک در ۳ غلظت سوربات پتاسیم (۱، ۰/۵ و ۰/۲۵ درصد) مشاهده نشد (شکل ۲). مشاهدات عینی نیز نشان دادند که، پسته های بدون پوشش بعد از ٤٨ ساعت نگهداری در پلیت دربسته، شروع به کپک زدن کردند در حالیکه در پسته-های پوشش داده شده، ۱۰ روز بعد از گرم خانه گذاری، آثار رشد کپک مشاهده شدند. برای ارزیابی اثر پوشش دهی پسته با پوشش CMC بدون سوربات پتاسیم، پسته‌ها با محلول فیلم فوق نیز پوشش داده شدند و مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفتند. کشت‌ها بعد از ٤٨ ساعت گرم خانه گذاری در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی گراد، فقط رشد مخمر را به تعداد ۸۰۰ کلنی در هر گرم نمونه نشان دادند درحالیکه رشد کپک مشاهده نشد (شکل ۳). این مسئله را می توان به کاهش تبادل گازهای تنفسی توسط پوشش‌ها نسبت داد و از آنجایی که کپک‌ها کاملاً هوازی بوده و به کاهش گازهای تنفسی نسبت به مخمرها حساس تر هستند، لذا خود این پوشش‌ها هم به تنهایی قابلیت بهبود خواص میکروبی پسته را دارا هستند ولی برای بازداری از رشد کپک‌ها در طولانی مدت و همچنین عدم فعالیت باکتری‌ها و مخمرها بر روی پوشش، افزودن مواد ضد میکروبی ضروری به نظر می‌رسد. همچنین در پوشش دهی مواد غذایی با فیلم‌های ضد میکروبی، انتشار ماده ضدمیکروبی به ضخامت پوشش نیز بستگی دارد، به طوری که درخمیرهای ماکارونی پوشش داده شده با فیلم حاوی ۳-٦٪ اسید سوربیک با ضخامت ۷۰ میکرومتر، به طور معناداری رشد مزوفیل‌های هوازی، گونه‌های استافیلوکوکوس، قارچ و مخمرها در مقایسه با فیلم کنترل، کاهش یافت در حالیکه فیلم‌های با ضخامت ۲۵ میکرومتر حاوی ٦٪ اسید سوربیک، تنها باعث کاهش تعداد سایکروتروف‌ها در مقایسه با فیلم کنترل شد [۸].

شکل۲ رشد کپک در پستهٔ بدون پوشش در کنار پستهٔ پوشش دار شده با محلول فیلم حاوی ۰/۵ درصد سوربات پتاسیم



شکل ۳ رشد مخمر در پستهٔ پوشش داده شده با فیلم بدون سوربات و عدم رشد کپک

٤- نتیجه گیری

از کربوکسی متیل سلولز (CMC) به عنوان یک بیوپلیمر کربوهیدراتی ارزان قیمت و پرکاربرد و از سوربات پتاسیم به عنوان یک نگهدارندهٔ ضد میکروبی متداول در مواد غذایی، در تولید فیلم ها و پوشش های خوراکی ضدقارچی استفاده گردید. فیلم های حاصل، مناطق بازداری آشکاری را بر روی محیط کشتPDA (به عنوان مدلی از ماده غذایی نیمه جامد) بر علیه سه نژاد از آسپرژیلوس های تولید کننده آفلا توکسین نشان دادند. همچنین پوشش دهی پسته‌های تازه با محلولهای CMC ضد قارچی، موجب کاهش چشمگیر و معنی دار در رشد کپک و مخمر در مقایسه با نمونه شاهدگردید و حتی پسته های پوشش داده شده با محلول CMC بدون سوربات هم در مقایسه با نمونهٔ شاهد کاهش مشخصی را در تعداد کپک نشان دادند. با توجه به این نتایج، به نظر می رسد که پوشش

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

دهی پسته های تازه بـا پوشـش هـای ضـد میکروبـی بـر پایـه CMC و حاوی غلظت های موثر سوربات پتاسیم، مـی توانـد روشی مـوثر و اقتـصادی در کـاهش رشـد کپکهـا و در نتیجـه کاهش آفلاتوکسین در پسته تازه باشد. با توجه به اینکه بخـش عمده آفلاتوکـسین طـی مرحلـه زمـانی برداشـت و انتقـال بـه کارخانه های فرآوری و خشک کردن پـسته تولیـد مـی شـود، تولید کنندگان پسته می توانند با تهیه محلولهای پوشش دهنـده بر پایه CMC و سـوربات پتاسـیم (کـه هـردو مـوادی ارزان قیمت و ایمن محسوب می شوند) و غوطه ور کردن و پوشـش دهی پسته ها در بشکه های حاوی ایـن محلـول، در طـی ایـن دوره زمانی، تولید آفلاتوکسین در پسته ها را کاهش دهند.

