



بررسی کمیت و انتشار نایسین استفاده شده در فیلم زئین ذرت بر کاهش جمعیت میکروکوکوس لوتئوس

لیلا ناطقی*

استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

(تاریخ دریافت: 95/10/13، تاریخ پذیرش: 96/2/11)

چکیده

نایسین یک باکتریوسین است که در سیستم‌های غذایی، فعالیت خود را به دلیل اتصال آن به پروتئین و چربی از دست می‌دهد بنابراین با تهیه یک فیلم بر پایه زیست پلیمر می‌توان فعالیت آن را بهبود بخشید. هدف از این پژوهش بررسی فعالیت ضد میکروبی و کمیت انتشار غلظت‌های مختلف نایسین به میزان 100، 200 و 300 میلی‌گرم، از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر فسفات و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی و کمیت نایسین انتشار یافته از غلظت‌های مختلف فیلم زئین ذرت (4، 6، 8 و 10 درصد) در بافر فسفات بود. فعالیت ضد میکروبی نایسین انتشار یافته از فیلم‌های زئین ذرت با بررسی مهار رشد میکروکوکوس لوتئوس در سطح محیط کشت انجام شد و کمیت آن نیز به روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا ارزیابی گردید. در مرحله آخر مدل‌سازی حرکتی انتشار نایسین به روش مدل‌سازی وایبل تجربی انجام شد. مطابق با نتایج، فعالیت ضد میکروبی نایسین با تشکیل هاله عدم رشد در آگار تایید گردید. کمیت انتشار نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد با افزایش غلظت نایسین به شکل معنی‌داری افزوده شد. با افزایش غلظت فیلم زئین ذرت از 4 به 10 درصد (وزنی/حجمی)، میزان انتشار نایسین از فیلم زئین ذرت 10 درصد به دلیل افزایش پیچ خوردگی در فیلم و رهايش كندتر نایسین 4 برابر کاهش یافت. مدل‌سازی حرکتی انتشار از فیلم‌ها مشابه رفتار فیک با پیش‌بینی عالی ($R^2 > 0/95$) را نشان داد. بنابراین با استفاده از پوشش خوراکی زئین ذرت حاوی ترکیب ضد میکروبی نایسین می‌توان زمان نگه‌داری و کیفیت مواد غذایی را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: زیست پلیمر زیست تخریب پذیر، زئین ذرت، میکروکوکوس لوتئوس.

1- مقدمه

فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی ضد میکروبی نیز جزء قسمت خوراکی ماده غذایی بسته‌بندی شده محسوب می‌شوند. بنابراین ترکیب فیلم یا پوشش خوراکی نباید تاثیری در خواص ارگانولپتیک ماده غذایی داشته باشد [6]. از آن جایی که سه ترکیب عمده فیلم‌های ضد میکروبی، زیست پلیمرهای تشکیل‌دهنده فیلم، نرم‌کننده‌ها و مواد ضد میکروبی می‌باشند، هر سه این ترکیبات بایستی بدون مزه باشند. نرم‌کننده‌های خوراکی معروف گلیسرول، سوربیتول و پلی‌اتیلن گلیکول می‌باشند. گلیسرول و سوربیتول مزه شیرین دارند. پلی‌اتیلن گلیکول نیز بدون مزه می‌باشد. اغلب مواد ضد میکروبی طعم مخصوص به خود دارند. اما به علت این که غلظت مواد ضد میکروبی در فیلم‌های خوراکی خیلی پایین است، اثرگذاری آن‌ها در طعم، جزئی و قابل صرف نظر کردن می‌باشد [6]. زئین پروتئینی است که از گلوتن ذرت توسط الکل استخراج می‌شود. زئین بی‌بو، بی‌مزه، نامحلول در آب (اما قابل حل در محلول‌های الکلی و اتری گلیکول) و خوراکی بوده و در نتیجه استفاده از آن برای کاربردهای غذایی و دارویی، انتخاب مناسبی است [7]. مصرف عمده زئین ذرت در صنایع غذایی، در ایجاد پوشش روی آجیل‌ها و شیرینی‌ها برای جلوگیری از تبخیر رطوبت است. فیلم‌های زئین ذرت شکننده و آبگریز هستند و اکسیژن در آن نفوذپذیری کمی دارد [8]. ساویچ، خواص آبگریزی زئین ذرت را به دلیل حضور پپتیدهای بزرگ‌تر در آن نسبت داد، پپتیدهای با وزن مولکولی پایین‌تر، آبگریزی کم‌تری را نشان داده‌اند [9]. فیلم‌های زئین ذرت را می‌توان به‌عنوان پوشش در بسته‌بندی و یا به‌عنوان یک پوشش خوراکی برای محصول به‌منظور کنترل انتشار آنتی‌بوتیک‌ها و دیگر ترکیبات فعال استفاده نمود. هم‌چنین با تغییر غلظت زیست پلیمر، می‌توان سرعت میزان انتشار را کنترل کرد. از آن جا که زئین ذرت آبگریز است، پس می‌تواند در سیستم‌های غذایی آبی مانند نوشابه، گوشت و دیگر غذاهای با رطوبت بالا استفاده شود. انتشار کنترل شده آنتی‌بوتیک‌ها از مواد بسته‌بندی ممکن است باعث حفظ حداقل غلظت بازدارندگی بر روی سطح مواد غذایی شود. افزودن آنتی‌بوتیک‌ها، ترکیبات فعالی که باعث کشتن و یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود، به مواد غذایی در طول فراوری روش موثری است که اغلب برای از بین بردن

بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا به‌طور مستقیم در کاهش سلامت جامعه نقش دارد. استفاده از مواد شیمیایی به‌منظور جلوگیری یا به تاخیر انداختن فساد مواد غذایی امروزه دارای کاربرد وسیعی می‌باشد. در ارتباط با آثار سوء استفاده از مواد شیمیایی صنعتی بحث‌های قابل قبولی در خصوص سرطان‌زایی و سمیت آن‌ها برای انسان صورت گرفته است. به این دلیل تولیدکنندگان مواد غذایی و مصرف‌کنندگان آن بایستی در استفاده از این‌گونه مواد نگرانی داشته باشند. در طی سال‌های اخیر تمایل به استفاده از زیست پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر در تولید مواد بسته‌بندی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در طراحی یک بسته‌بندی ضد میکروبی، فاکتورهای زیادی بایستی مورد توجه قرار گیرند. اغلب این فاکتورها به ماهیت شیمیایی ماده ضد میکروبی، نوع ماده غذایی و میکروارگانیسم هدف بستگی دارند. این زیست پلیمرها به‌طور بالقوه می‌توانند جایگزینی مناسب برای پلیمرهای سنتزی حاصل از مشتقات نفتی به‌شمار روند [1]. بسته‌بندی‌های زیست تخریب‌پذیر که قابلیت خوراکی بودن و مصرف به‌همراه ماده غذایی را دارند، به دو دسته فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی تقسیم می‌شوند [2]. فیلم‌های خوراکی قبل از کاربرد در بسته‌بندی ماده غذایی به‌صورت لایه‌ای نازک تولید می‌شوند و بعد همانند پلیمرهای سنتزی برای بسته‌بندی به‌کار می‌روند [3]. در سیستم فیلم خوراکی، ماده ضد میکروبی اضافه شده باید به آهستگی از لایه فیلم به داخل ماده غذایی مهاجرت کرده و سپس فعالیت خود را در مقابل میکروارگانیسم‌های آلوده کننده شروع کند. در مقابل، در سیستم پوشش خوراکی، ماده ضد میکروبی باید در لایه پوشش باقی بماند تا ماده غذایی را از حمله میکروارگانیسم‌های آلوده کننده محافظت نماید [4]. بسته‌بندی فعال به‌عنوان یک نوع بسته‌بندی تعریف می‌شود و شرایط جو بسته‌بندی را به گونه مطلوبی تغییر می‌دهد که موجب افزایش عمر نگهداری ماده غذایی گردد. بسته‌بندی‌های حاوی ترکیبات ضد میکروبی نیز نوعی از بسته‌بندی‌های فعال هستند که در تعامل با فضای بسته باعث کاهش یا مهار و یا تاخیر رشد میکروارگانیسم‌هایی که ممکن است بر روی سطوح مواد غذایی وجود داشته باشد می‌گردد [4، 5].

پاتوژن‌های مواد غذایی به کار می‌رود. اختلاط مستقیم آنتی‌بوتیک‌ها به غذا ممکن است به نابودی فوری میکروارگانیسم هدف منجر شود، اما ممکن نیست برای جلوگیری از بازیابی و رشد ارگانیسم‌های مجروح کافی باشد [10].

باکتریوسین ماده‌ای پروتئینی ضد میکروبی است که توسط باکتری‌ها اسید لاکتیک تولید، و به‌عنوان نگه‌دارنده غذا از آن برای مهار و یا از بین بردن باکتری‌های دیگر استفاده می‌شود [11]. فاکتور مهم برای ادامه‌دار بودن کاربرد باکتریوسین‌ها در مواد غذایی خصوصا غذاهای فرایند شده تاثیر آن‌ها بر روی لیستریا منوسیتوژنز می‌باشد. که یک باکتری گرم‌مثبت و سرمادوست است که تا اندازه‌ای در غذاهای خام رایج است. نایسین و دیگر باکتریوسین‌های تولید شده به‌وسیله گروه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) اثر آنتاگونیستی روی لیستریا منوسیتوژنز دارند [12]. نز و همکاران، در یک بررسی باکتریوسین‌ها را به‌طور معمول در 3 گروه دسته بندی کردند: گروه I شامل باکتریوسین‌هایی گروه لانتی‌بوتیک که پپتیدهای کوچک و مقاوم به گرما هستند و در ساختمان خود اسید آمینه لانتی‌ونین، بتا متیل لانتی‌ونین، دهیدروآلانین و دهیدروبوئیرین دارند و به دو زیر گروه اصلی A و B تقسیم می‌شوند. لانتی‌بوتیک‌های نوع A دارای ساختمان کشیده و انعطاف‌پذیر بوده و دارای بار مثبت هستند که در ساختمان غشا گونه‌های هدف ایجاد منافذ می‌نماید، مثل نایسین. نوع B پپتیدهای کروی کوچک و دارای ساختمان سفت و محکم و دارای بار منفی می‌باشد. گروه II این باکتریوسین‌ها بزرگ‌ترین گروه، مقاوم به حرارت، بدون پوشش لانتی‌ونین و پپتیدهای اصلاح نشده می‌باشند. گروه III شامل باکتریوسین‌های ناپایدار در برابر حرارت هستند، آبدوست و وزن مولکولی بالای 30 دالتون دارند [12]. نایسین تنها باکتریوسینی است که برای استفاده در مواد غذایی مجاز شناخته شده و به‌عنوان نگه‌دارنده امن در مواد غذایی طبیعی توسط سازمان غذا و دارو¹ (FDA) و سازمان بهداشت جهانی² (WHO) مورد تایید می‌باشد [۵، ۱۳].

نایسین با نام تجاری نیسپالین، با وزن مولکولی 3500 دالتون، متعلق به یک گروه از باکتریوسین‌ها به نام لانتی‌بوتیک است [14]. نایسین پلی‌پپتیدی با 34 آمینواسید است که توسط

لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس در طول تخمیر تولید می‌شود [15]. نایسین از طریق تشکیل منافذ در غشای پلاسمایی میکروارگانیسم‌ها آن‌ها را مورد حمله قرار می‌دهد. از آن‌جا که نایسین کاتیون است، به غشاء حاوی غلظت بالایی از چربی‌های آنیونی متصل می‌شود. محتوای چربی آنیونی در باکتری‌های گرم مثبت بسیار بالاتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد [16] و ممکن است یک عامل کلیدی مسئولیت فعالیت بیش‌تر نایسین در برابر باکتری‌های گرم مثبت را داشته باشد [17]. نایسین فعالیت‌های مهلک علیه پاتوژن‌های منتقل شده توسط غذا (لیستریا منوسیتوژنز، کلسترییدیوم بوتولینوم) و ارگانیسم‌های عامل فساد (لاکتوباسیلوس هلوتیکوس، بروکوتریکس ترموسفاکتا) را نشان می‌دهد، اما تاثیری در گرم منفی و یا قارچ‌ها ندارد [18]. در برخی از مواد غذایی به‌خصوص گوشت مشاهده شده که نایسین فعالیت خود را به‌دلیل متصل شدن به پروتئین، چربی و غیره در طول زمان از دست می‌دهد بنابراین با استفاده از آن در فیلم‌های بر پایه زیست پلیمر می‌توان از عدم فعالیت آن جلوگیری نمود [19].

