

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

محبوبه کشیری<sup>۱\*</sup> یحیی مقصودلو<sup>۲</sup>

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

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

دریافت: ۹۵/۰۷/۲۷ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۸

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

### چکیده:

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

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

مقدمه

گازها (Arcanand Yemenicioğlu, 2011)، اما ضعف در انعطاف پذیری و ممانعت کنندگی در برابر بخار آب از جمله مشکلات این فیلم زیستی محسوب می شود. براساس گزارش Arcanand Yemenicioğlu در سال ۱۴۰۱ فزودن ترکیبات فنولیک نظیر کاتکین، اسید گالیک، هیدروکسیبنزوئیک اسیدها و اسید فرولیکمی توانند روشی مؤثر برای غلبه بر شکنندگی و افزایش قابلیت انعطاف پذیر پایداری از فیلم ها محسوب شوند (Arcanand Yemenicioğlu, 2011). گفتنی است که حضور ترکیبات فنولی، علاوه بر مرتفع کردن مشکلات فیزیکی و مکانیکی فیلم، از حیث فنی می تواند به عنوان فرایند پهنه نسبت جدید در مجموعه بسته بندی فعال طبقه بندی گردد. بسته بندی ضد میکروبی نوعی بسته بندی فعال است که مهاجرت پیوسته ترکیبات ضد میکروبی به سطح ماده غذایی، رشد میکروارگانیسم های مولد فساد مواد غذایی را کنترل و در نتیجه سبب بهبود امنیت غذایی و افزایش طول دوره نگهداری محصولات غذایی می گردد (Balaguer et al., 2014; Higuera et al., 2013; Shojaei-Aliabadi et al., 2014).

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

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

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

#### آماده سازی فیلم

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

#### ارزیابی رهایش فیلم زیست فعال زئین در مدل های غذایی

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

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

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

#### مواد و روش ها

شدند. هر یک از فیلم‌ها در فواصل زمانی مشخص تا رسیدن به حالت تعادل از الگوی غذایی خارج و مایع حاصل فیلتر و غلظت اسانس رها شده در هر الگوی غذایی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ارزیابی شد. در این بررسی ستون کروماتوگرافی مورد استفاده C18 معکوس در ابعاد (میلی‌متر)  $3/9 \times$  (میلی‌متر) ۱۵۰ و قطر ذرات ۲۰ میکرون بود. فاز متحرک شامل استو نیتریل و آب در نسبت ۵۰:۵۰ (حجمی - حجمی) و حاوی ۰/۱ تیو فلورو استیک اسید بود. سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و حجم نمونه تزریقی ۲۰ میکرولیتر تنظیم شد. زمان لازم برای خروج اسانس ۶ دقیقه و شدت جذب در ۲۰۵ نانومتر خوانده شد. میانگین ضخامت فیلم‌ها در هر ارزیابی در سه تکرار تعیین شد (Kashiri et al., 2016 a)

#### ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم زیست‌فعال زئین

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

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

#### نتایج و بحث

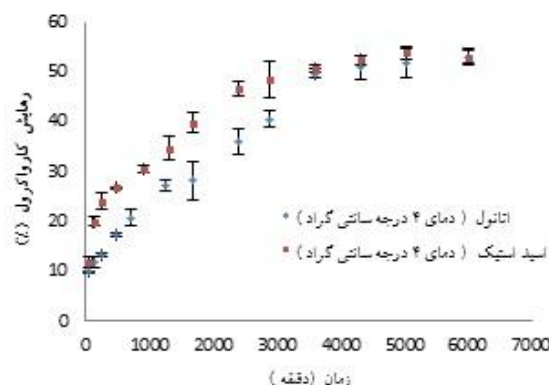
##### تأثیر الگوی غذایی و دما بر رهایش کارواکرول

