مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۱ شماره ۲/ سال ۱۴۰۰/ صفحات ۳۵ تا ۵۰

DOI: 10.22034/FR.2021.36380.1701

بررسی خواص فیزیکی‌شیمیایی و میکروبی فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان-نقره حاوی عصاره زیره سبز

زهرا خسروآبادی[۱] و لیلا نوری[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/٦

[۱] دانشجوی دکترای گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد دامغان ایران

[۲] استادیارگروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد دامغان، دامغان، ایران

[*] مسئول مکاتبه: Email: nouri.le.ir@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: پلی‌فنل‌ها با خواص آنتی‌اکسیدانی مسئول خصوصیات سلامت بخش و ضدمیکروبی زیره *(Cuminum cyminum L.)* هستند. **روش کار:** در این مطالعه خواص فیزیکوشیمیایی و میکروبی نانو کامپوزیت‌های نقره (Ag)، کیتوزان (Ch) حاوی عصاره زیره سبز (E) مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا عصاره زیره سبز با روش‌های استخراج عصاره فراصوت و ماسراسیون و حلال آب/اتانول استخراج شد. عصاره حاصل تحت آزمون‌های تعیین فنول کل، توکوفرول قرار گرفت. در ادامه فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان/نقره (۰/۱۵مول/لیتر) با سه غلظت ۰/۲، ۰/٤ و ۱ درصد عصاره زیره سبز تهیه و تحت آزمون‌های فیزیکی‌شیمیایی (اندازه‌گیری ضخامت، نرخ عبور بخار آب، حلالیت فیلم، مقاومت کششی، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و افزایش طول فیلم در لحظه پاره شدن) و میکروبی (قطر عدم هاله رشد) قرار گرفت. **نتایج:** نتایج نشان داد که عصاره زیره سبز استخراج شده به روش ماسراسیون دارای ترکیبات فنولی (۷٤/۱۸ میلی‌گرم گالیک‌اسید/گرم وزن خشک) و توکوفرولی (۲٤/۰۵ میلی‌گرم آلفاتوکوفرول/گرم وزن خشک) بالایی می‌باشد. نتایج آزمایشات حاکی از آن بود با افزایش عصاره زیره سبز تا یک درصد ضخامت فیلم (۰/۰۹۳ میلیمتر)، نرخ عبور بخار آب (۳/۸۱ $g/s.m^2$، حلالیت فیلم (۲٦/٤۵ ٪) و افزایش طول فیلم در لحظه پاره شدن (۳۰/۲۱ ٪) افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$)، ولی مقاومت کششی فیلم (۱٦/۱۰ مگاپاسکال) با افزایش غلظت کاهش یافت. نتایج حاصل از آزمون میکروبی نشان داد که با افزایش غلظت عصاره زیره سبز تا یک درصد، خاصیت ضدمیکروبی فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان/نقره افزایش یافت، نتایج میکروبی نشان داد فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی عصاره زیره سبز به ترتیب دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه استافیلوکوکوس آورئوس> آسپرژیلوس نایجر> کاندیدا آلبیکانس> اشرشیا کلی بوده است. **نتیجه گیری نهایی:** بطور کلی این مطالعه نشان داد فیلم تهیه شده ویژگی کیفی مناسبی را جهت بست بندی مواد غذایی دارد.

واژگان کلیدی : نانوکامپوزیت کیتوزان/نقره، زیره سبز، آنتی‌اکسیدان، فیلم

مقدمه

رشد میکروارگانیسم‌ها بر روی سطح مواد غذایی از عوامل مهم و عمده فساد مواد غذایی می‌باشد. جهت جلوگیری از این مهم، بسته‌بندی می‌تواند یکی از مهم-ترین راهکارها برای جلوگیری از فساد و تازگی مواد غذایی و محصولات تازه برش (میوه‌جات و سبزی‌جات) باشد (السابه و ابدو ۲۰۱۳). امروزه پیشرفت‌های زیادی در زمینه بسته‌بندی مواد غذایی صورت پذیرفته است که یکی از این پیشرفت‌ها استفاده از فیلم‌ها و پوشش-های خوراکی می‌باشد. پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی، لایه‌های نازکی از ترکیبات و بیوپلیمرهای خوراکی می-باشند که در سطح مواد غذایی یا در بین ترکیبات آن‌ها قرار می‌گیرند و استفاده از آن‌ها یکی از روش‌های مهم جهت کنترل تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و فیزیولوژیکی در مواد غذایی محسوب می‌شوند (دیکا و همکاران ۲۰۱۵).

ازطرفی در جهان حدود ۱۲۵ میلیون تن پلاستیک تولید می‌شود که حدود ۳۰ میلیون تن آن در بخش بسته‌بندی مصرف می‌شود. آلودگی ناشی از مواد بسته‌بندی تولید شده از مشتقات نفتی و مشکلات ناشی از روش‌های مختلف آلودگی‌زدایی (مانند دفن کردن، سوزاندن و بازیافت آن‌ها) توجه پژوهشگران را در طی سال‌های اخیر به یافتن جایگزین‌های مناسب برای این نوع بسته-بندی معطوف کرده است، که فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بهترین جایگزین‌ها در این زمینه می‌تواند باشد (فانگ و فولر ۲۰۰۳).

نسل جدیدی از بسته بندی مواد غذایی شامل موادی با خواص ضد میکروبی است. این فناوری بسته‌بندی می تواند نقش مهمی در افزایش ماندگاری مواد غذایی و ایمنی ایفا کند. نانوکامپوزیت‌های فلزی با ترکیب نانوذرات فلزی و فیلم پلیمری اخیرا مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در میان پلیمرها، پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر طبیعی به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند که دارای مزایایی از جمله: قابلیت خوردن، زیست سازگاری، ظاهری جذاب، غیر سمی، غیر آلاینده و کم‌هزینه بودن می‌باشند (ایمرا و همکاران ۲۰۱۰). از میان پلیمرهای طبیعی، کیتوزان به عنوان یک بیوپلیمر کاتیونی به طور گسترده، برای کاربردهای مختلف با توجه به زیست فعال بودن عالی آن و حلالیت در محیط آبی و مانع بودن در برابر نفوذ اکسیژن، بسیار مورد بررسی و توجه قرار گرفته است. در نتیجه، در حال حاضر انواع کاربردهای بالقوه‌ای را در محصولات پزشکی (داردر و همکاران ۲۰۰۵)، فیلم بسته‌بندی مواد غذایی، جایگزین استخوان و پوست مصنوعی دارا می-باشد (چائودهری و همکاران ۲۰۰۸).

از میان نانو ذرات فلزی نیز، نانو ذرات نقره مدت زیادی است که به عنوان ماده‌ی ضدمیکروبی شناخته شده است (لوک و همکاران ۲۰۰۶). فعالیت ضدمیکروبی این نانوذرات ممکن است به چند مکانیسم مرتبط باشد که مکانیسم‌های تخریب ساختار غشاء سلول (لوک و همکاران، ۲۰۰۶). هم چنین انتشار یون از سطح نانوذرات و مرگ باکتری به علت اتصال به غشای سلولی گزارش شده است (سوندی و سالوپک–سوندی ۲۰۰۴).

زیره سبز با نام علمی *L. Cuminum cyminum* گیاهی است از خانواده *Apiaceae*، یکساله، معطر، بدون کرک، ساقه علفی با انشعابات دو تایی و گاهی سه تایی می‌باشد. ساقه گیاه شیار دار بوده و دارا ی بافت کلانشیم محیطی است. میوه زیره سبز حاوی ۲–۵ درصد اسانس می باشد که قسمت اعظم آن از پاراسیمول، آلفا و بتا–پی نن، کومیک الکل، کومیک آلدهید، آلفا و بتا فلاندرن، اوژنول، پریلاآلدهید، آلفا–ترپینئول و میریسن تشکیل یافته است، علاوه بر آن در زیره سبز ۷/۷ درصد روغن، ۱۳/۵ درصد رزین، ۸ درصد موسیلاژ و ۱۵/۵ درصد پروتئین یافت می شود (حقیروالسادات و همکاران ۲۰۱۰).

