بررسی تاثیر نانو ذرات اکسیدروی و بتاگلوکان بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیلم زیست تخریب پذیر ژلاتین در طی نگهداری فیله مرغ

شهین شرافت خواه آذری^۱، آیناز علیزاده^{۲*}، لیلا روفه گری نژاد^۲، نارملا آصفی^۲، حامد همیشه کار^۳

۱- دانش آموخته دکتری تخصصی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۳- استاد فارماسیوتیکس مرکز تحقیقات علوم کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی، تبریز، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۸

کلمات کلیدی:

فیلم نانویوکامپوزیت،

ژلاتین،

نانواکسید روی،

بتاگلوکان،

فیله مرغ.

DOI: 10.52547/fsct.18.05.15

* مسئول مکاتبات:

ainaz_alizadeh@hotmail.com

با توجه به آثار نامطلوب بسته‌بندی‌های بر پایه پلیمرهای نفتی، امروزه مواد بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر (بیوپلیمرها) بیشتر مورد توجه مطالعات و صنایع مرتبط قرار گرفته است. البته در مقایسه با بسته‌بندی‌های رایج، این نوع از بسته‌بندی‌های جدید دارای نقاط ضعفی هستند که البته تا حدی با استفاده از روش تهیه کامپوزیت و بویژه استفاده از فناوری نانو تا حدی مرتفع شده است. از جمله رویکردهای جدید در این زمینه، گنجاندن نانوذرات فلزات و اکسید آن‌ها جهت بهبود خصوصیات فیلم‌های بسته‌بندی مورد استفاده می‌باشد. از اینرو، در مطالعه حاضر، تاثیر افزودن نانو ذرات اکسیدروی (۰، ۲/۵ و ۵٪) و بتاگلوکان (۰، ۱۰ و ۲۰٪) بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیلم زیست‌تخریب‌پذیر ژلاتین در طی نگهداری فیله مرغ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تمامی فیلم‌ها نسبت به نمونه شاهد، افزایش بازدارندگی هم نسبت به جذب رطوبت و هم نسبت به نفوذپذیری به بخار آب داشته است که این امر نویدبخش قابلیت بهبود فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر با استفاده از بتاگلوکان و نانوذرات اکسید روی می‌باشد. همچنین، با توجه به نتایج آزمون‌های انجام شده می‌توان گفت که فیلم‌های حاوی نانوذرات اکسیدروی خاصیت ضد میکروبی داشته بطوریکه فیلم حاوی بالاترین سطح نانوذرات (۵٪)، بیشترین خاصیت ضد میکروبی را نسبت به سایر نمونه‌ها در برابر هر چهار گونه میکروارگانیسم شاخص مورد مطالعه نشان داد از اینرو با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های انجام شده، فیلم نانویوکامپوزیت با ۵ درصد نانو اکسیدروی و ۲۰٪ بتاگلوکان، به عنوان مناسب‌ترین فیلم، جهت بسته‌بندی فیله مرغ معرفی می‌گردد.

۱- مقدمه

مواد غذایی با منشأ حیوانی به عنوان یک منبع تغذیه‌ای بسیار مهم از جهت دارا بودن پروتئین بالا و اسیدهای آمینه ضروری در رژیم غذایی انسان به حساب می‌آیند. با این حال این منابع به دلیل حساسیت بالا در نگهداری و از جهت فساد میکروبی برای سلامت مصرف کننده می‌تواند مشکل ساز باشند. در این بین گوشت سینه‌ی مرغ (فیله) علی‌رغم فسادپذیری سریع از منابع مهم پروتئینی در تغذیه و رژیم غذایی انسان در سراسر نقاط دنیا به شمار می‌رود. در سالیان گذشته پلیمرهای بر پایه پتروشیمی (پلاستیک‌ها) به علت کارایی بالا و هزینه پایین به طور گسترده در بسته‌بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. البته این پلاستیک‌ها به علت آب‌گریز بودن و سطح کم در مقایسه با وزن ملکولی بالا، نسبت به آنزیم‌های میکروبی مقاوم بوده و در محیط تجزیه نمی‌شوند. علاوه بر این، مهاجرت مواد مضر از بسته‌بندی به ماده غذایی جزء محدودیت‌های استفاده از این نوع لفاف‌ها می‌باشد لذا توجه به بسته‌بندی‌های سازگار با محیط زیست یک نیاز پیش‌روی صنعت بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشد. واژه زیست‌تخریب‌پذیر به معنی موادی است که به سادگی توسط فعالیت موجودات زنده به زیرواحدهای سازنده‌ی خود تجزیه می‌شوند. لذا برخلاف پلیمرهای سنتزی، پلیمرهای زیست-تخریب‌پذیر توسط میکروارگانیسم‌ها کاملاً تجزیه شده و به محصولات طبیعی مانند آب، دی‌اکسیدکربن و توده‌های زیستی تبدیل می‌شوند. ضمن اینکه جایگزینی پلاستیک‌های سنتزی با مواد زیست‌تخریب‌پذیر، علاوه بر کاهش آلودگی‌های زیست محیطی و حفظ منابع نفتی، باعث تقویت خاک و افزایش بازده محصولات کشاورزی می‌شود [۱].

از بیوپلیمرهای مورد استفاده برای تولید فیلم‌های خوراکی می‌توان به پروتئین‌های غلات و حبوبات، پروتئین‌های شیر، نشاسته غده‌ها و ریشه‌ها اشاره کرد [۲]. هر چند که استفاده از بیوپلیمرها در تهیه فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر باعث کاهش آلودگی‌های محیط زیستی می‌شود اما از طرفی، بسته‌بندی‌های تولید شده بر پایه بیوپلیمرها با توجه به خواص مکانیکی نسبتاً ضعیف و آبدوستی بالا، قادر به حفاظت از ماده غذایی در برابر تمامی عوامل خارجی نیستند. راهکارهای مختلفی برای غلبه بر

این مشکل پیشنهاد گردیده است که از آن بین می‌توان به استفاده از ترکیب بیوپلیمرها با هم اشاره کرد که به فیلم‌های حاصل، فیلم مرکب (بیوکامپوزیت) اطلاق می‌شود [۳].

