

(مقاله پژوهشی)

بررسی مقایسه‌ای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی پوشش و نانوپوشش ترکیبی کیتوزان-صمغ دانه‌شاهی

مهرواسماعیلی^۱، پیمان آریایی^۲، لیلا روزبه نصیرایی^{۳*}، مریم یوسف پور^۳

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۳- گروه مهندسی نفت، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۲

چکیده

در مطالعه حاضر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی پوشش و نانو پوشش مرکب کیتوزان-صمغ دانه شاهی بررسی شد. بدین منظوراتدا پوشش‌های مرکب شامل کیتوزان ۳۳٪- صمغ دانه شاهی ۶۶٪، کیتوزان ۵۰٪- صمغ دانه شاهی ۵۰٪، کیتوزان ۳۳٪- صمغ دانه شاهی ۶۶٪ با استفاده از همگن‌ساز اولتراتوراکس تولید شد. سپس با استفاده از دستگاه اولتراسوند ۳ نانو پوشش شامل نانو کیتوزان ۳۳٪- صمغ دانه شاهی ۶۶٪، نانو کیتوزان ۵۰٪- صمغ دانه شاهی ۵۰٪، نانو کیتوزان ۳۳٪- صمغ دانه شاهی ۶۶٪ نیز تولید شد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوشش‌های تولیدی از طریق مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاء کنندگی آهن، همچنین خاصیت ضد باکتریایی پوشش‌ها از طریق قطر هاله عدم رشد علیه باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد مواد غذایی نظیر باکتری گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس ارئوس و گرم منفی نظیر اشیریشیاکلی و لیستریا مونوسیترنر تعیین شد. نتایج نشان داد با افزایش میزان کیتوزان (پوشش ۶۶٪ کیتوزان- ۳۳٪ صمغ دانه‌شاهی) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی پوشش‌ها افزایش یافت و فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی نانو پوشش به طور معنی داری بالاتر از پوشش بود ($P < 0/05$). همچنین ویژگی‌های نانوپوشش شامل اندازه نانوذرات و پتانسیل زتا نیز تعیین شد. با توجه به نتایج، کوچک‌ترین اندازه ذرات و بالاترین پتانسیل زتا در پوشش نانو ۶۶٪ کیتوزان: ۳۳٪ صمغ دانه شاهی مشاهده شد، نتایج مربوط به میکروسکوپ الکترونی، مشخص شد که ساختار نانوپوشش‌ها دارای ساختاری بدون حضور منافذ و ترک‌ها، عیوب و نقوص‌های آشکار هستند اما با افزایش غلظت صمغ (کاهش غلظت کیتوزان) ظاهر فیلم‌ها خشن تر شد. بر اساس نتایج این مطالعه، نانو پوشش مرکب ۶۶٪ کیتوزان: ۳۳٪ صمغ دانه شاهی با ویژگی‌های مطلوب اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی دارد و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسب ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی رایج مطرح باشد.

واژه های کلیدی: کیتوزان، صمغ دانه‌شاهی، پوشش مرکب، نانو پوشش.

۱- مقدمه

واژه بسته‌بندی شامل هر گونه ماده، ظرف یا لفاف به منظور محافظت یا فروش محصولات غذایی می‌باشد. نگرانی‌هایی موجود در مورد بسته‌بندی سبب شده که ایده‌های مختلفی در مورد بسته‌بندی و ضایعات بسته‌بندی به کار گرفته شود. بعضی از ضایعات بسته‌بندی مواد غذایی را می‌توان با به کارگیری پوشش‌های خوراکی کاهش داد. به دلیل اینکه این پوشش‌ها زیست تخریب‌پذیر و خوراکی می‌باشند بنابراین برای محیط زیست مضر نمی‌باشند. بر همین اساس این پوشش‌ها همچنین می‌توانند هزینه‌های دفع زباله را کاهش دهند (۱۳ و ۲۸). پوشش‌های خوراکی علاوه بر داشتن ویژگی‌هایی نظیر زیست تخریب‌پذیری می‌توانند به عنوان مانعی مناسب در برابر انتقال رطوبت، اکسیژن، دی‌اکسید کربن و سایر عوامل در نگهداری مواد غذایی به کار روند. این نوع پوشش‌ها معمولاً از مواد اولیه نظیر پلی‌ساکاریدها، لیپیدها و پروتئین‌ها تهیه می‌شوند (۶ و ۲۴). شاهی با نام علمی *Lepidium sativum* L. گیاهی علفی، یک‌ساله، معطر، دارای ساقه منشعب از قاعده و ارتفاع ۱۰ تا ۴۵ سانتی‌متر است. برگ‌های آن متقابل، بیضوی نوک تیز با کناره دندانه‌دار و گل‌های معطر به رنگ سفید، گلی و گاهی بنفش و مجتمع به صورت دسته‌های ۴ تا ۶ تایی در طول قسمت انتهایی ساقه دارد (۱). از سویی هنگامی که این صمغ با سایر پلی‌ساکاریدها مقایسه می‌شود، دارای چندین مزیت از جمله هزینه تولید پایین، آب دوست بودن و زیست سازگار می‌باشد، همچنین دارای خصوصیات رئولوژیکی مناسبی است که پتانسیل مناسب آن را برای ایجاد شکل پوشش خوراکی مناسب بیان می‌نماید (۱۸). اخیراً، کاربردهای تجاری کیتین به واسطه خواص مفید مشتقات قابل حل آن در علوم شیمی، بیوتکنولوژی، کشاورزی، فرآیند غذا، مواد آرایشی، دامپزشکی، پزشکی، دندانپزشکی، حفاظت محیط و تولید کاغذ یا نساجی می‌باشد افزایش یافته است (۳۱). بعد از سلولز، کیتین بیشترین پلی‌ساکارید موجود در طبیعت، است که در سخت پوستان، نرم تنان، دیاتومه‌های دریازی، حشرات مانند پروانه‌ها و