پینتو و همکاران (۲۰۱۲) فعالیت ضد میکروبی فیلم های نانوکامپوزیتی بر پایه کیتوزان و نانوذرات نقره را

مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها تاثیر ضد میکروبی فیلم-ها را علیه سه گونه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که خاصیت ضد میکروبی فیلم کیتوزان به غلظت نقره بستگی داشته و با افزایش غلظت خاصیت ضد میکروبی افزایش یافته است (پینتو و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین یوسف و همکاران (۲۰۱٦) تاثیر فیلم بیونانوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولز/کیتوزان/ اکسید روی را بر افزایش عمر پنیر سفید نرم مصری مورد مطالعه قرار دادند. نتایج مطالعه نشان داد فیلم تولیدی فعالیت ضدمیکروبی خوبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس)، گرم منفی (سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی)، قارچ ها (کاندیدا آلبیکنس) داشته است (احمد و همکاران، ۲۰۱٦). کدام و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر عصاره پلی فنولیکی دانه *Nigella sativa* را بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی فیلم مبتنی بر کیتوزان مورد بررسی قرار دادند. آن ها گزارش نمودند استفاده از عصاره ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فیلم را بهبود بخشیده است. هدف این مطالعه تهیه یک بسته‌بندی مناسب با استفاده از فیلم کیتوزان-نقره و تقویت ویژگی‌های ضدمیکروبی و فیزیکوشیمیایی آن با افزودن عصاره زیره سبز می-باشد.

مواد و روش ها

استخراج عصاره زیره سبز به روش ماسراسیون و فراصوت

در ابتدا برگ زیره سبز از استان یزد، شهرستان خاتم در خرداد ماه تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از خشک کردن در دمای محیط، توسط آسیاب (Kenwood ساخت ژاپن) به صورت پودر تبدیل شد و تا زمان انجام آزمایش در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، استخراج عصاره به روش ماسراسیون با حلال هیدروالکلی (اتانول /آب) به نسبت ۱ به ۵ و زمان دو ساعت انجام گرفت و برای استخراج ترکیبات زیست فعال به روش فراصوت (با حلال هیدروالکلی (اتانول /آب) از دستگاه فراصوت مدل Dr.Hielscher ساخت کشور آلمان با فرکانس ۲۰کیلو هرتز و زمان استخراج ۲۰ دقیقه استفاده شد. در ادامه مقادیر ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره استخراجی مورد سنجش قرار گرفت (تاچاکیتیرونگرود و همکاران ۲۰۰۷).

تعیین فنول کل

فنول کل عصاره استخراجی بر اساس روش فولین-سیوکالته توضیح داده شده توسط دوو و همکاران اندازه‌گیری شد. ۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالته که به نسبت۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود، مخلوط گردید. سپس ۲ میلی لیتر کربنات سدیم (۷/۵ درصد وزنی حجمی) به آن اضافه شد. سپس به مدت ۱۵دقیقه در دمای ٤۵درجه سانتی گراد انکوبه شد تا فاز آبی گسترش یابد. سپس جذب آن در ۷٦۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتری UV-Vis (GBC, Cintra 20 ساخت ژاپن) خوانده شد. میزان فنول کل عصاره ها بر اساس میلی‌گرم بر گرم اسید گالیگ بیان شد (دو و همکاران ۲۰۱٤).

تعیین ترکیبات توکوفرولی

میزان کل ترکیبات توکوفرولی عصاره‌های استخراجی بر مبنای آلفا-توکوفرول اندازه‌گیری شد در این آزمون، ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره بدقت داخل بالن ژوژه ۱۰ میلی-لیتری وزن شد. ۵ میلی‌لیتر تولوئن به نمونه اضافه و به خوبی مخلوط شد سپس ۳/۵ میلی لیتری محلول ۲و۲ بی پیریدین (۰/۰۷ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) و ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن*III* شش آبه (۰/۲ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) اضافه و مخلوط گردید. سرانجام حجم محلول‌های استاندارد با اتانول آبی ۹۵ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت یک دقیقه در حال سکون قرار گرفت و جذب آن در ۵۲۰ نانومتر توسط

اسپکتروفتومتری UV-Vis خوانده شد. مقدار ترکیبات توکوفرولی بر اساس میلی‌گرم بر گرم آلفا- توکوفرول، گزارش شد (زانگا و همکاران ۲۰۱٤).

تهیه فیلم نانو کیتوزان- نقره حاوی عصاره زیره سبز

سوسپانسیون کیتوزان (سیگما آلدریچ-آمریکا) (۱۰۰ میلی لیتر، ۰/۵ درصد وزنی) توسط انحلال در یک درصد وزنی از محلول اسید استیک (pH=3.53) با هم زدن ثابت به مدت ۹۰ دقیقه تهیه شد. محلول نیترات نقره (۰/۱۵مول/لیتر) به نمونه سوسپانسیون کیتوزان تهیه شده جهت سنتز محلول نیترات نقره/ کیتوزان اضافه شد. محلول تازه سدیم بروهیدرید (4×102 M) آماده و به سوسپانسیون اضافه شد تا محلول با نسبت مولی از نیترات نقره/ سدیم بروهیدرید به دست آید. پس از افزودن عامل کاهنده، عصاره زیره سبز در غلظت‌های (۰/۲، ۰/٤ و ۱ درصد) جداگانه به محلول اضافه و با همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت دیگر هم زده شد. سوسپانسیون نقره/بایوکامپوزیت کیتوزان/عصاره زیره سبز بدست آمده سپس سانتریفیوژ شده، چهار بار با استفاده از آب دو بار تقطیر شسته شد. حدود ۵۰ میلی‌لیتر از محلول، داخل سینی‌های شیشه‌ای ریخته شد. در ادامه این سینی ها با آون ٤۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ ساعت خشک گردید.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره زیره سبز

اندازه‌گیری ضخامت فیلم

جهت اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌های تولیدی از یک میکرومتر DC-516 با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر استفاده شد (رضوی و همکاران ۲۰۱۵).

اندازه گیری نرخ عبور بخار آب از درون فیلم

برای انجام این آزمایش از روش شماره E96 مصوب ASTM (1995) استفاده شد. به این منظور مقداری کلرید کلسیم بدون آب درون ظروف اندازه‌گیری نفوذپذیری ریخته شد. سپس سطح ظروف به وسیله فیلم و با استفاده از پارافین مذاب پوشانده شد. به این ترتیب به علت جاذب الرطوبه بودن کلرید کلسیم بدون آب، رطوبت نسبی درون سلول‌ها صفر شد. سپس سلول‌ها به درون دسیکاتور حاوی آب نمک اشباع منتقل شدند. آب نمک اشباع در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۵ درصد ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منجر به شیب فشار بخاری معادل ۱۷۵۳/۵۵ پاسکال شد. تغییرات وزن سلول‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقیت ۰/۰۰۰۱ اندازه گیری شد. در تمام نمونه‌ها با رسم منحنی تغییرات وزن نسبت به زمان، یک خط راست بر حسب $g/s.m^2$ و ضریب تعیین کنندگی (R2>0/99) حاصل شد. نرخ عبور بخار آب معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول‌ها (۰/۰۰۲۷۸ مترمربع) بود. برای هر نمونه فیلم، یک سلول اندازه‌گیری نفوذپذیری فاقد کلرید کلسیم، که توسط فیلم پوشانده شده بود به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. به این ترتیب رطوبتی که فیلم جذب کرده بود و از درون آن عبور نکرده بود، اندازه‌گیری شد (ASTM, 1995).

