

(مقاله پژوهشی)

ارزیابی خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی فیلم پولولان غنی شده با عصاره آزاد و ریزپوشانی شده گیاه شنگ به منظور کاربرد در بسته بندی مواد غذایی

سید رسول شاه حسینی*

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۱۸

چکیده

در این مطالعه اثر افزودن عصاره گیاه شنگ *Tragopogon graminifolius* DC. به دو فرم آزاد و ریز پوشانی شده به فیلم زیست تخریب پذیر پلی ساکارید پولولان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، عصاره گیاه شنگ با استفاده از روش اولتراسوند استخراج و مقادیر ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH) و ضد میکروبی (علیه باکتری گرم منفی نظیر اشرشیاکلی و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس) عصاره ی استخراجی اندازه گیری شد. با توجه به نتایج، میزان ترکیبات فنلی $89/04 \pm 2/18$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بوده است. عصاره از خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار بود، به طوری که در غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH برابر با ۸۷/۸۶ درصد بود. عصاره در برابر هر دو باکتری دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی بود و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، در برابر عصاره حساس تر از باکتری اشرشیاکلی بود. به منظور ریز پوشانی عصاره از مالتودکسترین - کنسانتره پروتئینی آب پنیر (۱W: ۱W) استفاده شد. سپس غلظت های مختلف عصاره و نانو عصاره گیاه شنگ (ppm ۷۵۰ و ۱۰۰۰) به فیلم پلی ساکارید پولولان افزوده شد و ویژگی های فیلم های تولیدی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که رطوبت، حلالیت، نفوذ پذیری بخار آب و شفافیت، در این فیلم ها کاهش و ضخامت، مقاومت کششی و حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی افزایش یافت. هم چنین جایگزینی عصاره با نانو عصاره در اکثر موارد سبب بهبود ویژگی های فیلم شد. فیلم پلی ساکاریدی پولولان حاوی عصاره دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی در برابر باکتری های پاتوژن بود که با افزایش غلظت و تبدیل عصاره به نانو عصاره خاصیت ضد میکروبی نیز افزایش یافت. در مجموع به نظر می رسد فیلم ضد میکروبی پلی ساکاریدی پولولان به همراه نانو عصاره گیاه شنگ توانایی بالایی به عنوان نگهدارنده در بسته بندی مواد غذایی داشته باشد.

واژه های کلیدی: فیلم خوراکی، پلی ساکارید پولولان، عصاره گیاه شنگ، ویژگی های فیلم، خواص ضد میکروبی.

۱- مقدمه

امروزه آلودگی‌های ناشی از پلیمرهای سنتزی، توجه همگان را به استفاده از مواد زیست تخریب پذیر معطوف کرده است و در طی دو دهه اخیر مطالعه بر روی مواد زیست تخریب پذیر حاصل از پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها گسترش وسیعی یافته است (۴۶). پولولان یک پلی ساکاریدی با منشا میکروبی و انحلال پذیر در آب بوده که از گونه‌های *Aureobasidium pullulans* تولید می‌شود و از واحدهای مالتوتریوز با پیوندهای خطی D- گلوکان تشکیل و از طریق پیوندهای ۶ و ۱ به هم متصل شده اند. این پلی ساکارید خوراکی بوده و فیلم‌های شفاف، انعطاف پذیر، بدون رنگ، بدون بو، و غیر قابل نفوذ نسبت به روغن و اکسیژن تولید می‌کند (۳۶). فیلم‌های بر پایه پلی ساکارید، نسبتاً سفت هستند، برای غلبه بر این شکنندگی و افزایش کارایی، انعطاف پذیری و نرم کنندگی زیاد آن، معمولاً پلی‌ال‌ها^۱ به شکل وسیع استفاده می‌شود که گلیسرول یکی از معروف‌ترین آن‌ها است که یک نرم کننده هیدروفیلیک است. برخی از خواص فیزیکی این زیست پلیمر نظیر استحکام و شفافیت مشابه مواد استیرنی است و به دلیل قدرت کشسانی نسبتاً زیاد و شدت بالای نفوذ اکسیژن در لایه‌های آن قابل توجه است. از جمله راهکارهای جدید برای بسته بندی مواد غذایی، که می‌تواند موجب بهبود بسته بندی مواد غذایی و قابلیت‌های آن‌ها شود و در نتیجه، حصول اطمینان از ایمنی مواد غذایی و حمایت از مصرف کننده را در پی داشته باشد، استفاده از فناوری نانو است (۵۲). باید توجه داشت، فرآوری نامناسب و آلودگی میکروبی ماندگاری ماده غذایی را کاهش می‌دهد و منجر به افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از مصرف غذا می‌گردد. به همین دلیل پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه ساخت بسته بندی‌های فعال و دارای عوامل ضد میکروب صورت گرفته است (۵۳). یک ترکیب ضد میکروب مطلوب باید در برابر دامنه گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها در غلظت کم موثر باشد و موجب هیچ‌گونه تغییر در ویژگی‌های

حسی فرآورده نشود، هم‌چنین مقرون به صرفه بوده و با قوانین مورد تایید سازمان‌های نظارت کننده هم‌خوانی داشته باشد (۴۵). امروزه با توجه به آثار جانبی و معایب استفاده از ترکیبات نگهدارنده شیمیایی، گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی را می‌توان به جای آنها برای حفظ و نگهداری مواد غذایی مختلف استفاده کرد. گیاه شنگ^۲ در بردارنده مواد ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی از نوع فلاونوئیدها و آلکالوئیدها می‌باشد. از جمله مهم‌ترین مواد موثره دارویی جنس *Tragopogon* می‌توان به اینولین، اینوزیتول، مانیتول، فیتوسترول و ویتامین‌ها اشاره کرد. فلاونوئیدهای جنس *Tragopogon* شامل اپی ژنین، لوتولین، کوئرستین، ویتکسین، ایزوویتکسین، ویسین-۱، ویسین-۲، سورتیزین، اوریتین، ایزواوریتین، او-۲-لوسنین می‌باشد. گونه‌های گیاه شنگ حاوی ترکیبات stilbenoid، دی‌هیدرو ایزو کومارین به نام تراگوپونال^۳ و مقادیری ویتامین C و ویتامین K و آلفا توکوفرول می‌باشند (۲۲). استخراج ترکیبات زیست فعال مذکور از گیاه به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم‌ترین آن‌ها نوع حلال و روش استخراج می‌باشد. انتخاب حلال مناسب برای هر دسته از ترکیبات گیاهی بسیار مشکل خواهد بود زیرا همراه با این ترکیبات، مواد دیگری نیز وجود دارد که بر روی درجه حلالیت این مواد تاثیر گذار می‌باشند (۳۷). یکی از روشهای استخراج، استفاده از امواج فراصوت (اولتراسوند) است. در این روش امواج فراصوت با فرکانس بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز، به داخل ماده نفوذ کرده، موجب ایجاد کشیدگی و جمع شدن‌های پی‌در پی (موسوم به حفره‌زایی یا کاویتاسیون^۴) شده که در نتیجه آن حفراتی داخل ماده گیاهی ایجاد می‌شوند. این حفرات به صورت نامتقارن به هم پیوسته و موجب خروج سریع مواد از داخل سلول‌ها به خارج از آن می‌شوند (۲۵). ترکیبات فنلی دارای ویژگی‌های ساختاری ایده آلی برای فعالیت آنتی اکسیدانی خود هستند که عمدتاً به دلیل

2- *Tragopogon graminifolius*

3- Tragopogonol

4- Cavitation

۲- مواد و روش

۲-۱- آماده سازی مواد اولیه

گیاه شنگ از گونه *T.buphthalmoides* در اوایل اردیبهشت ماه، سال جاری از مناطق بیلاقی شهرستان چالوس، استان مازندران جمع آوری و بعد از تأیید نام علمی از سوی گروه کشت و توسعه انستیتو گیاهان دارویی، قسمت های زائد آن جدا و بلافاصله پس از شستشو، توسط آون تحت خلأ با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ دقیقه خشک و در ادامه توسط خردکن کاملاً پودر و تا زمان انجام آزمایش در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد (۲۲). پولولان از شرکت هایاشی بارا ژاپن خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شد و دارای درجه تجزیه ای بود.

۲-۱-۱- استخراج عصاره گیاه شنگ به کمک اولتراسوند ابتدا نمونه ها با نسبت ۱ به ۵ با حلال اتانول-آب (۵۰:۵۰) مخلوط، سپس در حمام اولتراسوند به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد با فرکانس ۳۴-۲۸ کیلوهرتز قرار گرفت. سپس محلول ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و در ادامه حلال توسط اوپراتور (حد اکثر دما ۵۰ درجه سانتی گراد) تبخیر و خشک شد. عصاره حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- نگهداری شد (۲۲).

۲-۲- اندازه گیری ترکیبات فنلی کل

محتوی فنولیک با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه گیری شد. به ۰/۵ میلی لیتر عصاره، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتیو ۰/۲ نرمال اضافه شد، پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی لیتر از محلول ۷۵ گرم بر لیتر کربنات سدیم به آن اضافه و جذب مخلوط ۲ ساعت بعد در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک قرائت گردید (۲۲).