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

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

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

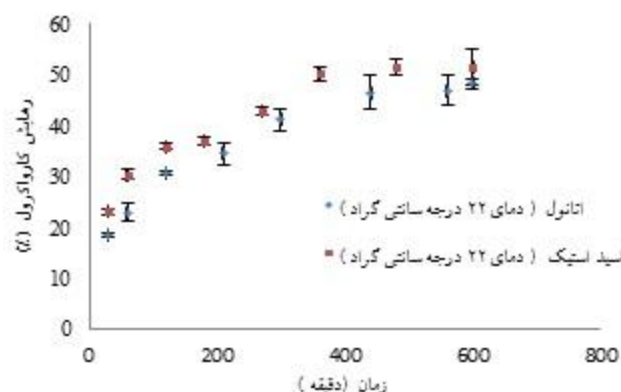
محلول آبی به درون بستر پلیمری، افزایش فاصله ماکرو مولکول‌ها در بستر پلیمر و نفوذ ماده فعال از آن به درون محیط آبی اطراف فیلم تا رسیدن به نقطه تعادلی تشریح می‌گردد (Mastromatteo et al., 2009). براساس این سازوکار، رهایش اسانس پونه کوهی و نعناع در بستر پلیمری آب پنیر (Oussalah et al., 2004) اسانس بستر پلیمری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



شکل ۱ سینتیک رهایش کارواکرول در دمای ۴ درجه سانتی گراد در الگوی غذایی

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

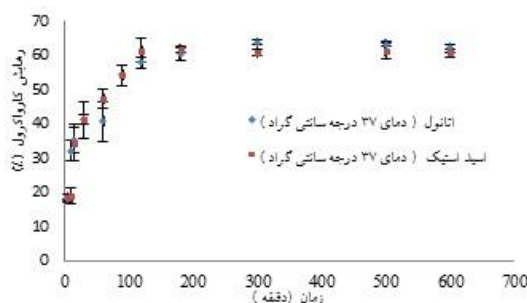
۶۴/۳۵±۴/۰۶ قسمت در میلیون (۲۲/۹۳ درصد) بود. با افزایش زمان به ۱۲۰ دقیقه مقدار رهایش کارواکرول ۸۵/۷۸±۱/۷۷ قسمت در میلیون (۳۰/۵۶ درصد) تعیین شد. مقدار رهایش کارواکرول از فیلم زیست فعال زئین در مقایسه با ۴ درجه سانتی‌گراد حدود ۷/۰۵ درصد بیشتر بود.



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

سینتیک رهایش کارواکرول از فیلم زیست فعال زئین در الگوی غذایی اسیدی و اتانولی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد ارزیابی شد و نتایج حاصل در **Error! Unknown switch argument.** نشان داده شده است. مقدار رهایش کارواکرول اندازه گیری شده در محیط اتانولی در ۳۰ دقیقه نخست برابر با  $145/78 \pm 3/25$  قسمت در میلیون ( $44/47$  درصد) بود. حداکثر مقدار

رهایش کارواکرول تا رسیدن به نقطه تعادل نیز در زمان ۹۰۰ دقیقه به ترتیب برابر  $5/5 \pm 188/91$  قسمت در میلیون ( $61/48$  درصد) تعیین شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که افزایش دما سبب افزایش سرعت رهایش کارواکرول و کاهش زمان لازم برای رسیدن به تعادل ترمودینامیکی شد که این شرایط متأثر از پدیده افزایش سرعت جذب آب و تورم بستر پلیمری زئین بود.



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

سینتیک رهایش کارواکرول تا رسیدن به تعادل در محیط های آبی به صورت لگاریتمی افزایش یافته است (شکل های ۱، ۲ و ۳). مقایسه رفتار رهایش کارواکرول از بستر پلیمر زئین در دماهای مختلف حاکی از تأثیر دما، زمان و الگوی غذایی بر سرعت رهایش ترکیب فعال بود. به طوری که فیلم زئین حاوی ۱۰ درصد کارواکرول در دمای ۴ درجه سانتی گراد از حیث رهایش در زمان طولانی، در مقایسه با دمای ۲۲ و ۳۷ درجه سانتی گراد رفتار مطلوب تری نشان داد. براساس مشاهدات عینی رهایش کارواکرول از فیلم زئین در الگوهای غذایی مایع مطالعه شده، می توان بیان داشت که دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منجر به عدم حفظ انسجام بافتی و حالت

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

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

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

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

معادله (۱) 
$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[ -\frac{D(2n+1)^2 \pi^2 t}{L^2} \right]$$
  
در این معادله  $M_t$  میلی گرم کارواکرول منتشر شده در زمان مشخص  $t$  است و  $M_{\infty}$  میلی گرم کارواکرول در نقطه تعادلی است.

