مجله علوم و فنون شیلات
نسخه ویژه خلیج فارس
دوره ۱۰ شماره ۲، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۳۸۵ تا ۳۹۸

بررسی اثر گلوتارآلدئید بر رهایش پلی‌ال‌لایزین از فیلم ژلاتین استخراج شده از پوست تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869)

زهرا موسوی[۱]، محمود ناصری[۱]، صدیقه بابایی[۱و۲*]، سید محمد هاشم حسینی[۳]، سید شهرام شکرفروش[۴]

۱- بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۲- پژوهشکده فرآوری آبزیان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۳- بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۴- بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

چکـــیده

این پژوهش به منظور بررسی خواص مکانیکی و فیزیکی فیلم‌های ژلاتین ماهی و تأثیر عامل شبکه ساز گلوتارآلدئید بر کنترل رهایش عامل ضد میکروب پلی‌ال‌لایزین طراحی و اجرا شد. در این پژوهش تهیه فیلم به روش کاستینگ (casting) انجام گرفت و به فیلم تهیه شده از ژلاتین ماهی، ۰/۰۵٪ گلوتارآلدئید (glutaraldehyde) و ۰/۰۵٪ پلی‌ال‌لایزین اضافه شد. نتایج نشان داد افزودن گلوتارآلدئید به فیلم ژلاتین ماهی موجب افزایش مقاومت کششی (۶/۸۰ مگاپاسکال)، کاهش حلالیت (۳۸/۵۱ ٪)، کاهش رطوبت (۸/۰۵ ٪)، کاهش نفوذپذیری به بخار آب (۲/۰۳ گرم، میلی متر/ساعت، میلی‌متر مربع کیلو پاسکال)، افزایش تراکم و انسجام و ایجاد سطحی صاف و بدون خلل فرج با توجه به تصاویر SEM گردید. همچنین رهایش پلی‌ال‌لایزین از بیوپلیمر حاوی کراسلینکر (crosslinker) یا عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید به دلیل ایجاد اتصالات عرضی و به دام افتادن آن، آهسته‌تر و مداوم‌تر بود. با توجه به خصوصیات مکانیکی و فیزیکی فیلم‌های تولید شده و پایداری و کنترل رهایش ترکیب ضدمیکروبی پلی‌ال‌لایزین، بنظر می‌رسد فیلم‌های حاوی ۰/۰۵ ٪ عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید می‌توانند در جهت ماندگاری محصولات فاسدشدنی پیشنهاد شوند.

کـــلید واژه‌ها: ژلاتین ماهی، گلوتارآلدئید، عامل شبکه‌ساز، فیلم ضدمیکروبی، تاسماهی سیبری

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۵
تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

***نویسنده مسول:**
Babaei.sedigheh@gmail.com
s-babaei@shirazu.ac.ir

مقدمه

سالانه بخش زیادی از مواد غذایی (حدود ۳۰ الی ۵۰٪) بواسطه وجود باکتری‌ها، قارچ‌ها، اکسیداسیون و آنزیم‌ها از بین می‌روند [۱]. سازمان غذا و دارو (FDA) و کمیسیون اروپا (EC) بر استفاده از بسته‌بندی پایدارتر مانند پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر و کاهش بسته‌بندی‌های سنتی تاکید دارند [۲]. در سال‌های اخیر، تکنیک‌های جدید مانند بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده، پوشش خوراکی، بسته‌بندی ضد میکروبی و بسته‌بندی هوشمند توسعه یافته است که در این میان بسته‌بندی ضدمیکروبی راهی بسیار مناسب جهت کنترل تکثیر باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشد [۱و۲]. محدودیت‌هایی در استفاده سنتی از ترکیبات ضد میکروب وجود دارد بطوریکه در بسته‌بندی سنتی، مواد ضدمیکروب در فرمول‌بندی غذا گنجانده می‌شدند که به سرعت در واکنش با سطح مواد غذایی از بین می‌روند و حفاظت ماده غذایی به سرعت متوقف می‌شود، همچنین به علت عدم توانایی انتخاب سطح ماده غذایی، که بیشتر واکنش‌های فساد روی آن رخ می‌دهد؛ مقدار اضافی از ترکیب فعال یا مواد ضدمیکروب به صورت

غیرضروری به ماده غذایی اضافه می‌شود [۳]. در بسته‌بندی‌های کنترل شده با انواع بیوپلیمرها، می‌توان با یک غلظت از پیش تعیین شده ترکیبات فعال و کنترل رهایش آهسته آن‌ها، بر این دو محدودیت غلبه کرد.

ژلاتین به دلیل زیست تخریب‌پذیر بودن، از بیوپلیمرهای طبیعی اصلی است که در سال‌های اخیر در فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴]. ژلاتین یک بیوپلیمر طبیعی است که از هیدرولیز اسیدی یا قلیایی کلاژن حیوانی به دست می‌آید [۵]. فیلم‌های تولید شده از ژلاتین ماهی از خواص مکانیکی خوبی برخوردارند، اما در برابر نفوذ بخار آب مقاومت کمی از خود نشان می‌دهند [۶].

اتصال عرضی (کراسلینک) زنجیره‌های پلیمری که توسط پیوندهای کووالانسی یا غیرکوالانسی و تشکیل شبکه‌های سه بعدی ایجاد می‌شود [۷] یکی از تکنیک‌های اصلی برای اصلاح پلیمر است [۸]. از مزایای اتصال دهنده‌های عرضی در پلیمرهای بسته‌بندی مواد غذایی ۱) کاهش تحرک زنجیره‌های پلیمری و افزایش خواص مکانیکی ۲) کاهش حلالیت در آب و تورم پلیمر ۳) افزایش مقاومت در برابر گرما، نور، مواد شیمیایی و حلال‌ها ۴) افزایش انعطاف‌پذیری و ۵) تاخیر در تخریب زیستی پلی‌ساکارید و فیلم‌های مبتنی بر پروتئین را می‌توان نام برد [۹]. همچنین اتصال دهنده‌های عرضی در سیستم‌های بسته‌بندی مواد غذایی با کاهش تحرک‌پذیری زنجیره پلیمر و مولکول‌های فعال، باعث کنترل آزادسازی ترکیبات فعال از بسته به سطح مواد غذایی، کاهش تورم، کاهش سرعت انتشار و تجزیه مواد بسته‌بندی می‌شود [۳].

