

ارزیابی خواص ضد میکروبی و نفوذپذیری کارواکرول از فیلم زیست فعال زئین برای کاربرد در بسته بندی مواد غذایی

محبوبه کشیری^{۱*} یحیی مقصودلو^۲

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

دریافت: ۹۵/۰۷/۲۷ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۸

* نویسنده مسئول مقاله: Kashiri.m@Gmail.com

چکیده:

هدف از این تحقیق، استفاده از غلظت ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول در تولید فیلم زئین و ارزیابی خواص ضد میکروبی و رهایش کارواکرول از بستر پلیمر در مدل غذایی اسید استیک و اتانول در دماهای مختلف با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بود. ضریب نفوذپذیری و انرژی فعال سازی فیلم زئین بر اساس قانون دوم فیک محاسبه شد. نتایج نشان داد که با افزایش دما از ۴ به ۳۷ درجه سانتی گراد، رهایش کارواکرول پس از ۶۰ دقیقه در مدل غذایی اسیدی (از ۹/۸۲ به ۴۰/۷۸ درصد) و اتانولی (۱۱/۸۰ به ۴۷/۴۴ درصد) افزایش یافت. ضریب نفوذپذیری کارواکرول در مدل غذایی اسیدی در دماهای ۴، ۲۲، ۳۷ درجه سانتی گراد به ترتیب ۰/۲۳، ۱/۲۰ و ۶/۷۰ متر بر ثانیه تعیین شد. انرژی فعال سازی برای انتشار کارواکرول در اسید استیک (۷۲/۷۵ کیلوژول بر مول) کمتر از مدل غذایی اتانول (۷۹/۷۳ کیلوژول بر مول) بود. فعالیت ضد باکتریایی فیلم زئین حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول در برابر باکتری های/شرشیاکلاهی و لیستریا مونوسایتوزنز در دمای ۴ و ۳۷ درجه سانتی گراد مطالعه شد. فیلم زئین حاوی ۵ درصد کارواکرول از قدرت مهارکنندگی باکتریایی خوبی برخوردار بود. افزودن ۱۰ درصد کارواکرول در بستر پلیمری منجر به بازدارندگی کامل علیه/شرشیاکلاهی در دماهای مورد آزمون گردید. بر اساس نتایج این تحقیق، فیلم زئین حاوی کارواکرول به عنوان فیلم فعال در بسته بندی مواد غذایی برای بهبود ایمنی و ماندگاری مواد غذایی توصیه می گردد.

کلیدواژگان: بسته بندی ضد میکروبی، سینتیک رهایش، زئین، کارواکرول.

مقدمه

گازها (Arcanand Yemenicioğlu, 2011)، اما ضعف در انعطاف پذیری و ممانعت کنندگی در برابر بخار آب از جمله مشکلات این فیلم زیستی محسوب می شود. براساس گزارش Arcanand Yemenicioğlu در سال ۲۰۱۱ فزودن ترکیبات فنولیک نظیر کاتکین، اسید گالیک، هیدروکسیبنزوئیک اسیدها و اسید فرولیک می تواند روشی مؤثر برای غلبه بر شکنندگی و افزایش قابلیت انعطاف پذیر باشد. از فیلم ها محسوب شوند (Arcanand Yemenicioğlu, 2011). گفتنی است که حضور ترکیبات فنولی، علاوه بر مرتفع کردن مشکلات فیزیکی و مکانیکی فیلم، از حیث فنی می تواند به عنوان فرایندیه نسبت جدید در مجموعه بسته بندی فعال طبقه بندی گردد. بسته بندی ضد میکروبی نوعی بسته بندی فعال است که مهاجرت پیوسته ترکیبات ضد میکروبی به سطح ماده غذایی، رشد میکروارگانیسم های مولد فساد مواد غذایی را کنترل و در نتیجه سبب بهبود امنیت غذایی و افزایش طول دوره نگهداری محصولات غذایی می گردد (Balaguer et al., 2014; Higuera et al., 2013; Shojaee-Aliabadi et al., 2014).

کارواکرول (۲ متیل-۵- (۱-متیل) فنل) ترکیب فنولی است که به عنوان افزودنی مجاز در محصولات غذایی استفاده می شود (Nostro et al., 2012). خواص ضد میکروبی کارواکرول در مطالعات متعدد بررسی شده است (Abbaszadeh et al., 2014; Guarda et al., 2011; Silva-Angulo et al., 2015). علت بروز خواص ضد میکروبی کارواکرول به حلقه آروماتیک فنلی و گروه هیدروکسیل آن نسبت داده شده است (Arfaet al., 2007). خواص ضد میکروبی فیلم زئین حاوی ناپسین (Arcanand Yemenicioğlu, 2011; Hoffman et al., 2005) و اسید لوریک (al., 2001; Lungu and Johnson, 2005) و اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (Hoffman et al., 2001)،

افزایش آگاهی عمومی از ترکیبات سازگار با طبیعت، ضرورت کاهش هزینه های انرژی در بخش بازیافت و از طرفی دیگر فراگیر شدن مقررات ممنوعیت استفاده از پلاستیک های سنتزی در خواربار فروشی ها، مطرح شدن بحث مربوط به گرم شدن زمین و وابستگی آن بهفت سبب ترغیب محققان برای به کارگیری مواد بسته بندی تجدید پذیر بر پایه زیست پلیمرهای طبیعی در صنعت شده است (Nampoothir et al., 2010, Siracusa et al.; Sorrentino et al., 2007). پتانسیل تولید جهانی پلاستیک های زیست بر اساس گزارش چشم انداز توسعه زیست پلاستیک ها در سال ۲۰۲۰، بیش از ۳/۴۵ میلیون تن پیش بینی شده است (Shen et al., 2010). این آمارها بیانگر جایگزینی پلیمرهای زیستی با پلیمرهای سنتزی به عنوان پلیمرهای امید بخش در صنعت غذا مطرح می باشند و در این بین زئین به عنوان پروتئین ذخیره ای ذرت (*Zea mays L.*) در تولید فیلم های زیست تخریب پذیر استقبال فراوان شده است (Ghanbarzadeh and Oromiehi, 2009). زئین به سبب حضور اسیدهای آمینه غیر قطبی به عنوان پلیمری آب گریز شناخته شده است (Chen et al., 2014). در بین منابع پروتئینی، زئین از نظر استحکام، شفافیت، آب گریز بودن، مقاوم در برابر روغن، قابلیت تولید فیلم خوب و خواص چسبندگی علاوه بر دسترسی آسان، به ویژه با توجه به گسترش صنعت بیواتانول، به عنوان پلیمری صنعتی مورد توجه قرار گرفته است (Biswas et al., 2009; Farrell et al., 2006; Singh, 2010). پتانسیل زئین به عنوان یک ماده بسته بندی از سوی برخی از محققان بررسی شده است (Arcanand Yemenicioğlu, 2013; Ghanbarzadeh et al., 2007; Ghanbarzadeh and Oromiehi, 2008; Lawton, 2002; Tihminlioglu, et al., 2010). با وجود خواص ممانعت کنندگی خوب فیلم زئین در برابر برخی