توانایی آنها در اهدای اتم هیدروژن یا الکترون ها است. تعداد زیادی ترکیبات فنلی با منشاء طبیعی به دلیل ویژگی های خود قابل توجه هستند. این ترکیبات به شکل آزاد (غیرکپسوله)، حلالیت محدودی در آب دارند، علاوه بر این بسیاری از پلی فنول ها طعم ناخوشایندی دارند، که باید قبل از افزوده شدن به مواد غذایی با داروهای خوراکی پوشش داده شود (۲۷). برخی از مطالعات نشان داد ریز پوشانی قادر است خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی ترکیبات را افزایش داده و همچنین سبب حفظ پایداری خواص آن برای مدت طولانی تر می شود (۳۳، ۱۱). لذا استفاده از این عصاره در مواد غذایی به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی طبیعی به جای مواد نگهدارنده مصنوعی یک امر مفید و موثر به نظر می رسد (۴۲). هدف از مطالعه حاضر، تولید فیلم خوراکی نانو کامپوزیت پلی ساکارید پولولان غنی شده با عصاره گیاه شنگ به عنوان جایگزین بسته بندی های معمولی در صنعت غذایی بوده است. بدین منظور عصاره گیاه شنگ به دو فرم آزاد و ریزپوشانی توسط مالتو دکسترین^۱ - کنسانتره پروتئینی آب پنیر^۲ با غلظت های مختلف به نانو کامپوزیت پولولان افزوده شد و اثرات آنتی اکسیدانی و میکروبی عصاره به همراه بررسی تاثیر ریز پوشانی عصاره و در ادامه تاثیر آن بر خواص فیزیکی، میکانیکی و ضد باکتریایی فیلم ها بررسی شد.

1-Maltodextrin

2-Whey Protein Concentrate

۲-۳-آزمون های آنتی اکسیدانی

۲-۳-۱- بررسی مهار رادیکال آزاد (DPPH)

بدین منظور ۱ میلی لیتر از غلظت های مختلف عصاره به طور جداگانه (۱۰۰ ppm، ۲۰۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰) به ۱ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH^۱ اضافه و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار داده و سپس جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۷ nm در مقابل شاهد خوانده شد. تمامی این مراحل در مورد BHA^۲ به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد انجام شد (۲۲). معادله ۱:

$$100 \times (\text{جذب شاهد} / \text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}) = \text{درصد مهار رادیکال آزاد DPPH}$$

۲-۴- بررسی فعالیت ضد میکروبی

۲-۴-۱- آماده سازی باکتری

میکروارگانسیم های مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از: اشرشیاکلی (PTCC 1399) به نمایندگی از باکتری های گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1431) به نمایندگی از باکتری های گرم مثبت که از مرکز تحقیقات و پژوهش علمی صنعتی ایران تهیه و طبق روش Grisi and Lira (۲۰۰۵) آماده سازی شد (۳۰).

۲-۴-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی MIC^۳ و حداقل غلظت کشندگی MBC^۴

باکتری های مورد مطالعه غلظت تقریبی 10^8 cfu/g به میزان ۰/۲ میلی لیتر به هر یک از لوله های آزمایش افزوده شد. در مرحله بعد عصاره های گیاه شنگ با استفاده از Tween 80 (مرک آلمان) و آب مقطر به نحوی تهیه شدند که با ریختن مقدار ۰/۲ میلی لیتر از هر کدام از محلول ها درون لوله آزمایش حاوی محیط کشت مایع و باکتری های مورد آزمایش (استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی) ساخته شد. سپس لوله های آزمایش در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

گرمخانه گذاری شد. پس از ۲۴ ساعت پائین ترین غلظتی که در آن هیچ کدورتی مشاهده نگردید به عنوان MIC در نظر گرفته و پس از تعیین MIC جهت تعیین MBC در شرایط کاملاً استریل از محتویات ارلن هایی که پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری هنوز شفاف بودند و کدورتی در آن ها مشاهده نشده باشند به میزان ۰/۱ میلی لیتر در پتری دیش های حاوی محیط کشت مناسب هر گونه باکتری کشت سطحی داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای مناسب رشد و عدم رشد باکتری ها بررسی و اولین غلظتی که در آن رشد مشاهده نگردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد (۴۴).

۲-۵- تهیه عصاره نانوکپسوله

برای تهیه عصاره گیاه شنگ نانوکپسوله، مالتود کسترین-کنسانتره پروتئینی آب پنیر به عنوان حامل انتخاب شد. نانوکپسولاسیون با استفاده از روش بهرامی و خادمی (۲۰۲۰) انجام شد (۱۷). به منظور تولید امولسیون ها، گام اول حل کردن مواد جامد در آب بود. کنسانتره پروتئین آب پنیر و پودر مالتود کسترین به نسبت ۱ به ۴ با یکدیگر مخلوط شدند. با در نظر گرفتن اینکه در صد مخلوط مود جامد معادل ۳۷/۰۴٪ بود. برای آماده سازی ۱۰۰ میلی لیتر امولسیون، ۲۹/۶ گرم مالتود کسترین در آب مقطر حل شد و برای اطمینان از انحلال کامل آن، به مدت یک شب باقی ماند تا محلول شفافی به دست آید کنسانتره پروتئین آب پنیر نیز به مقدار ۷/۴ گرم توزین شده و با آب مقطر مخلوط گردید. pH با استفاده بافر فسفات روی ۷ تنظیم شد. سپس تیمار حرارتی در ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه برای دناتوره شدن و ایجاد خاصیت امولسیفایری اعمال گردید و در نهایت نمونه های آماده شده با یکدیگر ترکیب شدند. در نهایت، عصاره گیاه شنگ نانوکپسوله با استفاده از خشک کن انجمادی (Operon، کره جنوبی) خشک گردید.

- 1-2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
- 2-Butylated hydroxyanisole
- 3- Minimum Inhibitory Concentration
- 4- Minimum Bactericidal Concentration

۲-۵-۱- راندمان ریزپوشانی^۱

راندمان ریزپوشانی پلی فنولها مطابق روش توضیح داده شده توسط روبرت و همکاران (۲۰۱۵) تعیین شد (۴۱). ۲۰۰ میلی گرم ریز پوشینه به ۲ میلی لیتر اتانول اضافه و به مدت یک دقیقه همزده و در ادامه تحت اولتراسوند به مدت ۲۰ دقیقه در دو مرحله با شدت ۱۰۰ درصد و فرکانس ۲۰ کیلو هرتز قرار گرفت. بعد از این مرحله ساتریفیوژ کردن در ۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه انجام گرفت. الکل میتواند عصاره‌ای که خارج از کپسول است را بدون تخریب در خود حل کند. مقدار ترکیبات فنولی کل در محلول رویی با استفاده از روش فولین سیوکالتو و جذب در ۷۴۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفوتومتر تعیین شد. درصد کارایی کپسوله کردن از رابطه زیر محاسبه شد:

معادله ۲:

$$\text{Encapsulation Efficiency (\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_2} \times 100$$

در این معادله w_1 مقدار عصاره در مایع فوقانی مقدار معین از نانو کپسول و w_2 مقدار عصاره افزوده شده برای آماده سازی همان مقدار نانو کپسول می باشد که بر حسب میلی گرم گالیک اسید به ازای هر گرم عصاره بیان می شوند.

۲-۵-۲- تعیین اندازه ذرات

جهت تعیین اندازه ذرات نمونه‌ها (میانگین قطر ذرات و توزیع اندازه حامل‌ها) از دستگاه DLS سنجش اندازه ذرات پتانسیل زتا استفاده شد. اندازه نمونه های تهیه شده بعد از یک ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد و متوسط اندازه بر اساس قطر حجمی توسط این دستگاه تعیین گردید (۳۴). اساس کار دستگاه شکست نور لیزر در اثر برخورد با ذره ها می باشد که مستقیماً به اندازه ذره وابسته است.

معادله ۳:

$$D_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

۲-۵-۳- مورفولوژی ذرات

به منظور بررسی مورفولوژی و تأیید اندازه آنها در مقیاس نانو (کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر) از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. مقدار کمی از نمونه به کمک چسب نقره بر روی یک پین آلومینومی گذاشته شده و سپس توسط یک لایه نازک از جنس طلا در دستگاه پوشش دهنده به مدت ۶ دقیقه جهت رسانا شدن قرار گرفت. نمونه‌ها به اتاقک تحت خلا منتقل گردید. شعاعی از الکترون‌های پر شتاب و با ولتاژ ۲۰ کیلوولت به نمونه‌ها تابیده شد و تصویر بر اساس شعاع الکترونی برگشتی از نمونه‌ها به دست آمد (۷). پس از انجام آزمون‌های فوق، بهترین غلظت عصاره‌های آزاد و ریز پوشانی شده عصاره گیاه شنگ در دو سطح ppm ۷۵۰ و ۱۰۰۰ به فیلم خوراکی نانوکمپوزیت بر پایه پلی ساکارید پولولان افزوده شد.

۲-۶-۱- تهیه پلی ساکارید پولولان

درصد مورد بررسی پلی ساکارید پولولان در این پژوهش از مروری بر مطالعات گذشته که در این زمینه به مطالعه پرداختن استفاده شده است.