از گلوتارآلدئید به عنوان یکی از متداول‌ترین کراسلینکرها به منظور اصلاح مواد بسته‌بندی استفاده می‌شود. گلوتارآلدئید یک کراسلینکر شیمیایی است که با ایجاد پایه شیفت (Schiff's base) بین گروه‌های آلدئیدی و گروه‌های آمینی زیست پلیمرها سبب ایجاد اتصالات عرضی می‌شود [۱۰]. نتایج مطالعات گذشته نشان داد افزودن گلوتارآلدئید به فیلم، باعث کاهش حلالیت در آب، کاهش تورم و نفوذپذیری به بخار آب (WVP) و کاهش ترشح ترکیبات فعال از فیلم‌ها می‌شود [۱۱]. به علت مضر بودن نگهدارنده‌های شیمیایی، تقاضای استفاده از ترکیبات طبیعی افزایش یافت. یکی از این ترکیبات ضدمیکروبی، ε-Polylysine (ε-PL) است. پلی‌ال‌لایزین یک پلی‌پپتید کاتیونی ضد میکروبی طبیعی است که از ۲۵–۲۳ ال‌لیزین همگن تشکیل شده و به طور عام برای استفاده در محصولات غذایی ایمن شناخته می‌شود [۱۲]. مطالعات نشان دادند که افزودن ε-PL می‌تواند فعالیت ضد باکتریایی فیلم‌های مبتنی بر ژلاتین را افزایش دهد [۱۲]. همچنین گزارش شده است استفاده از کراسلینکر کلریدکلسیم سبب رهایش آهسته و مداوم پلی‌ال‌لایزین از فیلم کیتوزان–سدیم آلژینات شده و اثر ضدمیکروبی مداوم‌تری با استفاده از کراسلینکر مشاهد شد [۱۳]. بهبود و کنترل رهایش مواد ضدمیکروبی مانند پلی‌ال‌لایزین از بسته‌بندی‌های فعال مواد غذایی به هنگام ذخیره‌سازی (یا انبارداری) یکی از مهمترین نگرانی‌هاست. استفاده از عوامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید در بستر فیلم ژلاتین ماهی این امکان را فراهم می‌کند. بنابراین، در مطالعه حاضر، ضمن بررسی خواص مکانیکی و فیزیکی تیمارها، تأثیر عامل شبکه‌ساز بر اثر ضد میکروبی فیلم در برابر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* در شرایط آزمایشگاه، کنترل رهایش پلی‌ال‌لایزین نیز از بستر فیلم ژلاتین ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ژلاتین ماهی و ساخت فیلم

در ابتدا ژلاتین از پوست تاسماهی سیبری *Acipenser baerii* طبق روش موسوی و همکاران (۱۳۹۸) استخراج شد [۱۴]. ژلاتین پوست ماهی به میزان ۳ درصد (وزنی/حجمی) در آب مقطر حل شد. به منظور تورم و انحلال بهتر ابتدا در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد، سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و با هم‌زن مغناطیسی هم زده شد [۱۵]. پس از آماده‌سازی محلول، ۰/۰۵٪ گلوتارآلدئید به عنوان عامل شبکه‌ساز، ۰/۷۵٪ (وزنی/حجمی) گلیسرول به عنوان پلاستی‌سایزر و ۰/۰۵ ٪ پلی‌ال‌لایزین به محلول اضافه

گردید و به مدت یک ساعت هموژن شد [۱۶،۱۷]. تیمارهای این تحقیق به ترتیب شامل: فیلم ژلاتین ماهی(Gl)، فیلم ژلاتین ماهی–پلی‌ال‌لایزین (Glp)، فیلم ژلاتین ماهی–گلوتارآلدئید (GlG) و فیلم ژلاتین ماهی–گلوتارآلدئید–پلی‌ال‌لایزین (GlGp) بودند.

آزمون‌های مکانیکی فیلم

اندازه‌گیری میزان مقاومت کششی (TS)و کشش تا لحظه پاره شدن (E%) فیلم‌ها با دستگاه بافت‌سنج (TX-XT2 Texture Analyser، Surrey، انگلیس) با استفاده از استاندارد ASTM D882-02 (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌های فیلم به شکل مستطیل به ابعاد ۶×۱ سانتی‌متر مربع بریده شده و در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم (برای ایجاد رطوبت نسبی ۵۳٪) و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب برابر ۵۰ میلی‌متر و ۵۰ میلی‌متر/دقیقه تعیین و داده‌ها توسط کامپیوتر ثبت گردید [۱۸]. مقاومت کششی فیلم‌ها از رابطه زیر محاسبه گردید:

(ضخامت فیلم ×عرض فیلم) ÷= حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن مقاومت کششی

آزمون‌های فیزیکی فیلم

ضخامت: برای اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها از دستگاه میکرومتر (Mitutovo ،No. 293-766، ژاپن)، با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر استفاده گردید. اندازه‌گیری‌ها به‌صورت تصادفی در پنج نقطه از نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت این نقاط برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها استفاده گردید[۱۹].

رطوبت: مقدار مشخصی از نمونه‌ها توزین و داخل پلیت‌های شیشه‌ای قرار داده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. نمونه همراه با پلیت پس از این مدت خارج شده و پس از سرد شدن در دسیکاتور مجدداً توزین گردید. محتوای رطوبت فیلم‌ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید [۱۸].

(وزن نمونه تر / وزن نمونه خشک – وزن نمونه تر) ×۱۰۰ = رطوبت (٪)

حلالیت در آب: بمنظور تعیین حلالیت در آب، فیلم‌های بدون رطوبت با اندازه ۲×۲ سانتی‌متر وزن شدند و متعاقباً در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شدند. و در دمای اتاق در طی ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد (تا وزن ثابت) خشک شدند. حلالیت با اختلاف وزن بین ماده خشک که در آب حل نشده و وزن اولیه قبل از غوطه‌وری تعیین شد. سه تکرار برای هر فیلم انجام شد و نتایج حلالیت به صورت درصد (٪) بیان شد [۱۹].

۱۰۰ × (وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری – وزن ماده خشک اولیه)) (وزن ماده خشک اولیه/ = حلالیت(٪)

میزان نفوذپذیری در برابر بخار آب: سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب طبق استاندارد ASTM E96محاسبه شد. فنجان‌هایی با قطر (۳×۳×۴ سانتی‌متر) حاوی ۴ گرم کلرید کلسیم ($CaCl_2$) بدون آب (رطوبت نسبی صفر) و یک فنجان کنترل (خالی از کلسیم کلرید) دربندی شد. فنجان‌ها در یک محفظه‌ی حاوی سدیم کلرید فوق اشباع (رطوبت نسبی۷۵٪) قرار گرفتند. این اختلاف رطوبت میان دو سمت فیلم منجر به ایجاد یک فشار بخار به اندازه ۱۷۵۳/۵۵ پاسکال می‌شود. انتقال بخار آب از طریق افزایش وزن فنجان تشخیص داده شد. تغییرات وزن فنجان (با فواصل ساعتی) با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری و نمودار افزایش وزن به عنوان تابعی از زمان رسم شد. در تمام نمونه‌ها با رسم منحنی تغییرات وزن سلول نسبت به زمان، یک معادله درجه یک بود. نرخ انتقال بخار آب برحسب گرم، میلی متر/ساعت، میلی‌متر مربع کیلو پاسکال معادل با شیب خطوط حاصل، تقسیم بر سطح سلول است که از رابطه زیر محاسبه شد [۱۸].

(فشار بخار داخل فنجان – فشار بخار بیرون فنجان) سطح فنجان (mm2) ÷ ضخامت (mm) × شیب خط = میزان نفوذپذیری

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM): برای ارزیابی اتصال و تشکیل پیوند بر سطح فیلم، از سطح نمونه‌ها به کمک دستگاه SEM(TESCAN-Vega 3، جمهوری چک) تصویر برداری شد. نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی بیانگر تشکیل یا عدم تشکیل ساختارهای پیوسته و یکنواخت در فیلم مورد نظر است و همچنین بیان‌کننده این مطلب است که آیا زنجیرهای پلیمری درگیری خوبی با یکدیگر داشته‌اند [۲۰]. ابتدا فیلم‌ها در ابعاد بسیار کوچک بریده شده و سپس به کمک چسب نقره بر روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده/ پاشنده طلا (Quorum Technologies ،R- ES150Q، انگلستان)، پوشش داده شدند. تصویربرداری از نمونه‌ها در بزرگنمایی‌های مختلف انجام گرفت.