گورا و همکاران، نایسین را جذب سلفون کردند و خاصیت ضد میکروبی فیلم مذکور را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد سلفون حاوی نایسین نسبت به ترکیبات ضد میکروبی واکنش مثبت نشان داده و استفاده از این فیلم در کنترل رشد *انتروکوکوس هایره* روی گوشت گوساله موثر بوده است [5].

انتشار نایسین از ماتریس‌های مختلف به سیستم‌های غذایی، ممکن است با کمک تکنیک‌های مدل‌سازی مختلف پیش‌بینی شده باشد. چندین نویسنده گزارش کرده‌اند که قانون دوم فیک به‌طور رضایت بخشی انتشار نایسین از ماتریس‌های مختلف را توضیح داده است [۲۰، ۱۵]. فعالیت بازدارندگی نایسین و دیگر آنتی‌بوتیک‌ها را می‌توان با کپسول کردن آنتی‌بوتیک‌ها داخل مواد بسته‌بندی و کنترل سرعت انتشار آن‌ها افزایش داد [21]. میکروکوکوس لوتئوس، گرم مثبت، کاتالاز مثبت، کوکسی و هوازی اجباری و غیر بیماری‌زا است و به ندرت باعث عفونت پوست می‌شود و به‌عنوان بخشی از فلور طبیعی پوست، دهان و مخاط انسان می‌باشد [22]. در خصوص افزودن ترکیبات ضد میکروبی به فرمولاسیون فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی تحقیقات زیادی صورت گرفته، از

1. Food and Drug Administration
2. World Health Organization

جمله بارون و سامر گزارش کردند که افزودن سوربات پتاسیم و اسید لاکتیک به ترکیب فیلم‌های خوراکی نشاسته ذرت مانع رشد سالمونلا تیفی موربوم و اشریشیاکلی روی گوشت طیور می‌گردد [23]. طبق تحقیقات اوزدمیر، به‌کارگیری لایه‌ای از فیلم پروتئین آب پنیر حاوی سوربات پتاسیم روی مواد غذایی می‌تواند زمان نگهداری مواد غذایی در بسته‌بندی مذکور را افزایش دهد [24]. هدف از این پژوهش بررسی انتشار غلظت‌های مختلف نایسین از فیلم ذرت 4 درصد و ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف فیلم ذرت بر انتشار نایسین و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی نایسین انتشار یافته از فیلم‌ها بر علیه رشد باکتری میکروکوکوس لوتوس بود.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

در این بررسی برای تهیه فیلم از پودر ذرت از شرکت سوچم هند و نایسین، گلیسرول و پلی اتیلن گلیکول از شرکت مرک آلمان و اتیل الکل 96 درصد از شرکت گلزار ایران تهیه شد. باکتری شاخص میکروکوکوس لوتوس از مرکز کلکسیون سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری شد.

2-2- روش آماده سازی فیلم‌های ذرت

به منظور انتشار کنترل شده نایسین از فیلم‌های ذرت، باید ترجیحا فیلم‌ها را با غلظت پایینی از زیست پلیمر تهیه کرد. از این رو، فیلم حاوی نایسین با غلظت‌های پایین ذرت به میزان 2، 4، 6، 8، 10 و 12 درصد تهیه شد.

آزمایش‌های مقدماتی نشان داد انتشار نایسین از فیلم حاوی 2 درصد ذرت بسیار زیاد و غیرقابل کنترل بود که این پدیده به دلیل کم بودن غلظت ذرت بود، از طرفی دیگر

انتشار نایسین از فیلم حاوی 12 درصد ذرت نیز بسیار ناچیز بود بنابراین غلظت‌های 2 و 12 درصد (وزنی/حجمی) ذرت حذف گردیدند و فیلم‌های ذرت با غلظت‌های 4، 6، 8 و 10 درصد (وزنی/حجمی) برای مطالعات این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. از آن‌جا که فیلم ذرت قابلیت حل شدن در آب را ندارد، غلظت‌های مختلف ذرت مطابق با جدول (1)، در اتیل الکل 95 درصد همراه پایدارکننده‌های گلیسرول و پلی اتیلن گلیکول به نسبت 1:1، به‌عنوان روان‌کننده جهت جلوگیری از خرد شدن فیلم‌ها، در دمای 70 درجه سانتی‌گراد مخلوط و آماده شدند. سپس فیلم‌های ذرت تا 60 درجه سانتی‌گراد خنک شدند و پس از آن 3000 میلی‌گرم نایسین به آن‌ها افزوده و سپس 40 میلی‌لیتر از هر محلول در صفحات آلومینیومی به ابعاد 7×17/5 سانتی‌متر ریخته و با دمای 25 درجه سانتی‌گراد و در رطوبت 50 درصد خشک شد [25-27]. ضخامت هر فیلم در 20 مکان مختلف با استفاده از یک کولیس دیجیتال با دقت 0/001 اندازه‌گیری شد.

2-3- انتشار نایسین موجود در فیلم‌های ذرت در بافر سیترات

2-3-1- آماده سازی فیلم‌ها برای ارزیابی انتشار غلظت‌های مختلف نایسین از فیلم ذرت 4 درصد

به منظور بررسی و تعیین این که آیا انتشار نایسین در محلول بافر سیترات وابسته به غلظت نایسین هست یا خیر، از فیلم حاوی 4 درصد ذرت که بالاترین میزان انتشار را داشت استفاده شد. سپس غلظت‌های 100، 200 و 300 میلی‌گرم نایسین به آن اضافه گردید. فیلم‌های شکل گرفته از داخل صفحات آلومینیومی برداشته و به 10 قطعه، 3/5×3/5 سانتی‌متر برش داده شد.