کفش دوزک‌ها، دیواره سلولی جلبک‌ها، قارچ‌ها و مخمرها به علاوه اسکلت خارجی گونه‌های زئوپلانکتون‌های دریایی، شامل مرجان‌ها و ماهی‌های ژله‌ای یافت می‌شود. ضایعات به‌دست آمده در طی فرآیند خرجنگ، میگو و صدف‌ها شامل ۷۵ درصد از وزن کل سخت پوستان است. در حال حاضر مقدار کمی از ضایعات پوسته برای غذای حیوانات یا استخراج کیتین استفاده می‌شود (۳۱). کیتین و مشتق استیل‌زدایی شده آن (کیتوزان) پلیمرهای زیستی هستند که به دلیل خصوصیات منحصر به فردی نظیر زیست سازگاری، زیست تجزیه‌پذیری و فعالیت ضد میکروبی یا ضدباکتریایی و ضدقارچی، غیر سمی و غیر آلرژیک بودن، عدم حلالیت در آب، قدرت بالای در جذب مواد رنگی، ابر جاذب بودن، خاصیت ژله‌ای شدن، به طور گسترده در صنایع مختلف به کار برده می‌شوند (۲ و ۳). از شاید از مهم‌ترین خصوصیات کیتوزان بتوان به خصوصیت جلوگیری از فساد، به عنوان نگهدارنده ضدقارچی جهت طولانی‌کردن قابلیت ذخیره‌سازی، نگهداری محصولات تازه و همین‌طور جلوگیری از رشد باکتری‌ها، اشاره کرد (۱۹ و ۲۲). فناوری نانو، یک موضوع کمتر شناخته شده در زمینه صنایع غذایی می‌باشد. این موضوع چندان تعجب آور نیست، زیرا که تمایل عموم مردم در استفاده از محصولات غذایی طبیعی، از به کارگیری فناوری‌های غذایی جلوگیری به عمل آورده است و فناوری نانو نیز از این قضیه مستثنی نیست. با این حال، دانشمندان و صاحبان صنایع، استفاده‌های بالقوه‌ای از فناوری نانو را تقریباً در همه بخش‌های صنایع غذایی شناسایی کرده‌اند. فرآوری مواد غذایی (بهبود بافت با کیفیت غذا، تولید مواد ژله‌ای) و بسته‌بندی مواد غذایی دو نمونه از مهم‌ترین این بخش‌ها می‌باشند. در بین این دو مورد نیز فناوری نانو در بسته‌بندی مواد غذایی کاربرد بیشتری داشته است که به احتمال زیاد به این دلیل بوده است که نانو ذرات به صورت مستقیم به مواد غذایی اضافه نمی‌شوند و ساختار طبیعی ماده غذایی حفظ می‌شود، فناوری نانو امیدهای بسیاری برای دستیابی به بسته‌بندی مواد غذایی با قابلیت‌های ایمنی و نگهداری بیشتر

(۰.۶۶-٪/۰.۳۳)، ۱:۱ (۰.۵۰-٪/۰.۵۰) و ۲:۱ (۰.۳۳-٪/۰.۶۶) استفاده شد. غلظت‌های مطرح شده کیتوزان و صمغ دانه شاهی برای رسیدن به ماده جامد کل ۳ درصد، در آب دیونیزه مخلوط شد. از همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط برای انحلال بهتر ترکیبات استفاده شد. محلول جهت تکمیل فرآیند جذب آب به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس با استفاده از همگن‌ساز اولتراتوراکس (T50IKA، آلمان) با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm در ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه هموژن گردید (۱۰).

۲-۳- تهیه نانو پوشش

ترکیب کیتوزان و صمغ دانه شاهی به نسبت‌های ۱:۲ (۰.۶۶-٪/۰.۳۳)، ۱:۱ (۰.۵۰-٪/۰.۵۰) و ۲:۱ (۰.۳۳-٪/۰.۶۶) ابتدا همانند پوشش آزاد تهیه شد (۱۰). سپس برای کاهش اندازه ذرات محلول تهیه شده در قسمت ۲-۲، از دستگاه مولد فراصوت نوع پروپی (Chorma tech، تایوان) با تعداد ۶ سیکل، زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل‌ها استفاده شد. برای خشک کردن نانو پوشش‌ها از روش خشک کردن انجمادی در فشار ۰/۱۷ میلی پاسکال در دمای ۵۷- درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد (۱۱).

۲-۴- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوشش‌های

مرکب

۲-۴-۱- بررسی مهار رادیکال آزاد (DPPH)

این آزمون مطابق روش توضیح داده شده توسط Maleki و همکاران (۲۰) انجام شد. ماده DPPH ترکیبی بنفش رنگ است که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال‌های آزاد می‌باشد. این آزمون بر اساس درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با اضافه کردن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تعیین گردید. این ترکیب با گرفتن الکترون از آنتی‌اکسیدان‌ها از بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب می‌شوند.

و در نهایت غذای سالم‌تر ایجاد می‌کند. نانو ذرات باعث افزایش خواص بازدارنده (مکانیکی حرارتی، شیمیایی، میکروبی) به بهبود خواص مکانیکی و مقاومت در برابر گرما، توسعه فعالیت ضد میکروبی و تغییرات بیوشیمیایی می‌شود (۲۶). بنابراین تأثیر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی پوشش‌های مختلف باید بررسی شود تا بتوان با توجه به نوع هدف به پوششی مناسب در هر یک از محصولات رسید. بنابر این در این مطالعه به بررسی مقایسه ای خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی پوشش و نانو پوشش مرکب کیتوزان-صمغ دانه شاهی پرداخته شد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- نحوه استخراج صمغ از دانه شاهی

دانه شاهی پس از خریداری، جهت حذف مواد خارجی به شیوه دستی تمیز شده و صمغ به روش Karazhiyan و همکاران (۱۷) استخراج گردید. شرایط بهینه استخراج برای صمغ دانه شاهی نسبت آب به دانه ۱:۵۱ w/w، دما ۲۵ درجه سانتی گراد و pH=۵/۵ بوده است. در فرآیند استخراج صمغ دانه شاهی، ابتدا pH آب دیونیزه به وسیله محلول ۰/۱ مولار NaOH یا HCl تنظیم شد و در حمام آب گرم تا رسیدن به دمای مورد نظر حرارت دیده و سپس دانه‌ها به آن افزوده شد. مجدداً جهت تکمیل فرآیند جذب آب در حمام آب گرم قرار گرفت و به طور متناوب هم زده شد، در نهایت عصاره هیدروکلئیدی توسط اکستراکتور آزمایشگاهی (پارس خزر، ایران) استخراج گردید و در آن در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شد. سپس آسیاب و الک (با مش ۱۸) شد و پودر صمغ‌ها در ظروف در بسته و در مکان خشک به منظور انجام آزمایشات مورد نظر نگهداری شد.

