

کاربرد کلسیم پروپیونات در تولید فیلم فعال ضد میکروب بر پایه آگار - کربوکسی متیل سلولز

فیلم ضد میکروب آگار - کربوکسی متیل سلولز حاوی کلسیم پروپیونات

معصومه ممنون صوفیانی^۱، فرید عمیدی فضلی^{۲*}، بهنام پوزشی میاب^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران

۲- استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد صوفیان، دانشگاه آزاد اسلامی، صوفیان، ایران

۳- استادیار گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران

*نویسنده مسئول: amidi_f@yahoo.com

چکیده

تولید پلیمرهای زیست تخریب پذیر در مقابل افزایش مصرف پلاستیک ها و با توجه به طول عمر بالا و زیست تخریب پذیر نبودن آنها افزایش یافته است. در این پژوهش فیلم های آگار - کربوکسی متیل سلولز حاوی گلیسرول (۶۰-۲۰ درصد) و نگهدارنده کلسیم پروپیونات (۲۰-۰ درصد) تهیه گردید. به منظور بررسی ویژگی های فیلم های تولید شده، آزمون های ضخامت، نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، حلالیت در آب، جذب رطوبت، زاویه تماس و رنگ سنجی انجام گرفت. همچنین خاصیت ضدباکتریایی و ضدکپکی فیلم های تولید شده علیه سه جنس باکتریایی و دو جنس کپک انجام یافت. نتایج نشان داد ترکیبات به کار برده شده اثر معنی دار ($p < 0.05$) بر حلالیت و نفوذپذیری فیلم ها داشت. همچنین فیلم های تولید شده دارای زاویه تماس بالا و در نتیجه خاصیت آبدوستی پایین بودند. طبق بررسی ویژگی های رنگی مشخص شد کلسیم پروپیونات و گلیسرول اثر معنی داری بر پارامترهای رنگی L^* ، a^* و b^* و اندیس زردی داشت. خواص ضد میکروبی علیه باکتری کلبسیلا مشاهده شد همچنین فیلم های تولیدی دارای خواص ضدکپکی بوده و میزان کلسیم پروپیونات به کار برده شده اثر معنی داری ($p < 0.05$) بر کاهش کپک پنی سیلیوم دیجیتاتوم داشت. در نتیجه با به کارگیری بیوپلیمرهای مفید و ارزان قیمت و افزودن ترکیبات ضد میکروبی نظیر کلسیم پروپیونات، علاوه بر حفاظت از محیط زیست می توان فیلمی با ویژگی های مناسب تولید کرد و از رشد میکروارگانیسم ها جلوگیری به عمل آورد.

کلمات کلیدی: آگار، کربوکسی متیل سلولز، کلسیم پروپیونات، ضد میکروب

مقدمه

مواد طبیعی محلول در آب که نسبتاً گران قیمت هستند مانند آلژینات سدیم، حنزه ایرلندی، صمغ تراگاکانت و ژلاتین استفاده می‌شود. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مشتقات سلولز متاثر از نوع و ماهیت ترکیب جانشین شده، درجه استخلاف، میزان پخش شدگی این ترکیب در کل مولکول، وزن مولکولی بستگی دارد. خواص شیمیایی و فیزیکی یک مشتق سلولزی بستگی فراوانی به درجه استخلاف آن ترکیب دارد (Oun and Rhim, 2015; Ren et al., 2016). علاوه بر غلظت بخشی و ایجاد استحکام، عامل انتشار، عامل نگهدارنده آب، حفظ حالت کلوئیدی، تثبیت کننده، عامل تعلیق ساز، امولسیون ساز و عامل تشکیل الیه است. به دلیل ویژگی‌های متنوع، کربوکسی متیل سلولز در طیف گسترده ای استفاده می‌شود. این ماده به سرعت در آب سرد و گرم حل می‌شود و اساساً در مواردی که کنترل ویسکوزیته هدف باشد از این ماده استفاده می‌گردد زیرا کربوکسی متیل سلولز حتی در حضور یون کلسیم نیز ژل تشکیل نمی‌دهد. خصوصیات مطلوبی نظیر محلول بودن در آب، بدون بو، بدون طعم، چگالی بالا، غیر رسمی، غیر آلرژی زا، قابل انعطاف، استحکام متوسط، شفاف، مقاوم در برابر روغن‌ها و چربی‌ها و قابلیت متوسط در عبور دادن رطوبت و اکسیژن برخوردار است. همچنین این نوع پوشش‌ها می‌توانند به عنوان حاملی برای افزودنی‌ها و ترکیبات مختلف مانند مواد ضد میکروبی، آنتی اکسیدان‌ها و غیره عمل کنند که در این حالت به این نوع بسته بندی، بسته بندی فعال گفته می‌شود (Lu and Zhou, 2000; Kuwabara and Kubo, 1996). مقایسه خواص فیلم ترکیبی ژلاتین پوست مرغ- کربوکسی متیل سلولز با فیلم ژلاتین گاوی نشانگر این بود که فیلم ترکیبی ژلاتین پوست مرغ- کربوکسی متیل سلولز در استحکام کششی، میزان مقاومت و نفوذپذیری نسبت به بخار آب بالاتر بود. بنابراین اضافه نمودن کربوکسی متیل سلولز به فیلم‌های ژلاتین به طور قابل توجهی بر خواص تولید فیلم تاثیر گذاشت. (Nazmi et al., 2017). بررسی تاثیر اضافه

محققین به منظور بهبود کیفیت و ایمنی مواد غذایی به سمت کاربرد مواد پایدار در بسته بندی سوق داده شدند. بدین روی تقاضا برای بسته‌بندی‌هایی با خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی افزایش یافته است. بسته بندی‌های ضد میکروبی یکی از مؤثرترین عوامل در کشتن یا مهار رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مواد غذایی هستند (حشمتی و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین فیلم و پوشش حاوی ترکیبات ضد میکروبی می‌توانند رادیکال‌های آزاد را مهار کنند. استفاده از بسته‌بندی ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مزایای بیشتری نسبت به افزودن مستقیم آنها به محصولات غذایی دارد بدین علت که می‌توان پوشش حاوی مواد فعال را قبل از مصرف محصول حذف گردد. فیلم‌های خوراکی، در واقع لایه نازکی هستند که بر روی یا لابه لای مواد غذایی قرار گرفته و آنها را در برابر عوامل خارجی محافظت کرده است. همچنین سبب افزایش کیفیت مواد غذایی گردیده است (Becaro et al., 2016). امروزه عوامل ضد میکروبی یا به اصطلاح آنتی باکتریال به طور مستقیم به غذاها اضافه می‌شوند ولی به دلیل وجود مواد دیگر در غذا ممکن است اثر آنها کمتر شود. با توجه به اینکه اغلب آلودگی‌ها در سطح مواد غذایی اتفاق می‌افتد در چنین مواردی استفاده از پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی حاوی مواد ضد باکتری می‌تواند کارایی بالاتری نسبت به افزودن مواد آنتی باکتریال به طور مستقیم به غذا داشته باشد. فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی علیه باکتری‌ها به دلیل ماهیت پلی کاتیونیکی مولکول‌های آنها می‌باشد که تداخل و شکل گیری کمپلکس‌های پلی الکترونیکی با پلیمرهای سطح سلول باکتری مانند لیپو پلی ساکاریدها، تیئوکوئیک اسید، تیکورونیک اسید و پلی ساکاریدها صورت می‌گیرد (Hu et al., 2016). کربوکسی متیل سلولز بیشتر به فرم نمک سدیمی آن تولید می‌گردد معمولاً از آن به جای نشاسته و

مطالعه قرار گرفته است. افزودن نانو اکسیدروی به طور قابل ملاحظه‌ای عبور امواج فرابنفش را در فیلم‌ها کاهش داد اما موجب افزایش معنی دار کدورت در غلظت‌های متفاوت گردید (Ojagh et al., 2017). بررسی خصوصیات فیزیکی و آنتی‌اکسیدانی فیلم فعال سلولز باکتریایی حاوی عصاره گیاه تشنه داری حاکی از آن بود که فیلم‌های لامینه بیشترین ضخامت را نشان می‌دهند (Sukhtezari et al., 2017). نتایج ارزیابی خصوصیات فیلم دولایه آگار-کازئینات سدیم حاوی نانوذرات اکسید روی نشان داد افزودن ۲ درصد اکسید روی به فیلم دو لایه باعث کاهش بیش از ۳۲ درصد نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم‌های تولیدی می‌شود. نرخ جذب آب و میزان حلالیت نیز با افزایش مقدار اکسید روی کاهش یافت (Ghafoori Ahangar et al., 2018). اثر پروتئین سویا بر پودر آگار اکستروده شده و فشرده سازی شده بر ویژگی‌های فیلم‌های زیستی کامپوزیت مورد مطالعه قرار گرفته است نتایج نشان از کاهش حلالیت فیلم می‌بود. علاوه بر این، سازگاری خوب بین پروتئین آگار و سویا با استفاده از میکروسکوپ الکترونی اسکن (SEM) مورد تایید قرار گرفت (Garrido et al., 2016).