یکی از بیوپلیمرهایی که در تهیه فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر بکار می‌رود ژلاتین است که از هیدرولیز اسیدی یا قلیایی کلاژن موجود در استخوان‌ها و پوست بدست می‌آید. علاوه بر ژلاتین در این پژوهش از بتاگلوکان جهت تولید بیوکامپوزیت استفاده خواهد شد که پلی‌ساکارید غیرنشاسته‌ای محلول در آب است که در دیواره سلولی دانه‌های غلات مثل جو، یولاف، گندم، چاودار، سورگوم و برنج یافت می‌شود و هم‌چنین در مخمرها، باکتری‌ها، جلبک‌ها نیز وجود دارد. دلیل انتخاب بتاگلوکان حلالیت بالا در آب، ایجاد ویسکوزیته بالا در غلظت‌های پائین و سازگاری بسیار بالای آن با پلیمرهای آب‌دوست نظیر ژلاتین است. از دیگر پیشرفت‌ها مهم در تولید پلیمر، ورود فناوری نانو در این عرصه می‌باشد. تولید نانوکامپوزیت‌ها یکی از مهمترین پیشرفت‌ها در تکنولوژی پلیمر به حساب می‌آید. نانوکامپوزیت‌ها سیستم‌های دو فاز از ماتریکس پلیمری و پرکننده هستند که حداقل یکی از ابعاد فاز پرکننده بین ۱۰۰-۱ نانومتر می‌باشد. هر کامپوزیت از سه جزء، ماتریکس، تقویت کننده (پرکننده) و ناحیه بین سطحی^۱ تشکیل شده است. ناحیه بین سطحی مسئول ارتباط بین ماتریکس و پرکننده می‌باشد. با عبور از بعد میکرو به نانو، سطح این ناحیه افزایش چشمگیری می‌یابد و امکان برقراری اتصال بین پرکننده و ماتریکس، از طریق افزایش تعداد مکان‌های برهم‌کنش بین آن‌ها، افزایش می‌یابد. نانو پرکننده‌ها در غلظت مناسب قادرند خواص بازدارندگی، مکانیکی و حرارتی پلیمرها را بهبود بخشند [۴]. مهم‌ترین ویژگی نانوذرات، سطح مخصوص بالای آن‌هاست. متوسط فاصله بین ذرات با کاهش اندازه‌ی آن‌ها کاهش یافته و برهم‌کنش بیشتری را موجب می‌شود و بنابراین با افزودن نانوپرکننده‌ها، ویژگی‌های بازدارندگی نانوکامپوزیت بهبود می‌یابد. از انواع پرکننده‌های مورد استفاده در نانوکامپوزیت‌ها می‌توان به نانواکسیدهای فلزی اشاره کرد.

اکسیدهای فلزی مانند اکسید روی، دی‌اکسید تیتانیوم و اکسید منیزیم به عنوان پرکننده، توجه خاصی را به خود معطوف

1. Interfacial region

محلول ژلاتین اضافه شده و همزنی شد (۳۰ min, ۶۰۰ rpm). نهایتاً درصدهای مختلف از بتاگلوکان را در ۳۰ ml آب مقطر حل کرده و با ۷۰ ml از محلول فوق همزنی شد (۱۰ min, ۶۰۰ rpm). در ادامه ۸۰ ml از محلول تهیه شده را داخل قالب مورد نظر ریخته و در دمای ۴۰ °C آون (Memmert, UFE 500, Germany) در مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

۲-۲-۲- فرمولاسیون فیلم‌های مورد مطالعه

در این طرح تحقیقاتی فیلم‌هایی که جهت سنجش آزمون‌های فیزیکی - مکانیکی و هم‌چنین به‌منظور نگه‌داری محصول مرغ برای اندازه‌گیری خواص ضد میکروبی نانوذرات تهیه و استفاده شدند شامل موارد زیر بودند:

(۱) ژلاتین (فیلم شاهد) - کد F1

(۲) ژلاتین + بتاگلوکان (۱۰ درصد وزنی فیلم پایه) - کد F2

(۳) ژلاتین + بتاگلوکان (۲۰ درصد وزنی فیلم پایه) - کد F3

(۴) ژلاتین + نانو ذره اکسیدروی (۲/۵ درصد فیلم پایه) - کد F4

(۵) ژلاتین + بتاگلوکان (۱۰ درصد وزنی فیلم پایه) + نانوذره اکسیدروی (۲/۵ درصد فیلم پایه) - کد F5

(۶) ژلاتین + بتاگلوکان (۲۰ درصد وزنی فیلم پایه) + نانوذره اکسیدروی (۲/۵ درصد فیلم پایه) - کد F6

(۷) ژلاتین + نانو ذره اکسیدروی (۵ درصد وزنی فیلم پایه) - کد F7

(۸) ژلاتین + بتاگلوکان (۱۰ درصد وزنی فیلم پایه) + نانوذره اکسیدروی (۵ درصد فیلم پایه) - کد F8

(۹) ژلاتین + بتاگلوکان (۲۰ درصد وزنی فیلم پایه) + نانوذره اکسیدروی (۵ درصد فیلم پایه) - کد F9

چنانچه مشاهده می‌شود فیلم پایه ژلاتین به‌همراه سایر فیلم‌ها (با استفاده از نانوذرات و بدون استفاده از نانوذرات) مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲-۳- اندازه‌گیری میزان جذب رطوبت فیلم‌ها^۱ (WU)

برای اندازه‌گیری میزان جذب رطوبت فیلم‌ها از روش آنگلس و دیوفرنس استفاده شد [۷]. نمونه‌هایی از فیلم‌ها با ابعاد ۲۰×۲۰ میلی‌متر تهیه شد و در دسیکاتور حاوی سولفات کلسیم (RH=