۲-۶-۲- آماده سازی محلول فیلم‌ها

محلول تشکیل دهنده فیلم نانوکامپوزیت حاوی پلی ساکارید پولولان به عنوان پایه فیلم، عصاره آزاد و ریز پوشانی شده، پلاستی سایزر، توئین و آب مقطر به روش کاستینگ تهیه شد. ۵ گرم پلی ساکارید پولولان، به نسبت ۳ به ۱، گلیسرول در ۴۰٪ (وزنی کل ماده جامد خشک) به عنوان پلاستی سایزر مخلوط گردید (۸). به میزان ۱۰ درصد حجمی عصاره، توئین و در نهایت عصاره آزاد و ریز پوشانی شده گیاه شنگ در دو سطح (ppm ۷۵۰ و ۱۰۰۰) به محلول اضافه شد و روی هیتر با ۲۵۰ rpm قرار داده و بعد از اینکه دما به ۵۰ درجه سانتی گراد رسید، سپس تا دمای حدود ۲۵ - ۳۰ درجه سانتی گراد آن را خنک کرده و مقدار ۵۰ گرم از آن روی صفحاتی از جنس پلی متیل متاکریلات با ابعاد ۱۶*۱۶ سانتی متر مربع و ضخامت

۲ میلی متر ریخته شد و به مدت حدود ۲۵ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگه داشته و فیلم های تهیه شده در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم اشباع به منظور تعادل رطوبتی قرار داده شد. نمونه های کنترل فاقد عصاره نیز تهیه و در همان شرایط نگهداری شد. همه فیلم ها از جمله شاهد در دو نسخه تهیه گردید (۶).

۲-۷-۲- روش ارزیابی ویژگی های فیزیکوشیمیایی فیلم ها

۲-۷-۲-۱- اندازه گیری ضخامت روکش ها
ضخامت روکش های تولید شده با استفاده از یک کولیس با دقت ۰/۰۱ میلیمتر اندازه گیری شد. اندازه گیری ضخامت روکش ها برای آزمایشات مکانیکی ضروری است (۳۱).

۲-۷-۲-۲- اندازه گیری میزان رطوبت روکش های تولیدی

پس از آن که روکش ها به تعادل رطوبتی رسیدند، میزان رطوبت آن ها، تعیین شد. برای انجام این آزمایش، پلیت های خالی در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد در آون به مدت یک ساعت برای رسیدن به وزن ثابت قرار داده شدند. برای اطمینان از اینکه پلیت ها به وزن ثابت رسیده اند، پس از خروج از آون، در دسیکاتور قرار داده شدند و پس از سرد شدن توزین شدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در آون ۱۱۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. مجدداً آن ها را در دسیکاتور گذاشته و پس از سرد شدن توزین شدند. در صورتی که پلیت ها در دو مرحله توزین، وزن ثابتی داشتند وزن آن ها یادداشت شد. نمونه های روکش درون پلیت ها قرار داده شدند و با ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شدند. پلیت های حاوی روکش در آون در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند تا به وزن ثابت رسیدند. پس از سرد شدن در دسیکاتور، مجموعه را وزن کرده تا وزن نمونه خشک به دست آمد. محتوای رطوبت روکش ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه زیر محاسبه شد. در این آزمایش تبخیر گلیسرول و عصاره ها از درون روکش ناچیز در نظر گرفته شد (۳).

معادله ۴:

وزن نمونه مرطوب / وزن آب $\times 100 =$ درصد رطوبت

۲-۷-۳- اندازه گیری حلالیت روکش ها در آب

پس از تعیین میزان رطوبت موجود در هر روکش میزان مواد جامد موجود در آن قابل تعیین است. با توجه به این مسأله، تکه های روکش را پس از توزین درون ۵۰ سی سی آب مقطر انداخته و به مدت ۱۲ ساعت عمل همزدن آرام در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انجام گرفت. سپس مجموعه بر روی یک کاغذ صافی که قبلاً به وزن ثابت رسیده و دقیقاً توزین شده است صاف شد. کاغذ صافی به همراه نمونه در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا به وزن ثابت رسید. درصد حلالیت روکش ها در آب از رابطه زیر محاسبه شد (۳۸).

معادله ۵:

وزن روکش خشک پس از غوطه‌وری - وزن ماده خشک اولیه / وزن ماده خشک اولیه موجود در روکش $\times 100 =$ درصد حلالیت

۲-۷-۴- اندازه گیری میزان نفوذپذیری روکش ها در

برابر بخار آب

نفوذپذیری به بخار آب طبق روش ASTM E96-05 اندازه گیری شد. ابتدا درون سلول های اندازه گیری نفوذ پذیری، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته شد. سپس سطح سلول بوسیله روکش با استفاده از پارافین مذاب پوشانده شد. سلول ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد فشار بخار معادل ۲/۳۳۷ پاسکال ایجاد می کند. تغییرات وزن سلول ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه گیری شد. نرخ انتقال بخار آب بر حسب $(\text{متر}^{-2} \text{ ثانیه}^{-1} \text{ گرم})$ معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول است که از رابطه زیر حاصل شد. سطح سلول ها ۰/۰۰۲۸۷ متر مربع بوده است (۱۴).

معادله ۶:

سطح سلول / شیب خط = نرخ انتقال بخار آب

و از ضرب نمودن نرخ انتقال بخار آب در ضخامت روکش ها و تقسیم آن در اختلاف فشار موجود در دو سمت روکش

۲-۷-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم های خوراکی
 برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم های خوراکی از روش نفوذ آگار استفاده شد. فیلم های تولید شده با استفاده از یک قالب به دیسک هایی به قطر ۱۰ میلی متر تبدیل شد. دیسک ها در شرایط استریل روی محیط Brain Heart Infusion Agar قرار داده و سپس قطر هاله های تشکیل شده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی متر اندازه گیری شد. قبل از قرار دادن دیسک ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۰/۱ میلی لیتر کشت مایع هر کدام از باکتری های مورد آزمایش (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*) (۱۰^۶-۱۰^۵ cfu/ml) صورت گرفت. پلیت ها سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. قطر هاله های تشکیل شده به عنوان شاخص میزان فعالیت ضد میکروبی فیلم ها در نظر گرفته شد. در مواردی که هاله ای تشکیل نشد یعنی فعالیت ضد میکروبی وجود نداشته، به جای آنکه عدد ۱۰ میلی متر (قطر اولیه دیسک) گزارش شود اندازه آن معادل صفر در نظر گرفته شد؛ اما هنگام وجود فعالیت ضد میکروبی، با در نظر گرفتن قطر دیسک ها، همواره قطر هاله های تشکیل شده بیش از ۱۰ میلی متر بوده. برای اطمینان از رشد یکنواخت باکتری ها بر روی سطح پلیت برای هر کدام از باکتری های مورد آزمایش یک پلیت کشت داده شده فاقد فیلم، در نظر گرفته شد. همچنین از یک پلیت فاقد باکتری برای اطمینان از عدم آلودگی محیط های کشت استفاده گردید (۲۸).

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده ها، با توجه به نرمال بودن داده ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد و ارزیابی ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم افزار (SPSS version 18) برای آنالیز داده ها استفاده گردید.

میزان نفوذ پذیری بخار آب به دست آمد که به صورت $g s^{-1} m^{-1} Pas^{-1}$ بیان شد. یک سلول اندازه گیری نفوذ پذیری فاقد آب مقطر، که توسط روکش پوشانده شد به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. هدف اندازه گیری رطوبتی بود که جذب روکش شده اما از آن عبور نکرده است.

۲-۷-۵- اندازه گیری شفافیت فیلم ها

به منظور سنجش شفافیت فیلم ها، ابتدا نمونه های فیلم به ابعاد ۹۰×۴۰ میلی متر در درون سلول های اسپکتروفوتومتری قرار گرفت و میزان جذب نور در طول موج ۶۰۰ نانومتر طبق فرمول زیر محاسبه شد (۳۸):
 معادله ۷:

ضخامت فیلم / میزان جذب در ۶۰۰ نانومتر = شفافیت فیلم

۲-۷-۶- اندازه گیری ویژگی های مکانیکی فیلم ها

آنالیز مکانیکی فیلم های تولیدی شامل مقاومت کششی و درصد افزایش طول فیلم ها در لحظه پاره شدن به روش زیر بررسی شد: آزمایشات کشش با استفاده از دستگاه Testometric انجام گرفت. روکش ها به شکل مستطیل به ابعاد ۱×۹ سانتی متر مربع بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵ سانتی متر و سرعت حرکت فک ها ۳۰ میلی متر بر دقیقه انتخاب شد. فاکتورهای شامل حداکثر نیرو در نقطه پاره شدن، درصد افزایش طول در نقطه پاره شدن (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) با استفاده از روش شماره D882-91 مصوب ASTM از روی منحنی های نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمد. مقاومت کششی روکش ها از رابطه زیر محاسبه شد (۱۳):

معادله ۸:

(ضخامت روکش × عرض روکش / حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن) = مقاومت کشش