پروپیونات کلسیم نمک کلسیم اسید پروپانوئیک با فرمول مولکولی $Ca(C_2H_5COO)_2$ ماده افزودنی به مواد غذایی است که نقش نگهدارنده مواد غذایی و مواد خوراکی را دارد. در غلظت پایین مورد استفاده قرار گرفته و براحتی در آب حل می‌گردد. طی زمان نگهداری ثابت باقی مانده و هیچگونه اثر مخربی ندارد و ضمن اینکه بصورت خشک نیز قابل استفاده بوده و بخوبی در بدن انسان مورد سوخت و ساز قرار می‌گیرد. کلسیم پروپیونات از بین برنده کپک بوده و تاثیر چندانی بر روی باکتری‌ها و اغلب مخمرها ندارد. پروپیونات کلسیم از جمله در محصولات نانوائی یا قنادی و سایر مواد غذایی استفاده می‌شود تا تاریخ مصرف یا

نمودن کربوکسی متیل سلولز بر خواص مکانیکی ژلاتین ماهی سرد آبی زیست تخریب پذیر در تولید فیلم‌های خوراکی مورد مطالعه قرار گرفته است نتایج تحقیق مذکور نشان داد رطوبت آب تک لایه کاهش می‌یابد و همچنین موجب کاهش رطوبت تعادلی در این فیلم‌ها شد (Tabari, 2017).

آگار ترکیب بیوپلیمری است که به دلیل تخریب دیواره سلولی برخی آگاروفیت‌هایی چون گراسیلاریا و ژلیدیوم استحصال می‌گردد. به شکل قطعات باریک نازک شفاف، یا گرد سفید خاکستری رنگ بی مزه و بی بو است. آگاروز، پلی ساکاریدی خنثی است که ممکن است جزئی از استر سولفات داشته باشد. آگاروپکتین در ساختمان خود درصدی از گروه‌های سولفات دارد. آگاروپکتین متشکل از آگاروز و استر سولفات است که می‌تواند حاوی اسید D-گلوکرونیک و مقدار کمی اسید پیرویک هم باشد. این صمغ در آب جوش محلول است ولی در آب سرد نا محلول است. صمغ آگار قوی ترین تشکیل دهنده ژل است که تا کنون شناخته شده است. (Coppen and Nambiar, 1991; Rodríguez et al., 2009). بسته به منبع آگار، وزن مولکولی زنجیره از ۸۰۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰۰ متفاوت است. دارای خاصیت گرمانرم، زیست تخریب پذیری، سازگاری با محیط زیست، مقاومت مکانیکی بالا و مقاومت آبی متوسط می‌باشند، با سایر پلیمرهای زیستی مانند پروتئین سویا، شیر و نشاسته برای بهبود خواص مکانیکی و نفوذ ناپذیری در برابر آب ترکیب می‌شود. آگار به دلیل دارا بودن طبیعت غیرقابل هضم، حالت کلونیدی و خواص ژلی کاربردهای وسیع در صنایع مختلف پیدا کرده است. این فیکوکلونید یکی از رایج ترین ترکیب‌ها و افزودنی‌های مجاز غذایی است (Armisen, 1997).

اثر افزودن نانوذرات اکسیدروی بر ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار-کاپاکاراژینان مورد

¹ Thermoplastic

اطمینان از اختلاط کامل مواد مورد استفاده در تهیه فیلم محلول ژلاتینه شده به دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه تحت همزنی مداوم قرار گرفت به منظور جلوگیری از ته نشینی مواد حین اختلاط دما در ۷۰ درجه سلسیوس تنظیم شده بود. ۲۵ میلی لیتر از سوسپانسیون آماده شده داخل پلیت‌های پلی استایرن شماره ۱۰ ریخته شد و در مرحله نهایی برای به دست آوردن فیلم عملیات خشک کردن در انکوباتور (Memmert, Germany) با دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت صورت گرفت.

ضخامت

ضخامت فیلم های حاصل با استفاده از کولیس (Mitutoyo, Japan) با دقت ۰/۰۱ اندازه گرفته شد. بدین منظور سنجش ضخامت در ۵ قسمت مختلف بیوفیلم‌ها صورت پذیرفت و میانگین ضخامت های اندازه گیری شده به عنوان ضخامت بیوکامپوزیت گزارش شده است.

شار بخار آب و نفوذ پذیری (WVTR and

WVP)

میزان شار بخار آب از میان فیلم و مقادیر نفوذ پذیری بخار آب برای بیوکامپوزیت های حاصل تعیین گردیدند. برای محاسبه ویژگی های ذکر شده طبق روش ASTM E96-95 عمل شد (ASTM, 1995). بدین منظور داخل ویال ۳ گرم سولفات کلسیم (Merck, Germany) ریخته شده در این حالت رطوبت نسبی ایجاد شده داخل ویال صفر درصد خواهد بود پس از قرار دادن قطعه فیلم در سر بطری که به اندازه آن برش خورده بود درب بطری محکم بسته شد و بطری‌های داخل محفظه حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (Merck, Germany) قرار گرفت رطوبت نسبی ایجاد شده داخل محفظه ۹۷٪ خواهد بود. جهت ایجاد امکان انتقال بخار آب از میان بیوفیلم مغذی به قطر ۵ میلیمتر بر روی درب بطری ایجاد شده بود. بطری‌ها قبل از قرار گرفتن داخل محفظه و هر ۲۴ ساعت به مدت ۴ روز توزین شدند. با رسم

ماندگاری آنها افزایش یابد، این ترکیب در هیچ بافتی از بدن انباشته نمی‌شود. بدن کلسیم را از اسید پروپیونیک جدا می‌سازد. این اسید سپس مانند سایر اسیدهای چرب متابولیزه می‌شود. این ماده به طور طبیعی در کره و بعضی از انواع پنیر وجود دارد. اگرچه به لحاظ علمی ثابت نشده است که استفاده از پروپیونات کلسیم به عنوان یک ماده نگهدارنده غذا منجر به بروز مشکلات جدی برای سلامت می‌شود، اما همیشه بهتر است جانب احتیاط رعایت شود. البته مصرف مواد شیمیایی در حد مجاز قابل استفاده می‌باشد. مقدار مجاز مصرف پروپیونات در اروپا ۰/۳ درصد می باشد (Baran et al., 2015). تولید فیلم ضدمیکروب از آگار و پودر پوست موز تقویت شده با نانوذرات نقره مورد مطالعه بوده است. نتایج نشان داد فیلم کامپوزیت آگار-پودر پوست موز-نانوذرات نقره با دارای فعالیت ضدمیکروبی متمایز در برابر باکتری‌های بیماری زایی مواد غذایی /شریشیالکی و لیستریا مونوسیژنوز با فعالیت ضدباکتری قوی تر بود (Orsuwan et al., 2016). هدف از مطالعه حاضر کاربرد کلسیم پروپیونات در تولید فیلم فعال ضدمیکروب بر پایه آگار-کربوکسی متیل سلولز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