کرده‌اند، چرا که آن‌ها برای انسان و حیوانات بی‌خطر هستند. در این میان اکسید روی به‌طور گسترده به عنوان پرکننده و به علت داشتن خواص عملکردی مانند جذب اشعه ماوراءبنفش و خاصیت ضد میکروبی در صنایع دارویی و آرایشی و مواد پوشش‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرند. اکسید روی باعث جذب بهینه اشعه ماوراء بنفش می‌شود همچنین اختلاط نانوذرات اکسید روی با فیلم‌های نشاسته‌ای برای بهبود برخی از خواص آن‌ها مانند افزایش خاصیت آبریزی، خواص ضد میکروبی و خواص فیزیکی فیلم به‌طور گسترده انجام گرفته است [۵]. در مطالعه حاضر به تاثیر استفاده از نانوذرات اکسید روی و بتاگلوکان بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیلم‌های زیست تخریب پذیر ژلاتینی در بسته‌بندی فیله مرغ پرداخته شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

پودر ژلاتین (با محتوای رطوبت و پروتئین بترتیب ۸ و ۹۰٪) و بتاگلوکان (محتوای رطوبت ۸٪) از شرکت پیشگامان شیمی تهیه شد. پودر نانو ذرات اکسید روی (اندازه ذرات ۲۰-۶۰ nm، درجه خلوص >۹۷٪) از شرکت نانوساختار آویژه خریداری شد. گلیسرول (درجه خلوص >۹۹/۵٪، نیتريت کلسیم و سولفات کلسیم، کلرید سدیم و سولفات پتاسیم از شرکت مرک آلمان خریداری شد. فیله مرغ از شرکت آذرمغ تهیه شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- روش تهیه فیلم

به منظور تهیه فیلم ژلاتین از روش گومز و همکاران، استفاده شد [۶]. بدین منظور ابتدا ۴ g پودر ژلاتین در ۱۰۰ ml آب مقطر به مدت ۳۰ min دقیقه آبدار شده سپس ژلاتین در دمای ۴۵ °C به مدت ۳۰ min با کمک همزن مغناطیسی (MR3001, Heidolph, Germany) کاملاً حل شد. سپس ۲ ml گلیسرول اضافه شد و در همان دما به مدت ۱۵ min دیگر هم زده شد. سپس نانو ذرات اکسید روی (۲/۵ و ۵٪ برپایه وزن خشک ژلاتین) در ۵۰ ml آب مقطر پخش شده و بمدت ۵ min با توان ۸۰ w فراصوت‌دهی (USD 4R, AS ONE, Japan) گردید. در ادامه محلول نانو ذرات حاصل بتدریج به ۵۰ ml از

1. Water Uptake

وزن ویال‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ویال‌ها تابعی از زمان رسم شد و پس از حصول رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید.

از تقسیم شیب خط مربوط به هر ویال به کل سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشته است، آهنگ انتقال بخار آب (WVTR) بدست آمد. از تقسیم WVTR به اختلاف فشار بخار در دوطرف فیلم WVPN بدست آمد. به دلیل وجود سولفات کلسیم در داخل ویال، فشار بخار داخل ویال صفر در نظر گرفته می‌شود. فشار بخار خارج فیلم نیز از حاصلضرب رطوبت نسبی (RH) داخل دسیکاتور (۹۷٪) و فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ °C بدست آمد. از حاصلضرب WVPN و ضخامت فیلم نیز نفوذپذیری به بخار آب (WVP) بدست آمد. این آزمون در مورد هر یک از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

(۲)

$$J = WVTR = \frac{\Delta W}{A \Delta t}$$

که در آن:

ΔW : فشار بخار آب در عرض فیلم که آهنگ انتقال بخار آب (WVTR) نیز نامیده می‌شود.

ΔW : میزان بخار آب عبور کرده از فیلم بر حسب گرم

t : مدت زمان انتقال بخار آب بر حسب ثانیه

A : مساحت سطح فیلم بر حسب متر مربع

$$WVP = WVTR / P(R_1 - R_2) \times X \quad (3)$$

که در آن:

X : ضخامت فیلم بر حسب متر

P : فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (۳۱۶۹ Pa)

R_1 : رطوبت نسبی در دسیکاتور (۱۰۰٪)

R_2 : رطوبت نسبی در داخل ویال (صفر٪)

۲-۵- بسته‌بندی نمونه‌های فیله مرغ

برای انجام آن ابتدا نمونه‌های فیله مرغ با فیلم‌های بیوکامپوزیت و نانوبیوکامپوزیت بهینه (فیلم‌هایی که نتایج بهینه‌ای در آزمون فیزیکی - مکانیکی نسبت به بقیه فیلم‌ها نشان دادند)، بسته‌بندی و در دمای یخچال نگه‌داری شدند. ابتدا در روز صفر (قبل از بسته‌بندی) از تمامی فیله‌های مرغ آزمون‌های اشاره شده در

۰٪) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از توزین اولیه (بعد از اتمام ۲۴ ساعت در دسیکاتور حاوی سولفات کلسیم)، نمونه‌ها به دسیکاتور حاوی محلول اشباع کلرید سدیم (RH= ۷۵٪) منتقل شده و در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. جهت اطمینان از حفظ حالت اشباع، اجازه داده شد تا مقداری رسوب کلرید سدیم در کف دسیکاتور ایجاد شود. سپس تمامی نمونه‌ها در زمان‌های مختلف تا رسیدن به وزن ثابت توسط ترازوی حساس توزین گردیده و میزان جذب رطوبت از رابطه ۱ محاسبه گردید:

$$\%WU = (W_t - W_0 / W_0) \times 100 \quad (1)$$

که در آن:

WU : میزان جذب رطوبت بر حسب درصد

W_0 : جرم اولیه نمونه‌ها (قبل از قرار گرفتن در NaCl) بر حسب گرم

W_t : جرم نمونه پس از گذشت زمان t (در RH=75٪) بر حسب گرم

این آزمون در مورد هر یک از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

۲-۲-۴- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب^۱ (WVP)

برای اندازه‌گیری انتقال بخار آب از روش ASTM E96-95 استفاده شد. برای این کار از ویال‌های مخصوصی با قطر ۲cm و ارتفاع ۴/۵cm استفاده شد. در قسمت درپوش این ویال‌ها منفذی به قطر ۸mm قرار دارد که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار می‌گیرد. ۳g سولفات کلسیم در داخل ویال‌ها ریخته شد و قطعه‌ای از فیلم بریده و در درپوش ویال قرار گرفته و بر روی ویال بسته شد. ویال‌ها با تمام محتویاتشان توزین شده و در داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (RH=97٪) در دمای ۲۵ °C قرار گرفتند. جهت اطمینان از حفظ حالت اشباع، اجازه داده شد که مقداری رسوب سولفات پتاسیم در کف دسیکاتور ایجاد شود. نمونه‌ها داخل دسیکاتور به مدت یک هفته نگه‌داری شدند و در طی این مدت در ساعت مشخصی از هر روز (پس از ۲۴ ساعت) تمامی ویال‌ها توزین گردیدند. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش

آب مقطر قرائت شد و مطابق فرمول زیر مقدار تیوباریتوریک اسید محاسبه گردید.

$$TBA = 50 \times (As - Ab) / 200 \quad (4)$$

در فرمول بالا As جذب تیمار و Ab جذب شاهد می باشد.