اندازه‌گیری حلالیت فیلم‌ها در آب

بدین منظور تکه‌های فیلم پس از توزین، درون ۵۰ سی-سی آب مقطر قرار داده شد و به مدت ٦ ساعت عمل هم‌زدن آرام در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انجام گرفت. سپس مخلوط فیلم و آب بر روی یک کاغذ صافی که قبلا به وزن ثابت رسیده و دقیقا توزین شده بود صاف شد. کاغذ صافی به همراه نمونه تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. درصد حلالیت فیلم‌ها در آب از رابطه زیر بدست آمد (رضوی و همکاران ۲۰۱۵):

$$H= (A-B)/A\times100$$

H= درصد حلالیت

A= وزن ماده خشک اولیه موجود در روکش

B= وزن روکش خشک پس از غوطه وری

تعیین ویژگی‌های میکانیکی

برای این کار از روش استاندارد شماره ASTM, D882 استفاده شد. قبل از انجام آزمایش‌های کشش، تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل گردیدند. برای اندازه-گیری ویژگی‌های میکانیکی از دستگاه آنالیز بافت STM-20 استفاده شد. فیلم‌ها به شکل مستطیل‌های با ابعاد ۱۰×۲/۵ سانتی‌متر بریده شد. فاصله بین دو فک دستگاه یک سانتی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها روی ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه تنظیم و از لود سل ۵۰ نیوتنی استفاده شد. خصوصیات میکانیکی شامل حداکثر نیرو و درصد افزایش طول در نقطه پاره شدن (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) از روی منحنی نیرو- تغییر شکل حاصل شدند. مقاومت کششی فیلم‌ها از رابطه زیر تعیین شد (ASTM, 2001).

$$T= (H)/(R\times S)$$

T= مقومت کششی

H= حداکثر نیرو

R= عرض فیلم

S= ضخامت فیلم

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

پس ازاینکه فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان –نقره حاوی عصاره با درصدهای مختلف تهیه شد، روی لام شیشه‌ای کشیده و تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM گرفته شد. این تصاویر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مدل Prox ساخت شرکت Phenom کشور هلند تهیه شد. برای انجام این کار در ابتدا فیلم‌ها بوسیله نوار چسب کربنی رسانا روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده تا نقطه بحرانی خشک شده و با لایه نازکی از طلا پوشش داده شدند. سپس با میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد مشاهده قرار گرفتند که در این مرحله بمباران نمونه با پرتوی الکترونی سبب می‌شود تا از نمونه الکترون‌هایی به سمت صفحه دارای بار مثبت رها شود که این الکترون‌ها در آن جا تبدیل به سیگنال می‌شوند. حرکت پرتو روی نمونه مجموعه‌ای از سیگنال‌ها را فراهم می‌کند که بر این اساس میکروسکوپ می‌تواند تصویری از سطح نمونه را بر صفحه کامپیوتر نمایش دهد (دادفر و همکاران ۲۰۱۱).

آزمون‌های ضد میکروبی فیلم خوراکی

باکتری‌های اشرشیا کلی (نماینده باکتری‌های گرم منفی)، استافیلوکوکوس ارئوس (نماینده باکتری‌های گرم مثبت)، آسپرژیلوس نایجر (نماینده کپک‌ها) و مخمر آلبیکانس بر روی محیط آگار مغذی شیبدار کشت و در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. هنگام تهیه کشت مایع از باکتری‌ها، یک لوپ پر از هر نمونه باکتری برداشته، در شرایط کاملا سترون در ۵۰ میلی لیتر محیط استریل BHI[1] کشت داده شد و سپس به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد درون دستگاه گرمخانه لرزان با سرعت ١٤٠-١٥٠ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت عمل رقیق کردن کشت-ها با استفاده از آب مقطر سترون تا رسیدن به جمعیت میکروبی مورد نیاز برای کشت صورت گرفت. هنگام کشت جمعیت میکروبی (10^7 cfu/ml) بود. برای تعین فعالیت ضد میکروبی از روش انتشار در محیط آگاردار استفاده شد. فیلم‌ها تهیه شده در غلظت‌ها و روش‌های متفاوت در ابعاد ۲×۲سانتی‌متر برش داده شده و لابه-لای کاغذ صافی در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. سپس با رعایت شرایط کامل استریل به محیط کشت مولر هینتون آگار به روش کشت سطحی به صورت چمنی کشت شد. بعد از کشت، دیسک های آنتی بیوگرام را انتخاب کرده و بر روی محیط کشت انتقال می‌دهیم (۰/۱ کشت مایع که حاوی ۱ گرم منفی از سوش‌های اشرشیا کلای (۲۵۹۲۲) و استافیلیکوک اورئوس (٦٥٣٨) آسپرژیلوس نایجر(۹۱٤۲) و مخمر آلبیکانس (۱۰۲۳۱)) سپس پلیت‌ها را به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم و در نهایت قطر هاله‌ها

[1] Brain Heart Infusion

شاخص ضد میکروبی فیلم‌ها در نظر گرفته شدند، در مواردی که هاله تشکیل نشده باشد یعنی فیلم فاقد خاصیت ضد میکروبی می‌باشد برای اطمینان از رشد یکنواخت بر روی سطح پلیت یک پلیت بدون فیلم و یک پلیت فاقد باکتری جهت اطمینان از عدم آلودگی محیط کشت استفاده شد (ساوای و همکاران ۲۰۰۰؛ سعادتمند و همکاران ۲۰۱۲).

آنالیز آماری

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. میانگین‌ها با نرم افزار SPSS 23 و بر اساس آزمون‌های دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند. نمودارهای حاصل در نرم افزا 2013 excel رسم گردید و مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

تعیین ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره زیره سبز

نتایج حاصل از میزان ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره هیدروالکلی زیره سبز در جدول ۱ نشان داده شده است. ترکیبات فنولی به دلیل مهار رادیکال‌های آزاد توسط گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات مهمی هستند. در مطالعات مختلف مقادیر متفاوتی برای میزان ترکیبات فنولی استخراج شده توسط حلال‌ها و روش-های مختلف استخراج بیان شده است. این مقادیر مختلف استخراج به نوع گیاه و منطقه‌ای که در آن کشت شده و شرایط استخراج بستگی دارد. ترکیبات فنولی توزیع گسترده‌ای در بسیاری گیاهان دارند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً ناشی از قدرت احیاءکنندگی و ساختار شیمیائی آن‌هاست که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه می‌سازد (فرهوش و توسلی-کافرانی ۲۰۱۰). ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (فرهوش و همکاران ۲۰۱۲). مقدار ترکیبات فنولی با مقدار ۷٤/۱۸ میلی گرم بر گرم عصاره مشاهده می شود که در گزارشات قبلی مقادیر ٥٦/۹۲ میلی گرم بر گرم عصاره گزارش شده است (نیک آور و همکاران ۲۰۰۹). در مطالعه ای سوری و همکاران مقدار ترکیبات فنولی کل گیاه دارویی ٤۱/۲۰ میلی گرم بر گرم عصاره گزارش شد این در حالی است که در مطالعه حاضر ۹٥/۱۸ میلی گرم اسید گالیک بر گرم بود. این نشان دهنده بالا بودن میزان ترکیبات فنولی عصاره می باشد (سوری و همکاران ۲۰۰۸).