روش تولید فیلم

۰/۷۵ گرم آگار (Biolife, Italy) و ۰/۷۵ گرم کربوکسی متیل سلولز (کاراگام، ایران) پس از توزین با آب مقطر به حجم ۱۵۰ میلی لیتر رسانده شد و حین هم زدن روی شیکر تا بدست آمدن محلولی یکنواخت هم زده شد بعد از حل شدن آگار و کربوکسی متیل سلولز در آب، گلیسرول (دکتر مجلل، ایران) (۶۰-۲۰ درصد) و نگهدارنده پروپیونات کلسیم (Foodex, China) (۲۰-۰ درصد) اضافه گردید. فرایند ژلاتینیزاسیون سوسپانسیون به مدت ۶۰ دقیقه و در دمای ۹۰ درجه سلسیوس در بن ماری انجام پذیرفت در این مدت جهت بهتر حل شدن و ژلاتینه شدن هر ۱۰ دقیقه محلول مورد نظر هم زده شد به منظور حصول

۵۰ به مدت ۲۴ ساعت قرارداد شده پس از توزین، نمونه‌ها در محفظه حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (Merck, Germany) (RH=۹۷٪) در دمای °C ۲۵ قرار داده شدند و پس از گذشت ۴ روز مجدد توزین شدند. میزان جذب رطوبت از رابطه زیر محاسبه شد (Anglès and Dufresne, 2001):

$$MA = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100 \quad (۴)$$

MA: جذب رطوبت (%), W_1 : وزن اولیه اولیه فیلم (g), W_2 : وزن نهایی فیلم (g)

زاویه تماس

از آنجائی که فیلم‌های کربوهیدراتی ماهیت آبدوستی دارند، اندازه گیری زاویه تماس آب، شاخص خوبی برای تعیین میزان آبدوست بودن آنها محسوب می‌شود. برای تعیین زاویه تماس، از روش قطره سیسیل که یک روش رایج در تعیین ویژگی مرطوب شونده سطوح جامد می‌باشد استفاده شد. با استفاده از یک سرنگ، یک قطره آب مقطر بر روی سطح نمونه‌ها قرار داده شد. توسط دوربین Canon sx500 با وضوح 16 مگا پیکسل از تماس قطره با سطح فیلم پس از گذشت ۵ ثانیه عکس گرفته شد. برای محاسبه زاویه تماس آب با سطح فیلم از نرم افزار Image J 1.44p استفاده شد. محاسبه زاویه بین خط مماس بر قطره در نقطه تماس و خط رسم شده در راستای سطح فیلم، زاویه تماس را نشان می‌دهد.

رنگ سنجی

رنگ و شفافیت نمونه‌ها داخل جعبه سیاه مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام نمونه‌ها روی یک صفحه سفید استاندارد (L=87.99, a=-1.64, b=-9.09) قرار گرفتند و از سطح نمونه‌ها از فاصله ۱۰ سانتی متری توسط دوربین دیجیتال تصویر تهیه شد (Farahnaky et al 2014). با

نمودار افزایش وزن بطری در مقابل زمان برای هر نمونه و به دست آوردن شیب خط حاصل شار بخار آب و نفوذپذیری نسبت به بخار آب از معادلات زیر تعیین شد:

$$WVTR = \frac{\Delta w}{tA} \quad (۱)$$

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{P(R_1 - R_2)} \quad (۲)$$

WVTR: آهنگ انتقال بخار آب: (g/sm²), Δw : نفوذپذیری نسبت به بخار آب (gm/m²sPa), A: مساحت فیلم در معرض افزایش وزن (g), t: زمان (s), X: ضخامت فیلم (m), P: فشار بخار انتقال بخار آب (m²), R_1 : رطوبت نسبی داخل دسیکاتور (%), R_2 : رطوبت نسبی داخل ویال (%).

حلالیت در آب

حلالیت در آب عبارت است از درصد ماده خشک فیلم که پس از ۲۴ ساعت غوطه وری در آب مقطر، به حالت محلول درمی آید. برای اندازه گیری میزان حلالیت در آب ماده خشک اولیه نمونه های فیلم با ابعاد ۲۰×۲۰ mm در آون (Memmert, Germany) ۱۰۵ درجه سلسیوس تعیین گردید. در مرحله بعد نمونه‌های بیوفیلم داخل ظروف درب‌دار حاوی ۵۰ ml آب مقطر در دمای °C ۲۵ به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور گردید و پس از سپری شدن زمان مقدار باقیمانده فیلم از آب خارج شده و ماده خشک آن تعیین شد مقدار حلالیت مربوط به هر نمونه از معادله زیر به دست آورده شد (Romero-Bastida et al., 2005):

$$WS = \frac{DM_1 - DM_2}{DM_1} \times 100 \quad (۳)$$

WS: حلالیت در آب (%), DM_1 : ماده خشک اولیه فیلم (%), DM_2 : ماده خشک فیلم پس از غوطه وری در آب (%).

جذب رطوبت

برای اندازه گیری میزان جذب رطوبت نمونه‌های بیوکامپوزیت قطعاتی از فیلم با ابعاد ۲۰×۲۰ mm در آون °C

روی محیط کشت نوترینت آگار (Merck, Germany) کشت خطی داده شد. سپس فیلم هایی به قطر ۱ سانتی متر توسط آنس استریل به مرکز محیط کشت انتقال داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد. سر انجام قطر هاله عدم رشد باکتری اندازه گیری گردید.

روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها

در این پژوهش ۱۲ تیمار مختلف بر اساس طرح مرکب مرکزی انتخاب شده اند و هر یک حاوی غلظت مشخصی از متغیرهای پیشنهادی (گلیسرول و کلسیم پروپیونات) هستند تولید شد (جدول ۱). درصد های ذکر شده برای گلیسرول و پروپیونات کلسیم نسبت به وزن بیوپلیمرهای استفاده شده در تولید فیلم محاسبه شده اند. تعداد تکرار در مورد تیمارها ۴ تکرار می باشد. در مورد تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون تجزیه واریانس با استفاده از مدل های مناسب استفاده شده و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی انجام شد. داده های حاصل از اندازه گیری صفات مورد مطالعه در کل آزمایش در جداول و نمودارها نشان داده شد است. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزارهای Minitab 18 و EXCEL استفاده گردید.

یافته ها

ضخامت

ضخامت فیلم های تولید شده در پنج قسمت مختلف فیلم به طور تصادفی اندازه گرفته شد. میانگین سنجش های انجام یافته در جدول ۱ نشان داده شده است. ضخامت کامپوزیت های تولید شده در دامنه ۵۰ تا ۸۰ میکرومتر می باشد. بنابراین فیلم های به دست آمده نازک می باشند. هیچ کدام از متغیرهای به کار برده شده در تهیه فیلم های کامپوزیتی تاثیر معنی دار بر ویژگی ضخامت فیلم ها نداشتند.

استفاده از نرم افزار Image J 1.43u پارامترهای رنگی نمونه ها در سیستم RGB استخراج گردید. سپس RGB محاسبه شده به پارامترهای هانتر بر حسب روشنایی (L)، قرمزی-سبز (a) و زردی-آبی (b) تبدیل شد و میزان رنگ بر حسب پارامترهای هانتر بیان شد. اختلاف رنگ نمونه ها (ΔE) با فرمول پیشنهادی (Gennadios *et al.*, 1996) و اندیس زردی (YI) و اندیس سفیدی (WI) نمونه ها با فرمول پیشنهادی (Boun and Huxsoll, 1991) محاسبه گردید:

$$\Delta E = [(L_{\text{standard}} - L_{\text{sample}})^2 + (a_{\text{standard}} - a_{\text{sample}})^2 + (b_{\text{standard}} - b_{\text{sample}})^2]^{0.5} \quad (5)$$

$$YI = (142/86b)/L \quad (6)$$

$$WI = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5} \quad (7)$$

اندازه گیری خواص ضدکپکی

برای تعیین فعالیت ضدکپکی، دو کپک *آسپرژیلوس نایجر* و *پنیسیلیوم دیجیتاتوم* در محیط کشت های آماده پوتیتودکستروز آگار (Merck, Germany) کشت داده شدند. پس از سه روز از رشد قارچ ها فعالیت ضدکپکی مورد بررسی قرار گرفت. برای کشت قارچ ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی 10^5 CFU/ml، روی محیط کشت پوتیتودکستروز آگار کشت سطحی داده شد. سپس فیلم هایی به قطر ۱ سانتی متر توسط آنس استریل به مرکز محیط کشت انتقال داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد. در نهایت قطر هاله عدم رشد قارچ اندازه گیری گردید.