۲-۲- تهیه پوشش

ترکیب کیتوزان (جهت افزایش حلالیت بیشتر، ۱۰ گرم کیتوزان با ۵۰۰ میلی لیتر محلول اسید استیک ۱ درصد حل گردید و مدت ۳ ساعت در دمای اتاق بر روی همزن مغناطیسی هم زده شد) و صمغ دانه شاهی به نسبت‌های ۱:۲

۲-۷- آزمایشات پوشش ریز درون پوشانی شده
متوسط قطر، توزیع اندازه ذرات و سطح مخصوص ذرات با کمک دستگاه انکسار نور لیزر (مدل Zetasizer nano zs شرکت Malvern، کشور انگلستان) اندازه گیری شد (۱۶). برای اندازه گیری پتانسیل زتا از دستگاه زتاسایزر (مدل Zetasizer nano zs شرکت Malvern، کشور انگلستان) دستگاه حامل یک سل الکتروشیمیایی حاوی دو الکتروود است. نمونه ها با آب دیونیزه به نسبت ۱:۵ رقیق و در سل قرار داده شد. زمانی که ولتاژ اعمال شد، ذرات با بار منفی به سمت الکتروود مثبت حرکت کرد و سرعت حرکت ذرات اندازه گیری شد (۱۶). برای تعیین شکل و همگن بودن پوشش دهی از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) استفاده شد (۲۳).

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری
کلیه آزمایش ها در طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش گردید. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS (version 18) صورت گرفت. برای بیان تفاوت معنی داری میانگین ها از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد و نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم شد.

۳- نتایج و بحث
۳-۱- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی
۳-۱-۱- بررسی فعالیت رادیکال آزاد DPPH
۳-۱-۲- دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل^۳ (DPPH) یک رادیکال پایدار است، که حداکثر جذب آن در ۵۱۵ نانومتر است و می تواند به سرعت با یک آنتی اکسیدان احیاء شود. این روش استفاده گسترده ای در اندازه گیری میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد ترکیبات مختلف دارد (۲۱) و (۲۳). ناپدید شدن پیک جذب نوری رادیکال DPPH در ۵۱۵ نانومتر، نتیجه عمل آنتی اکسیدانی ترکیبات موجود در محلول است. کاهش میزان جذب به عنوان معیاری از

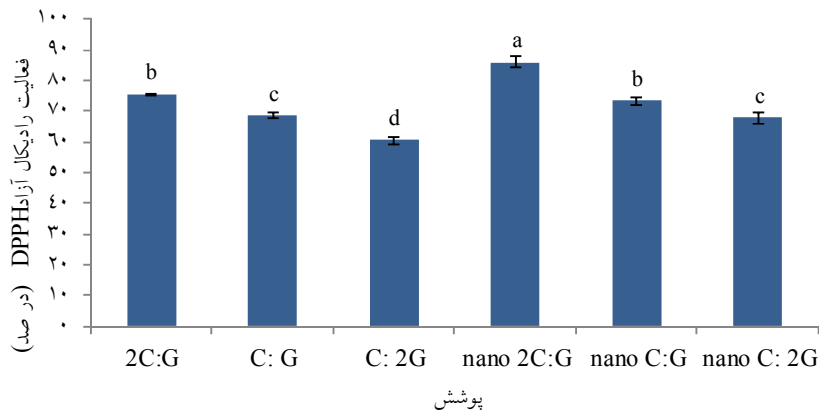
۲-۴- اندازه گیری قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP)
این آزمون مطابق روش Akkol و همکاران، (۷) انجام شد. در این روش آنتی اکسیدان ها نقش احیاکنندگی دارند و باعث احیا آهن فریک به آهن فرو می شود. بسته به قدرت احیاکنندگی عصاره، رنگ زرد محلول آزمایش به رنگ سبز یا آبی تغییر می یابد.

۲-۵- خصوصیات رئولوژیکی محلول هیدروکلوئیدی
خصوصیات رئولوژیکی سوسپانسیون های هیدروکلوئیدی توسط دستگاه رئومتر در دمای ثابت (۲۵ درجه سانتی گراد) اندازه گیری شد (۳۰).

۲-۶- خصوصیات ضد میکروبی پوشش های مرکب
فعالیت ضد میکروبی محلول تشکیل دهنده فیلم های خوراکی بر روی میکروارگانیسم های بیماری زا و عامل فساد شامل استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیژنر و اشرشیاکلی با استفاده از روش نفوذ در محیط آگاردار^۱ مورد بررسی قرار گرفت. میکروارگانیسم های مذکور از بانک های میکروبی خریداری شد. میکروارگانیسم ها به مدت یک شبانه روز در محیط کشت ب اچ آی آگار^۲ در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شدند. فیلم های خوراکی تولید شده با استفاده از یک قالب به دیسک هایی به قطر ۱۳/۴ میلی متر تبدیل شد. قبل از قرار دادن دیسک ها بر روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۰/۱ میلی لیتر کشت مایع (تقریباً برابر با $10^7 - 10^6$) هر کدام از باکتری های مورد آزمایش انجام شد. سپس پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. قطر هاله های تشکیل شده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی متر اندازه گیری شده و سپس از قطر دیسک کم شد. این اختلاف به عنوان ناحیه بازداری محلول تشکیل دهنده پوشش ها گزارش شد (۹).

مشقات محلول در آب کیتوزان که از کولپمیرزاسیون مالئیک اسید سدیم و هیدروکسی پروپیل کیتوزان و کربوکسی متیل کیتوزان سدیم بدست می آید، قادر به دام انداختن رادیکال های هیدروکسیل می باشد (۳۲). همچنین استفاده از نانوذرات سبب افزایش فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH شد. در مجموع بیشترین مقادیر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در نانو ۶۶٪ کیتوزان - ۳۳٪ صمغ شاهی مشاهده شد (۸۵/۸۹٪) ($P < 0.05$). استفاده از نانوذرات باعث حفاظت هیدروکلوئیدها از فاکتورهای محیطی نظیر pH، اکسیژن، نور و .. می شود. همچنین مولکول های فرار با این روش پایدار مانده و باعث حفاظت آن ها از تغییرات اکسیداتیو، نوری و فراریت می شود. بنابراین نانوذرات پتانسیل بیشتری به منظور افزایش فراهمی زیستی، بهبود کنترل انتشار، هدف قرار دادن دقیق ترکیبات زیستی در نتیجه بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی می شوند (۱۲).

فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات مورد آزمایش در نظر گرفته می شود. ترکیبات آنتی اکسیدانی نقش مهمی در دفاع از بدن علیه رادیکال های آزاد ایفا میکنند که این عمل را با استفاده از ختنی سازی یا مهار مولکول های اکسید شده و حفظ تعادل اکسایش-کاهش انجام می دهند (۳۳). نتایج مربوط به فعالیت رادیکال آزاد DPPH در مطالعه حاضر نشان داد (شکل ۱) بیشترین مقادیر در تیمار ۶۶٪ کیتوزان - ۳۳٪ صمغ شاهی و کمترین مقادیر فعالیت رادیکال آزاد DPPH در تیمار ۳۳٪ کیتوزان - ۶۶٪ صمغ شاهی مشاهده شد ($P < 0.05$). علت این امر بالاتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی کیتوزان نسبت به صمغ دانه شاهی می باشد. به طور کلی پوشش کیتوزان، با به دام انداختن یون های فلزی و جلوگیری از تماس اکسیژن با محصول، روند واکنش های اکسایش را کند کرده و با به دام انداختن رادیکال های آزاد، از پیشرفت آن جلوگیری می کند.



شکل ۱- اثر نوع پوشش بر فعالیت رادیکال آزاد DPPH

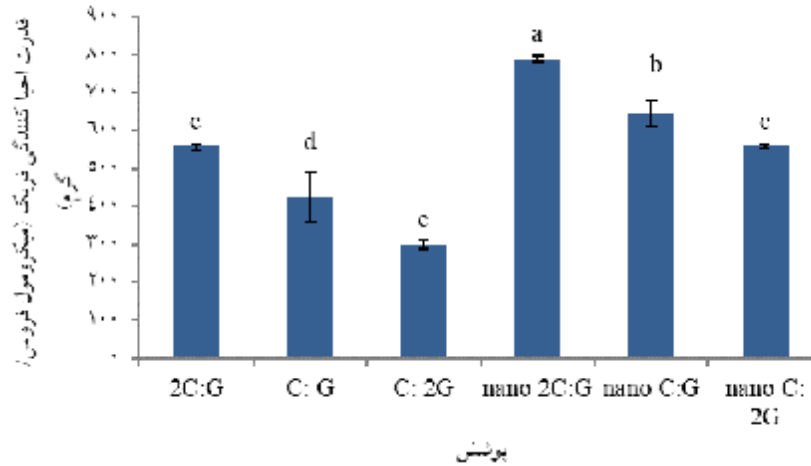
* ستون ها با حروف متفاوت نسبت به هم اختلاف معنی دار دارند. (a, b, c, ...)

در تیمار ۶۶٪ کیتوزان - ۳۳٪ صمغ شاهی و کمترین مقادیر قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP) در تیمار ۳۳٪ کیتوزان - ۶۶٪ صمغ شاهی مشاهده شد ($P < 0.05$). Yen و همکاران (۳۴)، خواص ضد اکسایشی کیتوزان قارچی، آسکوربیک اسید، BHA و آلفا توکوفرول را با هم مورد مقایسه قرار دادند. نتایج نشان داد که کیتوزان، در فعالیت ضد اکسایشی و به دام انداختن رادیکال های هیدروکسیل و یون های آهن

۱-۲-۳- بررسی قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP) سنجش قدرت احیا کنندگی (آنتی اکسیدان) در نمونه ناشی از احیا آهن III به آهن II با اهدا الکترون می باشد. میزان کمپلکس آهن با اندازه گیری میزان تشکیل رنگی آبی پروس در ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه گیری است. نتایج مربوط به قدرت احیا کنندگی آهن (شکل ۲) با نتایج مربوط فعالیت رادیکال آزاد DPPH هم خوانی داشت و بیشترین مقادیر

در تیمار نانو ۶۶٪ کیتوزان-۳۳٪ صمغ شاهی مشاهده شد ($P < 0.05$) (۷۸۹/۵۹ میکرومول فروس/گرم)، که این امر نشان دهنده افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی کیتوزان پس از فرآیند نانو می باشد.

مناسب است و می تواند به عنوان یک منبع ضد اکسایشی مناسب برای استفاده در صنعت غذا و داروسازی باشد. همچنین استفاده از نانوذرات سبب افزایش قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP) در تمامی تیمارها شد. در مجموع بیشترین مقادیر قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP)

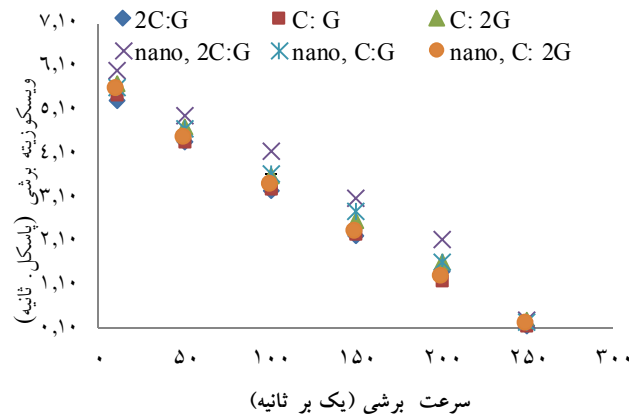


نمودار ۲- اثر پوشش‌های مختلف بر قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP) ستون‌ها با حروف متفاوت نسبت به هم اختلاف معنی دار دارند. (a, b, c, ...)

های هیدروکلوئیدی چنین نتیجه گیری شد که هر سه محلول پوشش دهنده از نوع شبه پلاستیک بودند (۱۴). در مجموع بیشترین مقادیر رئولوژی مربوط به نمونه‌های نانو ۶۶٪ کیتوزان-۳۳٪ صمغ شاهی بود.