۳- نتایج و بحث

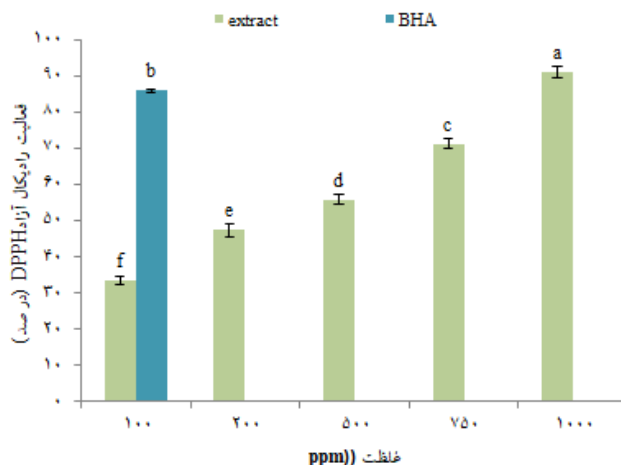
۳-۱- مقادیر ترکیبات فنلی عصاره

میزان ترکیبات فنلی در عصاره گیاه شنگ استخراجی توسط اولتراسوند برابر با $89/04 \pm 2/18$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بوده است. فرضیاتی و همکاران (۲۰۱۴) مقادیر ترکیبات فنلی بخش‌های مختلف گیاه شنگ با استفاده از روش سوکسله را $560/7 - 292/3$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره اعلام نمودند (۲۳). یکی از مهم‌ترین دلایل بالاتر بودن ترکیبات فنلی در مطالعه حاضر نسبت به مطالعه مذکور استفاده از روش اولتراسوند در این مطالعه می‌باشد. که مربوط به پدیده کاویتاسیون ایجاد شده در فرآیند اولتراسوند است. در واقع امواج اولتراسوند، هر دو مرحله فرآیند استخراج یعنی تورم بافت و نیز خروج ترکیبات از آن را از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره سلول‌ها و بهبود انتشار و انتقال جرم تسهیل می‌کنند که این افزایش نفوذپذیری حلال در بافت‌های سلول به وسیله اثرات مکانیکی اولتراسوند به وجود می‌آید و به این ترتیب سلول‌های زنده تحت تاثیر این امواج، تخریب شده و مواد درون خود را بهتر و آسان‌تر رها می‌کنند (۳۵،۱۷). رشیدی و همکاران (۲۰۱۹) و تومتری و همکاران

(۲۰۲۰) نیز اعلام نمودند مقادیر ترکیبات فنلی استخراجی توسط روش اولتراسوند بالاتر از روش سوکسله بود (۴۹،۳۹).

۳-۲- فعالیت رادیکال آزاد DPPH

با توجه به نتایج (نمودار ۱)، میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH تحت تاثیر غلظت عصاره بود و با افزایش غلظت عصاره میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت. بالاترین میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH در غلظت ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد (۸۷/۸۶ درصد). عصاره‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت بالایی برای اهدای اتم هیدروژن یا الکترون و الکترون آزاد می‌باشند با افزایش غلظت ترکیبات فنلی یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنلی، فعالیت مهار رادیکالی عصاره افزایش پیدا می‌کند (۴۹،۳۹). فرضیاتی و همکاران (۲۰۱۴b) نیز اعلام نمودند که عصاره شنگ دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و می‌تواند رادیکال آزاد DPPH را مهار نماید، همچنین آنها اعلام نمودند ترکیبات فنلی نقش مهمی در مهار رادیکال آزاد DPPH دارد (۲۳).



نمودار ۱- اثر غلظت عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA بر فعالیت رادیکال آزاد DPPH

۳-۳- میزان حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی

جدول ۱: خاصیت ضد میکروبی عصاره گیاه شنگ

نوع باکتری	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۸۱/۲۱±۱۲/۴۷ ^b	۳۱۶/۶۲±۱۳/۴۴ ^b
اشرشیاکلی	۲۸۳/۳۳±۱۴/۴۳ ^a	۴۱۶/۶۶±۱۳/۴۱ ^a

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

در برابر نفوذ مولکول‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف ایجاد می‌کند و نیز با آنزیم‌های فضای پری‌پلاسمی که قادر به شکستن مولکول‌های وارد شده از خارج هستند نیز در ارتباط می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت چنین غشای خارجی در ساختار دیواره سلولی ندارند. برخی از آنتی‌بیوتیک می‌توانند به آسانی دیواره سلول باکتریایی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب نموده و منجر به خروج سیتوپلاسم آن گردند. فرضیاتی و همکاران (۲۰۱۴b) نیز اعلام نمودند که عصاره شنگ دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد (۲۳).

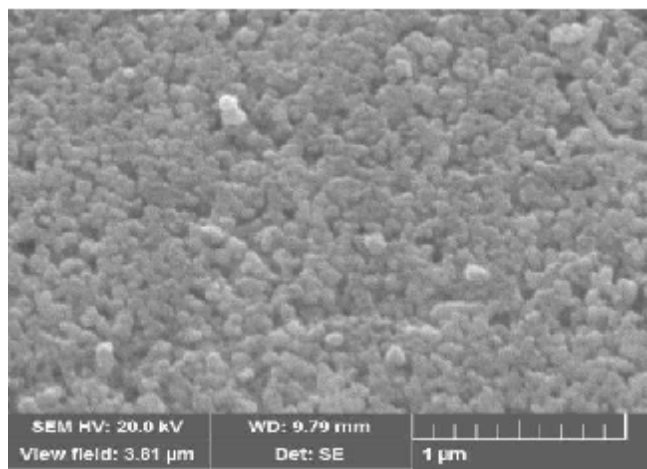
۳-۴- آزمون‌های عصاره ریز پوشانی

اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات اهمیت ویژه‌ای در تعیین خصوصیات سیستم‌های کلوئیدی دارند. مقادیر و ثبات این دو پارامتر در تعیین پایداری سیستم حامل کلوئیدی و کارایی انکپسولاسیون نقش بسزایی ایفا می‌کنند. نتایج مربوط به اندازه ذرات عصاره ریز پوشانی شده توسط مالتودکسترین کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر در مطالعه حاضر برابر با $92/88 \pm 0/97$ نانومتر بوده است. با توجه به نتایج عصاره ریز پوشانی شده از اندازه کوچکی برخوردار است. نانوعصاره‌ها با اندازه کوچکتر دارای پایداری بیشتری می‌باشند که به دلیل مقاومت بالاتر نسبت به نیروی ثقل به واسطه حرکت برآونی است (۲۴). هم‌چنین نتایج مربوط به راندمان عصاره ریز پوشانی شده توسط مالتودکسترین - کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر در مطالعه حاضر برابر با $61/15 \pm 0/22$ درصد بوده است. بهرامی و خادمی (۲۰۲۰) اندازه ذرات عصاره چای ترش ریز پوشانی

یکی از معیارهایی که به وسیله بیشتر محققین جهت اندازه‌گیری فعالیت ضد باکتریایی عوامل ضد میکروب استفاده می‌گردد، اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی می‌باشد. با توجه به نتایج (جدول ۱)، عصاره گیاه شنگ دارای خاصیت ضد میکروبی علیه هر دو باکتری بود. در مورد نحوه عمل عصاره‌های گیاهی در مرگ باکتری‌های بیماری‌زا چنین اظهار نظر شده است که یکی از ویژگی‌های مهم این مواد و ترکیبات آنها، خاصیت آب‌گریزی است که سبب می‌شود در بخش‌های لیپیدی دیواره سلولی و میتوکندریایی باکتری توزیع شده و موجب تغییر و تخریب ساختمان و نفوذ پذیری بیشتر آنها گردد به دنبال آن بخش زیادی از یونها و دیگر محتویات حیاتی سلول به بیرون تراوش می‌نماید که در نهایت به مرگ باکتری منجر می‌شود (۲۰). با توجه به نتایج MIC و MBC، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، در برابر عصاره حساس‌تر از باکتری اشرشیاکلی بود. گزارشات متعدد بیان نموده‌اند که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر ترکیبات ضد باکتریایی حساس‌تر هستند و این حساسیت بالای باکتری‌های گرم مثبت به دلیل عدم وجود دیواره سلولی لیپیدی ساکاریدی است که این دیواره در باکتری‌های گرم منفی ممکن است از ورود ترکیبات زیست فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری به عمل آورد (۳۹). مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر مواد ضد باکتریایی با سطح هیدروفیلی غشای خارجی باکتری که غنی از مولکول‌های لیپیدی ساکاریدی است و یک حائل

آب پنیر سطحی نرم و یکنواخت با درصد حفره گی پایین دارد که این خصوصیات بیان کننده ویژگی مناسب عصاره نانو کپسوله تهیه شده به این روش است. همانطور که در شکل مشاهده میشود ذرات بدست آمده همگی دارای شکل کروی هستند. تورفتگی و شکستگی در ساختار نانو کپسولها مشاهده نشد. عوامل مختلفی بر روی ویژگیهای سطحی دیواره نانو کپسولها تاثیر دارند که از آن جمله میتوان به سرعت خشک کردن نانوامولسیون، ترکیب دیواره و شرایط تولید نانوامولسیون اشاره نمود (۴۰). بنابراین با توجه به مورفولوژی سلولی بدست آمده میتوان اطمینان حاصل کرد که تمام رطوبت طی فرآیند خشک کردن از نانو کپسولها خارج شده است. در صورتی که مقداری از رطوبت درون نانو کپسولها باقی بماند ساختار آنها از حالات صاف به حالت تورفته و خشن (زمخت) تغییر شکل پیدا می نماید (۵۰). تان و همکاران (۲۰۱۵) مورفولوژی مشابهی از نانو کپسولهای عصاره خربزه آبی در پوششهای مالتودکسترین و صمغ عربی نشان دادند (۴۸)، هم چنین رضایی و همکاران (۲۰۲۰) نیز مورفولوژی مشابهی از عصاره گیاه زوفای انکپسوله شده در نانوامولسیونهای بیوپلیمری قدومه شهری و ثعلب نشان دادند (۴۰).