اندازه گیری خواص ضدباکتری

بررسی فعالیت ضدباکتریایی فیلم ها در مقابل جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی*، *سودوموناس* و *کلبسیا* انجام گرفت. برای کشت باکتری، از سوسپانسیون نیم مک فارلند توسط سوآپ برداشته شد و

جدول ۱- درصد گلیسرول و کلسیم پروپیونات استفاده شده بر مبنای وزن بیوپلیمر در تهیه تیمارهای مختلف

پروپیونات				پروپیونات			
تیمار	کلسیم (درصد)	گلیسرول (درصد)	ضخامت	تیمار	کلسیم (درصد)	گلیسرول (درصد)	ضخامت
1	3	26	64	7	10	20	64
2	17	26	60	8	10	60	52
3	3	54	56	9	10	40	52
4	17	54	62	10	10	40	50
5	0	40	80	11	10	40	62
6	20	40	62	12	10	40	76

نفوذ پذیری نسبت به بخار آب

از تقسیم شیب خط بر مساحت فیلم در معرض عبور بخار آب شار یا آهنگ انتقال بخار آب (WVTR) برای همه تیمارها محاسبه گردید. پس از محاسبه آهنگ انتقال بخار آب و با تعیین ضخامت فیلم‌ها نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های تولید شده به دست آورده شد. نتایج آنالیز واریانس بیان می‌کند که میزان کلسیم پروپیونات، گلیسرول، توان دوم گلیسرول و گلیسرول در کلسیم پروپیونات تأثیر معنی داری بر مقدار نفوذپذیری داشته است

($p < 0.05$). مقادیر نفوذپذیری نسبت به بخار آب در محدوده $1.0 \times 10^{-11} \text{ gm/m}^2\text{Pas}$ - $1.0 \times 10^{-11} \text{ gm/m}^2\text{Pas}$ به دست آمد (شکل ۱). مشخص شد که در غلظت‌های پایین گلیسرول (کمتر از ۳۰ درصد) و در غلظت‌های بالای کلسیم پروپیونات (۲۰-۱۰ درصد)، میزان نفوذ پذیری افزایش یافته است. معادله زیر با ضریب همبستگی ($R^2 = 96.35\%$) در خصوص ارتباط نفوذپذیری نسبت به بخار آب و عوامل مورد استفاده به دست آمده است:

$$\text{WVP (g/mPas)} = 26.40 \times 10^{-11} + 0.3435 \times 10^{-11} \text{Calcium propionate(\%)} - 1.1505 \times 10^{-11} \text{Glycerol(\%)} + 0.013101 \times 10^{-11} \text{Glycerol(\%)} * \text{Glycerol(\%)} - 0.00520 \times 10^{-11} \text{Calcium propionate(\%)} * \text{Glycerol(\%)} \quad (8)$$

وجود عوامل خطی و درجه دوم نشان می‌دهد که رابطه بین گلیسرول و WVP ساده و خطی نیست، بلکه به شکل خمیده و U شکل است. این رابطه U شکل برخلاف انتظار رایج است که بر اساس آن نرم‌کننده‌هایی مثل گلیسرول همیشه با افزایش انعطاف‌پذیری فیلم، نفوذپذیری را بیشتر می‌کنند. علاوه بر این، اثر گلیسرول ممکن است تحت تأثیر میزان پروپیونات کلسیم نیز باشد. از آنجایی که

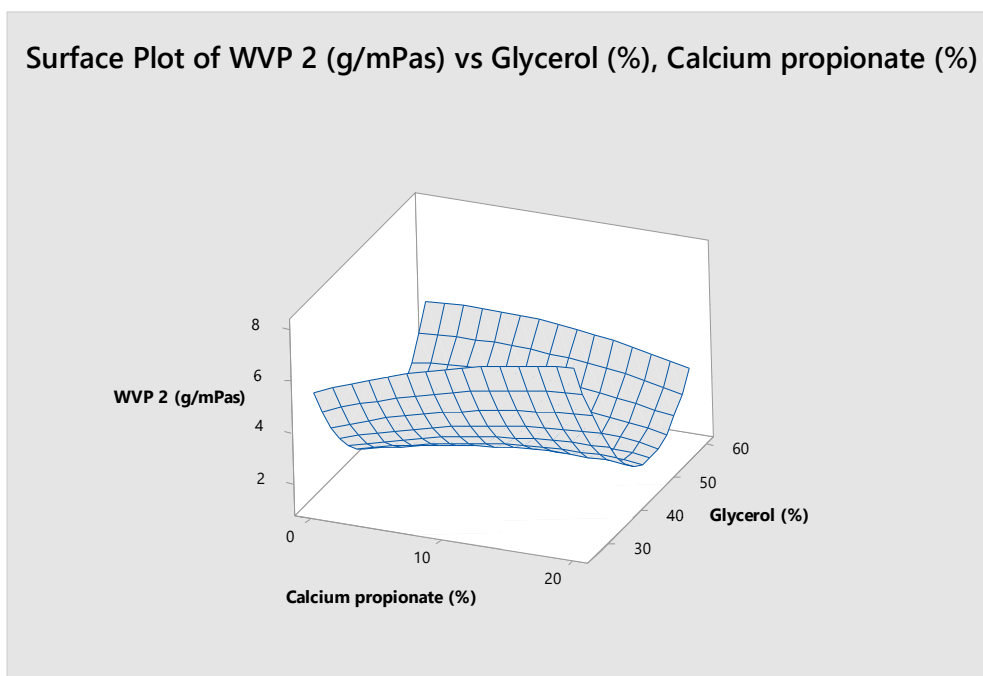
فیلم‌های مورد نظر حاوی پروپیونات کلسیم هم هستند، تعامل این ماده با گلیسرول می‌تواند نقش قابل توجهی ایفا کند. داده‌ها حاکی از آن است که ترکیب این دو ماده گاهی باعث کاهش بیشتر WVP نسبت به استفاده جداگانه از هر یک می‌شود. این موضوع ممکن است به تغییر ساختار ریز فیلم یا افزایش توانایی گلیسرول در سفت کردن ماتریس در غلظت‌های کم مرتبط باشد. در فیلم‌های پروتئین

که در مقادیر کم گلیسرول، به دلیل افزایش تراکم و کاهش اندازه منافذ، WVP کاهش می‌یابد. اما پس از یک نقطه خاص، با افزایش گلیسرول و حرکت بیشتر زنجیره‌های مولکولی، WVP افزایش می‌یابد (Talja et al., 2007).

بنابراین، در مقادیر کم، گلیسرول باعث بهبود ساختار فیلم و کاهش WVP می‌شود، اما در غلظت‌های بالا، روند افزایش نفوذپذیری مطابقت بیشتری با عملکرد نرم‌کننده‌ها دارد. این کاهش اولیه در WVP نشان می‌دهد که تأثیر گلیسرول پیچیده‌تر از یک افزایش ساده انعطاف‌پذیری است. این پیچیدگی احتمالاً به مکانیسم‌های خاصی بستگی دارد که تحت تأثیر غلظت گلیسرول قرار می‌گیرد. به طور خاص، یک مطالعه روی فیلم‌های آگار نشان داد که مقادیر متوسط گلیسرول، با افزایش انسجام و کاهش نقص‌ها، WVP را کاهش داده است، اما مقادیر زیاد آن، نفوذپذیری را به دلیل نرم‌کنندگی بیش از حد، افزایش داده است (Phan et al., 2005).

آب‌پنیر، غلظت‌های کم گلیسرول با پر کردن فضاهای بین‌مولکولی و کاهش انتشار آب، WVP را کم کرده است، اما مقادیر بالای آن به دلیل افزایش انعطاف‌پذیری، نفوذپذیری را افزایش داده است (Shaw et al., 2002).