٤- منابع

[1] Appendini, P. and Hotchkiss, J. H. Review of antimicrobial food packaging. Innovation in Food Science and Emerging Technology, 2002, 3: 113-126.

[2] Quintavalla, S., and Vicini, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Science, 2002, 62: 373-380.

[3]Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., de Kruijf, N., and Debevere, J. Developments in the active packaging of foods. Trends in Food Science & Technology, 1999, 10: 77-86.

[4]Dong, S. C. and Manjeets, C. Biopolymer-based antimicrobial packaging (review). Food Science and Nutrition, 2004, 44: 223-237.

[5] Debeaufort, F., and Voilley, A. Methylcellulose-based edible films and coatings: 2. mechanical and thermal properties as a function of plasticizer content. Journal of Agricaltural and Food Chemistry, 1997, 45: 85-689.

[6]Pena, D. C. R., Torres, J. A. Sorbic acid and potassium sorbate permeability of an edible methylcellulose-palmitic acid films: water activity and pH effects. Journal of Food Science, 1991, 56: 497–499.

[7]Flores, S., Haedo, A. S., and Campos, C. Antimicrobial performance of potassium sorbate supported in tapioca starch edible films. European Food Research Technology, 2007, 225: 375-384.

[8]Silveira,M., F. A., Soares, N. F. F., Geraldine, R. M., Andrade, N. J., Botrel, D. A., and Gonçalves, M. P. J. Active film incorporated with sorbic acid on pastry dough conservation. Food Control, 2007, 18: 1063-1067.

[9]Fama, L., Rojas, A. M., Goyanesa, S., Gerschensonb,L. Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. LWT, 2005, 38: 631–639.

[10]Flores,S., Haedo, A. S., Campos, C. and Gerschenson, L. Antimicrobial performance of potassium sorbate supported in tapioca starch edible films. Eur. Food Res. Technol. 2007, 22: 375–384.

[11]Cheragh Ali, A. M., Yazdanpanah, H., and Doraki, N. "Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts". Food and Chemical Toxicology, 2007, 45: 812-816.

[12] Lopez-Malo, A., Alzamora, S. M. and Palou, E. Aspergillus flavus growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. International Journal of Food Microbiology, 2005, 99: 119- 128.

[13]Limjaroen, P. Development of an antimicrobial film for food packaging. PhD thesis, Michigan State University, School of Packaging, 2005.

[14]Pranoto, Y., Rakshit, S. K. and Salokhe, V. M. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT, 2005, 38: 859-865.

[15]Pranoto, Y., Salokhe, V. M. and Rakshit, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. Food Research International, 2005, 38: 267–272

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

Antifungal properties of CMC-based films containing potassium sorbate on selected Aspergillus strains in pistachio

Ghanbarzadeh, B.[1*], Saianjali, S.[2], Ghiyasifar, SH.[3]

1- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
2- MSc. Graduate, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz
3-Instructor, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz
(Received:88/5/24 Accepted:88/10/21)

In this study, antimicrobial effects of the carboxymethyl celloluse (CMC) based-edible films containing 1-4% potassium sorbate (as a antimicrobial agent), were tested against *Aspergillus flavus (PTCC 5004)*, *Aspergillus parasiticus (PTCC 5286)* and *Aspergillus parasiticus (PTCC 5018)* by using agar diffusion assay. The films containing 1 and 2 % potassium sorbate showed the inhibitory zone against first and second molds however, they were not effective against *Aspergillus parasiticus (PTCC 5018)* at these levels of antimicrobial compound. Maximum inhibition zone was observed in 3 and 4% potassium sorbate for all molds.
Fresh pistachios were purchased from local market and immersed in aqueous filmogenic solutions of CMC with different concentrations of sorbate (0.25, 0.5 and 1%). In uncoated pistachios, molds counting, showed 2.02×10^{6} $CFUg^{-1}$ while in the coated samples there was no growth of any molds.

Keywords: Carboxy methyl cellulose, Edible film, Antimicrobial coating, potassium sorbate.

*Corresponding Author E-mail address: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]