۲-۶-۳- شمارش کل باکتری

شمارش میکروبی نمونه ها بر اساس روش FDA (۱۹۹۶) انجام خواهد شد. برای آزمون میکروبی، اگر از هر فیله مرغ بسته بندی شده در ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۸۵ درصد مخلوط و هموژن شده و برای هر نمونه ۳ رقت تهیه شد. از هر رقت ۱ میلی لیتر برای کشت باکتری به روش پورپلیت در محیط کشت نوترینت آگار مورد استفاده قرار گرفت. نمونه های کشت داده شده در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت برای شمارش باکتریایی کل انکوبه شدند و در رابطه زیر محاسبه و به صورت Log cfu/g بیان شد (ابراهیم سلام، ۲۰۰۷؛ اجاقی و همکاران، ۲۰۱۰، سانگ و همکاران، ۲۰۱۱).

$$(5) \text{ عکس ضریب رقت } \times \text{ تعداد کلونی } = CFU$$

۲-۶-۴- آزمون انتشار دیسک

جهت انجام آیین آزمون بایستی از فیلم های ساخته شده برش داده و به صورت یک دیسک درآورده و آنها را در چهار محیط کشت حاوی باکتری های میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم و سودوموناس آئروجنس قرار داد تا در صورت ایجاد هاله عدم رشد توسط فیلم و اندازه گیری آن هاله عدم رشد به میزان خاصیت ضد میکروبی فیلم ها پی برد و نتایج را مورد آنالیز قرار داد. لازم به توضیح است که برای آنالیز و مقایسه بهتر فیلم ها، برای هر کدام از باکتری ها از شاهد مخصوص به خود آن باکتری نیز استفاده شده است. شاهد های بکار رفته برای باکتری های سودوموناس، سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی به ترتیب شامل تتراسایکلین، تتراسایکلین، اریترومايسين و جنتامایسین می باشند.

۲-۶-۵- تحلیل آماری

در بررسی حاضر تمامی آزمون ها اعم از اندازه گیری خواص فیزیکی و مکانیکی، خواص ضد میکروبی فیلم ها نیز با استفاده از طرح بلوک کامل تصادفی با آنالیز واریانس یک طرفه (one-

بررسی میکروبی انجام شد و سپس بسته بندی فیله های مرغ جهت نگهداری به مدت یک روز، سه روز و شش روز انجام و در انتها آزمون های میکروبی (۲-۶-۲) از آنها صورت گرفت.

۲-۶-۲- آزمون میکروبی از فیله مرغ بسته بندی شده

جهت انجام این آزمون و بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم ها، آزمون هایی از فیله مرغ بسته بندی شده توسط فیلم بهینه (فیلم ژلاتین حاوی ۰.۵٪ نانو اکسید روی و ۲۰٪ بتا گلوکان)، فیلم شاهد و فیله مرغ بدون پوشش فیلم انجام شد. لازم به ذکر است که جهت انجام آزمون مذکور فیله های مرغ در چهار زمان مختلف روز صفر، روز اول، روز سوم و روز ششم بسته بندی شده و تا زمان آنالیز در دمای یخچال نگهداری شد.

۲-۶-۱- اندازه گیری pH

اندازه گیری pH با استفاده از روش AOAC (1995) و بر روی مخلوط خرد و هموژن شده ۱۰g نمونه در ۹۰ml آب مقطر مخلوط و با استفاده از دستگاه هموژنایزر خرد و هموژن شد. سپس بعد از سانتریفوژ کردن (3-30K, Sigma, Germany) برای ۱۰min در ۸۰۰۰g pH محلول روشن آور با استفاده از الکترو د pH متر دیجیتالی (Metrohm Ltd, Herisau, Switzerland) در دمای محیط اندازه گیری شد.

۲-۶-۲- اندازه گیری تیوباریتوریک اسید

اندیس تیوباریتوریک اسید میلی گرم مالون دی آلدئید موجود در یک کیلوگرم فیله مرغ را نشان می دهد. این اندیس بر اساس روش گارسیا و همکاران انجام شد [۸]. اکسیداسیون چربی و مقدار تیوباریتوریک اسید به روش رنگ سنجی اندازه گیری شد. ۲g نمونه گوشت با ۶ml تری کلرو استیک اسید (TCA) مخلوط شده و با استفاده از هموژنایزر (Ultra-Turrax®T50 Basic, IKA, Germany) با سرعت ۲۴۰۰۰ rpm و به مدت ۲min دقیقه هموژن گردید. مخلوط هموژن به دست آمده با سرعت ۸۰۰۰ به مدت ۱۰min سانتریفوژ شد و به وسیله کاغذ صافی واتمن ۰/۴۵ میکرومتر فیلتر شد. در داخل یک لوله آزمایش استریل دردار، ۱ml از محلول صاف شده و ۱ml از محلول اسید تیوباریتوریک اسید (۸/۸ گرم در لیتر) ریخته شد و به مدت ۴۵min در دمای ۱۰۰ °C قرار گرفت و پس از سرد شدن؛ مقدار جذب آن در ۵۳۲nm بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل

بیوپلیمر را قوی تر می کند. این امر باعث می شود خصوصیات بازداري ماتریکس بیوپلیمر در مقابل مولکول های آب بیشتر شده و با ایجاد یک لایه آب گریز بر روی سطح آن، ویژگی آب دوستی پلیمر را کاهش دهد. از طرف دیگر نانوذرات اکسیدروی خاصیت آب گریزی بیشتری نسبت به بیوپلیمر دارد و با ایجاد یک لایه هیدروفوبیک در سطح بیوپلیمر، آب گریزی فیلم ها را افزایش می دهد.