مواد استفاده شده در این تحقیق شامل زئین شرکت تولیدی مواد شیمیایی نیون (اوساکای ژاپن)، گلیسرول (اسکارلب، اسپانیا)، کارواکرول (سیگما، اسپانیا)، اتانول (اسکارلب، اسپانیا)، اسید استیک (اسکارلب، اسپانیا)، تیو فلورو استیک اسید، استونیتریل (اسکارلب، اسپانیا) و آب دیونیزه بودند و روش اجرای تحقیق نیز به شرح ذیل بود:

آماده سازی فیلم

محلول ۱۶ درصد وزنی - وزنی زئین، در اتانول ۸۰ درصد تهیه و به مدت یک ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه حرارت داده شد. در ادامه گلیسرول به عنوان نرم کننده (۰/۱۵ درصد وزن پلیمر) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کاملاً همگن شد. محلول حاصل روی صفحه شیشه‌ای پوشیده از ورقه نازک پلی پروپیلن پخش و در تونل مجهز به منبع حرارتی به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. فیلم زئین فعال نیز مطابق روش فوق آماده شد، با این تفاوت که پس از افزودن گلیسرول به مدت ۸ دقیقه عمل هم زدن صورت گرفت و در ادامه کارواکرول در دو سطح ۵ و ۱۰ درصد نسبت به وزن پلیمر اضافه و به مدت ۷ دقیقه هم زدن انجام شد (Kashiri et al b, 2016).

ارزیابی رهایش فیلم زیست فعال زئین در مدل های غذایی

رهایش ترکیبات فعال از فیلم با روش غوطه‌وری نمونه‌های وزن شده (۳ سانتی متر مربع) در الگوهای غذایی ارزیابی شد. در این تحقیق مطابق قوانین اتحادیه اروپا از دو الگوی غذایی اسید استیک (۳ درصد حجمی - حجمی) و اتانول (۱۰ درصد حجمی - حجمی) استفاده شد. نمونه‌ها آماده شده در تیوپ‌های استاندارد در دمای ۴، ۲۲ و ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری و طی آزمون با استفاده از شیکر در سرعت ۸۰ دور در دقیقه به آرامی تکان داده

لیزوزیم (Arcanand Yemenicioğlu, 2013; Mecitoğlu et al., 2006; Ünal et al., 2013)، اسید گالیک (Arcanand Yemenicioğlu, 2011) از سوی محققان بررسی شده است که بیانگر پتانسیل مطلوب زئین به عنوان زیست پلیمر مطلوب در بسته بندی فعال می باشد.

رهایش عوامل فعال از بستر پلیمری در بروز خواص ضد میکروبی نقش مؤثری ایفا می کند (LaCoste et al., 2005). از عوامل اثربخش در سینتیک رهایش ترکیبات ضد میکروبی می توان به ماهیت پلیمر، غلظت، وزن مولکولی و حلالیت اشاره کرد (Fernández-Pan et al., 2012; Nostro et al., 2015). علاوه بر موارد فوق، الگوی غذایی (Wang et al., 2014; Ramos, et al., 2014) و دما (Wang et al., 2015) در بروز خواص ضد میکروبی مؤثر گزارش شده اند. همچنین گفتنی است که ارزیابی مهاجرت عوامل فعال در محیط های واقعی غذایی به سبب حضور ترکیبات مختلف نظیر آب، کربوهیدرات، چربی، پروتئین، ویتامین، فیبر و مواد معدنی در یک ماده غذایی با مشکلاتی همراه است. بر این اساس، مطالعات مهاجرت در الگوهای شبیه سازی شده برای مواد غذایی انجام می گیرد (Manzanarez-López et al., 2011). با توجه به اهمیت نقش ماهیت محصول غذایی، پلیمر کاربردی و دمای انبارداری در عملکرد بسته بندی های ضد میکروبی در این تحقیق فیلم زیست فعال زئین تولید و رهایش کارواکرول در دو مدل غذایی (اسید استیک ۳ درصد و اتانول ۱۵ درصد) در دماهای مختلف (یخچال، محیط و شرایط گرم) مورد مطالعه و اطلاعات ضرایب انتشار کارواکرول از طریق مواد بسته بندی و نیز عملکرد ضد باکتریایی فیلم های فعال ارزیابی گردید.

مواد و روش ها

نگهداری) و ۶ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (شرایط یخچال) شمارشگردید و تفاضل لگاریتم تعداد باکتری اولیه تلقیح شده در هر میلی‌لیتر (نمونه شاهد) به لگاریتم تعداد باکتری‌ها در تماس با فیلم فعال به عنوان اندیس کاهش رشد لگاریتمی گزارش گردید (Kashiri et al, 2016 b).

نتایج و بحث

تأثیر الگوی غذایی و دما بر رهایش کارواکرو

درصد رهایش ترکیب فعال از فیلم زیست‌فعال زئین حاوی ۱۰ درصد کارواکرو در محلول اسید استیک ۳ درصد و اتانول ۱۰ درصد در دمای ۴، ۲۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی فواصل زمانی مشخص ارزیابی شدند. نتایج حاصل از درصد رهایش کارواکرو از فیلم زیست‌فعال زئین در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در محلول اسید استیک ۳ درصد در **Error! Unknown switch argument.** نشان داده شده است. درصد رهایش کارواکرو طی زمان افزایش نشان داد میانگین کارواکرو قابل اندازه‌گیری در محلول اتانول (۱۰ درصد) در ۶۰ دقیقه نخست آزمون برابر با $29/46 \pm 0/58$ قسمت در میلیون ($9/82 \pm 0/28$ درصد) بود. با افزایش زمان درصد رهایش کارواکرو از فیلم زیست‌فعال زئین در ۴۸۰ دقیقه $51/57 \pm 0/57$ قسمت در میلیون ($17/24 \pm 0/23$ درصد) تعیین شد. مقدار رهایش کارواکرو از فیلم زیست‌فعال زئین در محلول اسید استیک ۳ درصد طی ۶۰ دقیقه نخست آزمون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برابر با $7/60 \pm 0/22$ قسمت در میلیون ($80/66 \pm 1/05$ درصد) و در ۴۸۰ دقیقه به $1/99 \pm 80/66$ قسمت در میلیون ($26/66 \pm 0/27$ درصد) افزایش یافت (**Error! Unknown switch argument.**) رهایش ترکیباتی با وزن مولکولی کم بر اساس پدیده، نفوذ آب از

شدند. هر یک از فیلم‌ها در فواصل زمانی مشخص تا رسیدن به حالت تعادل از الگوی غذایی خارج و مایع حاصل فیلتر و غلظت اسانس رها شده در هر الگوی غذایی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ارزیابی شد. در این بررسی ستون کروماتوگرافی مورد استفاده C۱۸ معکوس در ابعاد (میلی‌متر) $3/9 \times$ (میلی‌متر) ۱۵۰ و قطر ذرات ۲۰ میکرون بود. فاز متحرک شامل استو نیتریل و آب در نسبت ۵۰:۵۰ (حجمی - حجمی) و حاوی ۰/۱ تیو فلورو استیک اسید بود. سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و حجم نمونه تزریقی ۲۰ میکرولیتر تنظیم شد. زمان لازم برای خروج اسانس ۶ دقیقه و شدت جذب در ۲۰۵ نانومتر خوانده شد. میانگین ضخامت فیلم‌ها در هر ارزیابی در سه تکرار تعیین شد (Kashiri et al., 2016 a).