برای مقادیر کم گلیسرول (۲۰٪ تا حدود ۴۵٪)، افزایش گلیسرول باعث کاهش WVP می‌شود. اما در مقادیر بالاتر (حدود ۴۵٪ تا ۶۰٪)، افزایش گلیسرول سبب افزایش WVP خواهد شد. داده‌ها نشان می‌دهند که با افزایش گلیسرول از سطح پایین به متوسط، WVP کاهش می‌یابد، اما در مقادیر بالاتر مثل ۶۰٪ این روند برعکس می‌شود. فیلم‌های زیست‌تجزیه‌پذیر ساخته شده از مواد سلولزی و پلی‌وینیل‌الکل که دارای گلیسرول در مقادیر کم نرم‌کننده هستند، با بهبود ساختار و تراکم فیلم، نفوذپذیری را کاهش می‌دهند. اما در مقادیر زیاد، انعطاف‌پذیری بیش از حد، نفوذپذیری را افزایش داده و همان روند U شکل را ایجاد می‌کند (Imam et al., 2005). تحقیقات روی فیلم‌های نشاسته نشان داده است

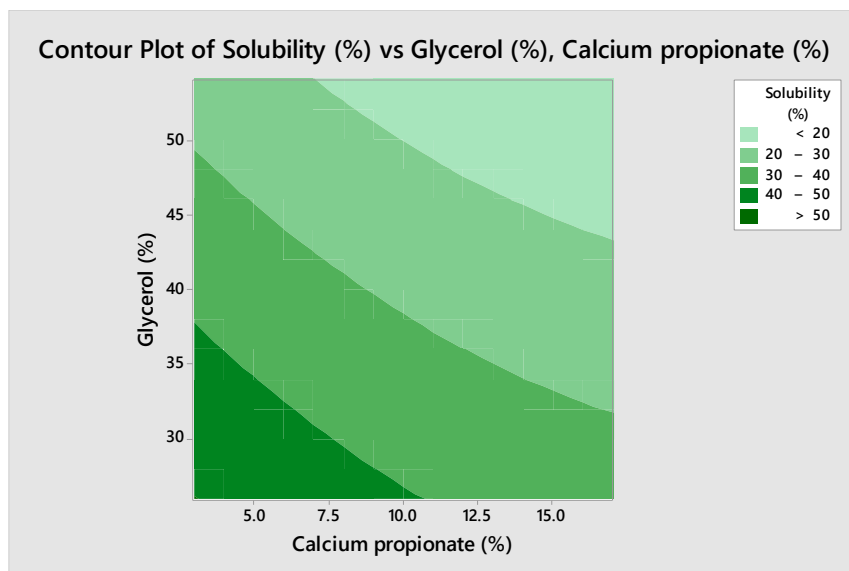


شکل ۱- نمودار صفحه‌ای نفوذپذیری نسبت به بخار آب کامپوزیت‌ها حاوی سطوح مختلف گلیسرول و کلسیم پروپیونات

حلالیت در آب

توان دوم گلیسرول بر حلالیت در آب تاثیر معنی دار دارد ($p < 0.05$). شکل ۲ نشان دهنده اثر گلیسرول و کلسیم پروپیونات بر میزان حلالیت در آب فیلم‌های تولید شده است. بر اساس نمودار کنتور در غلظت‌های پایین کلسیم پروپیونات (زیر ۱۰ درصد) و گلیسرول (زیر ۴۰ درصد)، مقدار حلالیت آب زیاد است و بیش از ۵۰ درصد می‌بود. کامپوزیت‌های تولید شده به عنوان لایه محافظ مواد غذایی استفاده می‌شوند از اینرو میزان حلالیت در آب کامپوزیت‌های تولید شده یکی از ویژگی‌های مهم این نوع از فیلم‌ها می‌باشد تا بتواند نقش محافظتی خود را به خوبی ایفا نماید. مقادیر حلالیت در آب فیلم‌های تهیه شده بین ۲۴/۴۲ تا ۵۰/۲۵ درصد به دست آمد و توان دوم گلیسرول بر آن اثر معنی‌دار داشت. افزایش اندرکنش‌های بین ملکولی در کامپوزیت‌های تولید شده موجب کاهش حلالیت فیلم‌های تولید شده می‌شود. وجود گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل در کربوکسی متیل سلولز و آگار امکان ایجاد پیوندهای قوی هیدروژنی و استری بین دو پلیمر را به وجود

می‌آورد. وجود اندرکنش‌های بین ملکولی باعث افزایش انسجام در ماتریکس کامپوزیت و کاهش حلالیت می‌شود. استفاده همزمان از کربوکسی متیل سلولز و آگار در تولید کامپوزیت سبب شده است تا کمترین حلالیت در آب معادل ۲۴/۴۲ درصد در کامپوزیتی حاوی ۴۰٪ گلیسرول به دست آید. تشکیل پیوندهای مذکور بین کربوکسی متیل سلولز و نشاسته نیز گزارش شده است (Tongdeesoontorn et al., 2011). با توجه به اینکه در صنایع غذایی و بسته بندی مواد غذایی حلالیت پایین کامپوزیت‌ها مطلوب است، به کار بردن مقادیر پایین گلیسرول می‌تواند مناسب باشد. ولی از طرف دیگر حلالیت زیاد باعث افزایش سرعت تجزیه فیلم در طبیعت شده و خاصیت زیست تخریب پذیری کامپوزیت تولید شده را افزایش می‌دهد. مهاجر و همکاران در سال ۲۰۱۷ در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که ترکیب آگار به طور قابل توجهی نفوذ پذیری به آب و حلالیت فیلم‌های ژلاتین را کاهش داد.



شکل ۲- نمودار کنتور حلالیت در آب کامپوزیت‌ها حاوی سطوح مختلف گلیسرول و کلسیم پروپیونات

جذب رطوبت

پروتئینی نیز توسط دیگر محققین گزارش شده است (Mohajer et al., 2017).

در صورت استفاده از فیلرهای هیدروفوب مانند ذرات نقره زاویه تماس افزایش و سطح کامپوزیت حاصل خاصیت هیدروفوب پیدا خواهد کرد (Rhim, et al, 2013). چنانچه زاویه تماس قطره آب با سطح کمتر از 30° باشد سطح کاملاً مرطوب شونده و اگر بین $90^\circ - 30^\circ$ باشد سطح به طور نسبی مرطوب شونده است در صورتی که زاویه تماس قطره بیشتر از 90° باشد سطح نم پذیر نمی باشد (Myers, 1999). با کاهش زاویه تماس سطوح خاصیت هیدروفیلی بیشتری از خود نشان می دهند در صورتی که با افزایش زاویه به سمت 90° سطح جزو مواد هیدروفوب طبقه بندی می شود. کاهش زاویه تماس یا به عبارت دیگر پخش شدن قطره نشان دهنده سطوح آبدوست می باشد و برعکس افزایش زاویه تماس نشان می دهد که سطح تمایلی به مرطوب شدن ندارد و آبدوستی سطح مورد مطالعه کم می باشد.

هیچ کدام از متغیرهای به کار برده شده در تهیه فیلم‌های کامپوزیتی عامل معنی دار بر میزان جذب رطوبت نبودند. در غلظت‌های کمتر از ۳۰ درصد گلیسرول و کمتر از ۱۵ درصد کلسیم پروپیونات، میزان جذب رطوبت به بیش از ۱۵ درصد می‌رسد. میزان جذب رطوبت یکی از عوامل مهم در تشخیص کاربرد یک پلیمر شناخته شده است. نتایج نشان داد میزان جذب رطوبت در نمونه‌های دارای مقادیر کم گلیسرول و کلسیم پروپیونات بیشتر بود. افزایش مقدار گلیسرول باعث باز شدن شبکه پلیمری شده و این امر اجازه می‌دهد تا گروه‌های باردار و عاملی بیشتری به ملکول‌های آب دسترسی پیدا کنند. از طرف دیگر گلیسرول خود یک ملکول بسیار هیگروسکوپیک است که موجب می‌شود آب بیشتری توسط کامپوزیت‌ها جذب شود. با افزایش میزان حلالیت میزان نشت گلیسرول نیز افزایش می‌یابد. (silva et al., 2009). با این حال در مطالعه حاضر فاکتور معنی داری بر میزان جذب رطوبت وجود نداشت.