پس از اضافه کردن بتاگلوکان به ماتریکس بیوپلیمر (ژلاتین-ZnO) مجدداً کاهش معنی داری در میزان جذب رطوبت مشاهده می شود به گونه ای که فیلم حاوی بالاترین غلظت اکسیدروی و بتاگلوکان (F9) کم ترین جذب رطوبت را نسبت به بقیه فیلم ها دارد. افزودن بتاگلوکان هم مقاومت فیلم را در برابر رطوبت افزایش می دهد. از طرف دیگر توانایی قرارگیری نانوذرات در منافذ ماتریکس فیلم و برقراری پیوند هیدروژنی قوی با ژلاتین فیلمی با ساختار بسیار فشرده و مستحکم با حداقل فضاهای خالی ایجاد می کند که جذب و نفوذ مولکول های آب را به درون این ساختار محدود می سازد. با در نظر گرفتن این دو نکته و با توجه به این که حضور بتاگلوکان و افزایش در میزان آن بر مقاومت فیلم در برابر رطوبت می افزاید می توان نتیجه گرفت که تأثیر بتاگلوکان در کاهش جذب رطوبت به شکل ساختمانی و نحوه قرارگیری لایه های آن در بین زنجیرهای پلیمری و بیوپلیمری و کاهش فضای آزاد در ماتریکس فیلم مربوط می شود.

۳-۱-۲- میزان جذب بخار آب (WVP)

نتایج مقایسه میانگین مرتبط با فیلم ها در شکل ۱ آورده شده است. نتایج بیانگر آن است که بالاترین میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب، مربوط به فیلم F1 یا ژلاتین خالص (نمونه شاهد) با مقدار $10^{-8} \times 2/15$ g/m.s.pa و کمترین میزان نفوذپذیری نیز مربوط به فیلم های F8 (ژلاتین، ۵٪ اکسید روی و ۱۰٪ بتاگلوکان) و F9 (ژلاتین، ۵٪ اکسید روی و ۲۰٪ بتاگلوکان) به ترتیب با مقادیر $10^{-8} \times 1/62$ g/m.s.pa و 10^{-8} g/m.s.pa می باشد.

way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS 20 و در سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف معنی دار بین نمونه ها توسط آزمون دانکن برآورد شد. لازم به ذکر است که از نرم افزار (office 2013) Excell جهت رسم نمودارها استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ویژگی های شیمیایی

۳-۱-۱- میزان جذب رطوبت (WU)

یکی از فاکتورهای مورد توجه در انتخاب نوع ماده بسته بندی، میزان نفوذپذیری آن نسبت به رطوبت می باشد. در صورتی که ماده بسته بندی نسبت به رطوبت حساسیت بالایی داشته باشد با قرارگیری در محیطی با رطوبت نسبی بالا، به علت جذب رطوبت، نه تنها ممکن است خواص کاربردی ماده بسته بندی دچار تغییر شود بلکه می تواند به ایجاد تغییرات کیفی و کاهش ماندگاری محصول بسته بندی شده نیز منجر شود. نتایج مقایسه میانگین جذب رطوبت در فیلم های مختلف در شکل ۱ آورده شده است. بیشترین میزان جذب رطوبت در فیلم خالص ژلاتین (نمونه شاهد) با مقدار ۳۵/۷۲٪ بود و کمترین مقدار جذب در فیلم های F7، F8 و F9 به ترتیب با مقادیر ۲۸/۸۷٪، ۲۸/۶۲٪ و ۲۸/۰۱٪ حاصل شد. این نتایج نشان می دهد که افزودن نانو اکسیدروی و بتاگلوکان به فیلم میزان جذب رطوبت را به صورت معنی داری کاهش می دهد به طوری که فیلم حاوی بالاترین غلظت نانو اکسیدروی و بتاگلوکان (F9) نسبت به غلظت های کمتر نانو اکسیدروی و بتاگلوکان میزان جذب رطوبت پایین تری داشت. ولی مقدار جذب رطوبت میان غلظت های ۵ و ۲/۵ درصد نانو اکسیدروی تفاوت معنی داری نشان نداد. دلیل اصلی خاصیت بازدارندگی نانو اکسیدروی نسبت به جذب رطوبت به خاطر این است که نانوذرات اکسیدروی دارای یون هایی با بار مثبت بوده و از طریق پیوندهای الکتروستاتیکی و هیدروژنی با ژلاتین موجب افزایش اتصالات عرضی شده و انسجام زنجیرهای داخل شبکه

Fig 1 Water absorption (a) and water vapor permeability (b) of various gelatin based films (F1: G, F2: G/BG10%, F3: G/BG20%, F4: G/ZnONPs2.5%, F5: G/βG10%/ZnONPs2.5%, F6: G/βG20%/ZnONPs2.5%, F7: G/ZnONPs5%, F8: G/βG10%/ZnONPs5%, F9: G/βG20%/ZnONPs5%). Data are expressed as mean± standard deviation (n= 3) and different letters show significant difference at the 1% level in Duncan's test ($p < 0.01$); G gelatin; βG β-glucan and ZnONPs zinc oxide nanoparticles

فضاهای آزاد موجب کاهش انتشارپذیری می‌شوند. میزان بازدارندگی در برابر بخار آب در فیلم‌های حاوی نانواکسید روی به چگونگی پخش شدن نانوذرات در ماتریکس فیلم بستگی دارد.