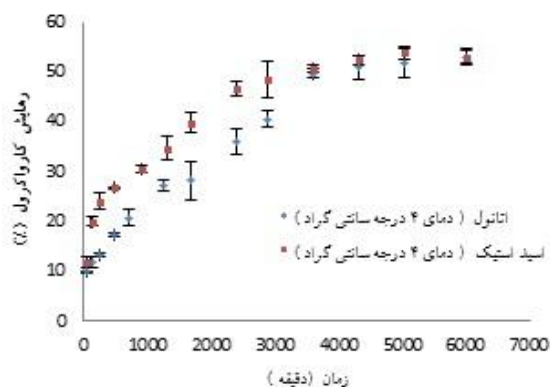
ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم زیست‌فعال زئین

۰/۲۵ گرم از فیلم حاوی کارواکرو در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول تریپتونوسوی برات در شرایط کاملاً استریل قرار داده شد و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی در مرحله رشد لگاریتمی به آن اضافه گردید. برای آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی، ابتدا سلول باکتریایی لیستریا مونوسایتوزنز و /شرشیا کلامی تهیه شده از مرکز کلکسیون میکروبی اسپانیا در مرحله سکون به محلول تریپتونوسوی برات اضافه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به مرحله رشد لگاریتمی نگهداری گردید. به‌طور متداول دانشیته نوری سلول میکروبی ۰/۲ در طول موج ۶۰۰ نانومتر مبنای مرحله رسیدن رشد لگاریتمی و تعداد باکتری شمارش شده به عنوان شاهد میکروبی در نظر گرفته شد. در ادامه تعداد باکتری‌ها محلول آماده شده پس از ۱۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد (شرایط نامساعد

بود (Kashiri, 2016). بنابراین با توجه به این دستاورد، افزایش سرعت رهایش کارواکرول در محیط اسید استیک را می‌توان به پدیده تغییر ساختاری ناشی از اثر اسید بر پروتئین نسبت داد.

بررسی اثر الگوی غذایی بر رهایش نشان داد که سینتیک رهایش کارواکرول از فیلم زیست‌فعال زئین در محلول اسید استیک ۳ درصد و محلول اتانول ۱۰ درصد وابسته به زمان بود (**Error! Unknown switch**). سرعت رهایش کارواکرول در ابتدا زیاد و پس از سپری شدن زمان کاهش و در نهایت با محیط به تعادل رسید. مقدار و سینتیک رهایش ترکیبات علاوه بر الگوی غذایی و زمان می‌تواند تحت تأثیر درجه حرارت قرار گیرد (Buonocore et al., 2003; Kurek et al., 2012).

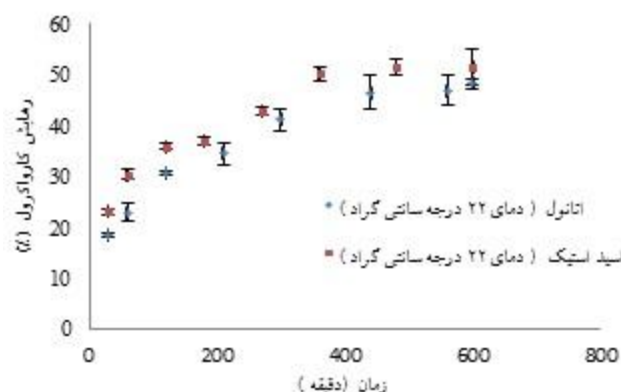
محلول آبی به درون بستر پلیمری، افزایش فاصله ماکرو مولکول‌ها در بستر پلیمر و نفوذ ماده فعال از آن به درون محیط آبی اطراف فیلم تا رسیدن به نقطه تعادلی تشریح می‌گردد (Mastromatteo et al., 2009). براساس این سازوکار، رهایش اسانس پونه کوهی و نعناع در بستر پلیمری آب پنیر (Oussalah et al., 2004) اسانس بستر پلیمری کیتوزان (Pranoto et al., 2005)، اسانس پونه‌کوهی و رزماری در بستر آب پنیر (Seydimand Sarikus., 2006) تفسیر شده است. علاوه بر این، مطالعات شکل‌شناسی پیشین فیلم زئین نشان داد که ساختار فیلم تحت تأثیر محیط‌های آبی با ضریب تفکیک یونی متفاوت قرار داشت به طوری که در محیط‌های اسیدی در مقایسه با محیط اتانولی ساختار فیلم زئین بسیار متخلخل‌تر



شکل ۱ سینتیک رهایش کارواکرول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در الگوی غذایی

سینتیک رهایش کارواکرول در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد در محلول اسید استیک ۳ درصد و اتانول ۱۰ درصد در **Error! Unknown switch argument** نشان داده شده است. میانگین کارواکرول اندازه‌گیری شده در الگوی غذایی اتانولی در ۶۰ دقیقه ابتدایی آزمون برابر با مقایسه با ۴ درجه سانتی‌گراد حدود ۷/۰۵ درصد بیشتر بود.

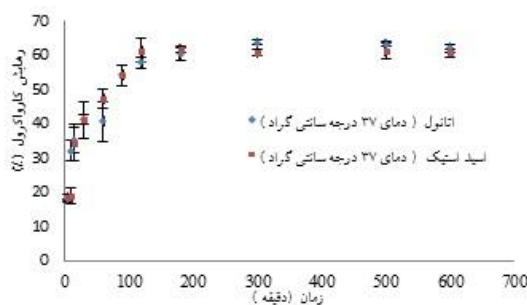
سینتیک رهایش کارواکرول در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد در محلول اسید استیک ۳ درصد و اتانول ۱۰ درصد در **Error! Unknown switch argument** نشان داده شده است. میانگین کارواکرول اندازه‌گیری شده در الگوی غذایی اتانولی در ۶۰ دقیقه ابتدایی آزمون برابر با مقایسه با ۴ درجه سانتی‌گراد حدود ۷/۰۵ درصد بیشتر بود.