شده به وسیله مالتودکسترین - کنسانتره پروتئینی آب پنیر را اعلام نمودند (۱۷). رضایی و همکاران (۲۰۲۰) اندازه ذرات و راندمان ریزپوشانی عصاره گیاه زوفای انکپسوله شده در نانوامولسیونهای بیوپلیمری قدومه شهری و ثعلب را به ترتیب ۵۶/۷۱ نانومتر و ۸۸/۳۶ درصد اعلام نمودند (۴۰). اسماعیل زاده کناری و پناهی (۱۳۹۷) اندازه ذرات و راندمان ریزپوشانی عصاره برگ گزنه در بیوپلیمر مرکب مالتودکسترین: ثعلب را به ترتیب ۵۱۹/۳۶ نانومتر و ۵۹/۸۱ درصد گزارش نمودند که کمتر از راندمان بدست آمده در این مطالعه بود (۱). در تمامی موارد مواد دیواره ای پوشش نقش تعیین کننده ای در راندمان ریزپوشانی داشتند. بادفرسا و همکاران (۱۳۹۷) تاثیر فرآیند ریزپوشانی بر خصوصیات آنتی اکسیدانی اسانس گلپر را مورد بررسی قرار دادند و راندمان انکپسولاسیون اسانس در دیواره پلی ساکارییدی را ۸۵ درصد گزارش نمودند. آنها اعلام نمودند پلیمرهای با درجه غذایی که عموماً برای ریزپوشانی ترکیبات مهم غذایی انتخاب می شوند بایستی از ماده هسته ای در برابر اکسایش، حرارت و تبخیر محافظت نمایند (۲). با توجه به شکل ۱، مشخص شد که ساختار عصاره ریز پوشانی شده توسط مالتودکسترین - کنسانتره پروتئینی



شکل ۱- تصویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی

۳-۵- ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌ها

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌ها

نوع فیلم	رطوبت (%)	حلالیت (%)	ضخامت (mm)
پولولان	۲۱/۲۹±۰/۹۸ ^a	۲۹/۸۱±۰/۳۱ ^a	۰/۷۶±۰/۰۰ ^b
پولولان+ عصاره ۷۵۰ ppm	۱۹/۴۵±۰/۱۸ ^b	۲۴/۸۴±۰/۳۹ ^b	۰/۸۵±۰/۰۱ ^a
پولولان+عصاره ۱۰۰۰ ppm	۱۷/۶۰±۰/۵۴ ^c	۲۳/۳۲±۰/۴۷ ^c	۰/۸۴±۰/۰۱ ^a
پولولان+نانوعصاره ۷۵۰ ppm	۱۸/۷۸±۰/۳۳ ^{bc}	۲۳/۳۵±۰/۲۸ ^c	۰/۸۴±۰/۰۱ ^a
پولولان+نانوعصاره ۱۰۰۰ ppm	۱۶/۴۵±۰/۰۹ ^d	۲۱/۵۴±۰/۳۶ ^d	۰/۸۳±۰/۰۱ ^a

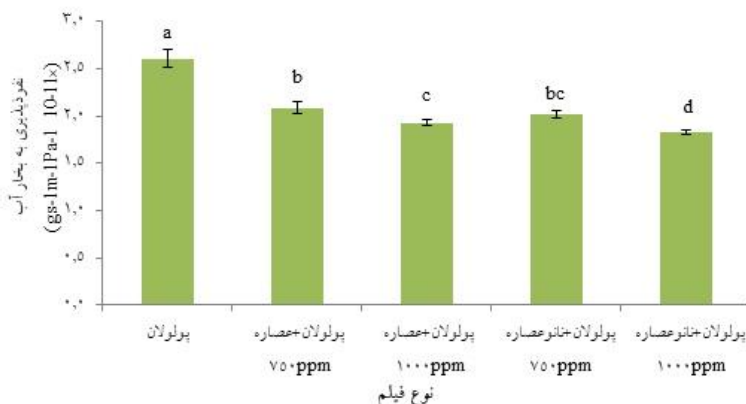
* همه اعداد بر حسب میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده اند

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

کاهش بیشتر میزان حلالیت شد به طوری که کمترین میزان حلالیت در فیلم پولولان + عصاره نانو ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد (۲۱/۵۴ درصد). این پدیده ناشی از ایجاد اتصالات سراسری توسط عصاره و ایجاد گروه‌های آمیدی یا استری بود. ایجاد اتصالات سراسری در فیلم پولولان، منجر به کاهش گرایش پلیمر به آب شده و فیلمی با حلالیت کمتر در آب تولید نمود. همچنین با تبدیل نمودن عصاره به نانوعصاره حلالیت فیلم کاهش یافت. این کاهش حلالیت یک امر مثبت در فیلم تلقی می‌شود (۴). کاهش انحلال در آب فیلم زمانی بسیار مهم می‌باشد که نیاز به بسته بندی مقاوم به رطوبت برای حفظ تمامیت محصول است (۱۶). در ادامه با توجه به نتایج (جدول ۲)، کمترین مقادیر ضخامت مربوط به فیلم پولولان بوده است (۰/۷۶ میلی متر) ($P < 0.05$). با افزودن عصاره گیاه شنگ به فیلم پولولان میزان ضخامت افزایش یافت و میزان ضخامت مابین تیمارهای مختلف، اختلاف معنی داری باهم نداشتند ($P > 0.05$). نتایج مطالعه حاضر با نتایج اجاق و همکاران (۲۰۱۰) افزودن اسانس دارچین به فیلم کیتوزان (۳۸)، عبدالمهدی و همکاران (۲۰۱۲) افزودن اسانس رزماری با غلظت ۲ درصد به فیلم نانو کیتوزان- رس (۹)، و سالارباشی و همکاران (۲۰۱۴). افزودن اسانس پونه کوهی و آویشن شیرازی به فیلم بر پایه SSPS^۱ هم خوانی دارد (۴۲).

با توجه به نتایج (جدول ۲)، بیشترین مقادیر رطوبت مربوط به فیلم پولولان بوده است (۲۱/۲۹ درصد) ($P < 0.05$). با افزودن عصاره گیاه شنگ به فیلم پولولان میزان رطوبت کاهش یافت و همچنین نانو کپسولاسیون و غلظت عصاره سبب کاهش بیشتر میزان رطوبت شد به طوری که کمترین میزان رطوبت در فیلم پولولان+عصاره نانو ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد (۱۶/۴۵ درصد). این پدیده به علت تشکیل اتصالات کووالانسی بین زنجیرهای فیلم پولولان حاوی عصاره می‌باشد، ایجاد این اتصالات منجر به کاهش گروه‌های هیدروکسیل و آمین آزاد موجود در شبکه فیلم شده و بنابراین میزان اتصالات هیدروژنی موجود بین مولکول‌های آب و گروه‌های عاملی زنجیرهای پلیمری را کاهش داد و کاهش اتصالات هیدروژنی منجر به کاهش میزان رطوبت فیلم‌های حاوی عصاره می‌شود (۳۱). همچنین با تبدیل نمودن عصاره به نانوعصاره ویژگی‌های آب دوستی عصاره افزایش می‌یابد. با این تبدیل عامل هیدروکسیل و آمین آزاد کاهش می‌یابد، زیرا عامل آمین آزاد با گروه فسفات در تری پلی فسفات وارد واکنش می‌شود و میزان اتصالات هیدروژنی موجود مابین مولکول‌های آب و گروه‌های عاملی زنجیرهای پلیمری را کاهش می‌دهد و در نتیجه منجر به کاهش میزان رطوبت فیلم‌های حاوی نانو عصاره شنگ می‌شود (۴). با افزودن عصاره گیاه شنگ به فیلم پولولان میزان حلالیت کاهش یافت و همچنین نانو کپسولاسیون و غلظت عصاره سبب

۳-۶- اندازه گیری نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب (WVP)

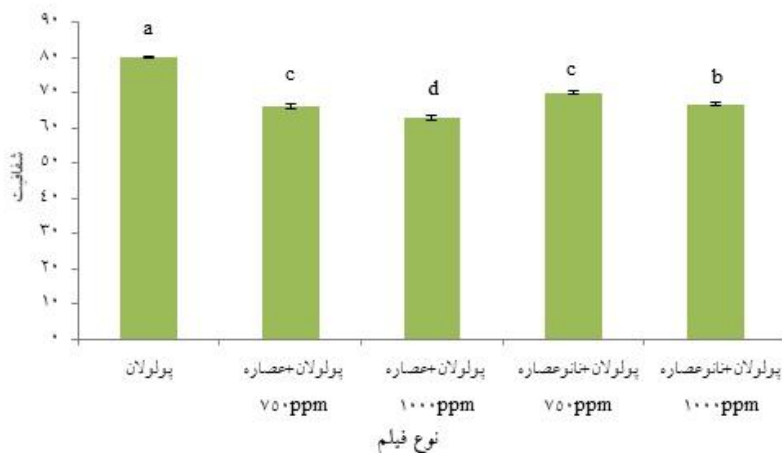


نمودار ۲- نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب

یک سری پیوندهای هیدروژنی و کوالانت با گروه‌های فعال پولولان می‌کند. پیوندهای هیدروژنی و کوالانت بین شبکه پولولان و ترکیبات فنلی موجب کاهش توانایی گروه‌های هیدروژنی برای تشکیل پیوندهای هیدروژنی با آب و نهایتاً کاهش تمایل فیلم نسبت به آب می‌گردد (۴۷). همچنین زمانی که عصاره به صورت نانو در ساختار فیلم قرار گیرد منافذ موجود در فیلم پر می‌شود، به گونه‌ای که حتی منافذ بسیار ریز نیز خالی نمی‌ماند اما در حالتی که به صورت عصاره اضافه می‌شود منافذ ریز در ساختار فیلم خالی مانده و بر نفوذ پذیری آن می‌افزاید. شجاعی و همکاران (۲۰۱۳) طی پژوهشی که درباره تولید پوشش خوراکی بر پایه کاراژینان، اسانس پونه کوهی و آویشن انجام دادند، به نتایج مشابهی دست یافتند (۴۶). آریایی و همکاران (۲۰۱۴) اعلام نمودند، با افزودن اسانس اناریچه به فیلم متیل سلولز سبب کاهش میزان نفوذ پذیری بخار آب شد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۲).