۲-۳- ویژگی‌های میکروبی

۱-۲-۳- بازدارندگی میکروبی

نتایج بازدارندگی فیلم‌های مختلف در برابر میکروارگانیسم‌های شاخص مورد مطالعه در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به مقایسه میانگین فیلم‌ها در محیط کشت حاوی باکتری سودوموناس، فیلم حاوی ۵٪ نانواکسید روی با داشتن ۱/۶۱ cm معادل ۱۶ mm بیشترین هاله عدم رشد را در بین بقیه فیلم‌ها داشت و بعد از آن فیلم حاوی ۵٪ نانواکسیدروی به همراه ۱۰٪ بتاگلوکان و فیلم حاوی ۵٪ نانواکسیدروی به همراه ۲۰٪ بتاگلوکان به ترتیب با داشتن ۱/۴ cm و ۱/۴۳ cm بیشترین هاله عدم رشد را داشتند. لازم به توضیح است هاله عدم رشد شاهد بکار رفته یعنی تتراسایکلین در باکتری سودوموناس (شاهد صنعتی) برابر با ۱/۸ cm معادل ۱۸ mm می‌باشد. همچنین، مشاهده می‌شود که در محیط کشت حاوی باکتری سالمونلا، فیلم

بر اساس نتایج مقایسه میانگین، با افزایش غلظت نانواکسید روی میزان بازدارندگی به بخار آب افزایش یافت. مقدار نفوذپذیری در فیلم حاوی ۲/۵٪ نانواکسید روی ($2/03 \times 10^{-8}$ g/m.s.pa) بود که در فیلم ۵٪ نانواکسید روی به ($1/7 \times 10^{-8}$ g/m.s.pa) رسید. افزودن نانواکسید روی به پلیمر اصلی فیلم منجر به افزایش خاصیت آب‌گریزی در فیلم شده و با برهم‌کنش‌های الکتروستاتیکی با گروه‌های هیدروکسیل ژلاتین، امکان ایجاد پیوند با مولکول‌های آب را توسط این گروه‌های آزاد فعال کاهش می‌دهد.

یکی از روش‌های کاربردی بهبود خواص بازدارندگی بیوپلیمرها، استفاده از پرکننده‌ها (فیلرها) می‌باشد و با افزودن نانوذرات به‌عنوان پرکننده مانند نانواکسیدروی مقدار نفوذپذیری به بخار آب به‌صورت معنی‌داری کاهش می‌یابد. از طرف دیگر می‌توان کاهش نفوذپذیری به بخار آب را به ایجاد برهم‌کنش‌های قوی بین نانورس و پلیمرهای تشکیل‌دهنده ماتریکس فیلم نسبت داد. در واقع برهم‌کنش‌ها انتشارپذیری را که در تعیین میزان نفوذپذیری بسیار مؤثر است تحت تأثیر قرار می‌دهند و با کاهش

که هاله عدم رشد برای شاهد بکار رفته در محیط کشت حاوی استافیلوکوکوس اورئوس یعنی اریترومايسين برابر ۳ cm معادل ۳۰ mm می باشد و بالاخره همانند باکتری های فوق در محیط حاوی باکتری اشريشیاکلی نیز فیلم دارای ۵٪ نانو اکسید روی نسبت به بقیه فیلم ها با داشتن ۱/۵۷cm بیشترین هاله عدم رشد را داشت.

حاوی ۵٪ نانو اکسیدروی با داشتن ۱/۶۱ cm معادل ۱۶ mm بیشترین هاله عدم رشد را نسبت به بقیه داشت. لازم به ذکر است که هاله عدم رشد برای شاهد بکار رفته در محیط کشت حاوی سالمونلا یعنی تتراسایکلین برابر ۲۳ mm می باشد. علاوه بر این، در محیط کشت حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نیز فیلم حاوی ۵٪ نانو اکسیدروی با داشتن ۱/۸۲ cm معادل ۱۸ mm بیشترین هاله عدم رشد را نسبت به بقیه داشت. لازم به ذکر است

Fig 2 The inhibition activity of the ZnONPs incorporated films samples against; (a) *P. aeruginosa*, (b) *S. typhimurium*, (c) *S. aureus*, and (d) *E. coli*. (F1: G, F2: G/BG10%, F3: G/BG20%, F4: G/ZnONPs2.5%, F5: G/βG10%/ZnONPs2.5%, F6: G/βG20%/ZnONPs2.5%, F7: G/ZnONPs5%, F8: G/βG10%/ZnONPs5%, F9: G/βG20%/ZnONPs5%).

۳-۲-۲- ارزیابی فیلم مرغ بسته‌بندی شده

علاوه بر بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های ساخته شده بر اساس میزان هاله عدم رشد با انجام آزمون انتشار دیسک، جهت اطمینان از عملکرد ضد میکروبی فیلم‌ها به بررسی ماده غذایی داخل فیلم (فیله مرغ) پرداخته و آزمون‌های زیر بر روی آن انجام شد.

در مورد باکتری اشیریشیاکلی بایستی اشاره کرد که شاهد بکار رفته جنتامایسین با هاله عدم رشد ۲۵ mm بکار رفته بود. بطور کلی همانطور که مشاهده می‌شود فیلم حاوی ۰.۵٪ نانو اکسید روی در بین فیلم‌ها و همچنین در تمامی محیط‌های حاوی باکتری‌های مذکور بیشترین هاله عدم رشد را داشت و بعد از آن فیلم حاوی ۰.۵٪ نانو اکسید روی به همراه ۲۰٪ بتاگلوکان بیشترین هاله عدم رشد را نسبت به بقیه از خود نشان داد.

Table 1 Analysis of variance for antimicrobial properties of G/βG20%/ZnONPs5% film

Source	df	MS			
		pH	TBA	Coliform	TVC ¹
Repeat effect	2	0.001 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.235 ^{ns}	0.225 ^{ns}
Film effect (A)	2	0.187*	0.521*	0.410*	0.540*
Storage time effect (B)	3	1.244*	2.077*	0.880*	0.630*
Interaction effect (A*B)	6	0.074*	0.198*	0.250*	0.530*
Error	22	0.000	0.001	0.290	0.290
C.V	-	0.05%	0.02%	7.41%	0.38%

* and ns respectively refer to significant and insignificant difference ($p < 0.01$)¹ Total viable count

حاضر (۰.۵٪ ZnO و ۲۰٪ بتاگلوکان) نسبت به دو فیلم دیگر pH بالاتری داشت. همچنین اثر فاکتور زمان نیز در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده، بطوریکه فیله‌هایی که به مدت ۶ روز نگهداری شدند کمترین میزان pH را داشتند. بر اساس جدول ۲ که نشان دهنده مقایسه میانگین اثر متقابل دو فاکتور مدت زمان نگهداری و نوع فیلم می‌باشد نیز حاکی از آن است که در سطح ۱٪ نیز اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود دارد.