شکل ۲ سینتیک رهایش کارواکرول در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد در الگوی غذایی

رهایش کارواکرول تا رسیدن به نقطه تعادل نیز در زمان ۹۰۰ دقیقه به ترتیب برابر $5/4 \pm 188/91$ قسمت در میلیون (۶۱/۴۸ درصد) تعیین شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که افزایش دما سبب افزایش سرعت رهایش کارواکرول و کاهش زمان لازم برای رسیدن به تعادل ترمودینامیکی شد که این شرایط متأثر از پدیده افزایش سرعت جذب آب و تورم بستر پلیمری زئین بود.

سینتیک رهایش کارواکرول از فیلم زیست فعال زئین در الگوی غذایی اسیدی و اتانولی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد ارزیابی شد و نتایج حاصل در **Error!** **Unknown switch argument.** نشان داده شده است. مقدار رهایش کارواکرول اندازه گیری شده در محیط اتانولی در ۳۰ دقیقه نخست برابر با $3/25 \pm 145/78$ قسمت در میلیون (۴۴/۴۷ درصد) بود. حداکثر مقدار



شکل ۳ سینتیک رهایش کارواکرول در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در الگوی غذایی

دمای ۴ درجه سانتی گراد از حیث رهایش در زمان طولانی، در مقایسه با دمای ۲۲ و ۳۷ درجه سانتی گراد رفتار مطلوب تری نشان داد. براساس مشاهدات عینی رهایش کارواکرول از فیلم زئین در الگوهای غذایی مایع مطالعه شده، می توان بیان داشت که دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منجر به عدم حفظ انسجام بافتی و حالت

سینتیک رهایش کارواکرول تا رسیدن به تعادل در محیط های آبی به صورت لگاریتمی افزایش یافته است (شکل های ۱، ۲ و ۳). مقایسه رفتار رهایش کارواکرول از بستر پلیمر زئین در دماهای مختلف حاکی از تأثیر دما، زمان و الگوی غذایی بر سرعت رهایش ترکیب فعال بود. به طوری که فیلم زئین حاوی ۱۰ درصد کارواکرول در

افزایش آب‌گریزی سطح فیلم زئین و در نتیجه منجر به تعامل کمتر با محیط‌های آبی گردد. از طرفی دیگر، پلیمر زئین از قابلیت خوبی در به دام انداختن کارواکرول در زنجیره پلیمری برخوردار است.

تعیین ضریب نفوذ پذیری کارواکرول در فیلم فعال زئین
یکی از روش‌های تعیین ضریب انتشار (D) و تجزیه تحلیل یک بعدی رهایش ترکیبات فعال از سطح مسطح در حجمی مشخص، استفاده از قانون دوم فیک پیشنهاد شده است (Crank, 1975). با توجه به شرایط آزمایش و ضمن ثابت در نظر گرفتن ضخامت فیلم (L)، با استفاده از معادله (۱) ضریب انتشار (D) مشخص می‌گردد.

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-\frac{D(2n+1)^2 \pi^2 t}{L^2}\right] \quad (1)$$

در این معادله M_t میلی‌گرم کارواکرول منتشر شده در زمان مشخص t است و M_{∞} میلی‌گرم کارواکرول در نقطه تعادلی است.

فیزیکی فیلم زیست‌فعال زئین گردید به طوری که تغییرات متأثر از دما، نسبت بهالگوی غذایی بر ساختار فیلم مشهودتر بود. مقایسه نتایج رهایش حاصل از مطالعه حاضر با گزارش سایر ترکیبات فعال از بستر پلیمرهای آبدوست نظیر کیتوزان (Higuera et al., 2013)، آلژینات-پکتین (Bierhalz et al., 2012)، بستر کوپلیمر اتیلن وینیل الکل (Muriel-Galet et al., 2014) می‌توان دریافت که افزایش آبدوستی پلیمر به سبب افزایش تعامل بیشتر در الگوی غذایی قطبی منجر به افزایش سرعت رهایش ترکیبات فعال و کاهش زمان لازم برای رسیدن به حداکثر رسیدن غلظت رهایش در محیط می‌گردد. علاوه بر این میزان به دام افتادن عوامل فعال در پلیمر می‌تواند سبب افزایش زمان خروج ترکیبات به دلیل طولانی شدن مسیر رهایش گردد (Wang et al., 2015). در این باره زئین در مقایسه با پلیمرهای آبدوست تعامل کمتری در الگوی غذایی قطبی داشت، ضمن آن‌که کارواکرول به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی با ماهیت آب‌گریز می‌تواند سبب

جدول ۱ تعیین مقدار رهایش و ضریب نفوذ پذیری ترکیب فعال در شرایط دمایی مختلف و ارزیابی انرژی اکتیواسیون فیلم زئین حاوی کارواکرول

انرژی اکتیواسیون (کیلو ژول بر مول)		ضریب نفوذ پذیری کارواکرول ($D \times 10^{-10}$ مترمربع بر ثانیه)		رهایش کارواکرول (درصد)		دما (درجه سانتی‌گراد)
اسید استیک (۳ درصد)	اتانول (۱۰ درصد)	اسید استیک (۳ درصد)	اتانول (۱۰ درصد)	اسید استیک (۳ درصد)	اتانول (۱۰ درصد)	
		۰/۲۳	۰/۱۷	۵۳/۱۴	۵۲/۳	۴
۷۹/۷۳	۷۲/۷۵	۱/۲۰	۰/۹۸	۴۸/۲۳	۵۱/۷۱	۲۲
		۶/۷۰	۶/۵۴			۳۷

به ترتیب ۰/۲۳، ۱/۲۰ و ۶/۷۰ مترمربع بر ثانیه تعیین گردید. مقایسه نتایج به دست آمده در شرایط مختلف بیانگر نقش درجه حرارت و الگوی غذایی بر ضریب نفوذ پذیری کارواکرول در فیلم زئین بود. ضریب نفوذ پذیری حاصل از زئین حاوی کارواکرول در هر دو الگوی غذایی ارزیابی

ضریب نفوذ کارواکرول در تماس با محلول اتانول در دمای ۴، ۲۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۰/۱۷، ۰/۹۸ و ۶/۵۴ مترمربع بر ثانیه بود. همان طوری که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، ضریب نفوذ پذیری کارواکرول در محلول اسید استیک در شرایط دمایی مشابه محلول اتانولی