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

| ضریب نفوذ پذیری کارواکرول<br>( $10^{-10} \times D$ ) (متر مربع بر ثانیه) |                     | رهایش کارواکرول (درصد) |                     | دما<br>(درجه سانتی گراد) |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|--------------------------|
| اسید استیک<br>(۳ درصد)                                                   | اتانول<br>(۱۰ درصد) | اسید استیک<br>(۳ درصد) | اتانول<br>(۱۰ درصد) |                          |
| ۰/۲۳                                                                     | ۰/۱۷                | ۵۲/۳                   | ۵۳/۱۴               | ۴                        |
| ۱/۲۰                                                                     | ۰/۹۸                | ۵۱/۷۱                  | ۴۸/۲۳               | ۲۲                       |
| ۶/۷۰                                                                     | ۶/۵۴                |                        |                     | ۳۷                       |

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

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

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

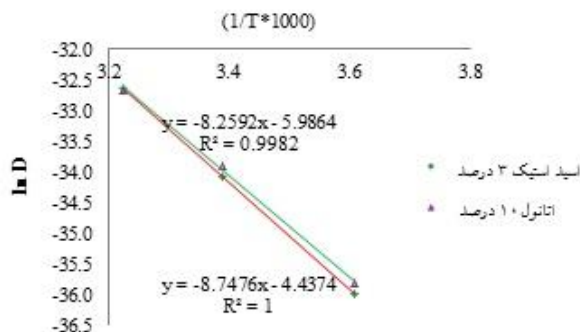
شده در مقایسه با مقادیر گزارش شده برای سایر عوامل ضد میکروبی مانند تیمول در فیلم ژئین (Del Nobile et al., 2008)، اسید اسکوربیک و تیروزین در بستر پلیمری استات سلولز (Gemiliet al., 2010)، اسید آسکوربیک، اسید فرولیک، کوثرستین و عصاره چای سبز در بستری از کاپلیمر اتیلن وینیل الکل (López-de-Dicastillo et al., 2012) و نیز نایسین در بستر کیتوزان-اتیلن وینیل الکل (Wang et al., 2015) در سطح پایین تری قرار داشت. انرژی لازم برای آغاز واکنش به انرژی اکتیواسیون ( $E_a$ ) اطلاق و مقدار آن با واحد کیلوژول بر مول بیان می شود. در بیشتر واکنش ها شیمیایی با افزایش دما، سرعت واکنش زیاد می شود، از این رو ثابت های سرعت واکنش به شدت به دما وابسته اند که این وابستگی در واکنش های مختلف متفاوت است. بهترین و مناسب ترین رابطه بین ثابت سرعت یک واکنش با دما از سوی آرنیوس ارائه شده است. با استفاده از معادله آرنیوس (معادله ۲)، رابطه بین ضریب انتشار و دما تعیین و از طریق آن انرژی فعال سازی محاسبه گردید.

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

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

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

انرژی فعال سازی برای رهائش کارواکرول با استفاده از برازش خطی محاسبه در **Error! Unknown switch**



شکل ۴ ارزیابی نفوذپذیری رهائش کارواکرول از فیلم زئین فعال حاوی ۱۰ درصد کارواکرول در محدوده دمای ۴ و ۳۷ درجه سانتی گراد در محلول استیک (۳ درصد) و اتانول (۱۰ درصد)

#### ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم زیست فعال زئین حاوی کارواکرول

باوجود استفاده از مواد نگهدارنده برای کنترل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و عفونت مواد غذایی، امنیت غذایی چالشی مهم در صنعت است. در حال حاضر استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی، جایگزینی سالم و مؤثر برای مواد شیمیایی می‌باشند. در تحقیق اثر بازدارندگی فیلم‌های زئین حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول در محیط کشت تریپتوز سوی برات علیه لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای در دمای ۴ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به ترتیب پس از ۵ روز و ۱۸ ساعت بررسی شد. نتایج ارزیابی اثرهای بازدارندگی فیلم‌های زیست کامپوزیت زئین حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت تریپتوز سوی برات حاکی از اثر بخش بودن فیلم‌های فعال در برابر لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای بود. همان‌طوری که در Error! Unknown switch argument. نشان داده شده است، در دمای ۳۷ درجه

سانتی‌گراد جمعیت لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای تلقیح شده در محلول حاوی فیلم زئین فاقد حاوی ۵ درصد کارواکرول به ترتیب حاوی  $6.98 \pm 0.01$  و  $6.27 \pm 0.04$  (LogCFU/ml) شمارش شد. با توجه به شمارش تعداد باکتری در نمونه شاهد (فیلم زئین فاقد کارواکرول)، مقدار کاهش لگاریتمی لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیا کلای به ترتیب  $1/51$  و  $2/21$  لگاریتم تعیین شد. کارواکرول ترکیبی با ساختار فنلی است که فعالیت ضد میکروبی آن به حلقه آروماتیک فنلی و گروه هیدروکسیل آن نسبت داده می‌شود (Arfa et al., 2006). سازوکار عمل کارواکرول براساس تأثیر لایه لپیدی غشای سیتوپلاسمی باکتریایی و از دست دادن انسجام بافتی، افت نیروی پروتون محرکه و در نتیجه نشت مواد سلولی مانند یون، ATP و اسید نوکلئیک از سلول می‌باشد (Ultee et al., 2002). همچنین اثر ضد میکروبی کارواکرول بیش از سایر ترکیبات فعال نظیر اوزونول و منتول است که این امر می‌تواند به توانایی کارواکرول در تشکیل پیوندهای هیدروژنی و آزادسازی پروتون علاوه بر امکان تجمع

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

بخش دیگری از ارزیابی ها، بررسی خواص ضد میکروبی فیلم زیست فعال زئین حاوی کارواکرول در دمای یخچال (۴ درجه سانتی گراد) و شرایط نامناسب نگهداری (۳۷ درجه سانتی گراد) در محیط آبی بود. همان طوری که در جدول ۲ و ۴ نشان داده شده است، اندیس کاهش رشد لگاریتمی فیلم زئین حاوی ۵ درصد کارواکرول علیه شرشیا کلای و لیستریا

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

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

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

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

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

## نتیجه گیری

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

## منابع

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

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

رهایش کارواکرول از فیلم زئین فعال ارزیابی وضرایب نفوذپذیریموثر با استفاده از الگوی ریاضی براساس قانون دوم فیک برآورد شد. سرعت رهایش کارواکرول وابسته درجه حرارت، زمان و الگوی غذایی می باشد. انرژی فعال سازی پایین تر فیلم زئین فعال در الگوی غذایی اسیدی در مقایسه با الگوی غذایی اتانولی تأییدکننده سرعت رهایش بالاتر کارواکرول در الگوی غذایی اسیدی است. فیلم زئین حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول قادر به رهایش مطلوب کارواکرول برای بروز خواص ضدباکتریایی علیه *اشرشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* بود. افزایش غلظت کارواکرول، سبب بهبود خواص ضدباکتریایی فیلم زئین فعال گردید. براساس این نتایج، پلیمر زئین و ترکیب فعال کارواکرول به عنوان جایگزین هایی امیدبخش پلیمرهای

## Scientific - Research Journal

Vol. 6, No. 1, Spring 2017

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## Scientific - Research Journal

Vol. 6, No. 1, Spring 2017

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Nampoothiri, K. M., Nair, N. R. and John, R. P. 2010.** An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresource Technology*, 101(22): 8493-8501.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Mahboobeh Kashiri<sup>1\*</sup>, Y. maghsoudlou<sup>2</sup>

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

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

Received: 18.10.2016      Accepted: 06.02.2017

\*Corresponding author: Kashiri.m@gmail.com

### Abstract;

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

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