جدول ۱- میزان ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره زیره سبز

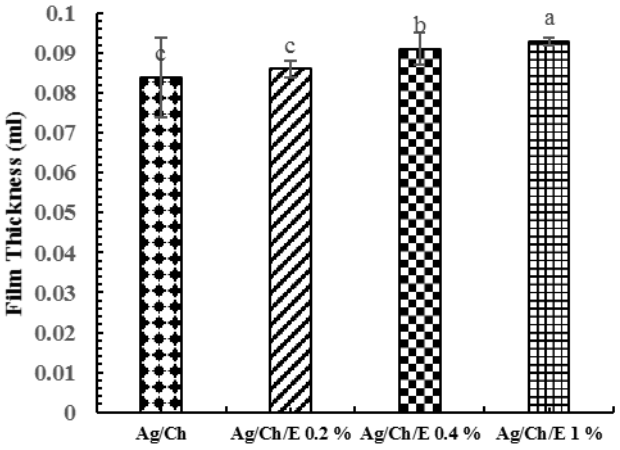
Table 1- The amount of phenolic and tocopherol compounds of Cumin extract

Tocopherol (mg / g alpha tocopherol / dry weight)	Total phenol (mg gallic acid / g dry weight)	Treatment
24.05±0.21	74.18±0.07	Cumin extract (Maceration)
21.48±0.09	70.14±0.02	(Ultrasound) Cumin extract

اندازه‌گیری ضخامت فیلم

نتایج حاصل از مقایسه تاثیر غلظت‌های مختلف (۰/۲، ۰/٤ و ۱ ٪) عصاره زیره سبز در بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که نتایج بدست آمده نشان می‌دهد استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز در بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره تاثیری معنی‌داری را بر میزان ضخامت فیلم‌ها داشته است و ضخامت فیلم‌های مورد بررسی در سطح احتمال ۹۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است با افزایش درصد عصاره زیره سبز، میزان ضخامت فیلم‌ها افزایش معنی‌داری را نشان داده است. بطوریکه با افزایش غلظت از ۰ به ۱ درصد میزان ضخامت از ۰/۰۸٤ به ۰/۰۹۳ افزایش یافته است. دلیل این افزایش

ضخامت می‌تواند به خاطر قرارگیری عصاره در فضای خالی بین زنجیره‌های پلیمر است و بنا به ماهیت آب دوستی عصاره می‌تواند سبب افزایش ضخامت شوند.



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز بر تغییرات ضخامت بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره

Figure 1- Effect of different concentrations of Cumin extract on chitosan / silver biocomposite thickness changes

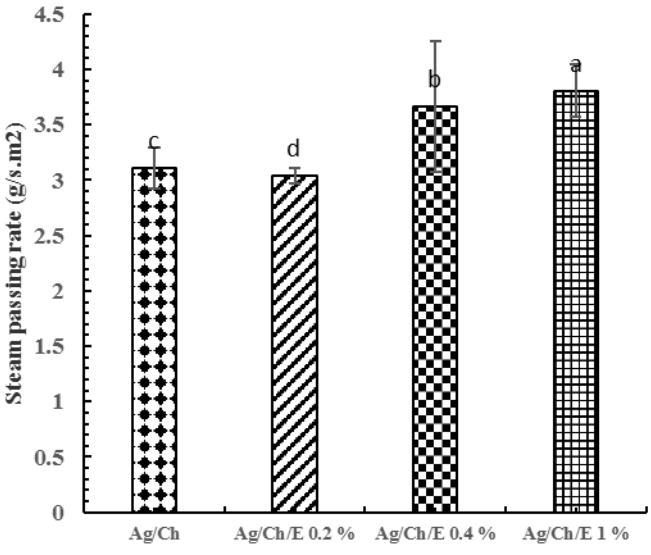
ویژگی‌های فیزیکی فیلم های تولید شده

یکی از عملکردهای اصلی بسته بندی مواد غذایی جلوگیری یا حداقل کردن انتقال رطوبت بین ماده غذایی و هوای اطراف آن می‌باشد. بنابراین به منظور بهینه کردن محیط ماده غذایی و افزایش مدت ماندگاری ماده غذایی نفوذپذیری به بخار آب باید تا حد ممکن کم باشد (ادهورجان و بوچبائور ۲۰۱۰). شکل ۲ نشان دهنده‌ی نتایج حاصل از میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی غلظت-های مختلف عصاره هیدروالکلی زیره سبز می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود به صورت کلی افزودن عصاره هیدروالکلی زیره سبز باعث افزایش میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره گردیده است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری در سطح احتمال ۹۵ درصد نشان داد که افزودن عصاره به فرمولاسیون فیلم‌ها به طور معنی‌داری باعث افزایش نفوذپذیری به بخار گردیده و با افزایش غلظت عصاره این افزایش ادامه پیدا کرده است. بالاترین میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم حاوی ۱ درصد عصاره زیره سبز مشاهده شد که برابر ۰/۲۷±۳/۸۱ بدست آمد و کمترین میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم نمونه کنترل بدست آمد که برابر ۰/۱۹±۳/۱۱ بدست آمد.

هرناندز در سال ۱۹۹٤ نشان داد که انتقال بخار آب عموما از طریق قسمت‌های آبدوست فیلم صورت می‌گیرد و میزان انتقال بخار آب به نسبت اجزای آبدوست به اجزای آب گریز فیلم بستگی دارد که با افزایش این نسبت در فرمولاسیون فیلم میزان انتقال بخار آب افزایش پیدا می‌کند (هرناندز ۱۹۹٤). این پدیده می‌تواند با تغییرات ساختاری ایجاد شده در شبکه هیدروکسی پروپیل متیل سلولز توضیح داده شود. افزودن عصاره چوب درخت کیام باعث تغییر در سازماندهی مولکولی شبکه هیدروکسی پروپیل متیل سلولز می‌گردد که باعث افزایش فضاهای خالی موجود در شبکه هیدروکسی پروپیل متیل سلولز می‌گردد و در نتیجه دانسیته شبکه هیدروکسی پروپیل متیل سلولز کاهش یافته و در نتیجه باعث افزایش نفوذ پذیری می‌گردد (کیوک و همکاران ۱۹۹۷). روبیلار و همکاران در سال ۲۰۱۳ تاثیر کارواکرول و عصاره هسته انگور بر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم-های کیتوزان مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ترکیب عصاره دانه انگور و کارواکرول دارای اثر معنی‌داری بر خاصیت نفوذ به بخار آب فیلم‌های کیتوزان می‌باشد. افزایش غلظت کارواکرول باعث کاهش مقدار نفوذپذیری به بخار آب گردید که دلیل این امر می‌تواند به دلیل طبیعت هیدروفوبیک کارواکرول باشد که باعث باعث تاثیر بر تعادل هیدروفوبیک به هیدروفیلیک فیلم می‌شود توضیح داده شود (روبیلار و همکاران ۲۰۱۳).

قاسملو و همکاران در سال ۲۰۱۳ تاثیر اسانس‌های روغنی را بر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم نشاسته ذرت مورد بررسی قرار دادند. نتایج بدست آمده نشان داد که خصوصیت نفوذ پذیری به بخار آب فیلم‌ها به ترتیب از ۷/۷۹ به ۳/۳۷ و ۳/۱۹ پس از افزودن ۳ درصد از اسانس‌های آویشن و نعناع در ترکیب فیلم کاهش پیدا کرد (قاسملو و همکاران ۲۰۱۱). افزودن اسانس آویشن و اسانس نعناع باعث بهبود خصوصیات نفوذپذیری فیلم‌های نشاسته گردید و باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب تا بیشتر از ۵۰ درصد نسبت به نمونه کنترل گردید. نفوذپذیری کمتر فیلم‌های نشاسته حاوی اسانس آویشن و نعناع به بخار آب ممکن است به خاطر پیوندهای هیدروژنی و کوالانسی بین شبکه

نشاسته و این ترکیبات پلی فنولیک باشد. این پیوندها ممکن است باعث محدود کردن گروه‌های هیدروژن برای تشکیل پیوندهای هیدروفیل با آب و در نتیجه منجر به کاهش خاصیت نفوذپذیری فیلم برای آب باشد (قاسملو و همکاران ۲۰۱۱).