۲-۳- خصوصیات رئولوژیکی

نتایج مربوط به مقادیر رئولوژی (شکل ۳) محلول‌های هیدروکلوئیدی نشان داد در تمامی نمونه‌ها با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته محلول‌ها به‌طور قابل توجهی کاهش یافته، لذا بر مبنای رفتار رقیق شونده با برش محلول

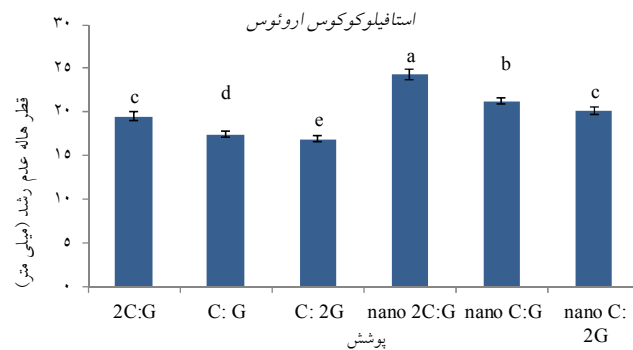


شکل ۳- رئولوژی محلول‌های هیدروکلوئیدی

۳-۳- بررسی خاصیت ضد باکتریایی

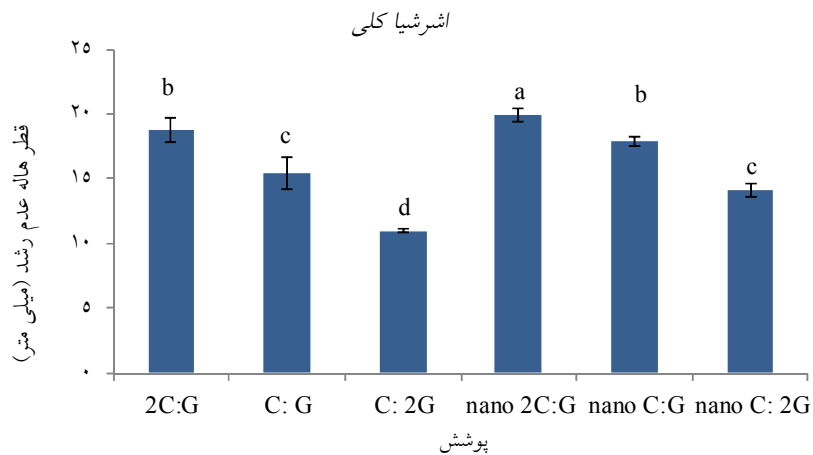
یکی از روش‌های تعیین خاصیت ضد باکتریایی، بررسی قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها می‌باشد. مقادیر قطر هاله عدم رشد در بین پوشش‌های علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اروئوس (شکل ۴) و باکتری‌های اشیرشیاکلی (شکل ۵) و باکتری لیستریا مونوسیوتوزنز (شکل ۶) نشان داد، بیشترین مقادیر در تیمار ۶۶٪ کیتوزان-۳۳٪ صمغ شاهی و کم‌ترین مقادیر قطر هاله عدم رشد در تیمار ۳۳٪ کیتوزان-۶۶٪ صمغ شاهی مشاهده شد ($P < 0/05$). به علت بالاتر بودن خاصیت ضد میکروبی کیتوزان نسبت به صمغ دانه شاهی می‌باشد. توانایی کیتوزان در باندشدن و ضعیف کردن عملکرد حامل‌های غشاء بیرونی میکروارگانیسم‌ها در مطالعه Sashiwa و همکاران (۲۷) دو مکانیسم برای چگونگی عملکرد کیتوزان به عنوان عامل ضد میکروبی بیان کردند: ۱) با باند شدن کیتوزان کاتیونیک به فسفولیپیدهای غشایی، از انتقال مواد میکروبی جلوگیری می‌کند. ۲) با نفوذ اولیگومر کیتوزان به درون سلول‌های میکروارگانیسم باعث جلوگیری از تبدیل شدن DNA به RNA و رشد سلول می‌شود. همچنین بیشترین مقادیر قطر هاله عدم رشد در بین ۳ باکتری در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اروئوس مشاهده شد. کیتوزان در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اثر ضد میکروبی متفاوتی از خود نشان داد، بسیاری از مطالعات نشان داده است که اثر ضد میکروبی کیتوزان بر روی باکتری‌های گرم منفی، قوی‌تر از تأثیر آن بر روی

باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد. در حالی که برخی از بررسی‌ها نیز نشان داده است که حساسیت باکتری‌های گرم مثبت نسبت به کیتوزان، بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد، دلیل مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی وجود موانع غشایی بیرونی آن‌ها ذکر شده است. نتایج تعدادی از پژوهش‌ها نیز اختلافی بین میزان مقاومت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در مقابل کیتوزان نشان نداده است. وجود اختلاف در نتایج مطالعات به دلیل اختلاف در شرایط آزمایش بوده است. اما به طور کلی شواهد نشان داده است که در مقابل فعالیت ضد میکروبی کیتوزان، باکتری‌ها حساسیت کمتری نسبت به قارچ‌ها دارند (۱۵ و ۳۲). همچنین استفاده از نانوذرات سبب افزایش میزان قطر هاله عدم رشد در تمامی تیمارها شد. در مجموع بیشترین مقادیر قطر هاله عدم رشد در تیمار نانو ۶۶٪ کیتوزان-۳۳٪ صمغ شاهی مشاهده شد ($P < 0/05$) که این امر نشان‌دهنده افزایش خاصیت ضد میکروبی کیتوزان پس از فرآیند نانو می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داد که نانوذرات کیتوزان فعالیت ضد باکتریایی بالاتری در برابر باکتری‌های گرم منفی یا گرم مثبت در مقایسه با پلیمر کیتوزان دارند. اثر مهارتی بهتر نانوذرات کیتوزان می‌تواند با توجه به سطح بزرگتر نانو ذرات برای واکنش با دیواره سلولی باکتری توضیح داده شود. این نانوذرات می‌توانند بصورتی پایدار و محکم بر روی سطح دیواره سلولی باکتری جذب و در نتیجه باعث تخریب غشاء سلول و از بین رفتن باکتری شوند (۲۲).

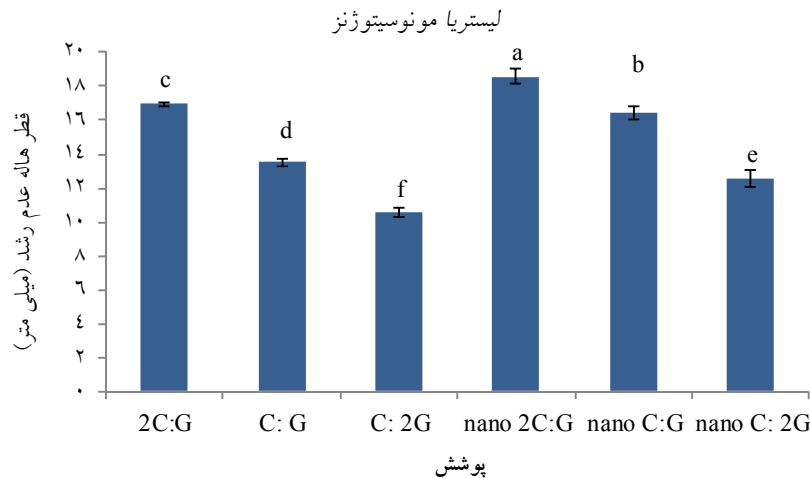


شکل ۳- اثر پوشش‌های مختلف بر مقادیر قطر هاله عدم رشد علیه باکتری استافیلوکوکوس اروئوس

* ستون‌ها با حروف متفاوت نسبت به هم اختلاف معنی دار دارند. (a, b, c, ...)