argument. آمده است. E_a انرژی لازم برای باز کردن زنجیره پلیمریه منظور اجازه خروج ترکیب مورد نظر است (Limmand Hollifield., 1996). آنالیز E_a جدول (۱) نشان دهنده انرژی لازم در محلول اسید استیک ۳ درصد (۷۲/۷۵ کیلوژول بر مول) در مقایسه با محلول اتانول ۱۰ درصد (۷۹/۷۳ کیلوژول بر مول) کمتر است. ضریب همبستگی بالا ($R^2 > 0.99$) (**Error! Unknown switch**) **argument.**، بیانگر قابلیت توصیف تأثیر دما بر نفوذپذیری کارواکروول در الگوهای غذایی با استفاده از معادله آرنیوس است. براساس تحقیقات پیشین محقق، تغییرات شکل شناسی فیلم زئین به ویژه افزایش فواصل زنجیره پلیمری در محلول اسید استیک در مقایسه با محلول اتانول مشاهده شده بود. از این رو، انرژی فعال سازی یا به عبارتی انرژی لازم برای غلبه بر موانع پر انرژی در رهایش کارواکروول در الگوی غذایی اسید استیک ۳ درصد در سطح پایین تری قرار داشت. مقایسه انرژی فعال سازی حاصل از فیلم زئین فعال حاوی کارواکروول و فیلم فعال کیتوزان- وینیل الکل حاوی نایسین (Wang et al., 2015). حاکی از مقدار انرژی لازم برای رهایش ترکیب مؤثر از فیلم زئین فعال بیش از کیتوزان- وینیل الکل بود. علت این پدیده را می توان به ساختار مستحکم زئین به دلیل اسیدهای آمینه غیرقطبی آن نسبت داد. از این رو می توان دریافت که زمان رهایش طولانی تری از ترکیبات فعال در فیلم زئین در مقایسه با فیلم فعال کیتوزان- وینیل الکل رهایش انتظار داشت. ضمن آن که بسترهای پلیمری آب گریز در مقایسه با بسترهای آبدوست محبوس شدن بیشتر ترکیبات فعال و عدم رهایش کامل وجود خواهد داشت.

شده در مقایسه با مقادیر گزارش شده برای سایر عوامل ضدمیکروبی مانند تیمول در فیلم زئین (Del Nobile et al., 2008)، اسید اسکوربیک و تیروزین در بستر پلیمری استات سلولز (Gemiliet al., 2010)، اسید آسکوربیک، اسید فرولیک، کوئرستین و عصاره چای سبز در بستری از کopolymer اتیلن وینیل الکل (López-de-Dicastillo et al., 2012) و نیز نایسین در بستر کیتوزان-اتیلن وینیل الکل (Wang et al., 2015) در سطح پایین تری قرار داشت.

انرژی لازم برای آغاز واکنش به انرژی اکتیواسیون (E_a) اطلاق و مقدار آن با واحد کیلوژول بر مول بیان می شود. در بیشتر واکنش ها شیمیایی با افزایش دما، سرعت واکنش زیاد می شود، از این رو ثابت های سرعت واکنش به شدت به دما وابسته اند که این وابستگی در واکنش های مختلف متفاوت است. بهترین و مناسب ترین رابطه بین ثابت سرعت یک واکنش با دما از سوی آرنیوس ارائه شده است. با استفاده از معادله آرنیوس (معادله ۲)، رابطه بین ضریب انتشار و دما تعیین و از طریق آن انرژی فعال سازی محاسبه گردید.

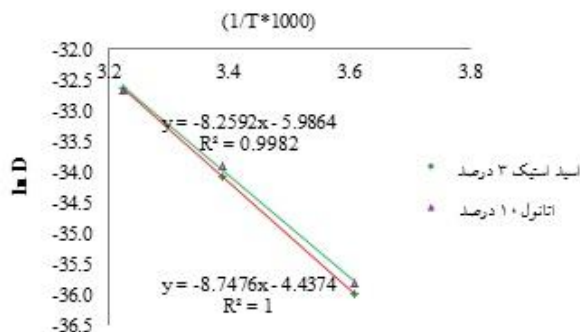
$$D = D_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (\text{معادله } 2)$$

E_a انرژی فعال سازی (کیلوژول بر مول)، T دمای محیط رهایش (کلوین) و R ثابت جهانی گازها برابر با 8.3143 (کیلو ژول مول) (D_0 مترمربع بر ثانیه) عرض از مبدأ است که مقدار آن ثابت می باشد. با گرفتن لگاریتم از طرفین معادله (۲)، معادله به صورت خطی در خواهد آمد که با رسم نمودار $\ln D_{\text{eff}}$ مقابل $\frac{1}{T}$ خطی با شیب دست خواهد آمد که براساس آن انرژی فعال سازی محاسبه گردید:

$$\ln D_{\text{eff}} = \ln D_0 - \frac{E_a}{RT} \quad (\text{معادله } 3)$$

انرژی فعال سازی برای رهایش کارواکروول با استفاده از

Error! Unknown switch در برازش خطی محاسبه در



شکل ۴ ارزیابی نفوذ پذیری رهایش کارواکرول از فیلم زین فعال حاوی ۱۰ درصد کارواکرول در محدوده دمای ۴ و ۳۷ درجه سانتی گراد در محلول استیک (۳ درصد) و اتانول (۱۰ درصد)

سانتی گراد جمعیت لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای تلقیح شده در محلول حاوی فیلم زین فاقد حاوی ۵ درصد کارواکرول به ترتیب حاوی $6/98 \pm 0/01$ و $6/27 \pm 0/04$ (LogCFU/ml) شمارش شد. با توجه به شمارش تعداد باکتری در نمونه شاهد (فیلم زین فاقد کارواکرول)، مقدار کاهش لگاریتمی لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای به ترتیب $1/51$ و $2/21$ لگاریتم تعیین شد. کارواکرول ترکیبی با ساختار فنلی است که فعالیت ضد میکروبی آن به حلقه آروماتیک فنلی و گروه هیدروکسیل آن نسبت داده می شود (Arfa et al., 2006). سازوکار عمل کارواکرول بر اساس تأثیر لایه لپیدی غشای سیتوپلاسمی باکتریایی و از دست دادن انسجام بافتی، افت نیروی پروتون محرکه و در نتیجه نشت مواد سلولی مانند یون، ATP و اسید نوکلئیک از سلول می باشد (Ultee et al., 2002). همچنین اثر ضد میکروبی کارواکرول بیش از سایر ترکیبات فعال نظیر اوزنول و منتول است که این امر می تواند به توانایی کارواکرول در تشکیل پیوندهای هیدروژنی و آزادسازی پروتون علاوه بر امکان تجمع

ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم زیست فعال زین حاوی کارواکرول

با وجود استفاده از مواد نگهدارنده برای کنترل میکروارگانیسم های عامل فساد و عفونت مواد غذایی، امنیت غذایی چالشی مهم در صنعت است. در حال حاضر استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی، جایگزینی سالم و مؤثر برای مواد شیمیایی می باشند. در تحقیق اثر بازدارندگی فیلم های زین حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول در محیط کشت تریپتوز سوی برات علیه لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای در دمای ۴ و ۳۷ درجه سانتی گراد به ترتیب پس از ۵ روز و ۱۸ ساعت بررسی شد. نتایج ارزیابی اثرهای بازدارندگی فیلم های زیست کامپوزیت زین حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در محیط کشت تریپتوز سوی برات حاکی از اثر بخش بودن فیلم های فعال در برابر لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای بود. همان طوری که در **Error! Unknown switch argument.** نشان داده شده است، در دمای ۳۷ درجه