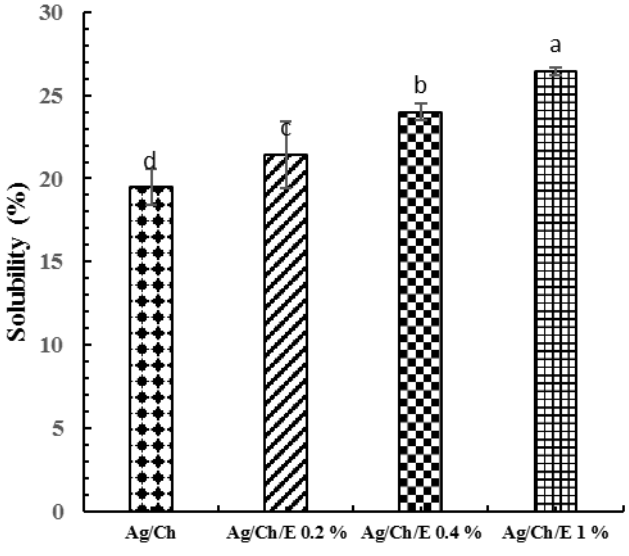
شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز بر تغییرات نفوذ پذیری به بخار آب فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی عصاره زیره سبز

Figure 2- Effect of different concentrations of cumin extract on water vapor permeability changes of chitosan / silver biocomposite film containing cumin extract

شکل ۳ نشان دهنده‌ی نتایج حاصل از اندازه‌گیری حلالیت فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز می‌باشد. افزودن عصاره زیره سبز به فرمولاسیون فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره باعث افزایش میزان حلالیت فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره گردید. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان غلظت عصاره مورد استفاده در فرمولاسیون فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره میزان حلالیت فیلم نشاسته افزایش پیدا کرده است و بالاترین میزان حلالیت مربوط به فیلم حاوی ۱ درصد عصاره زیره سبز بوده که برابر ۰/۰۷±۲۶/۴۵ درصد و کمترین میزان حلالیت در فیلم نمونه کنترل بدست آمد که برابر با ۰/۲۱±۱۹/۴۷ درصد بدست آمد. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که اختلاف آماری معنی داری در سطح احتمال ۹۵درصد بین نمونه کنترل و غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز وجود دارد.

روبیلار و همکاران در سال ۲۰۱۳ تاثیر کارواکرول و عصاره هسته انگور بر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم-های کیتوزان مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان حلالیت فیلم کنترل نسبت به سایر تیمارها بالاتر می‌باشد که این موضوع به دلیل ظرفیت نگهداری آب پلاستی سایزر مورد استفاده (گلیسرول) و گروه‌های عملکردی کیتوزان می‌باشد (روبیلار و همکاران ۲۰۱۳).

نوراجیت و ریو در سال ۲۰۰۸ تاثیر عصاره گیاه جین سینگ را بر خصوصیات فیزیکی و آنتی اکسیدانی فیلم‌های آلژینات مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق فیلم‌های خوراکی آلژینات حاوی عصاره جین سینگ سفید، جین سینگ قرمز و جین سینگ سفید اکسترود شده تولید شدند. فیلم‌های آلژینات حاوی عصاره جین سینگ سفید اکسترود شده در دمای ۱۳۰ درجه سانتیگراد بالاترین حلالیت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد را نشان دادند. افزودن عصاره جین سینگ به فیلم‌های آلژینات باعث افزایش معنی‌دار حلالیت فیلم‌های آلژینات گردید (نورجیت و روو ۲۰۰۸).



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز بر تغییرات حلالیت فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی عصاره زیره سبز

Figure 3- Effect of different concentrations of cumin extract on solubility changes of chitosan/silver biocomposite film containing cumin extract

ارزیابی ویژگی‌های مکانیکی فیلم تولیدی

جدول ۲ نشان دهنده‌ی نتایج حاصل از میزان مقاومت کششی فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود به صورت کلی افزودن عصاره زیره سبز باعث کاهش میزان مقاومت کششی فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره گردیده است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری در سطح احتمال ۹۵ درصد نشان داد که افزودن عصاره به فرمولاسیون فیلم‌ها به طور معنی‌داری باعث کاهش مقاومت کششی گردیده و با افزایش غلظت عصاره این کاهش ادامه پیدا کرده است. کمترین میزان مقاومت کششی در فیلم حاوی ۱ درصد عصاره زیره سبز مشاهده شد.

مایزورا و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که افزودن اسانس سنبل هندی به فیلم‌های نشاسته-آلژینات باعث کاهش مقاومت کششی می‌گردد. آن‌ها گزارش کردند که این پدیده به دلیل تاثیر چربی بر روی شاخه‌های نشاسته و این پدیده که فاز غنی از پلی‌ساکارید دارای مقاومت کششی بالاتری در مقایسه به فازهای لیپیدی می‌باشد (مایزورا و همکاران ۲۰۰۷). ساورن و همکاران در سال ۲۰۱۱ تاثیر عصاره چوب درخت کیام را بر خصوصیات ضد میکروبی و مکانیکی فیلم‌های هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی ۱ تا ۵ برابر از غلظت حداقل غلظت کشندگی تمامی باکتری‌ها عصاره چوب درخت کیام را بررسی کردند افزودن عصاره چوب درخت کیام به طور قابل توجهی بر خصوصیات مکانیکی فیلم‌های هیدروکسی پروپیل متیل سلولز تاثیر گذاشت و باعث کاهش مقاومت کششی و کشش در نقطه شکست گردید. این امر می‌تواند به دلیل توزیع نامتناسب عصاره چوب درخت کیام در ماتریکس پلیمری هیدروکسی پروپیل متیل سلولز باشد که به دلیل عدم هماهنگی عصاره چوب درخت کیام و بیو پلیمر هیدروکسی پروپیل متیل سلولز باشد (سدیم و سارکوس ۲۰۰۶). این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت.

جدول۲- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی عصاره زیره سبز

Table 2. Influence of different concentrations of cumin extract on the mechanical properties of chitosan / silver biocomposite film containing cumin extract

Increase movie length at break (%)	Film Tensile Strength (Mega Pascal)	Mechanical Properties
18.00±0.44 [d]	24.31±0.00 [a]	Ag/Ch
21.07±0.01 [c]	21.07±0.18 [b]	Ag/Ch/E 0/2 %
27.91±0.27 [b]	18.24±0.02 [c]	Ag/Ch/E 0/4 %
30.21±0.08 [a]	16.10±0.29 [d]	Ag/Ch/E 1 %