۳-۲-۲-۱- ارزیابی میزان pH

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مندرج در جدول ۱ می‌توان گفت که هر دو فاکتور مورد بررسی در این مطالعه (نوع فیلم و مدت زمان نگهداری) و همچنین اثرات متقابل آنها از نظر تأثیر بر میزان pH فیله مرغ بسته‌بندی شده اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ دارند. بر اساس مقایسه میانگین نوع فیلم مورد بررسی تأثیر مستقیمی بر میزان pH داشته به گونه‌ای که فیلم بهینه در مطالعه

Table 2 Comparison the interaction effect of film type and storage time on pH of chicken fillet

Storage time (Days)	Film type		
	Optimized film	Control film	Sample without film
0	6.13±0.14 ^a	6.13±0.08 ^a	6.13±0.06 ^a
1	6.05±0.09 ^{ab}	6.06±0.12 ^{ab}	6.04±0.11 ^{ab}
3	5.74±0.13 ^{bc}	5.67±0.10 ^{bc}	5.42±0.11 ^c
6	5.68±0.11 ^{bc}	5.33±0.09 ^c	5.03±0.09 ^d

Different small letters represent significant difference ($p < 0.01$).

نسبت به بقیه حتی در ششمین روز نگهداری نیز pH بالاتری دارد.

۳-۲-۲-۳- ارزیابی میزان تیوباریتوریک اسید

اکسیداسیون چربی از عوامل بدطعمی در فرآورده‌های گوشتی

همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین میزان pH مربوط به روز صفر می‌باشد و تمامی فیله‌های مرغ بسته بندی شده در تمامی فیلم‌ها بیشترین pH را داشتند و با گذشت زمان نگهداری از میزان pH کاسته شده ولی فیله مرغ بسته بندی شده با فیلم بهینه

است. بویژه زمانی که گوشت حاوی اسیدهای چرب غیراشباع بالایی بوده و تحت شرایط هوازی ذخیره گردد [9]. اکسیداسیون چربی به طور وسیعی توسط شاخص TBA ارزیابی می گردد که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدئیدها را نشان می دهد که از شکست یا اکسیدشدن هیدروپراکسیدها ایجاد شده و بر حسب میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم گوشت بیان می شود. اکسیداسیون چربی در گوشت نهایتاً باعث ایجاد آلدئید، کتون، اسیدها و الکل گشته و باعث ایجاد تغییرات در عطر و طعم گوشت شده و ارزش تغذیه ای آن را کاهش می دهد. بر اساس جدول ۱ هر دو فاکتور مورد بررسی و اثرات متقابل آنها در آزمون ارزیابی میزان TBA فیله مرغ در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری دارند. بر اساس مقایسات میانگین، اثر نوع فیلم

معنی دار بوده و نمونه بدون پوشش با داشتن ۱/۴۸ میزان TBA بالاتری داشته و فیله مرغ داخل فیلم بهینه نیز با ۱/۱۱ میزان TBA کمتری نسبت به بقیه داشت. لازم به توضیح است که بر اساس فاکتور زمان، با افزایش مدت زمان نگهداری میزان TBA کاهش می یابد. در واقع میزان TBA رابطه معکوس با مدت زمان نگهداری دارد و در زمان های طولانی تر مقدار آن کم می شود به گونه ای که در روز صفر میزان TBA ۱/۸۷ بوده و این مقدار بعد از شش روز نگهداری به ۰/۷۳ کاهش می یابد. بر اساس جدول ۳ مقایسه میانگین اثر متقابل دو فاکتور زمان نگهداری و نوع فیلم نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار می باشد.

Table 3 Comparison the interaction effect of film type and storage time on TBA of chicken fillet

Storage time (Days)	Film type		
	Optimized film	Control film	Sample without film
0	1.87±0.04 ^{ab}	1.87±0.02 ^{ab}	1.87±0.07 ^{ab}
1	1.07±0.05 ^d	1.91±0.03 ^a	1.61±0.01 ^b
3	1.22±0.03 ^{cd}	1.11±0.06 ^d	1.49±0.04 ^c
6	0.28±0.04 ^f	0.95±0.03 ^e	0.96±0.06 ^e

Different small letters represent significant difference ($p < 0.01$).

همانطور که مشاهده می شود با افزایش زمان و تغییر فیلم بسته بندی به فیلم نانویوکامپوزیت نیز میزان TBA کاهش می یابد، به عبارتی یک رابطه همسو و مستقیم بین زمان نگهداری و نوع فیلم بسته بندی وجود دارد. این بدان معنی است که هم با افزایش زمان نگهداری و هم با تغییر فیلم به فیلم نانویوکامپوزیت از میزان TBA کاسته می شود.

۳-۲-۲-۳- بررسی میزان باکتری های کل زنده^۱

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۱) فاکتورهای مورد بررسی در مورد آزمون شمارش کلی میکروارگانیسم های نمونه های فیله مرغ در هر سه نوع فیلم و در زمان های مختلف نگهداری نیز در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی داری را از خود نشان دادند. نتایج این آزمون نشان داد (جدول ۴) که با تغییر نوع فیلم به فیلم

نانویوکامپوزیت میزان شمارش کلی با اختلاف بسیار زیادی کاهش می یابد به گونه ای که از 1.2×10^7 مقدار در نمونه بدون فیلم به 3.8×10^0 در نمونه بسته بندی شده با فیلم بهینه کاهش یافته است. همچنین بر اساس جدول ۱ اثرات متقابل هر دو فاکتور نیز اختلاف معنی داری در سطح ۱ درصد با یکدیگر دارند. همانطوریکه در جدول ۴ مشاهده می شود بین مدت زمان و نوع فیلم رابطه معکوسی وجود دارد یعنی اثرات متقابل هر دو فاکتور عکس همدیگر عمل کرده است. به گونه ای که با افزایش مدت زمان نگهداری مقدار شمارش کلی بیشتر شده و از طرفی با تغییر فیلم از نمونه بدون فیلم به فیلم بهینه نیز مقدار شمارش کلی رو به کاهش گذاشته است.