ارزیابی رهایش

برای بررسی رهایش پلی‌ال‌لایزین در محیط آزمایشگاه از آب دوبار تقطیر (pH= ۷/۵) در فالکون‌های مجزا به عنوان محیط رهایش استفاده شد. مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌گرم از هر یک از فیلم‌ها وزن شده و به داخل فالکون که حاوی ۴ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر بود منتقل شد. فالکون‌ها در انکوباتور شیکردار نگهداری شدند. در نوبت‌های زمانی ۰، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ مقدار ۲۵۰ ماکرولیتر از محلول موجود در فالکون‌ها با سه بار تکرار برداشته شد. سپس رهایش عامل فعال از نمونه‌ها با دستگاه (مدل Knaver) HPLC، ستون c18، حلال: آب و استونیتریل با نسبت ۳۰ به ۷۰ و طول موج ۲۴۵ نانومتر اندازه گیری شد [۱۳].

اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها از روش چگالی نوری (Optical Density) استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از هر باکتری *S. aureus* و*E. coli* با رقت خاص (۰/۵ مک فارلند) به لوله‌های آزمایشگاهی حاوی ۳/۹ میلی‌لیتر محیط کشت BHI استریل اضافه شد. سپس ۰/۰۲۵ گرم از فیلم‌ها، توسط لامپ UV به مدت ۲۰ دقیقه استریل شد و به لوله‌های آزمایشگاهی حاوی سوسپانسیون میکروبی اضافه گردید. ظروف در دمای ایده‌آل رشد باکتری‌ها در انکوباتور شیکردار قرار گرفتند. نمونه‌ها با ۳ بار تکرار در ساعت‌های ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ برداشته شد (۷۵۰ ماکرولیتر)، سپس نمونه‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ایی ریخته شد و توسط دستگاه الایزا در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید [۲۱].

نتایج

استحکام کششی (TS) و افزایش طول در نقطه شکست (E%)

اثر ترکیب گلوتارالدئید، و پلی‌ال‌لایزین بر خواص مکانیکی فیلم ژلاتین ماهی در جداول ۱ آورده شده است. عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید بطور معناداری مقاومت کششی (TS) را از ۳/۵۴ به ۶/۸۰ مگاپاسکال افزایش داد ($P < 0.05$). اما افزودن پلی‌ال‌لایزین به فیلم‌ها تفاوت معناداری با تیمار شاهد (Gl) نشان نداد ($P > 0.05$). افزایش طول در نقطه شکست معیاری جهت بررسی کشسانی فیلم قبل از پارگی است. طبق جدول ۱، افزودن پلی‌ال‌لایزین سبب اندکی تغییر طول در نقطه شکست در تیمار حاوی کراسلینکر (عامل شبکه‌ساز) شد اما سبب ایجاد تفاوت معناداری نشد ($P < 0.05$) که این موضوع ممکن است بر خاصیت آبدوستی و نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب نیز تاثیر گذار باشد.

جدول ۱. نتایج آزمایش‌های مکانیکی فیلم ژلاتین ماهی. Gl (فیلم ژلاتین ماهی)Glp (فیلم ژلاتین ماهی-پلی‌ال‌لایزین)، GlG (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید)، GlGp (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید-پلی‌ال‌لایزین). حروف غیرمشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

فیلم	کشش مکانیکی (مگاپاسگال)	ازیاد طول (٪)
Gl	۳/۵۴ ± ۰/۰۸^{b}	۷۷/۵۸ ± ۳/۶۰^{a}
Glp	۳/۱۸ ± ۱/۹۴^{b}	۷۷/۹۷ ± ۲/۵۳^{a}
GlG	۶/۸۰ ± ۱/۴۰^{a}	۴۰/۲۰ ± ۰/۹^{b}
GlGp	۶/۶۹ ± ۱/۶۶^{a}	۴۰/۳۳ ± ۲/۷۳^{b}

خواص فیزیکی فیلم‌ها

رطوبت، ضخامت، حلالیت در آب و نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

طبق جدول ۲ کمترین میزان رطوبت مربوط به تیمارهای حاوی گلوتارآلدئید(GlG وGlGp) بود< (P 0.05). تاثیر گلوتارآلدئید و پلی‌ال‌لایزین بر ضخامت فیلم ژلاتین ماهی در جدول ۲، نمایش داده شده است. میانگین ضخامت فیلم‌ها بین ۰/۰۵ تا ۰/۰۴۸ میلی‌متر بود. همچنین در ضخامت فیلم با اضافه شدن گلوتارآلدئید و پلی‌ال‌لایزین تفاوت معناداری ایجاد نشد ($P > 0.05$). حلالیت فیلم ژلاتین ماهی در آب بالا (۷۹/۰۴٪) بود (جدول ۲) و استفاده از گلوتارآلدئید در ماتریکس فیلم، حلالیت را به ۳۸/۵۱٪ کاهش داد، در صورتیکه با افزودن پلی‌ال‌لایزین تفاوت معناداری در حلالیت تیمارها حاصل نشد ($P > 0.05$). جدول ۲ نشان می‌دهد فیلم‌های حاوی گلوتارآلدئید میزان WVP کمتری نسبت به بقیه فیلم‌ها دارد ($P < 0.05$). با افزودن پلی‌ال‌لایزین به تیمارها WVP اندکی افزایش یافت که این باعث ایجاد تفاوت معناداری در تیمارها نشد ($P > 0.05$).