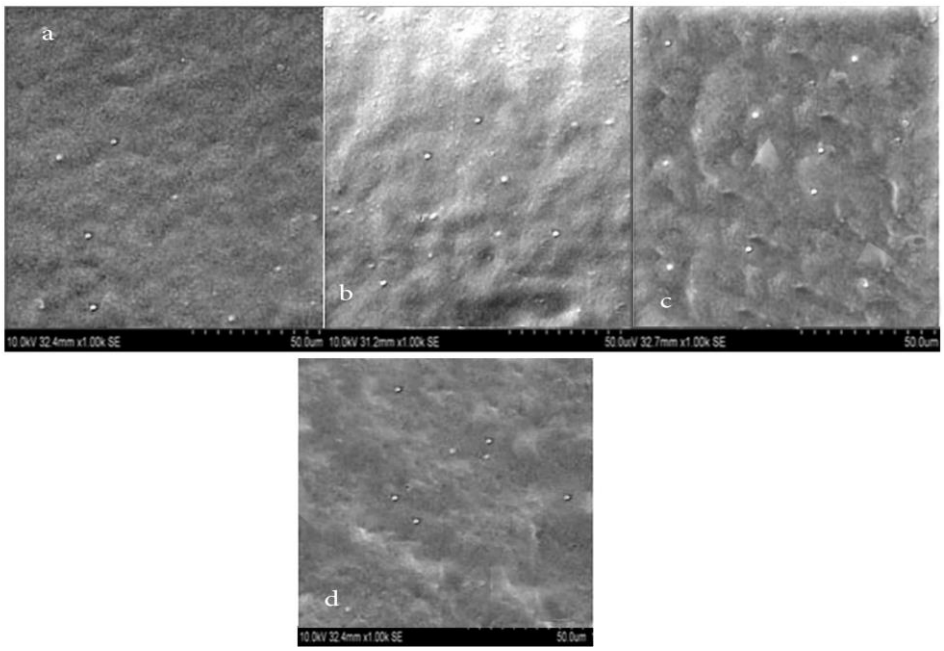
Different letters in each column showed significant difference (P <0.05)

جدول ۲ نشان دهنده‌ی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کشش در نقطه پارگی فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز می‌باشد. افزودن عصاره زیره سبز به فرمولاسیون فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره باعث افزایش میزان کشش در نقطه پارگی فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره گردید. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان غلظت عصاره مورد استفاده در فرمولاسیون فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره میزان کشش در نقطه پارگی فیلم نشاسته افزایش پیدا کرده است و بالاترین میزان حلالیت مربوط به فیلم حاوی ۱ درصد عصاره زیره سبز بوده و کمترین میزان کشش در نقطه پارگی در فیلم نمونه کنترل بدست آمد. نوراجیت و ریو در سال ۲۰۰۸ تاثیر عصاره گیاه جین سینگ را بر خصوصیات فیزیکی و آنتی اکسیدانی فیلم‌های آلژینات مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق فیلم‌های خوراکی آلژینات حاوی عصاره جین سینگ سفید، جین سینگ قرمز و جین سینگ سفید اکسترود شده تولید شدند. افزودن عصاره جین سینگ باعث کاهش معنی‌دار مقاومت به کشش در مقایسه با فیلم کنترل گردید. اختلاف در پیوندهای عرضی بین آلژینات و یا بین عصاره جین سینگ و آلژینات باعث کاهش به مقاومت کشش فیلم‌ها می‌گردد. اختلاف آماری معنی‌داری بین کشش در نقطه شکست فیلم‌های مختلف به جزء فیلم

آلژینات حاوی عصاره جین سینگ قرمز مشاهده نگردید که به طور معنی‌داری کشش در نقطه شکست بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشت. همچنین مدول الاستیک نمونه کنترل به میزان زیادی بالاتر از فیلم‌های آلژینات حاوی عصاره‌های مختلف جین سینگ بود (نوریجت و روو ۲۰۰۸).

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی خصوصیات سطحی فیلم‌های تهیه شده با نانو ذرات کیتوزان/نقره و اثبات حضور نانو ذرات روی سطح فیلم از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نمونه‌های فیلم دارای نانو ذره نقره در شکل ٤ نشان داده شده است. همان طور که در شکل مشاهده می‌شود سطح فیلم‌های شاهد کاملا صاف و هموار وعاری از هر گونه ذره می‌باشد. در حالی که در سطح فیلمهای حاوی نانو ذرات، ذرات نانو نقره به وضوح قابل رویت می‌باشند. همچنین هیچگونه تجمع و انباشتگی نانو ذرات در سطح فیلم‌ها مشاهده نمی‌شود و از پراکندگی یکنواختی برخوردار می‌باشند.



شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی عصاره زیره سبز شکل a (Ag/ch)، شکل b (Ag/Ch/E 0/2 %)، شکل c (Ag/Ch/E 0/4 %)، شکل d (Ag/Ch/E 1 %)

Figure 4- Scanning electron microscopy images of chitosan/ Silver Biocomposite film containing cumin extract in the form of a (Ag / ch), Figure b (Ag / Ch / E 0.2%), Figure c (Ag / Ch / E 0.4%), Figure d (Ag / Ch / E 1%)

اثر ضدمیکروبی فیلم‌های تهیه شده (قطر عدم هاله رشد)

نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره زیره سبز را بر تغییرات قطر عدم هاله رشد اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$). میزان تغییرات قطر عدم هاله رشد میکروارگانیسم‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش درصد عصاره خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده افزایش یافته است. در کلیه آزمون‌های ضد میکروبی، فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی ۱ درصد عصاره بیشترین بازداری یا قطر عدم هاله رشد را داشته است. زمانی که مواد ضدمیکروبی به درون فیلم افزوده می‌شوند این ترکیبات به درون آگار نفوذ کرده و خواص ضدمیکروبی خود را نشان می‌دهند به علت فعالیت ضدمیکروبی بیشتر عصاره زیره سبز در مقایسه با عصاره عصاره زیره سبز ، فیلم‌های بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی عصاره هیدروالکی زیره سبز خواص ضدمیکروبی بالاتری را نشان دادند. افزایش غلظت عصاره منجر به ایجاد نواحی شفاف بازدارندگی در اطراف فیلم‌ها شد با افزایش غلظت عصاره زیره سبز، مساحت ناحیه بازدارندگی به طور معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش پیدا کرد. فعالیت ضد میکروبی زیره سبز ناشی از کاتچین‌ها موجود در آن است که غشاء خارجی میکروارگانیزم را تخریب کرده و سبب خروج

لیپوساکارید و افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی به ATP می‌شوند، خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ آن می‌شوند، این نتیجه با نتایج نیز مطابقت دارد که با افزایش غلظت مساحت ناحیه بازدارندگی نیز افزایش یافت (مازیرو و همکاران ۲۰۰۷). بطور کلی نتایج میکروبی نشان داد فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره زیره سبز خاصیت ضد میکروبی استافیلوکوکوس آورئوس> آسپرژیلوس نایجر> کاندیدا آلبیکانس> اشرشیا کلی نشان داده است.

جدول ۳- تاثیر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف فیلم بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره حاوی عصاره زیره سبز

Table 3- Antimicrobial effect of different concentrations of chitosan / silver biocomposite film containing cumin extract

Candida Albicans	Aspergillus niger	Staphylococcus aureus	E.Coli	Antimicrobial properties
0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [d]	Ag/Ch
3.92±0.14 [c]	3.61±0.00 [c]	4.82±0.10 [c]	4.40±0.37 [c]	Ag/Ch/E 0/2 %
8.27±0.01 [b]	8.66±0.14 [b]	9.20±0.37 [b]	6.21±0.15 [b]	Ag/Ch/E 0/4 %
14.60±0.13 [a]	13.81±0.37 [a]	18.40±0.32 [a]	9.38±0.41 [a]	Ag/Ch/E 1 %

Different letters in each column showed significant difference (P <0.05)