زاویه تماس

طبق نتایج به دست آمده هیچ کدام از فاکتورهای مورد بررسی اثر معنی داری بر زاویه تماس نداشتند. با افزایش غلظت گلیسرول تا حدود ۶۰ درصد و کلسیم پروپیونات به بیش از ۱۵ درصد، زاویه تماس افزایش یافته و مقدار آن به بیش از 70° درجه می‌رسد. در اغلب تیمارها زاویه تماس قطره آب با سطح در حدود 60° درجه می‌باشد. نتایج هماهنگی زیادی با نتایج حاصل برای ویژگی جذب رطوبت دارند. به عبارت دیگر سطوح از خاصیت آبدوستی پایین تری برخوردار هستند. افزایش زاویه تماس در تحقیق حاضر نسبت به فیلم خالص کربوکسی متیل سلولز نیز می‌تواند به دلیل استفاده از آگار در تهیه فیلم باشد. افزایش زاویه تماس در اثر افزودن آگار به فیلم‌های کامپوزیتی

جدول ۲- مقادیر زاویه تماس، حلالیت در آب و ویژگی‌های رنگی اندازه گیری شده برای فیلم‌های ضد میکروب

Calsium propionate	Glycerol (%)	L	a	b	ΔE	Y1	W1	Moisture absorbance (%)	Contact angle (°)
3	26	40.05	-0.8	14.37	48.48	0.59	38.35	14.29	66.63
17	26	60.87	-1.52	10.74	27.58	0.29	59.39	8.17	62.39
3	54	50.97	-0.73	11.1	37.08	0.36	49.72	7.85	71.8
17	54	49.13	-0.39	17.04	40.81	0.57	46.35	9.3	71.35
0	40	61.04	-0.75	10.98	27.49	0.3	59.52	2.25	41.09
20	40	57.04	-1.84	14.9	32.75	0.43	54.49	12.18	54.58
10	20	60.87	-1.52	10.72	27.58	0.29	59.4	8.31	62.33
10	60	40.44	-1.23	17.93	49.22	0.73	37.79	12.39	66.06
10	40	50.48	-2.63	14.62	46.91	1.01	41.64	2.01	64.47
10	40	62.78	-1.87	14.62	27.53	0.38	59.97	8.31	68.14
10	40	62.47	-1.83	17.57	29.36	0.46	58.52	19	60.88
10	40	57.81	-1.85	14.86	32.04	0.42	55.23	4.73	67.78

رنگ سنجی

پارامترهای رنگی فیلم‌های تولید شده حاوی کلسیم پروپیونات در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس آنالیزهای آماری صورت گرفته هیچ کدام از عوامل به کار برده شده در تولید فیلم بر ویژگی‌های رنگی مورد آزمون اثر معنی دار نداشته است. معمولاً در بسته بندی اکثر مواد غذایی ترجیح داده می‌شود که پلیمر استفاده شده برای بسته بندی، بی رنگ و کاملاً شفاف باشد تا اثری بر ظاهر محصول نداشته و به طور کامل نشان دهنده ویژگی‌های ظاهری محصول بسته بندی شده باشد. هرچه شفافیت فیلم‌های زیست پلیمری بیشتر و به پلاستیک‌های حاصل از پلیمرهای سنتزی نزدیکتر باشد پذیرش و استفاده از این نوع مواد بسته بندی افزایش می‌یابد (نوشیروانی و همکاران، ۱۳۹۰).

در تحقیق حاضر، میزان ΔE بین ۲۷/۵۰-۴۹/۲۲ به دست آمد و فاکتور معنی داری بر آن مشاهده نگردید. ΔE در واقع درجه اختلاف رنگی نمونه‌ها با صفحه استاندارد

را نشان می‌دهد و معیاری برای سنجش مقدار شفافیت فیلم‌هاست. هر چه ΔE برای یک نمونه کمتر باشد، نشان می‌دهد، آن فیلم شفاف تر است و پارامترهای رنگی (a^* , L^* و b^*) که برای آن ثبت می‌شود، به پارامترهای صفحه استاندارد نزدیکتر است و اختلاف کمتری با آنها دارد (ابوالقاسمی فخری و همکاران، ۱۳۹۰). گلیسرول بر میزان روشنایی (L) اثر معنی داری داشت ($p < 0/05$) و مقدار این مشخصه رنگی در حدود ۴۹/۱۳-۶۰/۸۷ بود. میزان قرمزی (a)، شامل سبز (مقادیر منفی) تا قرمز (مقادیر مثبت) است. عامل تاثیرگذار بر مشخصه a توان دوم کلسیم پروپیونات و توان دوم گلیسرول مشاهده گردید ($p < 0/05$) و تمام مقادیر آن منفی به دست آمد. میزان زردی (b)، شامل آبی (مقادیر منفی) تا زرد (مقادیر مثبت) است. عامل تاثیرگذار بر مشخصه b گلیسرول و اثر متقابل گلیسرول در کلسیم پروپیونات بود و با افزایش گلیسرول مقدار آن افزایش یافت. با توجه به مثبت بودن تمام مقادیر این پارامتر، رنگ نمونه‌ها به زرد تمایل بیشتری داشت. همچنین گلیسرول و اثر متقابل گلیسرول در کلسیم پروپیونات اثر معنی داری بر

خواص ضد میکروبی فیلم‌های آگار-کربوکسی متیل سلولز دارای غلظت‌های مختلف کلسیم پروپیونات و گلیسرول علیه میکروارگانیسم‌های مختلف بررسی شد و هاله عدم رشد به میلی متر اندازه گیری گردید. نتایج در جدول ۳ مشخص شده است. تصاویر مربوط به کشت میکروارگانیسم‌های انتخابی و ویژگی‌های ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده در خصوص باکتری /ستافیلوکوکوس/ اورئوس در شکل ۴-۱۰ و در مورد کپک آسپرژیلوس نایجر در شکل ۴-۱۱ نشان داده شده است.

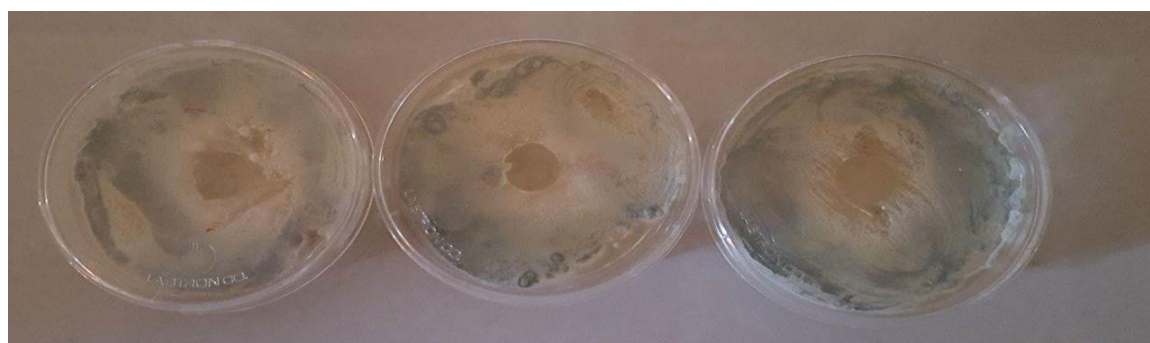
فاکتور زردی (YI) داشت ولی عامل معنی داری بر فاکتور سفیدی (WI) مشاهده نگردید. بنابراین فیلم‌های تولیدی از شفافیت خوبی برخوردار بوده ولی متمایل به رنگ زرد بودند. در تحقیقی فیلم‌های تولید شده از آگار خالص اختلاف رنگی برابر ۳/۶ از خود نشان دادند (Orsuwan et al., 2016). بنابه نتایج به دست آمده افزودن گلیسرول و کلسیم پروپیونات در فیلم آگار-کربوکسی متیل سلولز موجب افزایش اختلاف رنگ شده است.