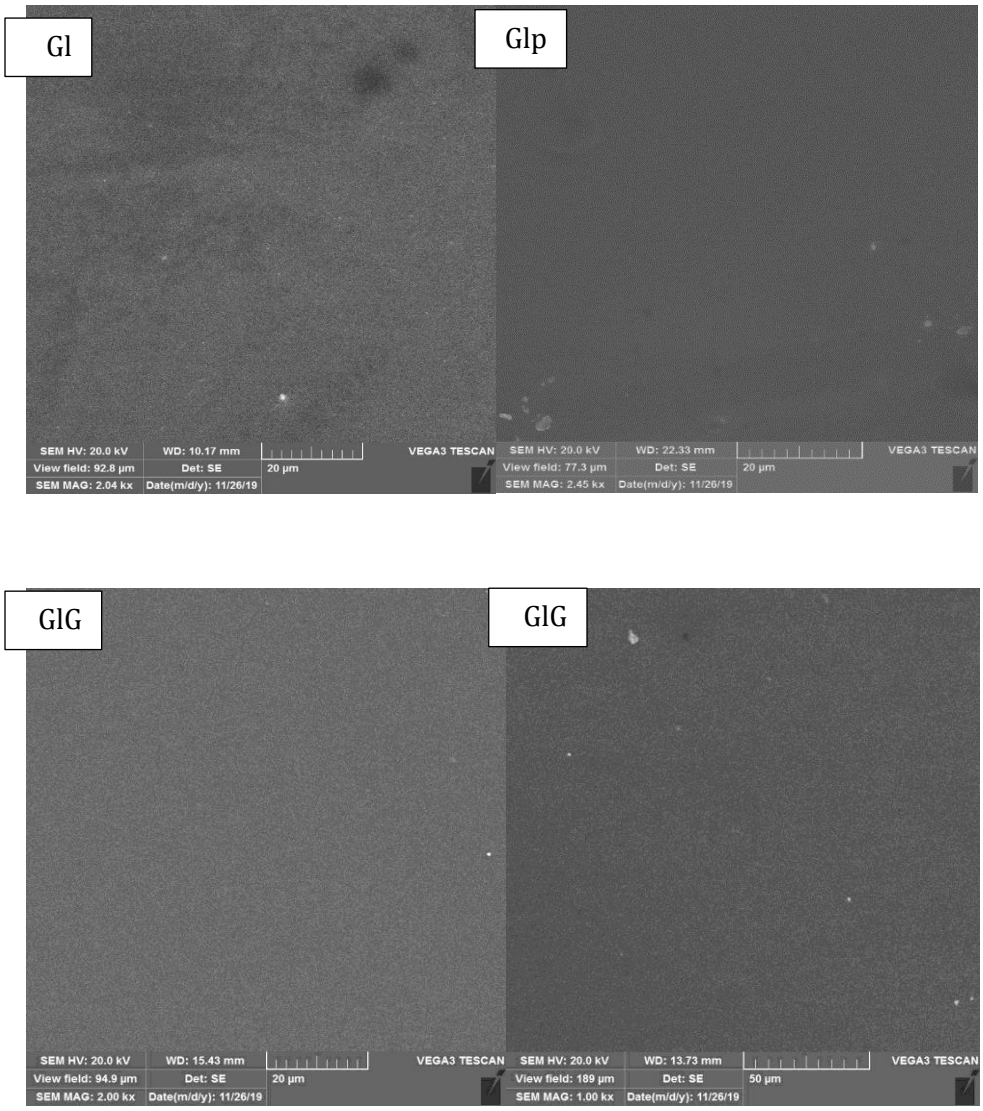
جدول ۲. نتایج آزمایش‌های خواص فیزیکی فیلم ژلاتین ماهی. Gl (فیلم ژلاتین ماهی)Glp (فیلم ژلاتین ماهی-پلی‌ال‌لایزین)، GlG (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید)، GlGp (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید-پلی‌ال‌لایزین). حروف غیرمشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

فیلم	رطوبت (٪)	ضخامت (mm)	حلالیت (٪)	نفوذپذیری به بخار آب (گرم، میلی متر/ساعت ، میلی‌متر مربع کیلوپاسکال)
Gl	۱۰/۲۰ ± ۱/۵^{a}	۰/۰۵ ± ۰^{a}	۷۹/۰۴ ± ۳/۷۰^{a}	۳/۵۴ ± ۰/۰۸^{a}
Glp	۱۰/۹۳ ± ۱/۵۳^{a}	۰/۰۵۳ ± ۰^{a}	۸۰/۰۱ ± ۱/۲۳^{a}	۳/۸۱ ± ۰/۱۱^{a}
GlG	۸/۰۵ ± ۰/۶۳^{b}	۰/۰۴۶ ± ۰^{a}	۳۸/۵۱ ± ۱/۰۹^{b}	۲/۰۳ ± ۰/۳۵^{b}
GlGp	۸/۶۵ ± ۰/۲۱^{b}	۰/۰۴۸ ± ۰^{a}	۳۹/۳۳ ± ۲/۱۹^{b}	۲/۱۵ ± ۰/۵۷^{b}

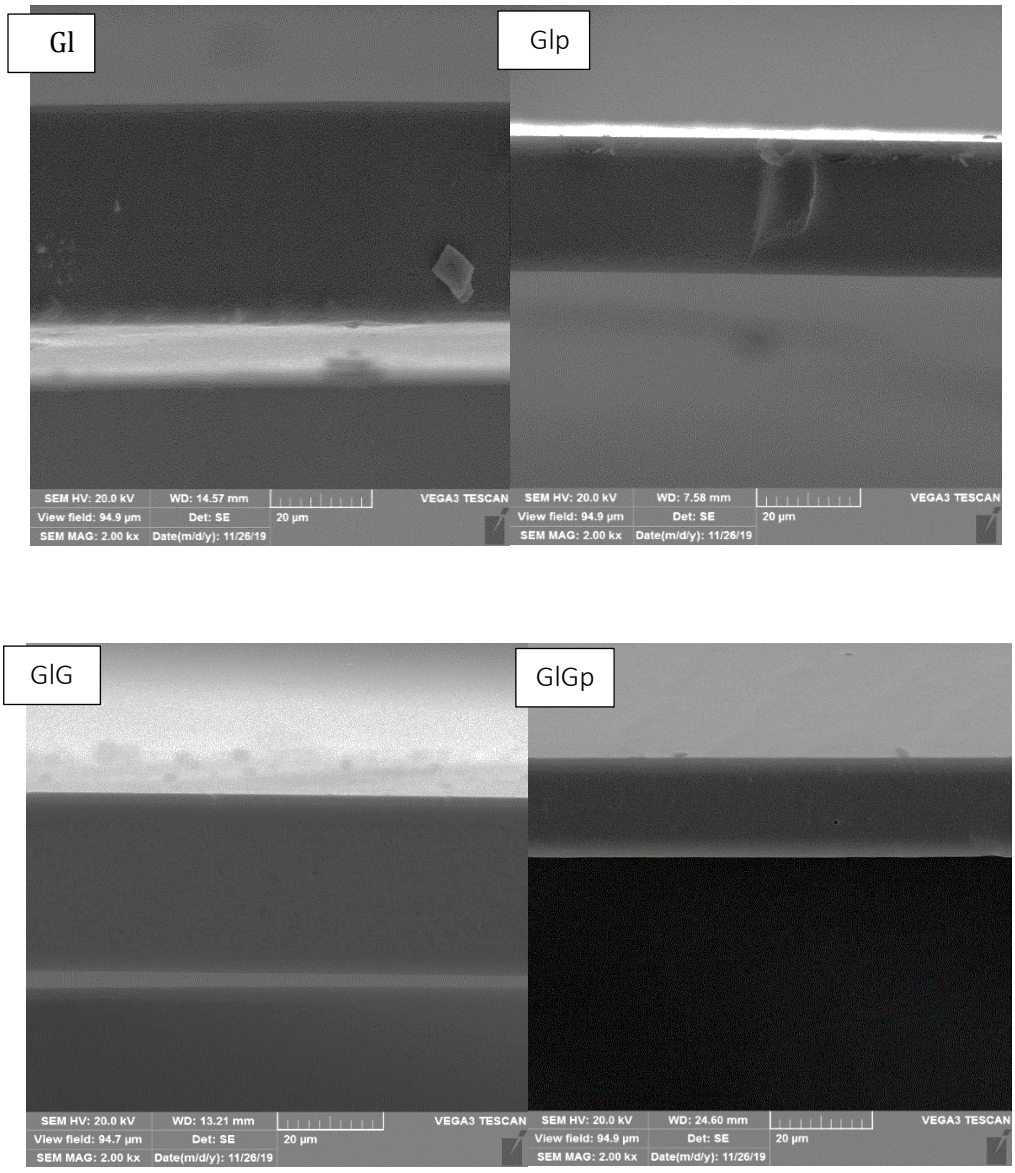
تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

تصاویر حاصل از ریز ساختار سطحی و مقطع عرضی نمونه‌های فیلم ژلاتین ماهی غنی شده با گلوتارآلدئید و پلی‌ال‌لایزین در شکل ۱ نشان داده شده است. در تصویر از سطح فیلم ژلاتین، بافتی همگن و بدون هیچ‌گونه ترک یا منفذ قابل مشاهده است. با افزودن گلوتارآلدئید به ماتریکس

فیلم، تراکم و انسجام فیلم بیشتر شد و افزودن پلی‌ال‌لایزین تا حدودی سبب ایجاد برآمدگی‌ها و عدم یکدستی در سطح و مقطع عرضی فیلم‌ها شد. بدیهی است این نتایج هم راستا با نتایجی که در خصوص WVP مشاهده شده است، می‌باشد (جدول ۲).