نانوذرات (نقره و کیتوزان) به عنوان عامل ضدمیکروبی موثر استفاده می‌شوند. آن‌ها پتانسیل ضد میکروبی کارآمدی بر علیه ارگانیسم های مختلف دارند. نانوذرات می توانند به عنوان عوامل ضد میکروبی وسیع الطیف موثری بر علیه باکتری‌های مقاوم آنتی‌بیوتیکی گرم منفی شامل اعضای جنس‌های: سودوموناس، اشرشیا کلی، استینوباکتر، سالمونلا، ویبریو و باکتری های گرم مثبت شامل، انتروکوکوس، کلستریدیوم، استافیلوکوکوس، لیستریا، استرپتوکوکوس و کپک ها و مخمرها مورد استفاده قرار گیرند. در این مطالعه نتایج نیز نشان دهنده این موضوع بود بود که نانو ذرات مورد استفاده طیف ضدمیکروبی وسیعی را علیه میکروارگانیسم ها در خصوص فیلم و چه به صورت پوشش داده شده نشان دادند. امامی فر و همکاران (۲۰۱۰) فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی نقره و اکسید روی به روش اختلاط مذاب در دستگاه اکسترودر تهیه، و از این فیلم ها جهت نگهداری آب پرتقال تازه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد استفاده کردند. نتایج آن‌ها مطابق با نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سرعت رشد میکرواورگانیسم‌ها در آب پرتقال تازه با استفاده از بسته‌بندی‌های نانو نقره و اکسید روی تا ۲۸ روز پس از انبار مانی به صورت معنی‌داری کاهش یافته است (امامی فر و همکاران ۲۰۱۰). همچنین اینکوروناتو و همکاران (۲۰۱۱)، تاثیر یک سیستم بسته بندی ضد میکروبی حاوی نانو ذرات مونتموریلونیت نقره را بر روی کیفیت نوعی پنیر مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد این سیستم بسته بندی فعال، به صورت قابل توجهی ماندگاری این نوع پنیر را افزایش داده است که دلیل آن توانایی کاتیون های نقره در کنترل تکثیر میکروبی می باشد، بدون اینکه بر روی میکروب های اصلی و کارکردی لبنی ویژگی های حسی محصول اثر بگذارد (اینکورانتا و همکاران ۲۰۱۱). در مطالعه ای دیگر کوزموتا و همکاران (۲۰۱۵) بسته بندی نانوکامپوزیت دی اکسید تیتانیوم / نقره تهیه شده به روش محلول سازی را جهت افزایش ماندگاری نان مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که نانو کامپوزیت دی اکسید تیتانیوم/نقره با بستر پلی اتیلن به صورت قابل توجهی زمان ماندگاری نان را افزایش داده و ایمنی میکروبیولوژی نان با این کامپوزیت بالا رفته است (کوزموتا و همکاران ۲۰۱۵).

نتیجه گیری کلی

بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره به عنوان یک فیلم زیست تخریب-پذیر با دارا بودن خواص فیزیکی توانایی بالایی به عنوان یک پوشش دارد. عصاره زیره سبز نیز به عنوان یک ماده سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. ترکیبات عصاره زیره سبز دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالا و همچنین فعالیت ضد میکروبی بالایی می‌باشد. عصاره زیره سبز در ترکیب با پوشش عصاره زیره سبز، می‌تواند به عنوان یک پوشش مناسب جهت پوشش‌دهی مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد. تاثیر پوشش خوراکی بیوکامپوزیت کیتوزان/نقره همراه عصاره زیره سبز از لحاظ خصوصیات

فیزیکوشیمیایی و میکروبی مورد مطالعه قرار گرفت. که در پایان نتایج نشان دهنده این موضوع بود که فیلم دارای عملکرد بالایی جهت پوشش‌دهی و نگهداری مواد غذایی می‌باشد. لذا نتیجه این مطالعه می‌تواند جهت پوشش‌دهی مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

Adhorjan A and Bbuchbauer K, 2010. Biological properties of essential oil: an uptaded review. *Flavour and Fragrance 25*:407- 426 .

Ahmed A, Youssef MS, EL-Sayedb K, Hoda Z, Sayed A and Dufresnec A, 2016. Enhancement of Egyptian soft white cheese shelf life using a novel chitosan/carboxymethyl cellulose/zinc oxide bionanocomposite film. *Carbohydrate Polymers 151*:9-19 .

ASTM, 1995. Standard test methods for water vapor transmission of material, E 96-95. Annual book of ASTM, American Society for Testing and Material: Philadelphia, PA .

ASTM, 2001. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In standards designations: D882. Annual book of ASTM. Philadelphia, Pa: American society for testing and materials .

Chaudhry Q, Scotte M, Blackburn J, Ross B, Boxall A, and Castle I, 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Addit Contam 25*: 241-258.

Cozmuta M, Peter A, Cozmuta M, Crisan NCLB and Turila N, 2015. Active Packaging System Based on Ag/TiO2 Nanocomposite Used for Extending the Shelf Life of Bread. Chemical and Microbiological Investigations. *Earthquake Engineering & Structural Dynamics 7:* 271-284 .

Cuq B, Gontard D, Aymard L and Guilburt, 1997. Relative humidity and temperature effects on mechanical and water vapor barrier properties of myofibrillar protein-based films. *Polymer Gels and Network 5:* 1-15 .

Darder M, Colilla M and Ruiz-Hitzky E, 2005. Chitosan-clay nanocomposites: Application as electrochemical sensors. *Applied Clay Science 28:* 199-208 .

Dadfar SA, Alemzadeh I, Dadfar SR and Vosoughi M, 2011. Studies on the oxygen barrier and mechanical properties of low density polyethylene/organoclay nanocomposite films in the presence of ethylene vinyl acetate copolymer as a new type of compatibilizer. Materials & Design 32: 1806-1813.

Dicka M, Costaa TMH, Gomaa A, Subirade M, Riosa ADO and Flôresa SH, 2015. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers 130:*198-205 .

Do QD, Angkawijaya AE, LanTran-Nguyen P, Huynh LH, Soetaredjo FE, Suryadiismadji D and Hsujua Y, 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica. *Journal of Food and Drug Analysis 22:* 296-302 .

Elsabe MZ and Abdou ES, 2013. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering. 33:* 1819-184.

Emamifar A, Kadivar M, Shahed M and Soleimanian-Zad S, 2010. Preparation and evaluation of nanocomposite LDPE films containing Ag and ZnO for food-packaging applications. *Paper presented at the Advanced Materials Research 2:*21-35 .

Fang J and Fowler P, 2003. The use of starch and its derivatives as biopolymer sources of packaging materials. *Food, Agriculture & Environment 64:* 82-84 .

Farhoosh R and KHodaparast MA, 2012. Olive oil oxidation: rejection points in terms of polar, conjugated diene, and carbonyl values. *Food Chemistry 131:9245-9211.*

Farhoosh R and Tavassoli-Kafrani MH, 2010. Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable mattersof Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. *Food Chemistry 122:*381-385 .

Ghasemlou S, Khodaiyan D and Oromiehie B, 2011. Rheological and structural characterisation of film-forming solutions and biodegradable edible film made from kefiran as affected by various plasticizer types. *International Journal of Biological Macromolecules49:* 814-821.

Haghiroalsadat F, Bernard F, Kalantar SM, Sheikhha MH, Hokmollahi F and Azimzadeh M, 2010. Bunium persicum (Black Caraway) of Yazd province: chemical assessment and Evaluation of its antioxidant effects. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences 18:* 284-291 .

Hernandez D, 1994. Edible coatings for lipids and resins. In: Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO. (Eds.), Edible Coating and Films to Improve Food Quality .*Technomic Publishing Co., Lancaster, PA*, 279-304 .

Imran M, El-Fahmy S, Revol-Junelles AM and Desobry S, 2010. Cellulose derivative based active coatings: effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Carbohydrate Polymers 81:* 219-225.

Kadam D, Shah N and Lele SPSS 2018. An investigation on the effect of polyphenolic extracts of Nigella sativa seedcake on physicochemical properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers 192:*347-355.

Lok CN, Ho CM, Chen R, He QY, Yu WY and Sun H, 2006. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *Journal of Proteome Research*. *5:* 916-924.

Maizura F, Fazilah S, Norziah S and Karim B, 2007. Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolyzed sago starchealginate edible film containing lemongrass oil. *Journal of Food Science 72:* 324-330.