مونوسیتوژنز بیش از ۱/۵ بود. با افزایش غلظت کارواکروول در فیلم، میزان کاهش اندیس رشد لگاریتمی لیستریا مونوسیتوژنز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد حدود ۶۸/۷۵ درصد افزایش یافت (جدول ۲). گفتنی است که حساسیت /شرشیا کلای نسبت به کارواکروول بیشتر از لیستریا مونوسیتوژنز بود. به طوری که در غلظت ۱۰ درصد بازدارندگی کامل علیه /شرشیا کلای مشاهده شد در حالی که اندیس کاهش لگاریتمی علیه لیستریا مونوسیتوژنز در دمای ۴ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۴/۸۱ بود که از این حیث با یافته‌های پیشین (Hao et al., 1998; Muriel-Galet et al., 2012; Wan et al., 1998) مطابقت داشت. در برابر برخی از محققان بازدارندگی کارواکروول (ترکیب اصلبرخی از اسانس‌های گیاهی) در برابر رشد باکتری‌های گرم مثبت را مؤثرتر گزارش کردند (Burt 2004; Fernández-Pan et al., 2012) علاوه بر این، در گزارش Deans and Ritchie (۱۹۸۷) تفاوتی در حساسیت باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نسبت به کارواکروول مشاهده نشده است. از طرفی نیز Ramos و همکاران (2014) گزارش کردند که شرایط آزمون میکروبی در افزایش یا کاهش مقاومت میکروارگانسیم مشخص در برابر ترکیبات فعال نقش بسیار مهمی ایفا می‌کند (Ramos et al., 2014). بنابراین تفاوت مقاومت باکتری‌های گرم مثبت و منفی نسبت به ترکیب مشخص در گزارش‌های علمی را می‌توان توجیه کرد و براساس نتایج در این شرایط کنونی این تحقیق به طور مطلق نمی‌توان باکتری‌های گرم منفی در برابر کارواکروول را حساس‌تر از باکتری‌های گرم مثبت معرفی کرد.

این ترکیب در غشا به سبب ماهیت هیدروفوبی قوی آن نسبت داده شود (Fernández-Pan et al., 2015). با افزایش غلظت اسانس به ۱۰ درصد، مقدار کاهش اندیس لگاریتمی فیلم زیست‌فعال در برابر لیستریا مونوسیتوژنز/شرشیا کلای و به ترتیب ۴/۸۱ لگاریتم و بازدارندگی کامل تعیین شد. با افزایش غلظت کارواکروول مقدار بیشتری از ترکیبات ترپنوئیدی از غشا عبور خواهند کرد و پیش‌بینی می‌شود که این امر می‌تواند منجر به افزایش اختلال فیزیکی در پایداری فسفولیپید و کاهش تعداد سلول زنده گردد. در مقایسه نتایج کاهش اندیس لگاریتمی فیلم فعال زئین حاوی کارواکروول علیه لیستریا مونوسیتوژنز و /شرشیا کلای با فیلم‌های اتیلن وینیل الکل حاوی لوریل اسید آرژنین اتیل استر (به عنوان ترکیب ضد میکروبی سنتزی قوی) (Muriel-Galet et al., 2012) و عصاره کاکائو در بستر وینیل الکل (Calatayud et al., 2013) و نیز زئین حاوی آویشن شیرازی (Kashiri et al., 2016) می‌توان بیان داشت که در غلظت یکسان از ترکیبات فعال استفاده شده در تحقیقات فوق، خواص بازدارندگی کارواکروول بیش از عصاره کاکائو و آویشن شیرازی و اثربخشی مشابه لوریل آرژنین اتیل استر به ویژه در غلظت ۱۰ درصد این ترکیب فعال بود.

بخش دیگری از ارزیابی‌ها، بررسی خواص ضد میکروبی فیلم زیست‌فعال زئین حاوی کارواکروول در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) و شرایط نامناسب نگهداری (۳۷ درجه سانتی‌گراد) در محیط آبی بود. همان طوری که در جدول ۲ و ۴ نشان داده شده است، اندیس کاهش رشد لگاریتمی فیلم زئین حاوی ۵ درصد کارواکروول علیه /شرشیا کلای و لیستریا

جدول ۲ ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم زیست فعال زئین حاوی کارواکرول در برابر *اشرشیا کلاسی* و *لیستریا مونوسایتوژنز* در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد (بیان به صورت لگاریتم تعداد واحد کلنی (Log(CFU/ml) و اندیس کاهش لگاریتمی (LRV)

لیستریا مونوسایتوژنز		اشرشیا کلاسی		نوع فیلم
LRV	Log (CFU/ml)	LRV	Log (CFU/ml)	
	۸/۴۹ ± ۰/۱۷		۸/۴۹ ± ۰/۱۲	نمونه شاهد (کنترل میکروبی)
۱/۵۱	۶/۹۸ ± ۰/۰۱	۲/۲۱	۶/۲۷ ± ۰/۰۶	فیلم زئین حاوی ۵ درصد کارواکرول
	۷/۶۲ ± ۰/۰۴		۸/۵۱ ± ۰/۳۶	نمونه شاهد (کنترل میکروبی)
۴/۸۱	۲/۸۲ ± ۰/۶۱	بازدارندگی کامل	-	فیلم زئین حاوی ۱۰ درصد کارواکرول

جدول ۳ ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم زیست فعال زئین حاوی کارواکرول در برابر *اشرشیا کلاسی* و *لیستریا مونوسایتوژنز* در دمای ۴ درجه سانتی گراد (بیان به صورت لگاریتم تعداد واحد کلنی (Log(CFU/ml) و اندیس کاهش لگاریتمی (LRV)

لیستریا مونوسایتوژنز		اشرشیا کلاسی		نوع فیلم
LRV	Log (CFU/ml)	LRV	Log (CFU/ml)	
	۸/۵۷ ± ۰/۰۶		۷/۶۷ ± ۰/۲۱	نمونه شاهد (کنترل میکروبی)
۱/۶۷	۶/۹۵ ± ۰/۰۴	۲/۰۲	۵/۶۵ ± ۰/۱۰	فیلم زئین حاوی ۵ درصد کارواکرول
	۸/۹۵ ± ۰/۰۳		۶/۲۰ ± ۰/۷۷	نمونه شاهد (کنترل میکروبی)
۳/۱۲	۵/۸۳ ± ۰/۲۰	بازدارندگی کامل		فیلم زئین حاوی ۱۰ درصد کارواکرول

نتیجه گیری

افزودنی‌های سنتزی در صنعت بسته بندی مواد غذایی توصیه می‌گردد. فیلم زیستی زئین حاوی ۱۰ درصد کارواکرول از بیشترین قدرت ضد میکروبی برای پاسخ به تقاضای مصرف کننده و تضمین سلامت خواهد بود.