(a)

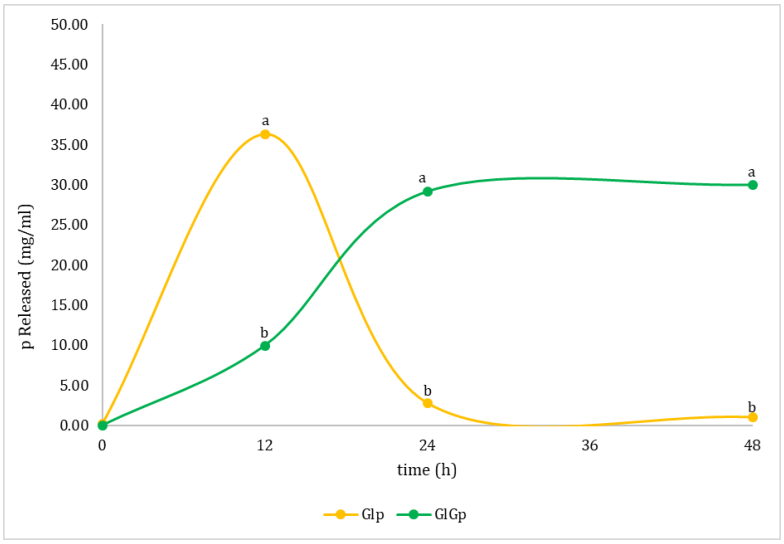


(b)

شکل ۱. عکس‌های میکروسکوپ الکترونی (SEM) سطح (a) و مقطع عرضی (b) (بزرگنمایی ۲۰۰۰×). Gl (فیلم ژلاتین ماهی)Glp (فیلم ژلاتین ماهی-پلی‌ال‌لایزین)، GlG (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید)، GlGp (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید-پلی‌ال‌لایزین).

ارزیابی رهایش پلی‌ال‌لایزین از بستر فیلم

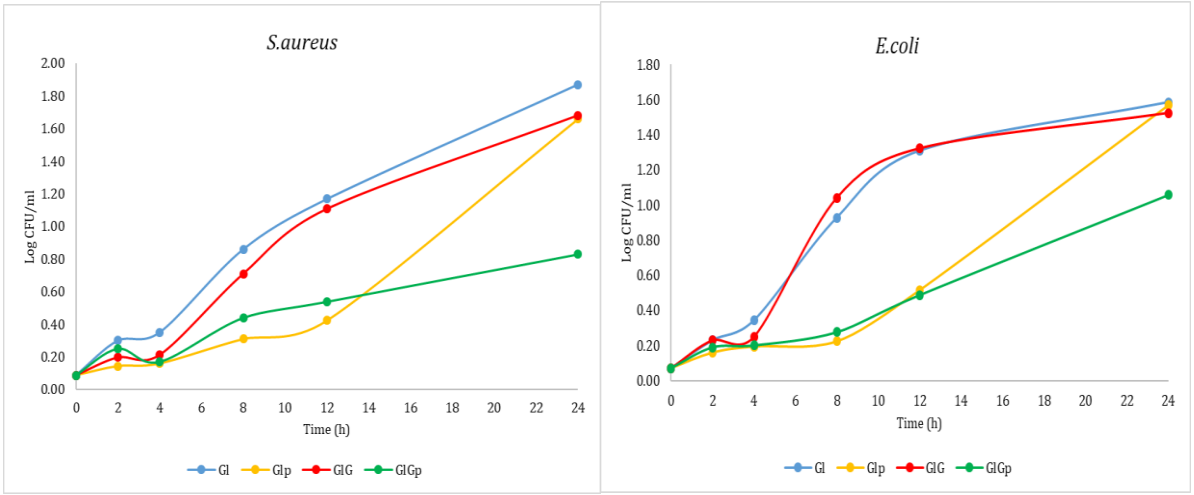
شکل ۲ تاثیر عامل شبکه‌ساز بر کنترل رهایش پلی‌ال‌لایزین را از فیلم ژلاتین ماهی نشان می‌دهد. در ساعات اولیه، رهایش پلی‌ال‌لایزین از فیلم بدون عامل شبکه‌ساز بیشتر از تیمار حاوی عامل شبکه‌ساز بود ($P < 0.05$) سپس در طی ۴۸ ساعت مقدار آن بطور نزولی کاهش یافت. فیلم حاوی عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید در طی زمان ۴۸ ساعت، پایداری رهایش بهتری از خود نشان داد، بطوریکه فیلم دارای گلوتارآلدئید در کنترل رهایش پلی‌ال‌لایزین عملکرد خوبی داشت.



شکل ۲. مقدار پلی‌ال‌لایزین انتشار یافته از فیلم ژلاتین ماهی در محیط آبی (mg/ml).Glp (فیلم ژلاتین ماهی-پلی‌ال‌لایزین) و GlGp (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید-پلی‌ال‌لایزین).

فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

اثر انواع فیلم‌های مختلف علیه رشد باکتری گرم منفی *E. Coli* و باکتری گرم مثبت *S. aureus* طی ۲۴ ساعت انکوباسیون در شکل ۳ نشان داده شده است. مطابق با این نمودار فعالیت ضد میکروبی تیمارهای بدون پلی‌ال‌لایزین(G, GlG) کمتر از تیمارهای حاوی پلی‌ال‌لایزین (Glp, GlGp)بودند. همانطور که انتظار می‌رفت، ظرفیت ضد میکروبی فیلم‌های مبتنی بر ژلاتین ماهی با افزودن پلی‌ال‌لایزین به طور قابل توجهی افزایش یافت ($P < 0.05$). مطابق با شکل ۳ کارایی پلی‌ال‌لایزین برای مهار رشد باکتری گرم منفی *E. Coli* کمتر از گرم مثبت *S. aureus* بود. همچنین فیلم حاوی پلی‌ال‌لایزین بدون عامل شبکه‌ساز (Glp) تا ساعت ۱۲ دارای مهار خوبی بر رشد هر دو باکتری بود ($P < 0.05$) درحالیکه بهترین مهار رشد باکتری مربوط به فیلم GlGp بود که با داشتن عامل شبکه‌ساز سبب رهایش آهسته و مداوم پلی‌ال‌لایزین در محیط شد ($P < 0.05$).



شکل ۳. نتایج روند رشد باکتری گرم منفی *E. Coli* و گرم مثبت *S.aureus* حاوی فیلم ژلاتین ماهی غنی سازی شده با پلی‌ال‌لایزین (Log CFU/mL). Gl (فیلم ژلاتین ماهی)Glp (فیلم ژلاتین ماهی-پلی‌ال‌لایزین)، GlG (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید)، GlGp (فیلم ژلاتین ماهی-گلوتارآلدئید-پلی‌ال‌لایزین).