جدول (1) فرمولاسیون و ترکیبات فیلم‌های ذرت مورد آزمون

تیمارها	غلظت ذرت % (w/v)	اتیل الکل (ml)	ذرت (mg)	گلیسرول (μl)	پلی اتیلن گلیکول (μl)	نایسین (mg)
1	4	50	2000	333	333	3000
2	6	50	3000	500	500	3000
3	8	50	4000	667	667	3000
4	10	50	5000	833	833	3000

¹هر mg نایسین = 1000 IU

میزان آگار مصرفی، از آزمون تشکیل هاله عدم رشد و ارزیابی میزان نایسین انتشار یافته از فیلم زئین ذرت توسط HPLC استفاده گردید.

مواد مورد نظر بعد از مخلوط کردن در اتوکلاو با دمای 121 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه استریل و محیط کشت استریل شده تا دمای 40 درجه سانتی‌گراد سرد شد. سپس 1 درصد (حجمی/حجمی) میکروکوکوس لوتئوس که یک میکروارگانیزم شاخص حساس به نایسین است با محیط کشت تلقیح و مقدار 20 میلی‌لیتر از محیط کشت آماده در پلیت‌های مختلف ریخته شد و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق (25 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. بعد از خنک شدن با یک وسیله استریل، چاهک‌هایی به قطر 7 میلی‌متر در محیط کشت ایجاد شد. سپس 50 میکرولیتر از محلول نایسین انتشار یافته از غلظت‌های مختلف فیلم‌های زئین ذرت و غلظت‌های مختلف نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر سیترات در شرایط استریل در چاهک‌ها ریخته شد و در انکوباتور با دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت قرار داده شد و مناطق مهار شکل گرفته توسط یک کولیس دیجیتالی با خطای 0/01 میلی‌متر از لبه چاهک‌ها در سه تکرار اندازه‌گیری شد [28]. برای رسم منحنی استاندارد در آزمون انتشار در آگار، ابتدا محلول نایسین 10000 واحد بین المللی / میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس غلظت‌های مختلف نایسین از 0-10000 واحد بین المللی / میلی‌لیتر توسط رقت سازی از محلول فوق الذکر در آب مقطر استریل آماده گردید.

2-5- اندازه‌گیری کمیت نایسین انتشار یافته از فیلم‌های زئین ذرت در بافر سیترات با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

برای اندازه‌گیری کمیت نایسین انتشار یافته از غلظت‌های مختلف فیلم‌های زئین ذرت و غلظت‌های مختلف نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر سیترات از HPLC مدل 1100، ساخت کشور ژاپن و ستون فاز معکوس C-18 (5 میکرومتر، 250×4 میلی‌متر) استفاده شد. در کروماتوگرافی فاز معکوس، فاز ثابت غیر قطبی و فاز متحرک (حلال) قطبی می‌باشد. فاز متحرک مخلوطی از آب مقطر و استونیتریل که حاوی 0/1 درصد

2-3-2- آماده سازی فیلم‌ها برای ارزیابی انتشار نایسین از غلظت‌های مختلف فیلم‌های زئین ذرت

برای ارزیابی غلظت‌های مختلف فیلم‌های زئین ذرت بر روی انتشار نایسین در محلول بافر سیترات، غلظت‌های مختلف فیلم‌های زئین ذرت به میزان 4، 6، 8 و 10 درصد، شکل گرفته در داخل صفحات آلومینیومی را برداشته و سپس به 10 قطعه، 3/5×3/5 سانتی‌متری برش داده شد. از آن‌جا که 3000 میلی‌گرم نایسین به محلول فیلم اضافه شد، هر قطعه فیلم برش داده شده حاوی 300 میلی‌گرم نایسین، با فعالیت 300000 واحد بین المللی بود.

2-3-3- غوطه‌وری فیلم‌های زئین ذرت در بافر سیترات و تهیه محلول نایسین انتشار یافته

برای اطمینان از انتشار دو طرفه از فیلم‌های زئین ذرت در ظروف پلیت مورد استفاده با چسباندن دانه‌های شیشه‌ای در داخل هر یک از آن‌ها اصلاح شد. بافر سیترات (با pH برابر 3) 0/1 مولار آماده شد و فیلم‌های مورد آزمون در آن غوطه‌ور شدند. انتشار نایسین در یک محفظه با دمای 25 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50 درصد مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه‌ها در یک تکان دهنده با 50 دور در دقیقه در طول مطالعه بر انتشار نایسین نگه داشته شد. یک میلی‌لیتر از محلول انتشار در فواصل زمانی 0، 4، 8، 12، 16، 20، 24، ۳۲، ۴۰، 48 و 72 ساعت خارج شد. سپس محلول انتشار خارج شده با یک فیلتر سرنگی 0/45 فیلتر شد. محلول نایسین انتشار یافته از فیلم‌های زئین ذرت در بافر سیترات برای تعیین خاصیت ضد میکروبی نایسین در آگار و تعیین مقدار نایسین توسط HPLC استفاده شد.

2-4- آماده سازی محیط کشت آگار حاوی میکروکوکوس لوتئوس و ارزیابی خاصیت ضد میکروبی نایسین انتشار یافته از فیلم‌های زئین ذرت در بافر سیترات

محیط کشت مورد نظر حاوی آبگوشت مغذی براث، 0/75 درصد آگار و 1 درصد توئین 20 بود. میزان آگار موجود نباید بیش از اندازه باشد، زیرا باعث به دام افتادن نایسین در شبکه آگار می‌گردد. در این تحقیق به منظور بررسی کفایت

انتشار زمان کوتاه ($M_t/M_\infty < 2/3$) در مدل انتشار مکانیکی است. به‌طور مشابه، β قابل مقایسه با مولفه انتشار n در مدل قانون توان است. بنابراین مقایسه خوبی بین مدل وایبل تجربی و مدل انتشار مکانیکی می‌تواند صورت گیرد [33، 34].