منابع

Abbaszadeh, S., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Khosravi, A. R. and Abbaszadeh, A. 2014. Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, 24(2): 51-56.

Arcan, Land Yemenicioğlu, A. 2011. Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. *Food research international*, 44(2): 550-556.

رهایش کارواکرول از فیلم زئین فعال ارزیابی و ضرایب نفوذپذیری مؤثر با استفاده از الگوی ریاضی براساس قانون دوم فیک برآورد شد. سرعت رهایش کارواکرول وابسته درجه حرارت، زمان و الگوی غذایی می‌باشد. انرژی فعال سازی پایین تر فیلم زئین فعال در الگوی غذایی اسیدی در مقایسه با الگوی غذایی اتانولی تأیید کننده سرعت رهایش بالاتر کارواکرول در الگوی غذایی اسیدی است. فیلم زئین حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول قادر به رهایش مطلوب کارواکرول برای بروز خواص ضد باکتریایی علیه *اشرشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* بود. افزایش غلظت کارواکرول، سبب بهبود خواص ضد باکتریایی فیلم زئین فعال گردید. براساس این نتایج، پلیمر زئین و ترکیب فعال کارواکرول به عنوان جایگزین‌هایی امیدبخش پلیمرهای



Scientific - Research Journal

Vol. 6, No. 1, Spring 2017

Chen, Y., Ye, R. and Liu, J. 2014. Effects of different concentrations of ethanol and isopropanol on physicochemical properties of zein-based films. *Industrial Crops and Products*, 53: 140-147.

Arcan, Land Yemenicioğlu, A. 2013. Development of flexible zein-wax composite and zein-fatty acid blend films for controlled release of lysozyme. *Food research international*, 51(1): 208-216.

Crank, J. 1975. *The mathematics of diffusion*. Oxford University Press, Oxford, UK

Arfa, A.B., Chrakabandhu, Y, Preziosi-Belloy, L, Chalier, P. and Gontard, N. 2007. Coating papers with soy protein isolates as inclusion matrix of carvacrol. *Food Research International*, 40(1): 22-32.

Deans, S.G. and Ritchie, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5(2): 165-180.

Del Nobile, M.A., Conte, A., Incoronato, A. L. and Panza, O. 2008. Antimicrobial efficacy and release kinetics of thymol from zein films. *Journal of Food Engineering*, 89(1): 57-63.

Balaguer, M., Fajardo, P., Gartner, H., Gomez-Estaca, J., Gavara, R., Almenar, E. and Hernandez-Munoz, P. 2014. Functional properties and antifungal activity of films based on gliadins containing cinnamaldehyde and natamycin. *International Journal of Food Microbiology*, 173: 62-71.

Farrell, A. E., Plevin, R.J, Turner, B.T, Jones, A. D, O'hare, M. and Kammen, D.M. 2006. Ethanol can contribute to energy and environmental goals. *Science*, 311: 506-508.

Bierhalz, A., da Silva, M.A. and Kieckbusch, T. 2012. Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications. *Journal of Food Engineering*, 110(1): 18-25.

Fernández-Pan, I., Maté, J. I., Gardrat, C. and Coma, V. 2015. Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films. *Food Hydrocolloids*, 51: 60-68.

Biswas, A., Selling, G. W., Woods, K. K. and Evans, K. 2009. Surface modification of zein films. *Industrial Crops and Products*, 30(1): 168-171.

Fernández-Pan, I., Royo, M. and Ignacio Maté, J. 2012. Antimicrobial activity of whey protein isolate edible films with essential oils against food spoilers and foodborne pathogens. *Journal of Food Science*, 77(7): M383-M390.

Buonocore, G. G., Del Nobile, M. A., Panizza, A., Corbo, M. R. and Nicolais, L. 2003. A general approach to describe the antimicrobial agent release from highly swellable films intended for food packaging applications. *Journal of Controlled Release*, 90(1): 97-107

Gemili, S., Yemenicioğlu, A. and Altinkaya, S. A. (2010). Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties. *Journal of Food Engineering*, 96(3): 325-332.

Burt, Sara. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253.

Ghanbarzadeh, B., Musavi, M., Oromiehie, A. R., Rezayi, K., Razmi Rad, E. and Milani, J. 2007. Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability, surface energy and microstructure properties of zein films. *LWT - Food Science and Technology*, 40(7): 1191-1197.

Calatayud, M., López-de-Dicastillo, C., López-Carballo, G., Vélez, D., Hernández Muñoz, P. and Gavara, R. 2013. Active films based on cocoa extract with antioxidant, antimicrobial and biological applications. *Food Chemistry*, 139(1-4): 51-58.

Ghanbarzadeh, B. and Oromiehi, A. R. 2008. Biodegradable biocomposite films based on whey

- Kashiri, M. 2016.** Evaluation antibacterial activity of *Zataria multiflora* Boiss. Effect of food simulants and temperature condition on releasing of Lauroyl-L-arginine ethyl ester mono hydrochloride and antimicrobial properties of zein-based films. *Electronic Journal of Food Production and Preservation (in Persian)*, 7(2): 59-74.
- Kurek, M., Ščetar, M., Voilley, A., Galić, K. and Debeaufort, F. 2012.** Barrier properties of chitosan coated polyethylene. *Journal of Membrane Science*, 403-404: 162-168.
- LaCoste, A., Schaich, K. M., Zumbrennen, D. and Yam, K. L. 2005.** Advancing controlled release packaging through smart blending. *Packaging Technology and Science*, 18(2): 77-87.
- Lawton, J. W. 2002.** Zein: A history of processing and use. *Cereal Chemistry*, 79(1): 1-18.
- Limm, W. and Hollifield, H. C. 1996.** Modelling of additive diffusion in polyolefins. *Food Additives & Contaminants*, 13(8): 949-967.
- López-de-Dicastillo, C., Gómez-Estaca, J., Catalá, R., Gavara, R. and Hernández-Muñoz, P. 2012.** Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. *Food Chemistry*, 131(4): 1376-1384.
- Lungu, B. Johnson, M. 2005.** Fate of *Listeria monocytogenes* inoculated onto the surface of model turkey frankfurter pieces treated with zein coatings containing nisin, sodium diacetate, and sodium lactate at 4 C. *Journal of Food Protection*, 68(4): 855-859.
- Manzanarez-López, F., Soto-Valdez, H., Auras, R. and Peralta, E. 2011.** Release of α -Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Engineering*, 104(4): 508-517.
- Mastromatteo, M., Barbuzzi, G., Conte, A. and Del Nobile, M. A. 2009.** Controlled release of thymol from zein based film. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2): 222-227.
- Mecitoğlu, Ç., Yemencioğlu, A., Arslanoğlu, A., Elmacı, Z. S., Korel, F. and Çetin, A. E. 2006.** protein and zein: Barrier, mechanical properties and AFM analysis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(2): 209-215.
- Ghanbarzadeh, B. and Oromiehi, A. R. 2009.** Thermal and mechanical behavior of laminated protein films. *Journal of Food Engineering*, 90(4): 517-524.
- Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J. and Galotto, M. J. 2011.** The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2): 144-150.
- Hao, Y., Brackett, R. and Doyle, M. 1998.** Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated, cooked poultry. *Food Microbiology*, 15(4): 367-378.
- Higuera, L., López-Carballo, G., Cerisuelo, J. P., Gavara, R. and Hernández-Muñoz, P. 2013.** Preparation and characterization of chitosan/HP- β -cyclodextrins composites with high sorption capacity for carvacrol. *Carbohydrate polymers*, 97(2): 262-268.
- Higuera, L., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R. and Rollini, M. 2013.** Development of a novel antimicrobial film based on chitosan with LAE (ethyl-N α -dodecanoyl-L-arginate) and its application to fresh chicken. *International Journal of Food Microbiology*, 165(3): 339-345.
- Hoffman, K., Han, I. and Dawson, P. 2001.** Antimicrobial effects of corn zein films impregnated with nisin, lauric acid, and EDTA. *Journal of Food Protection*, 64(6): 885-889.
- Kashiri, M., Cerisuelo, J. P., Domínguez, I., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P. and Gavara, R. 2016a.** Novel antimicrobial zein film for controlled release of lauroyl arginate (LAE). *Food Hydrocolloids*, 61: 547-554
- Kashiri, M., Maghsoudlou, Y., Khomeiri, M. and Behrooz, R. 2016b.** Evaluation antibacterial activity of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil and Zein bioactive film. *Journal of food science, (in Persian)*, 50 (13): 195-206.