Nikavar B, Abolhasani F and Pak J, 2009. Screening of antioxidant properties of seven umbellifreae fruits from Iran. *Pharmaceutical Sciences 23:* 30-35 .

Norajit GD and Ryu H, 2008. Functional characterizations of extruded white ginseng extracts. *The Korean Society of Food Science and Biotechnology 17:* 1191-1196 .

Pinto RJB, Fernandes SCM, Freire CSR, Sadocco P, Causio J, Neto CP and Trindade T, 2012. Antibacterial activity of optically transparent nanocomposite films based on chitosan or its derivatives and silver nanoparticles. *Carbohydrate Research 384:* 77-83 .

Razavi SMA, Amini AM and Zahedi Y, 2015. Characterisation of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticiser type and concentration. *Food Hydrocolloids 43:298-290.*

Rubilar F, Cruz S, Silva DA, Vicente A, Khmelinskii N and Vieira JA, 2013. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol andgrape seed extract. *Journal of Food Engineering 115:* 466-474 .

Saadatmand S, Yazdanshenas D, Rezaei A, Zarchi V, Talori Y and Negahdari H, 2012. The antimicrobial activity of chitosan nanocomposite TiO, and its application on the gauze hospital. *Laboratory 6:* 57-59.

Sawai HK, Igarashi F, Hashimoto D, Shoji S and Sawaki D, 2000. Antibacterial characteristicsof magnesiumoxide powder. *World J MicrobiolBiotechnol 162:* 187-194 .

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

Sondi I and Salopek-Sondi B, 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci 275:* 177-182 .

Souri E, Amin G, Farsam H and Tehrani MB, 2008. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *Daru 162:* 83-87.

Tachakittirungrod S, Jun D and Chang E, 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry 103: 381-388.*

Zhanga B, Deng Z, YaoTangb B, Chenb P, Liu R, Ramdath DD and Tsao R, 2014. Fatty acid, carotenoid and tocopherol compositions of 20 Canadian lentil cultivars and synergistic contribution to antioxidant activities. *Food Chemistry 161:* 296-304 .

Journal of Food Researches/vol.31 No.2 2021/pp 35-50
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir
DOI: 10.22034/FR.2021.36380.1701

Investigation of physicochemical and microbial properties of chitosan-silver nanocomposite film with cumin (*Cuminum cyminum L.*) extract

Z Khosroabadi [1]and L Nouri [2]*

Received: October 25, 2019 Accepted: May 26, 2020
[1]PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Azad University of Damghan, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Azad University of Damghan, Iran
[*]Corresponding Author: zkhosroabadi17@gmail.com

Introduction: Edible coatings and films are thin layers of edible compounds and biopolymers that are placed on the surface of food or among its compounds and their use is one of the methods. They are important for controlling physicochemical, microbial and physiological changes in food. One of the main functions of food packaging is to prevent or minimize the transfer of moisture between the food and the surrounding air. Therefore, in order to optimize the food environment and increase the shelf life of the food, water vapor permeability should be as low as possible. On the other hand, about 125 million tons of plastic are produced in the world, of which about 30 million tons are consumed in the packaging sector. Pollution from packaging materials produced from petroleum derivatives and problems caused by various methods of decontamination (such as burial, incineration and recycling) have attracted the attention of researchers in recent years to find suitable alternatives. For this type of packaging, it has been pointed out that films and edible coatings can be the best alternatives in this regard. A new generation of food packaging includes substances with antimicrobial properties. This packaging technology can play an important role in increasing the durability of food and safety. Metal nanocomposites with a combination of metal nanoparticles and polymer film have recently received a lot of attention. Among polymers, natural biodegradable polymers have been widely used that have advantages such as: edible, biocompatibility, attractive appearance, non-toxic, non-polluting and low cost. Among natural polymers, chitosan, as a cationic biopolymer, has been widely studied for various applications due to its excellent bioactivity and solubility in the aquatic environment and its resistance to oxygen penetration. As a result, it now has a variety of potential applications in medical products, food packaging film, bone replacement and artificial skin. Among metallic nanoparticles, silver nanoparticles have long been known as antimicrobial substances. The antimicrobial activity of these nanoparticles may be related to several mechanisms that destroy the cell membrane structure. The aim of this study is to prepare a suitable packaging using Chitosan-Silver film and to strengthen its antimicrobial and physicochemical properties by adding cumin extract. Cumin cyminum is a plant of the Apiaceae family, annual, fragrant, hairless, herbaceous stem with bifurcated and sometimes trifoliate branches. The stem of the plant is grooved and has a peripheral metropolitan texture. Green cumin fruit contains 2-5% essential oil, most of which consists of paracetamol, alpha and beta-p-nen, comic alcohol, comic aldehyde, alpha and beta-flandren, eugenol, prialaldehyde, alpha-terpineol and myrison.

Material and methods: In this study, the physicochemical and microbial properties of silver nanocomposites (Ag) and chitosan (Ch) containing cumin extract (E) were investigated. Initially, cumin extract was extracted by extraction and extraction and water / ethanol extraction methods. The extract was tested for total phenol, tocopherol. The film is made of chitosan / silver nanocomposite (0.15 mol / liter) with three concentrations of 0.2, 0.4 and 1% cumin extract and is subjected to physicochemical tests (thickness measurement, water vapor passage rate, film

solubility, resistance Stretching, scanning electron microscopy (SEM) and increasing the length of the film at the moment of rupture) and microbial (diameter of non-growth aura) were included. All experiments were performed in a completely randomized trial in three replications. The averages were compared with SPSS 23 software based on Duncan's tests at five percent. The resulting graphs were plotted in 2013 excel software and compared.

Results: The results showed that the extract of green cumin extracted by masonry method had high phenolic compounds (74.17 mg / g galicacid / g dry weight) and tocopherol (24.05 mg alphatochofrol / g dry weight). The results of the experiments showed that with increasing cumin extract up to one percent of film thickness (0.93 mm), water vapor permeability rate (3.81 g / s.m2, film solubility (26.45%) and increasing film length in The moment of rupture (30.21%) showed a significant increase (P <0.05), but the tensile strength of the film (16.10 MPa) decreased with increasing concentration. As can be seen, in general, the addition of cumin extract causes Decreased tensile strength of bituminous / silver biocomposite films has been reduced. The results at 95% probability showed that the addition of the extract to the film formulation significantly reduced the tensile strength and continued to increase with increasing the concentration of the extract. The lowest tensile strength of the film was observed in 1% cumin extract. The images of the electron microscope show that the surface of the control films is perfectly smooth and smooth and free of any particles, while at the level of films containing nanoparticles Nano-silver particles are clearly visible. Also, no accumulation and accumulation of nanoparticles is observed at the film surface and they have a uniform distribution. The results of the microbial test are not clear. As the concentration of cumin extract increased by up to one percent, the antimicrobial properties of chitosan / silver nanocomposite increased. > Ashrashia has been general.

Conclusion: Chitosan / Silver Biocomposite as a biodegradable film with high physical properties has a high capability as a coating. Cumin extract is also rich in antioxidants. The composition of cumin extract has high antioxidant properties as well as high antimicrobial activity. Cumin extract in combination with cumin extract, it can be used as a coating to cover food. The effect of oral coating of chitosan / silver biocomposite with cumin extract was studied in terms of physicochemical and microbial properties. At the end of the results, it was shown that the film has a high performance for covering and storing food. Therefore, the results of this study can be used to cover food. The results showed that with increasing the percentage of extract, the antimicrobial properties of the prepared films increased. In all antimicrobial tests, chitosan / silver biocomposite film containing 1% extract had the highest inhibitory or non-growth diameter.

Keywords: Chitosan / Silver Nanocomposite, Cumin, Antioxidant, Film