بررسی خواص ضد میکروبی فیلم‌های تولید

شده



شکل ۳- خواص ضد میکروبی فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی کلسیم پروپیونات علیه باکتری /ستافیلوکوکوس/ اورئوس



شکل ۴- خواص ضد قارچی فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی کلسیم پروپیونات علیه کپک آسپرژیلوس نایجر

شکل اندازه گیری شد. اگر منطقه شفاف اطراف فیلم تشکیل نشود به معنای عدم تشکیل منطقه بازداری است و مقدار آن در اندازه گیری صفر محسوب می شود (قنبرزاده

به منظور بررسی خواص ضد میکروبی فیلم‌های تولید شده، میزان فعالیت بازدارندگی فیلم‌ها بر اساس اندازه گیری قطر منطقه شفاف ایجاد شده در اطراف فیلم دیسکی

و همکاران ۱۳۹۰). در این تحقیق فیلم شاهد (بدون کلسیم پروپیونات) هیچ منطقه بازداری را نشان نداد در حالیکه بقیه فیلم های ضد میکروبی دارای منطقه بازداری مشخصی بودند. نتایج مشخص کرد مقادیر گلیسرول و کلسیم پروپیونات اثر معنی داری ($p < 0/05$) بر باکتری کلبسیلا داشت. همچنین گلیسرول اثر معنی داری ($p < 0/01$) بر کپک پنی سیلیوم دیجیتالوم داشت. در غلظت ۱۷ درصد کلسیم پروپیونات و ۵۴ درصد گلیسرول هاله عدم رشد کلبسیلا به ۲۳ میلی متر رسید. هیچ اثر ضد میکروبی نسبت به باکتری های /یکولای و سودوموناس وجود نداشت. در غلظت ۱۰ درصد کلسیم پروپیونات و ۴۰ درصد گلیسرول اثر ضد میکروبی نسبت به کپک /اسپرژیلوس نایجر مشاهده شد و کپک پنی سیلیوم دیجیتالوم نسبت به تیمارهای به کار برده شده حساس بود.

جدول ۳- قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم های مورد آزمایش بر حسب میلیمتر در حضور فیلم حاوی سوربات پتاسیم و گلیسرول

کلسیم پروپیونات (درصد)	گلیسرول (درصد)	کلبسیلا	سودوموناس	/یکولای	استافیلوکوکوس	پنی سیلیوم	آسپرژیلوس	
۳	۲۶	۰	۰	۰	۲۰	۱۶	۰	۱
۱۷	۲۶	۰	۰	۰	۰	۱۴	۰	۲
۳	۵۴	۰	۰	۰	۲۶	۰	۰	۳
۱۷	۵۴	۲۳	۰	۰	۰	۰	۰	۴
۰	۴۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۵
۲۰	۴۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲۲	۶
۱۰	۲۰	۰	۰	۰	۰	۲۵	۰	۷
۱۰	۶۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۸
۱۰	۴۰	۱۴	۰	۰	۰	۰	۰	۹
۱۰	۴۰	۱۴	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰
۱۰	۴۰	۱۴	۰	۰	۰	۰	۰	۱۱
۱۰	۴۰	۱۴	۰	۰	۰	۰	۰	۱۲

باکتری‌ها دیده نشد. همچنین فیلم‌های حاوی کلسیم پروپیونات موجب کاهش چشمگیر و معنی دار در رشد کپک پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم در مقایسه با نمونه شاهد گردید و کپک آسپرژیلوس نایجر نیز نسبت به فیلم‌های تهیه شده حساس بود. بدین ترتیب با به کارگیری بیوپلیمرهای مفید و ارزان قیمت و افزودن ترکیبات ضد میکروبی نظیر کلسیم پروپیونات علاوه بر حفاظت از محیط زیست می‌توان فیلمی با ویژگی‌های مناسب تولید کرد و از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری به عمل آورد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

اندازه گیری فعالیت ضد میکروبی با استفاده از منطقه بازداری شفاف اطراف فیلم به سرعت انتشار ماده ضد میکروبی از فیلم، اندازه و شکل فیلم بستگی دارد (قنبرزاده و همکاران ۱۳۹۰). در تایید نتایج حاضر در این مطالعه، بارانی و همکاران (۱۳۹۵) به این نتیجه رسیدند که در نمونه های نان دارای درصد بالای باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس و پروپیونات کلسیم کمترین درصد کپک زدگی مشاهده گردید و در سه روز نخست نگهداری هیچ گونه کپک زدگی مشاهده نشد. میرشکاری و همکاران در سال ۲۰۱۷ مناسب بودن ترکیب کلسیم پروپیونات و کیتوزان را برای حفظ کیفیت موز فراوری شده مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد، استفاده از کلسیم پروپیونات به همراه کیتوزان باعث افزایش استحکام، میزان اسید آسکوربیک، فعالیت آنتی اکسیدانی نسبت به کل ترکیبات فنولیک، همراه با کاهش قهوه ای شدن، کاهش فعالیت آنزیم‌های پلی فنول اکسیداز، پراکسیداز، پلی گلاکتوناز و پکتین متیل استراز و رشد میکروبی در مقایسه با قطعات موز کنترل پس از ۵ روز ذخیره سازی می‌شود.

نتیجه گیری

در این پژوهش از کربوکسی متیل سلولز و آگار به عنوان بیوپلیمر ارزان قیمت و پرکاربرد و از کلسیم پروپیونات به عنوان یک نگهدارنده ضد میکروبی متداول در مواد غذایی، در تولید فیلم‌ها و پوشش های ضد میکروبی استفاده گردید. نتایج حاصل نشان داد در تولید فیلم‌های آگار-کربوکسی متیل سلولز، مقادیر گلیسرول و کلسیم پروپیونات به کار برده شده تاثیر معنی داری بر حلالیت و نفوذپذیری فیلم‌ها داشت. همچنین فیلم‌های تولید شده دارای زاویه تماس بالا و در نتیجه خاصیت آبدوستی پایین بودند. بررسی ویژگی‌های رنگی نشان داد فیلم‌های تولیدی از شفافیت خوبی برخوردار بوده و متمایل به رنگ زرد بودند. فیلم های حاصل، مناطق بازداری آشکاری را بر باکتری کلبسیلا نشان دادند ولی خاصیت ضدباکتریایی علیه سایر