شکل ۴- اثر پوشش‌های مختلف بر مقادیر قطر هاله عدم رشد علیه باکتری اشیرشیا کلی
* ستون‌ها با حروف متفاوت نسبت به هم اختلاف معنی دار دارند. (a, b, c, ...)



شکل ۵- اثر پوشش‌های مختلف بر مقادیر قطر هاله عدم رشد علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز
* ستون‌ها با حروف متفاوت نسبت به هم اختلاف معنی دار دارند. (a, b, c, ...)

۳-۴- آزمون‌های ریزپوشانی

یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های نانو ذرات، اندازه و توزیع ذرات است. اندازه ذرات از طریق محاسبه قطر متوسط قطره که با نماد d43 نمایش داده می‌شود بعد از تولید اندازه گیری شد (۸). با توجه به نتایج (جدول ۱) اندازه ذرات در تیمار نانو ۳۳٪ کیتوزان - ۶۶٪ صمغ شاهی بیشتر از سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). علت کوچک تر بودن اندازه ذرات

تیمار با غلظت بالاتر نانو کیتوزان نسبت به صمغ دانه شاهی را می‌توان به بیشتر بودن ویسکوزیته و در نتیجه کند کردن حرکت براونی قطرات روغن نسبت داد. به طور کلی اندازه قطرات یک امولسیون به عوامل مختلفی بستگی دارد که مهم ترین آنها مقدار و نوع امولسیفایر مصرفی، نوع فازها، روش‌های تهیه امولسیون، شرایط محیطی از قبیل pH، حضور

یون‌های فلزی و ... می باشند. در بررسی های انجام شده توسط نجف نجفی و فاضلی (۵)، با افزایش غلظت صمغ دانه شاهی از درصد اندازه ذرات امولسیون کاهش یافت اما این تغییرات معنی دار نبود. به گفته آن‌ها، محتمل ترین دلیلی که باعث می‌شود غلظت بالاتر، کم‌ترین میانگین اندازه ذرات را بروز دهد به افزایش ویسکوزیته و کند حرکت کردن براونی قطرات روغن، در این غلظت مربوط می‌شود. Samavati و همکاران (۲۵) دلیل این امر را به توانایی هیدروکلوئید در پوشش سطح وسیعتری از قطرات و تولید قطرات کوچک می‌دانند. برهمکنش‌های الکترواستاتیک نقش مهمی را در فرایندهای بیولوژی که در سطح غشا اتفاق می‌افتد، ایفا می‌کنند. فاکتورهایی مثل پایداری، راندمان بارگذاری ماده فعال، قدرت متصل شدن ماده فعال به حامل و سرعت رهاسازی ماده فعال به مقدار زیادی تحت تأثیر خصوصیات الکترواستاتیک حامل مورد استفاده قرار

می‌گیرد. روش معمول برای تعیین خصوصیات الکترواستاتیک نانو پوشش‌ها، تعیین پتانسیل زتا است که بار کلی ذره در یک محیط مایع با اختلاف پتانسیل بین لایه یونی متحرک و لایه غیر متحرک می‌باشد و بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطحی دیسپرسیون‌ها است. زیرا نشان‌دهنده میزان تجمع بار در لایه غیر متحرک و شدت جذب یون‌های مخالف به سطح ذره می‌باشد. (۵). با توجه به نتایج پتانسیل زتا (جدول ۱)، بیشترین مقادیر در تیمار نانو ۶۶٪ کیتوزان - ۳۳٪ صمغ شاهی مشاهده شد ($P < 0.05$). بالاتر بودن میزان پتانسیل زتا در تیمار نانو ۶۶٪ کیتوزان - ۳۳٪ صمغ شاهی، نشان از پایداری بالای نانوذرات ایجاد شده توسط این حامل دارد. طبق پژوهش‌های قبلی، با کاهش اندازه لیپوزوم‌ها، پتانسیل زتا افزایش می‌یابد (۵) (۲۹)، که نتایج مشابهی نیز در این مطالعه مشاهده شد.

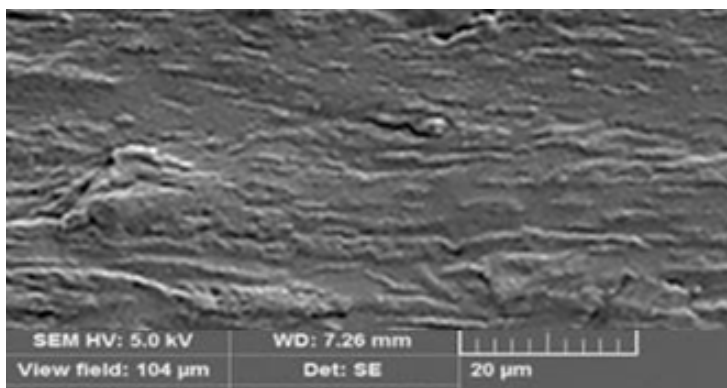
جدول ۱- ویژگی های نانو پوشش‌ها

نوع پوشش	nano C:G	nano 2C:G	nano C: 2G
اندازه ذرات	$93/45 \pm 1/65^c$	$115/25 \pm 1/21^b$	$148/95 \pm 1/81^a$
پتانسیل زتا	$19/58 \pm 0/41^a$	$17/58 \pm 0/28^b$	$16/58 \pm 0/26^c$

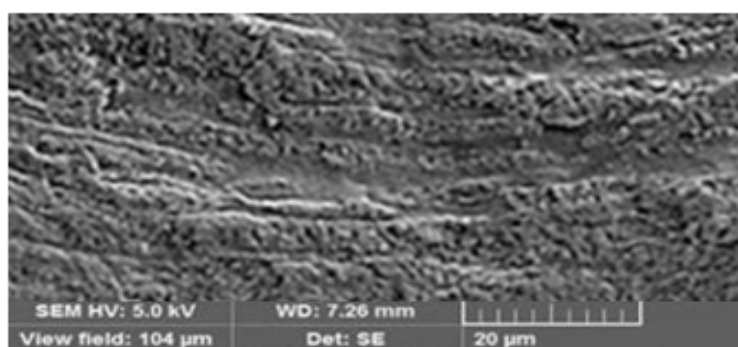
* اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند (a, b, c, ...)