بحث

استحکام کششی یا مقاومت کششی شاخصی جهت سنجش استحکام فیلم است که به ساختار شیمیایی مولکول‌ها یا بهم پیوستگی زنجیرهای پلیمر در بستر عرضی فیلم‌ها بستگی دارد [۲۲]. همانطور که گزارش شد، استفاده از گلوتارآلدئید در بیوپلیمر سبب افزایش مقاومت کششی شد. نتایج مشابهی در خصوص استفاده از گلوتارآلدئید در فیلم ژلاتین-نشاسته [۱۰]، فیلم ترکیبی زئین ذرت-ژلاتین ماهی سالمون [۲۳] مشاهد شد. در واقع، اتصال‌دهنده عرضی باعث تقویت پیوندهای کووالانسی و نیروهای انسجام بین مولکولی (مانند پیوند هیدروژنی و نیروهای واندروالسی) در داخل ماتریکس فیلم‌ها می‌شود [۲۴]. گلوتارآلدئید با گروه‌های آمینی موجود در پلیمر از طریق واکنش‌های پایه شیف [۲۵] و آمین‌های موجود در ژلاتین مانند لیزین، واکنش داده و پیوندهای ایمین ایجاد می‌کند. همچنین می‌تواند از طریق واکنش‌های شیمیایی پیوندهای کووالانسی جدیدی بین پروتئین‌های گلوتنین و گروه‌های واکنش‌پذیر پروتئین مانند گروه‌های فنلی، ایندولیل، ایمیدازولی، گوانیدینیل و سولفیدریل نیز واکنش دهد [۲۶] گلوتارآلدئید با کاهش فضاهای خالی در پلیمر، استحکام کششی را افزایش می‌دهد. همچنین نتایج مشابهی با افزودن پلی‌ال‌لایزین به فیلم کیتوزان-ژلاتین مشاهده شد [۵]. در واقع پلی‌ال‌لایزین در ساختار فیلم تا حدودی موجب تضعیف برهمکنش بین مولکولی و در نتیجه سبب افزایش انعطاف‌پذیری فیلم می‌شود [۵]. درحالیکه افزودن عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید، باعث کاهش E% (از ۷۷/۵۸ به ۴۰/۲۰٪) شد. فن و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که افزودن گلوتارآلدئید به فیلم ترکیبی زئین ذرت-ژلاتین ماهی سالمون، سبب کاهش ازدیاد طول در نقطه شکست و افزایش استحکام کششی می‌شود [۲۳].احتمالا گلوتارآلدئید با ایجاد اتصالات عرضی سبب، کاهش فضاهای خالی در پلیمر، کاهش تحرک زنجیره و ایجاد ساختاری منسجم شده در نتیجه ازدیاد طول در نقطه شکست را کاهش داده است.افزودن گلوتارآلدئید به فیلم موجب کاهش رطوبت شد. که این با تاثیر عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید بر فیلم ترکیبی زئین ذرت-ژلاتین ماهی سالمون [۲۳] مطابقت داشت. با ایجاد پیوندهای عرضی بین پروتئین‌های ژلاتین و گروه آلدئیدی گلوتارآلدئید، تمایل گروه‌های آبدوست پروتئینی نسبت به آب کاهش و به دنبال آن رطوبت و حلالیت فیلم کاهش می‌یابد [۲۷]. افزودن پلی‌ال‌لایزین نیز به ماتریکس فیلم می‌تواند با افزایش تعاملات جانبی پلیمر پلی‌ال‌لایزین با مولکول‌های آب، جذب آب را افزایش دهد در نتیجه سبب افزایش رطوبت و حلالیت در فیلم گردد [۵، ۲۸]. کاهش حلالیت فیلم توسط عامل شبکه‌ساز می‌تواند ناشی از تغییر در ساختار ماتریکس پلیمر بعلت ایجاد اتصالات عرضی به وسیله گلوتارآلدئید باشد که سبب بهبود خواص مکانیکی و حرارتی پلیمرهای زیستی می‌شود [۱۰، ۲۹] علاوه بر این، گلوتارآلدئید می‌تواند بر روی الگوی تشکیل ساختار زنجیره زیست پلیمر و شبکه بلوری سه بعدی پلیمر تاثیرگذار باشد [۳، ۳۰]. نتایج مشابه‌ایی در خصوص استفاده گلوتارآلدئید در فیلم ژلاتین پوست ماهی سالمون-زئین ذرت [۲۳] مشاهد شد.ترکیب و ساختار ماتریکس فیلم، نقش مهمی در نفوذپذیری نسبت به بخار آب دارد [۳۱]. همانطور که در خصوص شاخص‌های پیشین اشاره شد وجود پیوندهای عرضی در بین ژلاتین ساختار متقاطع شکل گرفته در فیلم در حضور کراسلینکر (گلوتارآلدئید)، سبب تراکم ساختار فیلم و کاهش فاصله بین مولکولی شد، این موضوع مانع از انتشار مولکول‌های آب از فضای بین مولکول‌های فیلم‌ها و کاهش WVP گردید [۲۴] که عکسبرداری SEM نیز گویای این موضوع است (شکل ۱). اگرچه افزودن پلی‌ال‌لایزین سبب تفاوت معنی‌داری در نفوذپذیری فیلم نشد، اما گزاراش شده است که افزودن پلی‌ال‌لایزین آبدوست به فیلم می‌تواند جذب آب را افزایش دهد. از آنجایی که پلی‌ال‌لایزین ظرفیت کمی برای شکل‌گیری فیلم از خود نشان می‌دهد [۳۲]، بنابراین تلفیق پلی‌ال‌لایزین با محلول فیلم باعث ایجاد ساختار تقریبا غیر یکنواخت در طی فرآیند خشک شدن می‌شود و در نتیجه بر WVP تأثیر می‌گذارد [۵، ۸، ۲۸].