2-7- تجزیه تحلیل آماری

چهار تیمار مطابق با طرح کاملاً تصادفی طراحی گردید و کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند. نتایج حاصل از اثر غلظت نایسین در فیلم زئین ذرت و غلظت فیلم زئین ذرت در انتشار نایسین به روش آنالیز واریانس یک طرفه به کمک نرم افزار مینی تب 16، با احتساب دامنه اطمینان 95 درصد آنالیز شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

3- نتایج و بحث

3-1- فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های زئین ذرت به روش انتشار در آگار

3-1-1- بررسی نتایج استاندارد قطر هاله عدم رشد توسط غلظت‌های مختلف نایسین

مطابق با شکل 1-الف، هاله عدم رشد توسط غلظت‌های مختلف نایسین ایجاد گردید که خاصیت ضد میکروبی نایسین را تایید کرد. همان‌گونه که در شکل 1-ب، نشان داده شد با افزایش غلظت نایسین تغییر قابل توجهی در قطر هاله عدم رشد ایجاد نشد. شکل 1-ب نشان داد با افزایش غلظت نایسین افزایش اندکی در مناطق مهار دیده شد که این می‌تواند به دلیل وابستگی کم‌تر هاله عدم رشد به غلظت نایسین باشد. بنابراین بین مناطق مهار و غلظت نایسین یک رابطه غیرخطی وجود داشت. شیب 0/0005 به‌طور قابل توجهی متفاوت از شیب صفر بود ($p < 0/05$). به احتمال زیاد فاکتور محدود کننده سرعت رشد مناطق مهار مقدار محلول نایسین توزیع شده در چاهک‌ها بود. محلول شروع به انتشار در اطراف آگار می‌کند و بعد از تمام شدن انتشار محلول، هاله عدم رشد متوقف می‌شود. در یک مطالعه مشابه پفیرو اوربن، گزارش دادند که مناطق مهار ایجاد شده در روش انتشار در آگار یک تابع لگاریتمی از مقدار نایسین بود [35].

تری فلورو استیک اسید بود. 50 میکرولیتر از نایسین انتشار یافته در بافر سیترات به HPLC تزریق و کمیت نایسین انتشار یافته به مدت 20 دقیقه در طول موج 220 نانومتر ارزیابی شد [29]. 30]. منحنی استاندارد برای غلظت‌های مختلف نایسین از 2/5 تا 100 پی‌پی‌ام با 5 تکرار برای هر غلظت نایسین رسم گردید.

2-6- مدل سازی ریاضی

2-6-1- محاسبه توان انتشار

انتشار پروسه‌ای است که مواد از ناحیه‌ای با غلظت بالا به ناحیه‌ای با غلظت پایین‌تر، توسط حرکت مولکولی تصادفی، حرکت می‌کنند [31]. بنابراین، نیروی محرکه برای انتشار یک شیب غلظت (پتانسیل شیمیایی) است.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (1)$$

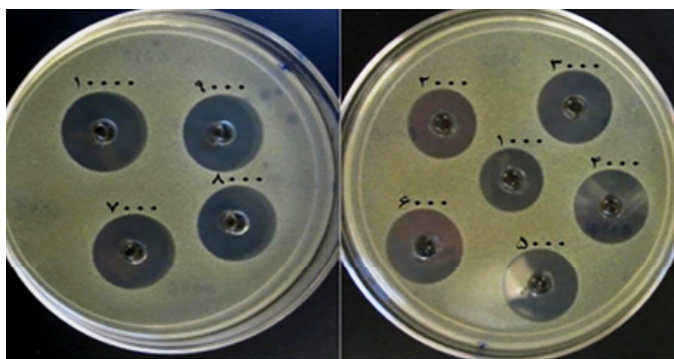
در معادله 1، M_t مقدار نایسین منتشر شده از فیلم زئین ذرت در زمان t و M_∞ نایسین منتشر شده در زمان نامحدود است.

2-6-2- محاسبه ضریب انتشار

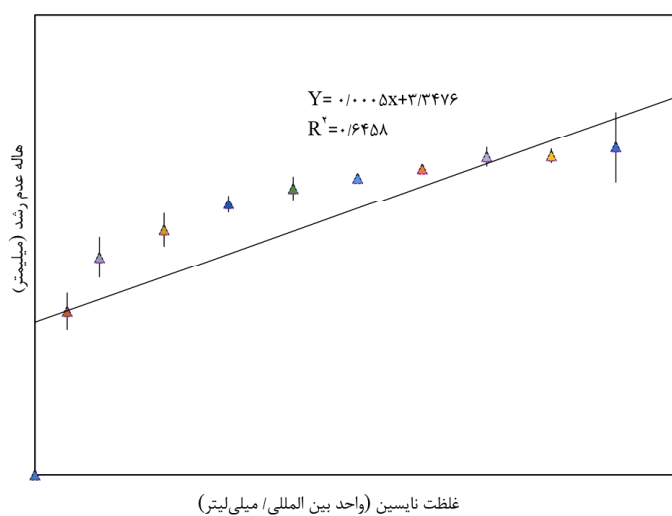
در انتشار یک بعدی، ضریب انتشار (ضریب نفوذ) به‌عنوان نرخ انتقال ماده انتشار یافته در سراسر واحد سطح یک بخش تقسیم شده توسط گرادیان غلظت فضا، تعریف می‌شود [32]. در معادله ضریب انتشار D ، ضخامت فیلم (میلی‌متر) و شیب منحنی دفع نایسین با k نشان داده شده است. M_t مقدار نایسین باقی مانده در فیلم در زمان t و M_0 مقدار نایسین که در ابتدا در فیلم وجود داشته است.

2-6-3- مدل وایبل

در پژوهش حاضر، از مدل وایبل برای توصیف خصوصیات انتشار نایسین برای غلظت‌های مختلف زئین ذرت استفاده شد. زیرا پارامترهای وایبل، α و β به‌ترتیب سرعت انتشار نایسین و مکانیسم انتشار را نشان می‌دهند. سپس مقادیر پیش‌بینی شده با نتایج تجربی مقایسه گردید. پارامتر مقیاس وایبل، α سرعت فرایند را تعریف می‌کند و نشان دهنده زمان مورد نیاز برای به انجام رساندن 63 درصد از انتشار است که قابل مقایسه با



(الف)



(ب)

شکل (1) الف) هاله عدم رشد میکروکوکوس لوتئوس ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف نایسین، ب) قطر هاله عدم رشد توسط غلظت‌های مختلف نایسین (0-10000 واحد بین المللی/میلی لیتر) با استفاده از روش انتشار در آگار

نشد [36]. هافمن و همکاران فعالیت ضد میکروبی فیلم زئین ذرت ترکیب شده با نایسین، اسید لوریک و اتیلن‌دی‌آمین‌تترا استیک‌اسید را مطالعه کردند، نتایج نشان داد فیلم حاوی نایسین، تعداد اولیه باکتری‌های لیستریا مونوسیژنوز را پس از 48 ساعت 5/5 لگاریتم کاهش داد [10].