نفوذپذیری به بخار آب عبارت است از مقاومت یک ماده در برابر نفوذ بخار آب و این ویژگی در فیلم‌ها با قابلیت آن‌ها در تازه نگه داشتن محصولات غذایی، جلوگیری از جذب رطوبت متصاعد شده از محصولات مرطوب یا جلوگیری از کپک زدن محصولات خشک مرتبط است. در واقع یکی از عوامل اصلی فساد رطوبت نسبی می‌باشد به همین دلیل بازدارندگی نسبت به بخار آب یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مورد استفاده برای بسته بندی مواد غذایی به شمار می‌رود (۲۶). با توجه به نتایج (نمودار ۲)، بیشترین مقادیر نفوذپذیری در فیلم پولولان بوده است ($2/61 \times 10^{-11} \text{ gs}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$). با افزودن عصاره گیاه شنگ به فیلم پولولان میزان نفوذپذیری کاهش یافت و نانوکپسولاسیون و هم‌چنین غلظت عصاره سبب کاهش بیشتر میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب شد به طوری که کمترین میزان رطوبت در فیلم پولولان+عصاره نانوکپسوله ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد ($1/83 \times 10^{-11} \text{ gs}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$). ترکیبات فنلی موجود در عصاره با قرار گرفتن در ماتریس پولولان ایجاد

۳-۷- اندازه گیری شفافیت فیلم‌ها



نمودار ۳- شفافیت فیلم‌ها

عصاره به طور معمول در سطح فیلم جمع شده و باعث ایجاد ناهمگونی در سطح می‌شود. البته در غلظت‌های پایین عصاره این تغییرات چندان قابل ملاحظه نمی‌باشد (۴۳). فیلم‌های نانو عصاره دارای شفافیت بالاتری نسبت به فیلم‌های حاوی عصاره بود. علت این امر احتمالاً مربوط به توضیح ارائه شده در مورد نفوذ پذیری بخار آب می‌باشد هم‌چنین زمانی که عصاره به صورت نانو در ساختار فیلم قرار گیرد منافذ موجود در فیلم پر می‌شود، به گونه‌ای که حتی منافذ بسیار ریز نیز خالی نمی‌ماند بنابراین سطح فیلم همگن‌تر و شفافیت فیلم افزایش می‌یابد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج سیرپاتروان و هارت (۲۰۱۰) هم خوانی دارد. آنها اعلام نمودند افزودن عصاره چای سبز (تا غلظت ۲۰ درصد) به فیلم کیتوزان موجب کاهش شاخص شفافیت می‌شود (۴۷).

شفافیت فیلم‌های خوراکی یکی از عوامل مهم در انتخاب محصول برای مشتری می‌باشد و به نوع ترکیبات به کار رفته و فرآیند به کار برده شده در ساخت فیلم بستگی دارد. با توجه به نتایج (نمودار ۳)، بیشترین مقادیر شفافیت فیلم‌ها مربوط به فیلم پولولان بوده است (۸۰/۱۲ درصد). با افزودن عصاره گیاه شنگ به فیلم پولولان میزان شفافیت کاهش یافت به طوری که کمترین میزان شفافیت در فیلم پولولان+عصاره ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد. شفافیت فیلم‌های خوراکی به مورفولوژی سطح در طول فرآیند خشک شدن بستگی دارد. به طور کلی سطح صاف‌تر منجر به شفافیت بیشتر می‌گردد (۱۹). افزودن عصاره به فیلم‌ها به طور معمول باعث کاهش شفافیت و حالت شیشه‌ای فیلم می‌شود که این امر به دلیل ایجاد یک سطح ناهموار در سطح فیلم در زمان خشک کردن است که

۳-۸- اندازه گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها

جدول ۳- ویژگی مکانیکی فیلم‌ها

نوع فیلم	مقاومت کششی (مگا پاسکال)	حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی (در صد)
پولولان	۱۳/۰۵±۰/۱۴ ^c	۲۳/۸۵±۰/۴۳ ^c
پولولان + عصاره ۷۵۰ ppm	۱۷/۰۲±۰/۶۱ ^b	۳۳/۰۸±۰/۶۹ ^b
پولولان + عصاره ۱۰۰۰ ppm	۱۸/۷۸±۰/۶۱ ^a	۳۵/۱۵±۰/۰۰ ^a
پولولان + نانو عصاره ۷۵۰ ppm	۱۶/۵۰±۰/۰۶ ^b	۳۱/۶۴±۰/۵۴ ^b
پولولان + نانو عصاره ۱۰۰۰ ppm	۱۹/۵۴±۰/۵۴ ^a	۳۵/۱۴±۰/۲۲ ^a

* همه اعداد بر حسب میانگین ± انحراف از معیار بیان شده اند

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

پایه کاراگینان می‌گردد و با افزایش غلظت هر دو نوع اسانس این شاخص بهبود می‌یابد (۴۶). افزودن عصاره به فیلم پولولان سبب افزایش کشش تا قبل از نقطه پارگی شد. و با افزایش غلظت عصاره افزایش بیشتری مشاهده شد به طوری که بیشترین میزان اختلاف حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی در فیلم های پولولان + عصاره و نانو عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد. این دو تیمار اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P > 0.05$). که احتمالاً به این دلیل است که حضور عصاره حتی در مقادیر کم، پیوندهای هیدروژنی درون شبکه-ای ماتریکس را تغییر می‌دهد و منجر به تشکیل پیوندهای مطلوب تری بین ماتریکس و پلی ساکارید به عنوان تقویت کننده می‌گردد. عبداللهی و همکاران (۲۰۱۲) در ارتباط با افزودن اسانس رزماری با غلظت ۱/۵ درصد به فیلم نانو کامپوزیت کیتوزان-رس نیز نتایج مشابهی گزارش نمودند. آنها اعلام نمودند با افزودن ۱/۵ درصد اسانس رزماری به فیلم نانو کیتوزان-رس سبب افزایش ۷ درصدی مقاومت کششی و ۴۰ درصدی کشش تا قبل از نقطه پارگی فیلم‌ها می‌شود (۹).

با توجه به نتایج (جدول ۳)، کمترین مقاومت کششی در فیلم پولولان مشاهده شد (۱۳/۰۵ مگا پاسکال) ($P < 0.05$). با افزودن عصاره گیاه شنگ به فیلم پولولان میزان مقاومت کششی فیلم‌ها افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان مقاومت کششی فیلم‌ها در فیلم‌های پولولان + عصاره و نانو عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد که از نظر آماری این دو تیمار اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P > 0.05$). علت این امر ایجاد یک برهم کنش قوی بین پلیمر پولولان و عصاره شنگ می‌باشد که منجر به ایجاد اتصالات سراسری شده و بنابراین حجم آزاد و قابلیت تحرک ملکولی پلیمر را کاهش داد. این پدیده منجر به ایجاد ساختار صفحه مانند شده و آرایش این صفحات به صورت لایه‌هایی بر روی یکدیگر سبب افزایش مقاومت کششی می‌گردد (۳۱). هم‌چنین وزن مولکولی بالای ترکیبات فنلی عصاره، موجب کاهش اثرات نرم‌کنندگی در فیلم و افزایش مقاومت کششی فیلم های حاوی عصاره می‌گردد (۱۰). شجاعی و همکاران (۲۰۱۳) طی پژوهشی به نتایج مشابهی دست یافتند که مطابق آن افزودن اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی موجب افزایش کشش پذیری فیلم بر

۳-۹- اندازه گیری خواص ضد میکروبی فیلم‌ها

جدول ۴- ویژگی میکروبی فیلم‌ها

نوع فیلم	اشرشیاکلی ^e	باسیلوس سرئوس ^e
پولولان		
پولولان + عصاره ۷۵۰ ppm	۱۰/۸۰±۰/۷۷ ^d	۱۴/۰۲±۰/۶۲ ^d
پولولان + عصاره ۱۰۰۰ ppm	۱۴/۹۲±۰/۴۷ ^b	۱۷/۹۶±۰/۰۹ ^b
پولولان + نانو عصاره ۷۵۰ ppm	۱۳/۶۰±۰/۵۰ ^c	۱۵/۰۹±۰/۴۵ ^c
پولولان + نانو عصاره ۱۰۰۰ ppm	۱۶/۸۹±۰/۴۶ ^a	۲۰/۱۵±۰/۶۲ ^a