مطابق شکل‌های ۷ تا ۹، مشخص شد که ساختار نانو کامپوزیت‌ها دارای ساختاری بدون حضور منافذ و ترک‌ها، عیوب و نقایص آشکاری دارند که این موضوع در عملکرد حفاظتی پوشش نقشی بسزا خواهد داشت، اما با افزایش غلظت صمغ (کاهش غلظت کیتوزان) ظاهر فیلم‌ها

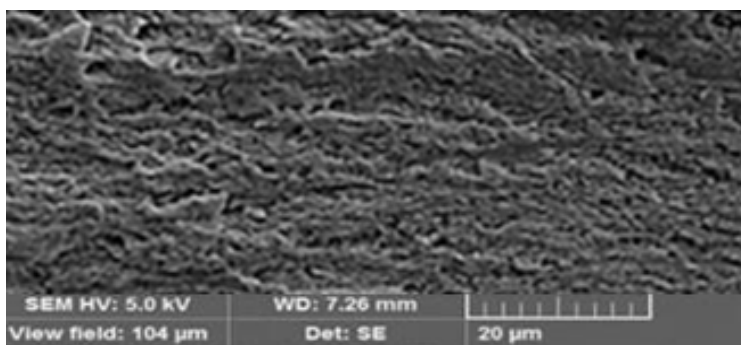
خشن‌تر شد. در این راستا، میر حسینی و همکاران (۴) به بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوکامپوزیت کیتوزان-اکسید روی پرداختند آن‌ها نیز اعلام نمودند با افزایش غلظت اکسید روی پوشش‌ها شکل کلوخه ای به خود گرفتند.



شکل ۷- تصویر ثبت شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذرات (nano 2C:G)



شکل ۸- تصویر ثبت شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی (nano C:G)



شکل ۹- تصویر ثبت شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی (nano C:2G)

باشد. بنابراین در تحقیق حاضر اقدام به تهیه پوشش و نانو پوشش کیتوزان- صمغ دانه شاهی شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت کیتوزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی افزایش می‌یابد و همچنین فرآیند نانو نیز تاثیر مثبتی در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی داشت. سپس ویژگی‌های نانوپوشش شامل اندازه نانوذرات و پتانسیل زتا نیز تعیین شد با توجه به نتایج، کوچک ترین

۴- نتیجه گیری

با توجه به تقاضای مصرف کنندگان برای دسترسی به مواد غذایی با کیفیت بالا و نگرانی آنها به دلایل مشکلات ناشی از مصرف نگهدارندهای مصنوعی و نیز نگرانی های زیست محیطی ناشی از تجمع پلیمرهای مصنوعی، تکنولوژی استفاده از پوشش‌های زیست-کافت با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی بالایی می‌تواند جایگزین مناسبی

علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۴، شماره ۶۴، ۱۱۴-۱۲۶.

6. Abdollahi, M., Rezaei, M. and Farzi, A. 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 847-853.
7. Akkol, E. K., Orhan, I. E. and Yeşilada, E. 2012. Anticholinesterase and antioxidant effects of the ethanol extract, ethanol fractions and isolated flavonoids from *Cistus laurifolius* L. leaves. *Food Chemistry*, 131:626-631.
8. Bagheri, R., Izadi Amoli, R., Tabari Shahndash, N., Shahosseini, S. R. 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in the mince. *Food Science Nutrition*. 4(2): 216-222.
9. Broumand, A., Emam-Djomeh, Z., Hamedi, M., and Razavi, S. H. 2011. Antimicrobial, water vapour permeability, mechanical and thermal properties of casein based *Zataria multiflora* Boiss. Extract containing film. *LWT-Food Science and Technology*, 44(10): 2316-2323.
10. Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R. and Hubinger, M. D. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115:443-451.
11. Chranioti, C., Nikoloudaki, A. and Tzia, C. 2015. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate polymers*, 127: 252-263.
12. Ezhilarasi, P., Karthik, P., Chhanwal, N. and Anandharamakrishnan, C. 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6:628-647.

اندازه ذرات و بالاترین پتانسل زتا در پوشش نانو ۶۶٪ کیتوزان-۳۳٪ صمغ شاهی مشاهده شد. در مجموع بهترین پوشش، با بالاترین خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، نانو پوشش مرکب ۶۶٪ کیتوزان-۳۳٪ صمغ شاهی بود بنابراین این نانو پوشش مرکب ممکن است برای پوشش دادن گوشت، فرآورده های گوشتی، میوه ها و سبزی ها، ساختن بسته بندی های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، برای جلوگیری از فساد اکسیداسیونی و میکروبی و افزایش ماندگاری غذاها استفاده شود.

۵- منابع

۱. زرگری، ع. ۱۳۷۶. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ ششم. جلد چهارم.
۲. صداقت، ف، یوسفزادی، م، توپسرکانی، ح. و نجفی پور، س. ۱۳۸۳. بهینه سازی استخراج کیتین و کیتوزان از پوسته میگوی خلیج فارس به روش شیمیایی و زیستی. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه هرمزگان.
۳. قاسم زاده دقیق، ن، زاده باری، م. ر. و رضوی روحانی، س. م. ۱۳۸۸. اثرات ضد میکروبی کیتوزان استخراج شده از پوسته آرتیمیا را بر روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، شرشیاکلی، لیستریا مونوسیتوزنز و سالمونلا تیفیموریوم. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، ۶۴ جلد ۱، شماره ۱، ۷۹-۸۳.
۴. میرحسینی، م، یزدانی کشکولی، ن. و دهقان همدان، ع. ۱۳۹۵. بررسی خاصیت ضد میکروبی نانو کامپوزیت کیتوزان - اکسید روی. *مجله علوم پزشکی رازی*، جلد ۲۳، شماره ۱، ۱۱۴-۱۰۷.
۵. نجف نجفی، م. و فاضلی، آ. ۱۳۹۶. بررسی اثر صمغ دانه شاهی بر پایداری فیزیکی و خصوصیات رفتار جریان امولسیون روغن در آب تهیه شده توسط همگن ساز سرعت بالا.