هدایتی‌راد و همکاران خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی پولولان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس طبیعی گیاه درمنه را بررسی نمودند و اعلام داشتند با افزایش غلظت اسانس خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها افزایش یافت و بیش‌ترین و کم‌ترین هاله عدم رشد به ترتیب متعلق به اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس ارتوس بود [37]. برومند و همکاران خاصیت ضد میکروبی فیلم خوراکی کازئینی حاوی اسانس شیرازی را بر علیه سه میکروارگانیسم مهم بیماری‌زای غذایی سالمونلا تیفی موریوم،

2-1-3- بررسی قطر هاله عدم رشد میکروکوکوس لوتئوس توسط غلظت‌های مختلف نایسین انتشار یافته از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر سیترات

فعالیت ضد میکروبی نایسین انتشار یافته از فیلم زئین ذرت با تولید مناطق روشن هاله عدم رشد میکروکوکوس لوتئوس نشان داده شده است مطابق با شکل (2)، اندازه هاله عدم رشد با افزایش غلظت نایسین از 100 میلی گرم به 300 میلی گرم افزایش یافته است. در تایید نتایج تحقیق حاضر گروور و همکاران، فیلم‌های پلی اتیلن با چگالی کم¹ (LDPE) را با محلول‌های متیل سلولز و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز که حاوی غلظت‌های مختلف نایسین بودند، پوشاندند. آن‌ها پس از 8 روز مناطق مهار را مشاهده کردند. با این حال، انتشار کنترل نشده بود و هاله عدم رشد ثابت در طول مطالعه تولید

1. Poly ethylene low density

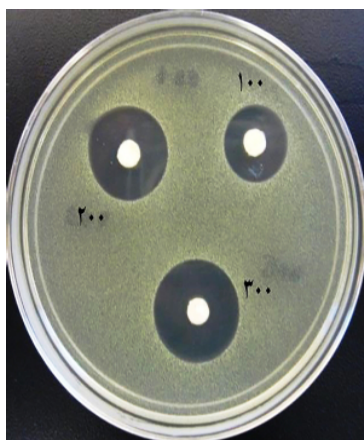
غذایی در سیستم فیلم خوراکی، نیاز به رها سازی کنترل شده مواد ضد میکروبی با یک آهنگ انتشار متوسط وجود دارد. نیروهای دافعه و جاذبه موجود بین مواد ضد میکروبی و لایه فیلم فاکتورهای هستند که ضریب انتشار را تحت تاثیر قرار می‌دهند [41].

شکل (3)، نشان داد قطر هاله عدم رشد میکروکوکوس لوتئوس با افزایش غلظت زئین ذرت در فیلم از 4 به 12 درصد (وزنی/حجمی) کاهش یافت که این می‌تواند به دلیل کاهش انتشار نایسین در بافر سیترات با افزایش غلظت زئین ذرت باشد. در تایید نتایج حاصل از تحقیق حاضر چاندراسیکار و همکاران انتشار نایسین را از فیلم‌های آلژینات کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف آلژینات مورد ارزیابی قرار دادند و بیان داشتند با افزایش غلظت آلژینات میزان نایسین انتشار یافته از فیلم‌ها در فاز آبی، به شکل معنی‌داری ($p \leq 0/05$) کاهش یافت [42]. ونگ و همکاران فیلم‌های ضد میکروبی بر پایه ژلاتین حاوی سوربات پتاسیم را تهیه نمودند و گزارش نمودند سرعت انتشار مولکول‌های سوربات پتاسیم تا حد بسیار زیادی به ساختار ماتریس بستگی دارد و با افزایش غلظت سوربات پتاسیم ضریب انتشار افزایش یافت [43]. چا و همکاران ترکیبات ضد میکروبی مختلفی را به درون فیلم‌های کاپا کاراگینان و آلژینات سدیم تزریق نمودند و بیان داشتند فیلم‌های آلژینات سدیم در مقایسه با روکش‌های کاپا کاراگینان در غلظت‌های یکسان از مواد ضد میکروبی، هاله عدم رشد بزرگ‌تری را نشان دادند و علت این پدیده را به خاصیت آبدوستی بیش‌تر آلژینات سدیم و

اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش نمودند بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس بود [38]. صداقت و همکاران خاصیت ضد میکروبی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی غلظت‌های مختلف اسانس گشنیز و پوست لیموترش را بر افزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای یخچال بررسی نمودند. نتایج نشان داد فیلم‌های حاوی اسانس گشنیز و لیموترش در محیط کشت آگار در مقابل میکروارگانیسم‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژانس خاصیت ضد میکروبی داشتند و تشکیل هاله عدم رشد دادند، و با افزایش غلظت اسانس‌ها قطر هاله عدم رشد آن‌ها افزایش یافت. اما تأثیر معنی‌داری بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نداشتند [39]. آریتا و همکاران گزارش کردند فیلم‌های کازینات سدیم و کلسیم حاوی کارواکرول می‌توانند مانع رشد باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوس گردند [40]. مطالعات بسیاری روی استفاده از غلظت‌های مختلف ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در فیلم‌ها شده است که علت تفاوت نتایج آن‌ها نوع ترکیب ضد میکروبی، غلظت ترکیبات موثر درون آن، روش تهیه ترکیبات ضد میکروبی و نوع ماده تشکیل دهنده فیلم می‌باشد.