**Scientific - Research Journal**

polypropylene active packaging films. *LWT - Food Science and Technology*, 58(2): 470-477.

Seydim, A. and Sarikus, G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 39(5): 639-644.

Shen, L., Worrell, E. and Patel, M. 2010. Present and future development in plastics from biomass. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 4(1): 25-40.

Shojaee-Aliabadi, S., Mohammadifar, M. A., Hosseini, H., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S. M., Haghshenas, M. and Khaksar, R. 2014. Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with Zataria multiflora essential oil and nanoclay. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69: 282-289.

Silva-Angulo, A. B., Zanini, S. F., Rosenthal, A., Rodrigo, D., Klein, G. and Martínez, A. 2015. Combined effect of carvacrol and citral on the growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* and on the occurrence of damaged cells. *Food control*, 53: 156-162.

Singh, N., Georget, D. M. R., Belton, P. S. and Barker, S. A. 2010. Physical properties of zein films containing salicylic acid and acetyl salicylic acid. *Journal of Cereal Science*, 52(2): 282-287.

Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S. and Dalla Rosa, M. 2008. Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(12): 634-643.

Sorrentino, A., Gorrasi, G. and Vittoria, V. 2007. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 18(2): 84-95.

Tihminlioglu, F., Atik, İ. D. and Özen, B. (2010). Water vapor and oxygen-barrier performance of corn-zein coated polypropylene films. *Journal of Food Engineering*, 96(3): 342-347.

Vol. 6, No. 1, Spring 2017

Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging. *Food Research International*, 39(1): 12-21.

Muriel-Galet, V., Cerisuelo, J. P., López-Carballo, G., Lara, M., Gavara, R. and Hernández-Muñoz, P. 2012. Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2): 195-201.

Muriel-Galet, V., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P. and Gavara, R. 2014.

Characterization of ethylene-vinyl alcohol copolymer containing lauril arginate (LAE) as material for active antimicrobial food packaging. *Food Packaging and ShelfLife*, 1(1): 10-18.

Nampoothiri, K. M., Nair, N. R. and John, R. P.

2010. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresource Technology*, 101(22): 8493-8501.

Nostro, A., Scaffaro, R., D'Arrigo, M., Botta, L., Filocamo, A., Marino, A. and Bisignano, G. 2012. Study on carvacrol and cinnamaldehyde polymeric films: mechanical properties, release kinetics and antibacterial and antibiofilm activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(4): 1029-1038.

Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L.

and Lacroix, M. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(18), 5598-5605.

Pranoto, Y., Rakshit, S. K. and Salokhe, V. M. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT - Food Science and Technology*, 38(8): 859-865.

Ramos, M., Beltrán, A., Peltzer, M., Valente, A. J. M. and Garrigós, M. d. C. 2014. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from

Wan, J., Wilcock, A. and Coventry, M. 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84(2): 152-158.

Wang, H., Zhang, R., Zhang, H., Jiang, S., Liu, H., Sun, M. and Jiang, S. 2015. Kinetics and functional effectiveness of nisin loaded antimicrobial packaging film based on chitosan/poly(vinyl alcohol). *Carbohydrate polymers*, 127: 64-71.

Ultee, A., Bennik, M. and Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4): 1561-1568.

Ünalın, İ. U., Arcan, I., Korel, F. and Yemeniciođlu, A. 2013. Application of active zein-based films with controlled release properties to control *Listeria monocytogenes* growth and lipid oxidation in fresh Kashar cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20: 208-214.



Evaluation of antimicrobial properties and diffusion of carvacrol from active zein films for food packaging applications

Mahboobeh Kashiri^{1*}, Y. maghsoudlou²

1- Assistant Prof., Dept. of Food Technology, Faculty of Food science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Professor, Department of Food Technology, Faculty of Food science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received: 18.10.2016 Accepted: 06.02.2017

*Corresponding author: Kashiri.m@gmail.com

Abstract;

The aim of this study was assess the application of carvacrol at 5 and 10% levels in production of the zein film and evaluation of its antimicrobial properties, and also kinetics release of carvacrol from active film (10% w/w) in food simulants of acetic acid and ethanol at different temperatures by using high performance liquid chromatography from. Diffusion and the activation energy (E_a) values of zein film containing 10% carvacrol were calculated based on Fick's second law. Results showed that by increasing temperature from 4 to 37°C, the extent of releasing after 60 min in acid simulant (9.82 ± 1.34 to 40.78 ± 0.06 %), and ethanol simulant (11.80 ± 1.34 to 47.44 ± 0.06 %) was increased. The diffusion value of carvacrol at 4, 22 and 37°C in acetic acid simulant was determined 0.23, 1.20 and 6.70 m.s, respectively. The E_a value for carvacrol diffusion in 3% acetic acid simulant ($72.75 \text{ kJ mol}^{-1}$) was lower than in ethanol simulant ($79.73 \text{ kJ mol}^{-1}$). The antibacterial activity of zein films was studied against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* at 4 and 37°C. The zein films containing 5% carvacrol produced a good bactericidal effect. It was observed total inhibition against *Escherichia coli* by incorporating 10% carvacrol in zein film at both temperatures. This work suggested that the zein bioplastics containing carvacrol can be used as an active packaging for improving the safety and shelf-life of food products.

Keywords: Antimicrobial packaging, Kinetic release, Zein, Carvacrol.