- food processing and preservation*, 40 (3): 531-540.
21. Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz-Vázquez, E., Betancur-Ancona, D. and Sauri-Duch, E. 2015. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166: 17–22.
 22. Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C. and Zou, X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydr Research*, 339: 2693-2700.
 23. Raei, M., Rajabzadeha, G., Zibaei, S., Jafari, S. M. and Sani, A. M. 2015. Nanoencapsulation of isolated lactoferrin from camel milk by calcium alginate and evaluation of its release. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79: 669-673.
 24. Safari, R., Shahosseini, S. R. & Javadian, S. R. 2018. Antibacterial and Antioxidant Effects of the Echinophora Cinerea Extract on Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*) Fillet During Two Storage Conditions. *Journal of Aquatic Caspian Sea*, 3(2): 13-24.
 25. Samavati, V., Emam-Djomeh, Z., Mohammadifar, M. A., Omid, M. and Mehdinia, A. 2011. Influence of tragacanth gum exudates from specie of *Astragalus gossypinus* on rheological and physical properties of whey protein isolate stabilized emulsions. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(8): 1636- 1645.
 26. Sanguansri, P. 2008. Nanoscale material development, a food industry perspective. *Trend in food science and Technology*, 175: 1447-1455.
 27. Sashiwa, H. and Aiba, S. 2004. Chemically modified chitin and chitosan as Biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 29: 887–908.
 28. Schou, M., Longares, A., Montesinos-Herrero, C., Monahan, F. J., O’Riordan, D. and O’sullivan, M. 2005. Properties of edible sodium caseinate films and their application as
 13. Han, J. H. 2014. Chapter9- Edible Films and Coatings: A Review. In "Innovations in Food Packaging (Second Edition)" (J .H. Han, ed.), pp. 213-255. Acadmic Press, San Diego.
 14. Hosseini Parvar, S. H., Mortazavi, S. A., Razavi, S. M. A., Merino- Merino, L. M. and Motamed Zadegan, A. 2010. Steady shear flow behavior of gum extracted from *Ocimum basilicum* L. seed: Effect of concentration and temperature. *Food Engineering*, 101: 229-342.
 15. Javadian, S. R., Shahoseini, S. R., Ariaii, P. 2017. The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and *Escherichia coli* O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 26(1), 115–123.
 16. Joye, I. J., Davidov-Pardo, G. and McClements, D. J. 2015. Encapsulation of resveratrol in biopolymer particles produced using liquid antisolvent precipitation. Part 2: Stability and functionality. *Food Hydrocolloids*, 49:127-134.
 17. Karazhiyan, H., Razavi, S. M. A., Phillips, G.O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K. and Farhoosh, R. 2009. Rheological properties of *Lepidium Sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. *Food Hydrocolloids*, 23: 2062-2068.
 18. Khazaei, K. M., Jafari, S., Ghorbani, M. and Kakhki, A. H. 2014. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate polymers*, 105:57-62.
 19. Mahdavi, V., Hosseini, E. and Sharifian, A. 2018. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. *Food science and nutrition*, 6 (2): 269- 279.
 20. Maleki., M., Ariaii, P. and Fallah, H. 2016, Effects of Celery Extracts on the Oxidative Stability of Canola Oil Under Thermal Condition. *Journal of*

32. Tajik, M., Rohani, H., Uromiei, M., Malekinejad, A. and Dehkordi, S. 2008. Evaluation of antioxidant characteristics, color and antibacterial effects of chitosan edible film containing essential oils against *listeria monocytogenes*. *Journal of Armagane danesh*, 16: 60.
33. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39: 44-84.
34. Yen, M. T., Tseng, Y. H., Li, R.C. and Mau, J.L. 2007. Antioxidant properties of fungal chitosan from shiitake stipes. *LWT-Food Science and Technology*, 40: 255-261.
29. Sebaaly, C., Greige-Gerges, H., Agusti, G., Fessi, H. and Charcosset, C. 2016. Large-scale preparation of clove essential oil and eugenol-loaded liposomes using a membrane contactor and a pilot plant. *Journal of Liposome Research*, 26(2):126-38.
30. Silva, C., Torres, M.D., Chenlo, F. and Moreira, R. 2017. Rheology of aqueous mixtures of tragacanth and guar gums: Effects of temperature and polymer ratio. *Food Hydrocolloids*, 69: 293 - 300.
31. Synowiecki, J. and Al-Khateeb, N. 2003. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 43(2):145-171.

(Original Research Paper)
**Comparative Study of Antioxidant and Antimicrobial Properties of
Composite Coating and Nano Coating of Chitosan- cress Seed Gum**

Mahroo Esmacili¹, Peiman Ariayi², Leila Roozbeh Nasiraei^{1*}, Maryam Yousef Pour³

1-Department of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

2-Department of Food Science and Technology, Ayatolla Amoli Branch, Islamic Azad University,
Amol, Iran.

3-Department of Petroleum Engineering, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

Received:22/01/2020

Accepted:26/08/2020

Abstract

In the present study, the antioxidant and antibacterial properties composite coating and nano coating of chitosan- cress seed gum (CH-CSG) was investigated. For this purpose, 3 coatings including 33% CH- 66% CSG, 50% CH- 50% CSG, 66% CH- 33% CSG by Ultrathorax homogenizer were produced. Then, 3 nano coatings including 33% CH- 66% CSG, 50% CH- 50% CSG, 66% CH- 33% CSG were also produced using the Ultrasound apparatus and the antioxidant properties of the coatings were obtained by free radical scavenging of DPPH and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), as well as the antibacterial activity of the coating were determined by the diameter of the growth zone against pathogenic bacteria and the spoilage of foods such as Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* and Gram-negative such as *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. The results showed that the antioxidant and antimicrobial activity of the coatings increased as the amount of chitosan (66% CH- 33% CSG) increased and the antimicrobial and antioxidant activity of nano-coating was significantly higher than the coating ($P < 0.05$). Nanoparticle properties including nanoparticle size and zeta potential were also determined. According to the results, the smallest particle size and highest zeta potential were observed in the nano 66% CH- 33% CSG. The results of electron microscopy (SEM) revealed that the structure of the nano coating had a structure without the presence of pores and cracks, imperfections and defects but with increasing gum concentration (decrease in chitosan concentration) the appearance of the films became more rough. Based on the results of this study, nano 66% CH- 33% CSG composite coating with favorable properties have acceptable antimicrobial and antioxidant properties and can be a suitable alternative to common antimicrobial and antioxidant compounds.

Keywords: Chitosan, Cress Seed Gum, Composite, Nano Coating.

*Corresponding Author: Leila_roozbeh@yahoo.com