مطابق با تصاویر SEM سطح مقطع غیر یکپارچه و همچنین وجود منافذ ریز در فیلم حاوی پلی‌ال‌لایزین، منجر به انتشار سریع‌تر آب از طریق ماتریس فیلم خواهد شد. از آنجایی که پلی‌ال‌لایزین در محلول تشکیل فیلم می‌تواند فعل و انفعالات بین مولکولی را تغییر داده و شبکه سه بعدی یکنواخت اصلی را مختل کند، در نتیجه موجب ایجاد ساختار نامنظم فیلم‌ها می‌گردد [۳۲]. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مبنی بر اثر کراسلینکر گلوتارآلدئید بر فیلم ژلاتین-زئین ذرت [۳۳] و اثر پلی‌ال‌لایزین بر فیلم ژلاتین-کیتوزان مطابقت داشت [۵]. کنترل آزادسازی عوامل ضدمیکروبی موجود در فیلم به طور مستقیم بر خاصیت ضدمیکروبی آن تأثیر می‌گذارد. عامل ضد میکروبی که برای مدت معینی با سرعت پایدار آزاد می‌شوند برای ماندگاری مواد غذایی مفیدند [۳۳]. مکانیسم رهاسازی بسیاری از فیلم‌ها در نتیجه انتشار مولکول‌های آب در ماتریس فیلم است [۳۴]. مطالعات نشان داد کاهش رهایش ترکیبات فعال از بستر فیلم، به دلیل افزایش غلظت پلیمر در اثر اتصالات عرضی در ماتریکس فیلم است [۳۵]. گلوتارآلدئید باعث ایجاد اتصالات عرضی قوی بین گروه –CHO با گروه NH^{+3} از بیوپلیمر و پلی‌ال‌لایزین می‌شود، این موضوع سبب به دام انداختن بیشتر پلی‌ال‌لایزین و افزایش غلظت پلیمر شده و میزان رهایش پلی‌ال‌لایزین را مداوم و آهسته‌تر می‌کند. درحالیکه مطابق با انتشار کنترل شده آنزیم پراکسیداز ریشه خردل *Armoracia rusticana* از ساختار فیبر کامپوزیت، مشاهده شد با افزایش غلظت پلیمر، ویسکوزیته و چگالی پلیمر، میزان انتشار حلال در ماتریس و نیز حجم آزاد در دسترس آنزیم پراکسیداز کاهش یافته است [۳۶]. Hiwale و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند رهاسازی لیزوزیم از نانوذرات ژلاتین در حضور عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید بسیار آهسته‌تر از نانوذرات حاوی گلوکز بود که آن را به اتصالات عرضی بیشتر و به دام افتادن بیشتر لیزوزیم و انتشار کمتر مولکول‌های آب در ماتریس نانوذرات ژلاتین، نسبت دادند [۳۷]. تحقیقات نشان داد جذب الکترواستاتیک پلی‌ال‌لایزین به سطح سلول و به دنبال آن از بین بردن غشای بیرونی و توزیع غیر طبیعی سیتوپلاسم باکتری، منجر به آسیب فیزیولوژیکی می‌شود [۳۸، ۳۹] تفاوت در کارآیی بازدارندگی برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ممکن است از متفاوت بودن غشای دیواره سلولی باکتریایی مورد آزمایش مشتق شود [۳۹]. پژوهش حاضر مطابق با تحقیقات دنگ و همکاران (۲۰۲۰) بود، که در آن اثر ضد میکروبی فیلم‌های مبتنی بر ژلاتین پس از اختلاط با پلی‌ال‌لایزین به طور قابل توجهی افزایش یافته است. بنابراین، افزودن پلی‌ال‌لایزین به فیلم ژلاتینی باید یک عامل اصلی در افزایش درصد مهار باشد. گزارشات [۵، ۸] نیز با نتایج این تحقیق مشابهت داشت. علت عملکرد ضعیف‌تر فیلم بدون عامل شبکه‌ساز با عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید کاملا همراستا با نتایج شکل ۲ در آزاد سازی پلی‌ال‌لایزین از ماتریکس فیلم به محیط می‌باشد. ریزساختار متراکم و جمع و جور ایجاد شده بوسیله عامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید سبب محدود شدن رهایش پلی‌ال‌لایزین از فیلم و در نتیجه فعالیت مداوم ضد میکروبی آن شده است. این نتایج با مطالعه [۱۳] در خصوص اثر پلی‌ال‌لایزین در فیلم نانوذرات کیتوزان-سدیم آلژینات با حضور کراسلینکر کلراید کلسیم بر مهار باکتری‌های *E. coli* ، *S. aureus* ، *B. subtilis* *Micrococcus luteus* مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد افزودن ۰/۰۵٪ گلوتارآلدئید باعث کاهش انحلال‌پذیری در آب، رطوبت و نفوذپذیری به بخار آب و افزایش مقاومت کششی و ایجاد سطحی صاف و بدون خلل و فرج در فیلم‌ها شد. همچنین افزودن پلی‌ال‌لایزین به فیلم ژلاتین ماهی خواص ضدمیکروبی آن را تقویت کرد. رهایش پلی‌ال‌لایزین از بیوپلیمر حاوی کراسلینکر گلوتارآلدئید به دلیل ایجاد اتصالات عرضی و به دام افتادن آن، آهسته‌تر و مداوم‌تر بود. با توجه به فعالیت بیولوژیکی فیلم‌های تولید شده و پایداری و کنترل رهایش ترکیب ضدمیکروبی پلی‌ال‌لایزین، بنظر می‌رسد فیلم ژلاتین تاسماهی سیبری حاوی عوامل شبکه‌ساز گلوتارآلدئید می‌توانند عملکرد مناسبی در جهت ماندگاری محصولات فاسدشدنی داشته باشند.

تشکر و قدردانی: بدینوسیله نویسندگان این مقاله از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه شیلات و آزمایشگاه علوم و صنایع غذایی دانشگاه شیراز تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند. همچنین از سایت ماهیان خاویاری قره برون واقع در شهر ساری، به منظور تامین نمونه سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

1- Motelica L, Ficai D, Ficai A, Oprea OC, Kaya DA, Andronescu E. Biodegradable antimicrobial food packaging: Trends and perspectives. Foods. 2020;9(10):1–36.
2- Sohail M, Sun D-W, Zhu Z. Recent Developments in Intelligent Packaging for Enhancing Food Quality and Safety. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2018;58(15):2650–2662.
3- Almasi H, Jahanbakhsh Oskouie M, Saleh A. A review on techniques utilized for design of controlled release food active packaging. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;61(2):1–21.
4-Mujtaba M, Morsi RE, Kerch G, Elsabee MZ, Kaya M, Labidi J, et al. Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. International Journal of Biological Macromolecules. 2019;121:889–904.
5- Xu J, Wei R, Jia Z, Song R. Characteristics and bioactive functions of chitosan/gelatin-based film incorporated with ε-polylysine and astaxanthin extracts derived from by-products of shrimp (Litopenaeus vannamei). Food Hydrocolloids. 2020;100:105436–105446.
6- Uranga J, Nguyen BT, Si TT, Guerrero P, De la Caba K. The effect of cross-linking with citric acid on the properties of agar/fish gelatin films. Polymers. 2020;12(2):291–303.
7- Benbettaïeb N, Karbowiak T, Debeaufort F. Bioactive edible films for food applications:Influence of the bioactive compounds on film structure and properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019;59(7):1137–1153.
8- Deng L, Li X, Miao K, Mao X, Han M, Li D, et al. Development of Disulfide Bond Crosslinked Gelatin/ε-Polylysine Active Edible Film with Antibacterial and Antioxidant Activities. Food and Bioprocess Technology. 2020;13(2):577–588.
9- Menzel C, Olsson E, Plivelic TS, Andersson R, Johansson C, Kuktaite R, et al. Molecular structure of citric acid cross-linked starch films. Carbohydrate Polymers. 2013;96(1):270–276.
10- Scopel BS, Pretto GL, Corrêa JIP, Baldasso C, Dettmer A, Santana RMC. Starch-Leather Waste Gelatin Films Cross-Linked with Glutaraldehyde. Journal of Polymers and the Environment Polymeric. 2020;28(7):1974–1984.
11- López De Dicastillo C, Rodríguez F, Guarda A, Galotto MJ. Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. Carbohydrate Polymers. 2016;136:1052–1060.
12- Liu F, Liu Y, Sun Z, Wang D, Wu H, Du L, et al. Preparation and antibacterial properties of ε-polylysine-containing gelatin/chitosan nanofiber films. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;164:3376–3387.
13- Liu J, Xiao J, Li F, Shi Y, Li D, Huang Q. Chitosan-sodium alginate nanoparticle as a delivery system for ε-polylysine: Preparation, characterization and antimicrobial activity. Food Control. 2018;91:302–310.
14- Mousavi Z, Babaei S, Vardizadeh F, Naseri M. Evaluation of Gelatin Extracted from Siberian Sturgeon (Acipenser baerii , Brandt , 1869) Skin and Biodegradable Film Fabrication. Journal of Fisheries Science and Technology. 2019;8(4):241–9. (in Persian)
15- López-Caballero ME, Gómez-Guillén MC, Pérez-Mateos M, Montero P. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. Food Hydrocolloids. 2005;19(2):303–311.
16- Chaibi S, Benachour D, Merbah M, Esperanza Cagiao M, Baltá Calleja FJ. The role of crosslinking on the physical properties of gelatin based films. Colloid and Polymer Science. 2015;293(10):2741–2752.