1. Total Viable Count (TVC)

Table 4 Comparison the interaction effect of film type and storage time on TVC of chicken fillet

Storage time (Days)	Film type		
	Optimized film	Control film	Sample without film
0	0.0 ⁿ	0.0 ⁿ	0.0 ⁿ
1	5.1*10 ^{5f}	7.2*10 ^{5e}	8.5*10 ^{5d}
3	6.3*10 ^{5e}	1*10 ^{6cd}	3.2*10 ^{6c}
6	3.8*10 ^{5g}	9*10 ^{6b}	1.2*10 ^{7a}

Different small letters represent significant difference ($p < 0.01$).

۴- نتیجه گیری

ویژگی های منحصر به فرد نانوبیوپلیمرهای کامپوزیتی باعث مطالعات گسترده آن ها در بسته بندی ها شده است. در بررسی حاضر از ژلاتین جهت ساخت این نوع فیلم ها استفاده گردید و به منظور بهبود ویژگی های کاربردی فیلم تولید شده از نانوذرات اکسید روی و بتاگلوکان در ماتریکس ژلاتین با غلظت های مختلف به کار گرفته شد. آزمون های مختلف شیمیایی و میکروبی نشان داد که فیلم خالص ژلاتین F1 بیشترین میزان جذب رطوبت و فیلم های F7، F8 و F9 کمترین مقادیر میزان جذب را داشتند. در مورد میزان نفوذپذیری به بخار آب نیز فیلم F1 بیشترین نفوذ و فیلم های F8 و F9 نیز کمترین میزان نفوذپذیری را داشتند. همچنین، بررسی خواص ضد میکروبی فیلم ها با استفاده از روش انتشار دیسک نشان داد که فیلم حاوی ۵٪ نانواکسید روی (F7) در تمامی محیط های حاوی باکتری سودوموناس، اشریشیاکلی، سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین هاله عدم رشد را داشت و بعد از آن فیلم F9 نسبت به بقیه بیشترین هاله عدم رشد را نشان داد. علاوه بر این، بررسی فیله مرغ داخل بسته از نظر شاخص های مورد مطالعه نشان داد که فیلم F9 (فیلم بهینه) بیشترین میزان pH و کمترین میزان تیوباربیتیک اسید را نسبت به بقیه داشت. ضمن اینکه این نمونه کمترین میزان شمارش کلی باکتری و کلی فرم را نسبت به بقیه داشت. نتیجه مطالعه حاضر بیانگر کارایی بالای فیلم F9 (حاوی بیشترین مقدار نانواکسید روی و بتاگلوکان) برای بسته بندی گوشت مرغ و محصولات مشابه با در نظر گرفتن شاخص های شیمیایی و میکروبی می باشد.

۵- منابع

- [1] Kester, J.J. and Fenema, O. 1986. Edible films and coating: A review. Food Technology, 40: 47-59.
- [2] Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible protective films. In Food packaging and preservation. Elsevier, Applied Science: London, UK, pp. 371-394.
- [3] Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., Entezami, A.A., (2006). Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11, 697-702.
- [4] Li, S.H., Jia, N., Ma, M. and Sun, R. 2011. Cellulose-silver nanocomposites: microwave assisted synthesis, characterization, their thermal stability, and antimicrobial property. Carbohydrate Polymers, 86: 441-447.
- [5] Vicentini, D.S., Smania, A.J., Laranjeira, M.C.M., (2010). Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. Materials Science and Engineering C, 30: 503-508.
- [6] Gómez-Estaca J, Bravo L, Gómez-Guillén MC et al (2009). Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. Food Chemistry, 112:18-25.
- [7] Neus Angles M, Dufresne A (2000). Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. Structural analysis. Macromolecules, 33:8344-8353.
- [8] Garcia, Y.J., Rodriguez-Malaver, A.J., Penaloza, N (2005). Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. Journal of Neuroscience Methods, 144 (1): 127-135.
- [9] Bruna, J.E., Peñaloza, A., Guarda, A., Rodríguez, F. and Galotto, M.J. 2012. Development of MtCu2+/LDPE nanocomposites with antimicrobial activity for potential use in food packaging. Applied Clay Science 58: 79-87.

Investigation the effect of ZnO and β -glucan on chemical and microbial characteristic of gelatin based biodegradable film over storage of chicken fillet

Sherafatkah Azari, Sh.¹, Alizadeh, A.^{2*}, Roufegarinejad, L.², Asefi, N.²,
Hamishehkar, H.³

1. Ph.D Student, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3. Professor, Drug applied research center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 2021/01/02 Accepted 2021/02/06</p> <p>Keywords:</p> <p>Nanobiocomposite film, Gelatin, Zinc-oxide, β-glucan, Chicken fillet.</p> <p>DOI: 10.52547/fsct.18.05.15</p> <p>*Corresponding Author E-Mail: ainaz_alizadeh@hotmail.com</p>	<p>Owning to drawbacks of synthetic polymers, biodegradable packaging materials (biopolymers) have received more attention both in studies and industrial applications. However, compared to conventional packaging, the biodegradable materials have some limitation must be eliminated either by using composite preparation method or introduction of nanotechnology. Inclusion of metal nanoparticles and their oxides are of the new approaches to improve the properties of packaging films. Therefore, the present study attempted to investigate the effect of ZnO (0, 2.5 and 5%) and β-glucan (0, 10 and 20%) incorporation on chemical and microbial properties of gelatin based biodegradable film over storage of chicken fillet. Results showed that incorporation the both of ZnO and β-glucan have significantly ($p < 0.01$) improved the barrier properties against both of moisture absorption and water vapor permeability and the best properties obtained with film containing 5% of ZnO and 20% β-glucan. In addition, based on microbial tests result, it was obvious that the ZnO loaded films have antimicrobial properties and the highest inhibition activity obtained with 5% of ZnO against the all of studied pathogenic bacteria. Accordingly, the film containing 5% ZnO and 20% β-glucan is introduced as the most effective film for packaging of chicken fillets.</p>