3-1-3- بررسی قطر هاله عدم رشد میکروکوکوس لوتئوس توسط نایسین انتشار یافته از غلظت‌های مختلف فیلم زئین ذرت در بافر سیترات

جهت دستیابی به فعالیت ضد میکروبی موثر در سطح مواد



شکل (2) فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های مختلف نایسین (100، 200 و 300 میلی‌گرم) انتشار یافته از فیلم زئین ذرت 4 درصد

و مهاجرت سریع تر مواد ضد میکروبی از آن نسبت دادند [44]. سیدیم و ساریکوس اسانس های رزماری، ارگانو و روغن سیر را به فیلم حاوی پروتئین آب پنیر اضافه نمودند و دریافتند فیلم حاوی روغن ارگانو بالاترین خاصیت ضد میکروبی در مقابل تمامی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی را نشان داد [45]. نگوین و همکاران بیان داشتند فیلم های سلولزی حاوی نایسین می توانند رشد لیستریامونوسیتوژنز و باکتری های هوازی را در سطح سوسیس کنترل نمایند [46]. اکونومو و همکاران گزارش کردند مدت زمان نگهداری مرغ خام در حضور نایسین و اتیلن دی آمین تترا استیک اسید تحت اتمسفر تغییر یافته در دمای 4 درجه سانتی گراد افزایش یافت [47]. مطابق با شکل (3)، تغییر قابل توجهی در قطر هاله عدم رشد در طول زمان های 24، 48، 72 و 96 ساعت در تمامی محلول های انتشار یافته از فیلم ها مشاهده نگردید.

3-2- بررسی کمی نایسین انتشار یافته در بافر فسفات

از فیلم های زئین ذرت به روش HPLC

3-2-1- نتایج منحنی استاندارد غلظت های مختلف نایسین

توسط آزمون HPLC

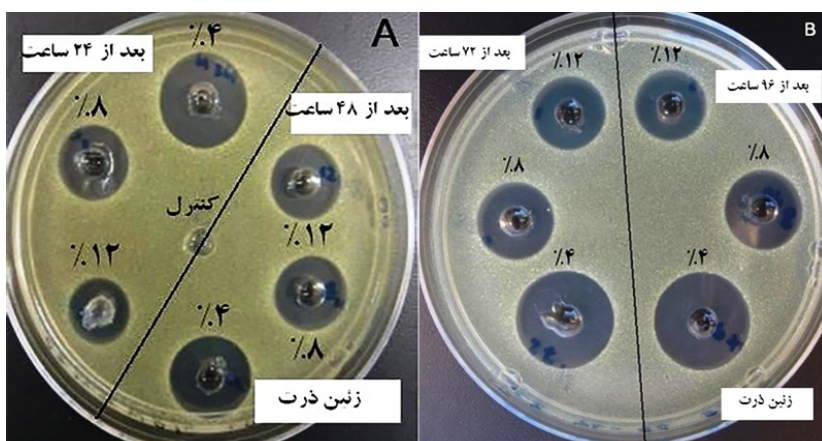
همان طور که در شکل (4)، نشان داده شده با افزایش غلظت نایسین ناحیه اوج نیز بالاتر رفته است، بنابراین رابطه بین غلظت و ناحیه اوج خطی بوده است.

3-2-2- نتایج تاثیر غلظت های مختلف نایسین موجود در

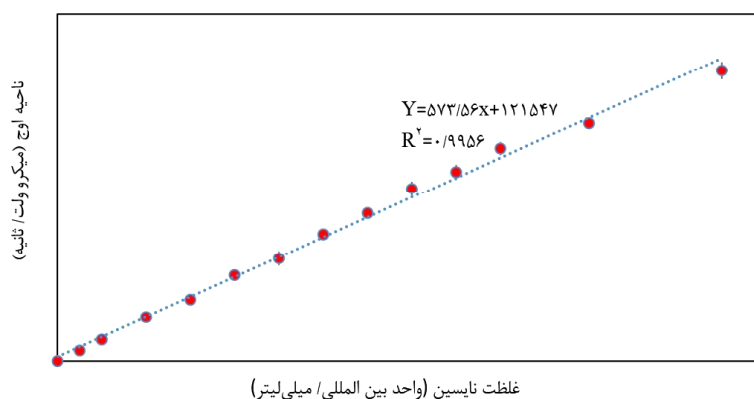
فیلم زئین ذرت 4 درصد بر کمی انتشار نایسین در بافر

فسفات با استفاده از روش HPLC

میزان انتشار غلظت های مختلف نایسین (100، 200 و 300 میلی گرم) از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر فسفات طی 72 ساعت توسط HPLC ارزیابی شد و نتایج آن در شکل (5)،



شکل (3) فعالیت ضد میکروبی نایسین انتشار یافته از غلظت های مختلف فیلم زئین ذرت (4، 8 و 12 درصد) در بافر سترات در 24، 48، 72 و 96 ساعت



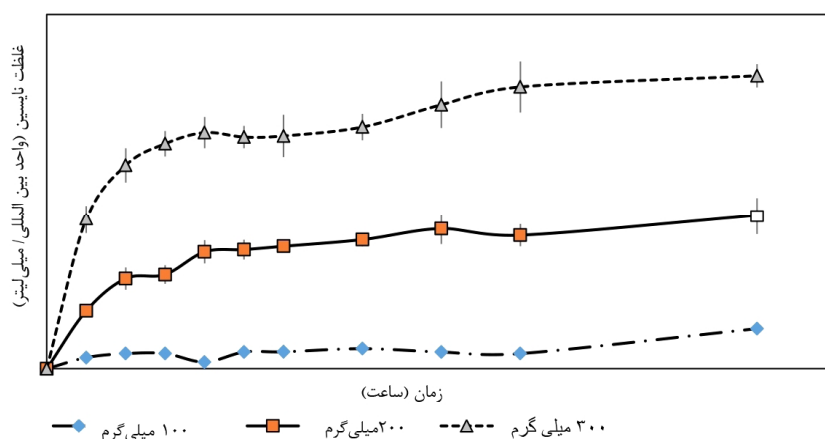
شکل (4) منحنی استاندارد ارزیابی غلظت های مختلف نایسین بر ناحیه اوج با استفاده از روش HPLC

خوراکی کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس‌های میخک و آویشن را بررسی نمودند، نتایج نشان داد فیلم‌های حاوی اسانس آویشن خاصیت ضد میکروبی بالاتری داشتند و قطر هاله شفاف با افزایش غلظت اسانس بیش تر شد [50].