17- Samadi M, Shekarforoush SS, Gheisari HR. Antimicrobial effects of magnesium oxide nanoparticles and ε -poly-L-lysine against Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes. Journal of Medical Microbiology. 2016;10(2):33–41. (in Persian)
18- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry. 2010;120(1):193–198.
19- Ballesteros LF, Teixeira JA, Mussatto SI. Extraction of polysaccharides by autohydrolysis of spent coffee grounds and evaluation of their antioxidant activity. Carbohydrt Polymer. 2017; 157:258–266.
20- Lee J, Bhattacharyya D, Easteal AJ, Metson JB. Properties of nano-ZnO/poly (vinyl alcohol)/poly(ethylene oxide) composite thin films. Current Applied Physics. 2008;8(1):42–47.
21- Haase H, Jordan L, Keitel L, Keil C, Mahltig B. Comparison of methods for determining the effectiveness of antibacterial functionalized textiles. PLoS ONE. 2017;12(11):1–16.
22- Jiménez A, Fabra MJ, Talens P, Chiralt A. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. Food and Bioprocess Technology. 2012;5(6):2058–2076.
23- Fan HY, Duquette D, Dumont MJ, Simpson BK. Salmon skin gelatin-corn zein composite films produced via crosslinking with glutaraldehyde: Optimization using response surface methodology and characterization. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 120:263–273.
24- Garavand F, Rouhi M, Razavi SH, Cacciotti I, Mohammadi R. Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. International Journal of Biological Macromolecules. 2017; 104:687–707.
25- Yeng CM, Husseinsyah S, Ting SS. Chitosan/corn cob biocomposite films by cross-linking with glutaraldehyde. BioResources. 2013;8(2):2910–2923.
26- Bourtoom T. Edible protein films: Properties enhancement. International Food Research Journal. 2009;16(1):1–9.
27- Aider M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. LWT - Food Science and Technology. 2010;43(6):837–842.
28- Wu J, Sun Q, Huang H, Duan Y, Xiao G, Le T. Enhanced physico-mechanical, barrier and antifungal properties of soy protein isolate film by incorporating both plant-sourced cinnamaldehyde and facile synthesized zinc oxide nanosheets. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2019;180(August):31–38.
29- Han Y, Yu M, Wang L. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. Food Packaging and Shelf Life. 2018;15(October 2016):35–42.
30- Zinn S, Betz T, Schnell M. Structure determination of trans -cinnamaldehyde by broadband microwave spectroscopy. Pccp. 2015; 17:16080–16095.
31- Dammak I, Lourenço RV, Sobral PJ do A. Active gelatin films incorporated with Pickering emulsions encapsulating hesperidin: Preparation and physicochemical characterization. Journal of Food Engineering. 2018; 296:9–20.
32- Wang L, Wang X, Wu H, Liu R. Overview on biological activities and molecular characteristics of sulfated polysaccharides from marine green algae in recent years. Marine Drugs. 2014;12(9):4984–5020.
33- Zhang W, Shu C, Chen Q, Cao J, Jiang W. The multi-layer film system improved the release and retention properties of cinnamon essential oil and its application as coating in inhibition to penicillium expansion of apple fruit. Food Chemistry. 2019;299(May):125109.
34- Arcan I, Yemenicioğlu A. Development of flexible zein-wax composite and zein-fatty acid blend films for controlled release of lysozyme. Food Research International. 2013;51(1):208–216.
35- Sun Z, Wang CH. Quasielastic Light Scattering from Semidilute Ternary Polymer Solutions of Polystyrene and Poly (methyl methacrylate) in Benzene. Macromolecules. 1996;29(6):2011–2018.

36- Ziiberman & sofer. A Mathematical Model for Predicting Controlled Release of Bioactive Agents from Composite Fiber Structures. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2006;79(4):963–973.
37- Hiwale P, Lampis S, Conti G, Caddeo C, Murgia S, Fadda AM, et al. In vitro release of lysozyme from gelatin microspheres: Effect of cross-linking agents and thermoreversible gel as suspending medium. Biomacromolecules. 2011;12(9):3186–3193.
38- Lin L, Gu Y, Cui H. Novel electrospun gelatin-glycerin-ε-Poly-lysine nanofibers for controlling Listeria monocytogenes on beef. Food Packaging and Shelf Life. 2018;18(June):21–30.
39- Li YQ, Han Q, Feng JL, Tian WL, Mo HZ. Antibacterial characteristics and mechanisms of poly-lysine against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Food Control. 2014; 43:22–27.

Journal of Fisheries Science and Technology
Special issue on Persian Gulf ecosystem
Volume10, Issue 2, Spring 2021
Pages: 385 - 398

Effect of glutaraldehyde on poly-l-lysine release from gelatin film; extracted from Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) skin

Zahra Mousavi[1], Mahmood Naseri[1], Sedigheh Babaei[1,2*], Seyed Mohammad Hashem Hosseini[2], Seyed Shahram Shekarforoush[3]

1- Department of Natural Resources and Environmental Engineering, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2- Seafood Processing Research Group, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
3- Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
4- Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

A B S T R A C T

This study was designed and conducted to investigate the mechanical and physical properties of fish gelatin films and the effect of Glutaraldehyde crosslinking on antimicrobial control of poly-l-lysine. In this study, the film was prepared by casting method and then 0.05% Glutaraldehyde and 0.05% poly-l-lysine added to fish gelatin film. After that, physical and mechanical properties, antimicrobial activity and release of poly-l-lysine from the film were observed. The results showed that the addition of glutaraldehyde to the fish gelatin film increased tensile pressure (6.80 MPa) and reduced solubility (38.51%), moisture (8.05%), and water vapor permeability (2.03 mm/h mm2kpa×10-6¬). The fish gelatin film with glutaraldehyde as a crosslinking agent was showed a smooth surface without porosity according to the SEM results. Moreover, the release of poly-l-lysine from the biopolymer containing the Glutaraldehyde was slower and more continuous due to crosslinking. Considering the mechanical and physical properties of the films and release control of the antimicrobial compound, it seems that films containing crosslinking agents can be used in food storage.

KEYWORDS: Fish gelatin, Glutaraldehyde, Crosslinking agent, Antimicrobial film, Siberian sturgeon

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 30 April 2021
Accepted: 220 June 2021
ePublished: 23 August 2021

* Corresponding Author:
Email address: Babaei.Sedigheh@gmail.com, s-babaei@shirazu.ac.ir
Tel: +(98)7136138172
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513