منابع

- قنبرزاده، ب.، سینجلی، س. و قیاسی فر، ش. ۱۳۹۰.
- بررسی اثرات ضدقارچی پوشش های خوراکی بر پایه کربوکسی متیل سلولز حاوی سوربات پتاسیم بر گونه های تولید کننده آفلاتوکسین اسپرژیلوس در پسته. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۲ (۳۲)، دوره ۸، ص ۵۰-۴۳.
- نوشیروانی، ن.، قنبرزاده، ب. و انتظامی، ع.ا. ۱۳۹۰.
- مورفولوژی، زاویه تماس و ویژگی های رنگی فیلم های بیونانوکامپوزیت نشاسته- پلی وینیل الکل- نانوکریستال سلولز. نشریه پژوهشهای صنایع غذایی، جلد ۲۱ شماره ۲، ص ۱۵۴-۱۴۱.
- Anglès, M. N., and Dufresne, A. (2001). Plasticized Starch/Tunicin Whiskers Nanocomposite Materials. 2. Mechanical Behavior. *Macromolecules*, 34(9), 2921-2931.
- Armisen, R. (1997). Agar. In: Imeson, A.P. (eds) *Thickening and Gelling Agents for Food*. Springer, Boston, MA.
- ASTM. (1995). *Annual Book of ASTM Standards. Standard test methods for water vapor transmission of materials (Vol. Designation E 96-95)*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Barani M, Najafi MA, Salehi A. The effect of *Lactococcus lactis* PTCC 1336 (spraying) and application of calcium propionate on shelf life and organoleptic characteristics of Lavash bread. *Food Science and Technology*. 2015;13(56):15
- Becaro AA, Puti FC, Panosso AR, Gern JC, Brandão HM, Correa DS, et al. Postharvest quality of fresh-cut carrots packaged in plastic films containing silver nanoparticles. *Food and bioprocess technology*. 2016;9(4):63
- ابوالقاسمی فخری، ل. قنبرزاده، ب. دهقان نیا، ج. انتظامی، ع. ۱۳۹۰.
- اثر مونت موریلونیت و نانوبلور سلولز بر خواص فیزیکی فیلم های آمیخته کربوکسی متیل سلولز پلی وینیل الکل، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر ۲۴ (۶): ۴۶۶-۴۵۵.
- بارانی، م.، نجفی، م. و عطای صالحی، ا. ۱۳۹۵.
- اثر باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس (پاشش سطحی) و کاربرد پروپیونات کلسیم بر ماندگاری و خواص حسی نان لواش. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۵۶، دوره ۱۳، ۱۶۴-۱۵۵.
- Boun, H. R., and Huxsoll, C. C. (1991). Control of Minimally Processed Carrot (*Daucus carota*) Surface Discoloration Caused by Abrasion Peeling. *Journal of Food Science*, 56(2), 416-418.
- Coppen J, Nambiar P. Agar and alginate production from seaweed in India: Bay of Bengal Programme; 1991.
- Farahnaky, A., Dadfar, S. M. M., & Shahbazi, M. (2014). Physical and mechanical properties of gelatin-clay nanocomposite. *Journal of Food Engineering*, 122, 78-83.
- Garrido T, Etxabide A, Guerrero P, De la Caba K. 2016. Characterization of agar/soy protein biocomposite films: effect of agar on the extruded pellets and compression moulded films. *Carbohydrate polymers*. ;151:40
- Gennadios, A., Weller, C. L., Hanna, M. A., and Froning, G. W. (1996). Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *Journal of Food Science*, 61(3), 585-589.
- Ghafoori ahangar z, Pourashouri P, ojagh sm, shabanpour b. The assessment of bilayer agar- sodium caseinat film properties

- containing ZnO nanoparticles. Scientific Journal Management System. 2018;7(2):4
- Heshmati A. Impact of cooking procedures on antibacterial drug residues in foods: A review. Journal of food quality and hazards control. 2015;2(2):
- Hu D, Wang H, Wang L. Physical properties and antibacterial activity of quaternized chitosan/carboxymethyl cellulose blend films. LWT-Food Science and Technology. 2016;65:394
- Imam, S. H., Cinelli, P., Gordon, S. H., & Chiellini, E. (2005). Characterization of biodegradable composite films prepared from blends of poly(vinyl alcohol), cornstarch, and lignocellulosic fiber. *Journal of Polymers and the Environment*, 13(1), 47–55.
- Kuwabara S, Kubo H. Water-absorbing characteristics of acrylic acid-grafted carboxymethyl cellulose synthesized by photografting. Journal of applied polymer science. 1996;60(11):196
- Lu Z, Zhou X. The waterproofing characteristics of polymer sodium carboxymethyl-cellulose. Cement and concrete research. 2000;30(2):22
- Mirshekari A, Madani B, Golding JB. 2017. Suitability of combination of calcium propionate and chitosan for preserving minimally processed banana quality. Journal of the science of food and agriculture.;97(11):3706-11.
- Mohajer, S., Rezaei, M., & Hosseini, S. F. 2017. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. Carbohydrate Polymers, 157, 784–793.
- Myers, D. 1999. Surfaces, Interfaces, and Colloids. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.
<https://doi.org/10.1002/0471234990>
- Nazmi N, Isa M, Sarbon N. Preparation and characterization of chicken skin gelatin/cmc composite film as compared to bovine gelatin film. Food bioscience. 2017;19:14
- Ojagh S, Adeli A, Abdollahi M, Kazemi M, Habibi M. Effect of ZnO nanoparticles on the physico-mechanical properties of agar/kappa carrageenan bilayer film. Innovative Food Technologies. 2017;5(1):1
- Orsuwan, A., Shankar, S., Wang, L.-F., Sothornvit, R., & Rhim, J.-W. 2016. Preparation of antimicrobial agar/banana powder blend films reinforced with silver nanoparticles. Food Hydrocolloids, 60, 476–485.
- Oun AA, Rhim J-W. Preparation and characterization of sodium carboxymethyl cellulose/cotton linter cellulose nanofibril composite films. Carbohydrate Polymers. 2015;127:1
- Phan, T. D., Debeaufort, F., Luu, D., & Voilley, A. (2005). Functional properties of edible agar-based and starch-based films for food quality preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 973–981.
- Ren H, Gao Z, Wu D, Jiang J, Sun Y, Luo C. Efficient Pb (II) removal using sodium alginate-carboxymethyl cellulose gel beads: Preparation, characterization, and adsorption mechanism. Carbohydrate polymers. 2016;137:4
- Rhim, J. W., Wang, L. F., & Hong, S. I. 2013. Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. Food Hydrocolloids, 33(2), 327–335.
- Rodríguez MC, Matulewicz MC, Noseda M, Ducatti D, Leonardi PI. Agar from *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) of the Patagonic coast of

- Argentina–Content, structure and physical properties. *Bioresource technology*. 2009;100(3):143
- Romero-Bastida, C. A., Bello-Pérez, L. A., García, M. A., Martino, M. N., Solorza-Feria, J., and Zaritzky, N. E. (2005). Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydrate Polymers*, 60(2), 235–244.
- Silva, M.A., Andréa Cristiane Krause Bierhalz, Theo Guenter Kieckbusch. 2009. Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca^{2+} ions: Effect of the plasticizer concentration. *Carbohydrate Polymers*, 77, 736–742.
- Shaw, N. B., Monahan, F. J., O’Riordan, E. D., & O’Sullivan, M. (2002). Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. *Journal of Food Science*, 67(1), 164–167.
- Sukhtezari S, Almasi H, Pirsas S, Zandi M, Pirouzifard M. Investigation of the physical and antioxidant properties of bacterial cellulose active film containing *Scrophularia striata* extract. *Journal of Food Research*. 2017;27(2):5
- Tabari M. Investigation of carboxymethyl cellulose (CMC) on mechanical properties of cold water fish gelatin biodegradable edible films. *Foods*. 2017;6(6):
- Talja, R. A., Helén, H., Roos, Y. H., & Jouppila, K. (2007). Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 67(3), 288–295.
- Tongdeesoontorn, W., Mauer, L. J., Wongruong, S., Sriburi, P., & Rachtanapun, P. 2011. Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 6.

Utilization of calcium propionate in the production of antimicrobial active film based on agar-carboxymethyl cellulose**Mamnoon soofiani, M.¹, Amidi-Fazli, F.², Pouzesi-miyab, B.³**

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

2- Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Sofian Branch, Islamic Azad University, Sofian, Iran

3- Assistant professor, Department of f Plant Pathology, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran

*Corresponding author E-mail: amidi_f@yahoo.com

Abstract

Production of biodegradable polymers has increased due to the increased use of fuel based plastics which are non-biodegradable. In this study, agar-carboxymethyl cellulose films containing glycerol (20-60%) and calcium propionate (0-20%) were prepared. Thickness, permeability to water vapor, water solubility, moisture absorption, contact angle, and color parameters were measured to evaluate the film properties. The antibacterial and antifungal properties of the films against the three bacterial genera and the two genera of mold were also investigated. The results showed that the applied factors had a significant effect ($p < 0.05$) on the solubility and permeability of the films. Also produced films had high contact angle and consequently low hydrophilicity. According to the color properties, calcium propionate and glycerol had significant effects on the color parameters L, a, b and YI. Antimicrobial properties against *Klebsiella* bacteria were also observed and the films had antifungal properties. The amount of calcium propionate applied had a significant effect ($p < 0.05$) on the reduction of penicillium. As a result, the use of inexpensive biopolymers and the addition of antimicrobial compounds such as calcium propionate, in addition to protecting the environment, can produce a film with appropriate properties and prevent the growth of microorganisms.

Keywords: agar, carboxymethyl cellulose, calcium propionate, anti-bacterial