* همه اعداد بر حسب میانگین ± انحراف از معیار بیان شده اند

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

مولکول‌های چربی در مرز غشاء وارد شده‌اند. دو روش پیشنهاد شده است که به وسیله آن هیدروکربن‌های حلقوی می‌توانند عمل کنند. در ابتدا مولکول‌های هیدروکربن چربی دوست می‌توانند در یک لایه درون چربی تجمع پیدا کنند و واکنش چربی- پروتئین را از شکل طبیعی خارج کنند سپس واکنش مستقیم ترکیبات چربی دوست با قسمت‌های آب گریز پروتئین‌ها ممکن می‌گردد (بورت، ۲۰۰۴). به طور کلی خاصیت ضد باکتریایی عصاره، به غلظت آن وابسته است و با افزایش غلظت عصاره، خاصیت ضد باکتریایی نگهدارنده‌های طبیعی افزایش می‌یابد (۳۲، ۲۱) که مطالعه حاضر نیز موید این مسئله است. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات عبداللهی و همکاران (۲۰۱۲) و بهرام و همکاران (۲۰۱۴) همخوانی دارد (۱۶، ۹). هم‌چنین فعالیت ضد میکروبی نانو عصاره بالاتر از عصاره بود. برای ایجاد خاصیت ضد باکتریایی موثر، باید پیوندهای فیزیکی موثری بین سلول‌های باکتریایی و عصاره به منظور برقراری اتصالات یونی ایجاد گردد. استفاده از عصاره نانو در این پژوهش، با هدف پخش پذیری بهتر، احتمال برقراری اتصالات فیزیکی و در نتیجه ایجاد اثر مهارکنندگی نانو عصاره علیه باکتری‌های مذکور را افزایش داد. افزایش

افزودن مستقیم مواد ضد میکروبی به درون ماده غذایی ممکن است بر روی خواص حسی آن تاثیر نامطلوبی داشته باشد، بنابراین افزودن ماده ضد میکروبی به درون مواد بسته بندی می‌تواند چنین اثراتی را کاهش دهد. ماده بسته بندی، آزادسازی این ترکیبات را روی سطح ماده غذایی کنترل می‌کند و سبب می‌شود که غلظت این ترکیبات همواره بالاتر از حد بحرانی مورد نیاز برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها مضر باشد (۱۸). با توجه به نتایج (جدول ۴)، فیلم پلی ساکاریدی پولولان خاصیت ضد میکروبی ضعیفی داشت. با افزودن عصاره به فیلم، فیلم-های تولیدی علیه هر ۲ باکتری خاصیت ضد میکروبی نشان دادند. ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌ها می‌تواند، دیواره سلولی باکتری‌ها یا دیواره میتوکندری‌ها را تجزیه کنند و باعث تخریب سلولی و نفوذ پذیری بیشتر سلول‌ها شوند. هم‌چنین مهاجرت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی نیز می‌تواند اتفاق بیفتد و کم شدن زیاد محتویات سلول باکتری به همراه خروج مواد حساس و یون‌ها منجر به مرگ باکتری خواهد شد (۲۱). ترکیبات عصاره هم‌چنین روی پروتئین‌های موجود در غشاء سیتوپلاسمی اثر می‌گذارند. آنزیم‌هایی از قبیل ATPase در غشای سیتوپلاسمی جای گرفته‌اند و به وسیله

یافت. در مجموع به نظر می‌رسد فیلم خوراکی پلی ساکارید پولولان به همراه نانو عصاره گیاه شنگ توانایی بالایی به عنوان نگهدارنده طبیعی با خاصیت ضد میکروبی در بسته بندی مواد غذایی داشته باشد.

خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی پس از نانوشدن توسط حامل‌های مختلف توسط محقق دیگر نیز اعلام شده است (۲۹،۱۵،۱۱).

۴- نتیجه گیری

به علت مشکلات پلیمرهای نفتی در آلودگی محیط زیست، فیلم‌های زیست تخریب پذیر شاید نتوانند به جای همه انواع بسته بندی‌ها به کار روند، اما توانایی جایگزینی بسیاری از این بسته بندی‌ها را دارند. این فیلم‌ها دارای توانایی منحصر به فرد حمل افزودنی‌های غذایی نیز هستند که باعث کاربرد آن‌ها در سطحی بالاتر از سایر بسته بندی‌ها می‌شود. در این پژوهش خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم پلی ساکاریدی پولولان حاوی عصاره گیاه شنگ مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور در ابتدا عصاره گیاه شنگ از روش اولتراسوند استخراج و میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره سنجیده شد. سپس تاثیر عصاره بر روی میکروارگانیزم‌های گرم منفی نظیر اشرشیاکلی و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج MIC و MBC حساسترین باکتری، در برابر تمامی عصاره اباکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود. نتایج نشان داد عصاره شنگ دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بود و در غلظت ۱۰۰۰ ppm به طور معنی داری بالاتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA بود. سپس به منظور ریزپوشانی عصاره از حامل‌های مالتودکسترین-کنسانتره پروتئینی آب پنیر استفاده شد. سپس عصاره و نانو عصاره با غلظت‌های ۷۵۰ و ۱۰۰۰ ppm به فیلم پولولان افزوده شد به طوری که رطوبت، حلالیت و نفوذ پذیری بخار آب، شفافیت در این فیلم‌ها کاهش، ضخامت، مقاومت کششی و حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی افزایش یافت. همچنین جایگزینی عصاره با نانو عصاره در اکثر موارد سبب بهبود ویژگی‌های فیلم شد. فیلم‌های حاوی عصاره خاصیت ضد میکروبی بالایی علیه باکتری‌های پاتوژن داشتند که با افزایش غلظت و تبدیل عصاره به نانو عصاره خاصیت ضد میکروبی نیز افزایش

۵- منابع

۱. اسماعیل زاده کناری، ر.، پناهی، پ. ۱۳۹۷. بررسی تاثیر عصاره نانوریزپوشانی شده برگ گزنه در کنترل پایداری اکسایشی روغن سویا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۷۵، شماره ۱۵، ۳۳-۲۳.
۲. بادفرسا، ح.، احمدزاده قویدل، ر.، شرایعی، پ. ۱۳۹۷. تاثیر فرآیند ریزپوشانی با استفاده از خشک کن انجمادی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس گلپر. نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی. دوره ۱۰، شماره ۲، ۱۳۶-۱۲۳.
۳. بهرام، س.، جعفرپور، س. ز. ۱۳۹۷. ارزیابی تاثیر درصد پلیمر و میزان نرم‌کننده بر ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و ریز ساختار فیلم خوراکی کتیرا به منظور کاربرد در بسته بندی مواد غذایی. مجله علوم و صنایع غذایی، شماره ۷۹، دوره ۱۵، ۴۱-۳۱.
۴. زرافشان. خ. ۱۳۹۱. تولید فیلم‌های پروتئینی حاوی نانوذرات کیتوزان به منظور پوشش‌دهی و بررسی خواص فیزیکی آن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۹۹-۹۷.
۵. قنبرزاده، ب.، الماسی، ه.، زاهدی، ی. ۱۳۹۰. بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی و دارویی. انتشارات دانشگاه صنعتی امیر کبیر. ص ۵۲۳.

- Standards Designations E96-95. *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing and Material Philadelphia, PA.
14. ASTM 2002. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing Materials Philadelphia, PA.
 15. 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 and nutrition*, 4(2): 216–222.
 16. Bahram, S., Rezaei, M., Soltani, M., kamali, A., Ojagh, S. M., Abdollahi, M. 2014. Whey protein concentrate edible film activated with Cinnamon essential oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38: 1251–1258.
 17. Bahrami Feridoni, S., Khademi Shurmasti, D. 2020. Effect of the nanoencapsulated sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract with carboxymethylcellulose on quality and shelf life of chicken nugget. *Food science and nutrition*, 8: 3704–3715.
 18. Benavidesa, S. and Villalobos-Carvajal R. 2012. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, 110(2): 232–239.
 19. Bourtoom, T. and Chinnan, M.S. 2008. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *LWT – Food Science and Technology*, 41: 1633–1641.
 20. Brusa, V., Aliverti, V., Aliverti, F., Ortega, E. E., Torre, J. H., Linares, L. H., Sanz, M. E., Etcheverría, A. I., Padola, N. L., Galli, L., Peral, P., Copes, J., Leotta, G.A. 2013. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef retail
 6. مظفریان، ت.، منافی، ص. ع. ۱۳۹۶. تهیه و ارزیابی بایو نانوکامپوزیت بر پایه پلی ساکارید سویا/نانو دی اکسید سیلیسیم/عصاره اسپند. *مجله علوم و صنایع غذایی*، دوره ۱۴، شماره ۶۴، ۲۴۳–۲۳۱.
 7. نشاسته گیر، م. ح.، محبّی، م.، حدادخداپرست، م. ح.، وریدی، م. ۱۳۹۷. تهیه نانویوزوم های حاوی عطر مایه روغنی پرتقال با استفاده از روش حرارتی. *نشریه ی نوآوری در علوم و فناوری غذایی*، دوره ۱۰، شماره ۲، ۱۱۵–۱۲۲.
 8. هدایتی راد، ف.، شریفیان، ا.، خدائیان، ف.، حسینی، ا. ۱۳۹۲. بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم تهیه شده از پولولان حاوی اسانس درمنه. *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*، دوره ۳، شماره ۲، ۱۳۵–۱۳۰.
 9. Abdollahi, M., Rezaei, M., Farzi, G. 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 847–853.
 10. Adams, B., Sivarooban, T., Hettiarachchy, N.S., Johnson, M.G. 2005. Inhibitory activity against *Listeria monocytogenes* by soy protein edible film containing grape seed extract, nisin, and malic acid. *Discovery*, 6: 3–9.
 11. AlipourMazandrani, H., Javadian, S. Y., Bahram, S. 2016. The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. *Food science and nutrition*, 4(2): 298–304.
 12. Ariaai, P., Tavakolipour, H., Rezai, M., ElhamiRad, A.M. 2014. Properties and antimicrobial activity of edible methylcellulose based film incorporated with *Pimpinella affinis* oil. *European Journal of Experimental Biology*, 4(1): 670–676.
 13. ASTM 1995. Standard test methods for water vapour transmission of materials.

- agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27: 889-896.
29. Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J. 2007. Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *European Food Research and Technology*. 226: 583-590
30. Grisi, T. C., Lira, K. G. 2005. Action of nisin and high pH on growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. in pure culture and the meat of land crab (*Ucides cordatus*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 36: 151-156.
31. Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., Ghavi, F. F. 2013. Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chemistry*, 136:1490-1495.
32. Jalali, M., Ariai, P., Fattahi, E. 2015. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and *Escherichia coli* O157:H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, DOI 10.1007/s13197-015-2060-4.
33. Javadian, S. R., Shahoseini, S.R., Ariai, 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*, doi.org/10.1080/10498850.2015.1101629.
34. Joye, I. J., Davidov-Pardo, G., 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.
35. Kadam, S.U., Tiwari, B.K., Smyth, T.J., Donnell, C.P. 2015. Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using markets from Argentina. *Frontiers cell infec microbial*, 18(2): 171.
21. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Food Microbiology*, 94: 223- 253.
22. Farzaei, M. H., Khanavi, M., Moghaddam, G., Dolatshahi, F., Rahimi, R., Shams-Ardekani, M. R., Amin, G. R., Hajimahmoodi, M. 2014a. Standardization of *Tragopogon graminifolius* DC. Extract Based on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. *Journal of Chemistry*. dx.doi.org/10.1155/2014/425965.
23. Farzaei, M. H., Rahimi, R., Attar, F., Siavoshi, F., Saniee, P., Hajimahmoodi, M., Mirnezami, T., Khanavi, M. 2014b. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Extracts of *Tragopogon graminifolius*, A Medicinal Herb from Iran. *Natural Product Communications*, 9(1):121-4.
24. Fathi, M., Mozafari, M. R., Mohebbi, M. 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in food science & technology*, 23(8): 13-27.
25. Garcia, K., Castro, T. 2003. Determination of Antioxidant Potential of Volatile Extracts Isolated from Various Herbs and Spices. *Agricultural and Food Chemistry*, 50. 4947 - 4952.
26. Ghanbarzadeh, B., Oromiehi, A.R. 2008. Biodegradable biocomposite films based on whey protein and zein: barrier, mechanical properties and AFM analysis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43: 209-215.
27. Gibbs, M., Vogt, E., Weiss, J. 2012. Encapsulation of polyphenolic grape seed extract in polymer-coated liposomes. *Food and Function*, 3:246-254.
28. Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P. 2010. Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial

- Cháfer, M. 2011. Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. *Food Engineering Reviews*, 3: 1–1610.1007/s12393-010-9031-3.
44. Shahnazi, S., Khalili Sigaroudi, F., Ajni, Y., Yazdani, D., Ahvazi, M., taghizad, F. 2007. Investigation of chemical composition and antimicrobial properties Thymus trautvetteri essential oil. *Journal of Medicinal plants*, 23:80 – 88.
45. Shiryanpour, S., MohammadiNafchi, A., Nahidi, F. 2013. Investigation of peganum harmala exteact on physicochemical, mechanical, antimicrobial and properties of edible films based on sago starch. *Islamic Azad University, Damghan Branch. Polymers*, 98: 1127-1136.
46. Shojaee, S., Abadi, A., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M., Hosseini, S. M., Khaksar, R. 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing Satureja hortensis essential oil, *International Journal of Biological Macromolecules*.52: 116-124.
47. Siripatrawan. U. and Harte, B. R. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 4 (8): 770-778.
48. Tan, S. P., Kha, T. C., Parks, S., Stathopoulos, C., Roach, P. D. 2015. Optimising the Encapsulation of an Aqueous Bitter Melon Extract by Spray-Drying. *Foods*, 4(3):400-419.
49. Tometri, S. S., Ahmady, M., Ariaii, P. 2020. Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Journal of Food Measurement and Characterization*.14: 3333–3344.
50. Tonon, R.V., Brabet, C., Hubinger, M. D. 2008. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.* 23, 308-316.
36. Leathers, T. 2003. Biotechnological production and applications of pullulan. *Appl microbiolbiotechnol*, 62 (5):468-73.
37. Maleki, M., Ariaii, P., Fallah, H. 2015. Effects of Celery Extracts on the Oxidative Stability of Canola Oil Under Thermal Condition: Antioxidant Effect of Celery Extract on Canola Oil. *Journal of Food Processing and Preservation*. 40: 531-540.
38. Ojagh, S. M, Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122: 161-166.
39. Rashidaie Abandansarie, S.S., Ariaii, P., Charmchian Langerodi, M. 2019. Effects of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability of beef meat during refrigerated storage. *Food science and nutrition*, 7: 3969– 3978.
40. Rezaei Savadkouhi, N., Ariaii, P., Charmchian Langerodi, M.2020. The effect of encapsulated plant extract of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) in biopolymer nanoemulsions of *Lepidium perfoliatum* and *Orchis mascula* on controlling oxidative stability of soybean oil. *Food science and nutrition*, 8: 1264–1271.
41. Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., Saenz, C. 2010. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International journal of food science & technology*, 45:1386-1394.
42. Salarbashi, D., Tajik, S., Ghasemlou, M., Shojaee, S., Shahidi, M., Khaksar, R. 2013. Characterization of soluble soybean polysaccharide film incorporated essential oil intended for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 98: 1127-1136.
43. Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A.,

52. Yu, Z., Xiaoyong, S., Yunfei, L. 2011. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. *Carbohydrate Polymers*, 84: 335–342.
51. Wei, Y., YanJun, L., NingTao, W., LiBing, A. 2011. Application and safety assessment for nano-composite materials in food packaging. *Chinese Science Bulletin*, Vol.56 No.12 pp: 1216–1225.
- produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88(3):411-418.

(Original Research Paper)

Evaluation of Physical, Mechanical and Antimicrobial Properties of Pullulan Films Enriched with Free and Encapsulated *Tragopogon graminifolius* DC. Extract for Use in Food Packaging

Seyyed Rasoul Shah Hosseini^{1*}

1-M.Sc Graduate of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour. Iran.

Received:01/02/2021

Accepted:07/04/2021

Abstract

In this study, the effect of adding the extract of *Tragopogon graminifolius* DC. in the free forms and Encapsulated to the biodegradable film of Pullulan polysaccharide was investigated. For this purpose, the extract of the *Tragopogon graminifolius* DC. was extracted using ultrasound method and the amounts of phenolic compounds, antioxidant properties (free radical scavenging DPPH) and antimicrobial (against gram-negative bacteria such as *Escherichia coli* and gram-positive *Staphylococcus aureus*) extract was measured. According to the results, the amount of phenolic compounds was 89.04 ± 2.18 mg/ g gallic acid and this extract had high antioxidant, So that at a concentration of 1000 ppm extract, the amount of free radical activity of DPPH was equal to 87.86%. The extract had high antimicrobial properties against both bacteria and *Staphylococcus aureus* was more sensitive to the extract than *Escherichia coli*. Maltodextrin-whey protein concentrate (1w: 1w) was used for Encapsulated of the extract. The particle size and the encapsulation efficiency were equal to 92.88 ± 0.97 nm and 61.15 ± 0.22 %. Then different concentrations of extract and nano-extract of *Tragopogon graminifolius* DC. (750 and 1000 ppm) were added to Pullulan polysaccharide film and the properties of the produced films were studied. The results of the present study showed that the moisture, solubility, permeability of water vapor and transparency in these films decreased and Thickness, resistance to stretch and the maximum tension increased before the rupture point. Also, the replacement of extract with nano-extract in most cases improved the properties of the film. Pullulan polysaccharide film contained an extract with high antimicrobial properties against pathogenic bacteria, which also increased its antimicrobial properties by increasing the concentration and converting the extract to nano-extract. In general, it seems that the antimicrobial film of Pullulan polysaccharide with nano-extract of *Tragopogon graminifolius* DC. has a high ability as a preservative in food packaging.

Keywords: Edible Film, Pullulan polysaccharide, *Tragopogon graminifolius* DC. Extract, Film Properties, Antimicrobial Properties.

*Corresponding Author: s.shahhoseini@yahoo.com