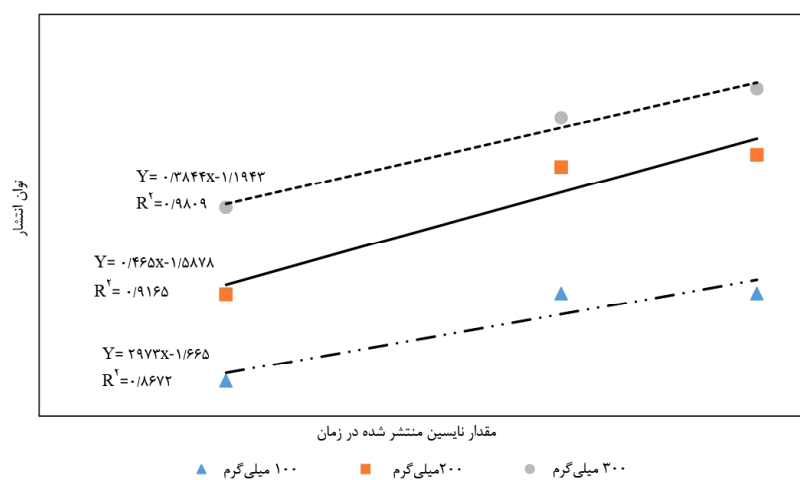
3-2-3- قانون توان انتشار غلظت‌های مختلف نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر فسفات

از مدل قانون توان (معادله 1) جهت این‌که انتشار نایسین مشابه فیک یا غیر فیک است استفاده گردید. پارامترها در معادله از روی شکل $\ln(M_t/M_\infty)$ در مقابل $\ln(t)$ برای بخش آغازین انتشار غلظت‌های مختلف نایسین (100، 200 و 300 میلی‌گرم) از فیلم‌های زئین ذرت 4 درصد محاسبه شد. مقادیر n که نشان دهنده مکانیسم انتشار بود از شیب منحنی شکل 6،

گزارش شده است. مطابق با نتایج مقدار انتشار وابسته به غلظت نایسین بود و با افزایش غلظت نایسین در فیلم زئین ذرت میزان انتشار نیز به شکل معنی‌داری افزایش داشت با گذشت زمان نیز میزان انتشار نایسین افزایش یافت. نتو و همکاران از نایسین پوشش داده شده در فیلم‌های پلاستیکی برای کنترل لیستریا مونوسی‌توزنز در سالمون دودی استفاده کردند و گزارش نمودند درجه غیرفعال شدن لیستریا مونوسی‌توزنز به طور مستقیم به غلظت نایسین موجود در فیلم وابسته است و نایسین می‌تواند آلودگی لیستریا مونوسی‌توزنز بعد از فرایند سالمون دودی را کنترل نماید [48]. کاوه‌ونگ و همکاران بیان نمودند استفاده از فیلم‌های نایسین پوشش داده شده با سدیم کازینات باعث افزایش ایمنی و مدت زمان نگه‌داری پنیرهای پروسس گردیده است [49]. حسینی و همکاران خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های



شکل (5) بررسی کمی انتشار غلظت‌های مختلف نایسین (100، 200 و 300 میلی‌گرم) از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر فسفات طی 72 ساعت توسط HPLC



شکل (6) بتوان انتشار غلظت‌های مختلف نایسین (100، 200 و 300 میلی‌گرم) از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر فسفات

نایسین یک مولکول آمفیلیوفیلیک است در نتیجه می‌تواند به‌طور همزمان رفتارهای آگریز و آبدوست داشته باشد، ولی میل آن به سمت مواد هیدروفیل بیش‌تر است [43].

شکل (7)، میزان دفع غلظت‌های مختلف نایسین پس از 24 ساعت از فیلم‌های زئین ذرت با غلظت 4 درصد را نشان می‌دهد. با توجه به این‌که M_t مقدار نایسین باقی مانده در فیلم در زمان t و M_0 مقدار نایسین که در ابتدا در فیلم وجود داشت، است بنابراین فیلم‌های 4 درصد زئین ذرت که حاوی 300 میلی‌گرم نایسین بودند انتشار بیش‌تری داشتند و مقدار نایسین باقی مانده در فیلم مذکور کم‌تر بود. شکل (7)، نتایج گزارش شده در جدول (2)، را تایید کرد. ونگ و همکاران نایسین را با غلظت‌های 0 تا 20 درصد به فیلم بر پایه کیتوزان/پلی‌وینیل الکل تریق نمودند نتایج نشان داد میزان استافیلوکوکوس ارئوس به شدت از 100 به 11/65 درصد کاهش یافت هنگامی که غلظت نایسین از 0 تا 10 درصد افزایش یافت در غلظت‌های بالاتر از 10 درصد میزان استافیلوکوکوس ارئوس به تدریج کاهش یافت، آن‌ها اعلام کردند با افزایش غلظت نایسین در فیلم مذکور میزان رهایش نایسین به داخل سوسپانسیون میکروبی افزایش یافته است بنابراین انتشار نایسین از فیلم تا حد زیادی بستگی به غلظت اولیه نایسین داخل فیلم دارد [43].

3-2-5- نتایج کمیت انتشار نایسین در بافر سیترات از فیلم‌های زئین ذرت با غلظت‌های 4، 6، 8 و 10 درصد (حجمی / وزنی) با استفاده از روش HPLC

شکل (8)، کمیت انتشار نایسین از فیلم‌های زئین ذرت طبق جدول (1)، در 72 ساعت را نشان می‌دهد. با توجه به این‌که میزان اولیه نایسین در هر قطعه فیلم برش داده شده حاوی 300 میلی‌گرم نایسین، با فعالیت 300000 واحد بین‌المللی

به‌دست آمد. مقدار n از 0/29 به 0/46 متفاوت و از آن‌جا که مقادیر $n < 0/5$ بود، به نظر می‌رسد که مکانیسم انتشار رفتاری شبه فیک داشته باشد. رفتار شبه فیک به رفتار فیک شباهت دارد و انتشار صرفاً به‌دلیل شیب غلظت نیست، مشاهدات حاصل از تحقیق حاضر بر خلاف این فرض بود که انتشار نایسین از ماتریس زئین ذرت، فیک در طبیعت بوده است. در مکانیسم شبه فیک، منحنی جذب شبیه منحنی فیک بوده است، اما میل به تعادل نهایی بسیار آهسته می‌باشد. ونگ و همکاران فیلم بر پایه کیتوزان/پلی‌وینیل الکل حاوی نایسین را تهیه نمودند و گزارش کردند مکانیسم انتشار اولیه نایسین به خوبی توسط معادله انتشار فیک قابل توضیح بوده است [43].

3-2-4- قانون ضریب انتشار غلظت‌های مختلف نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر فسفات

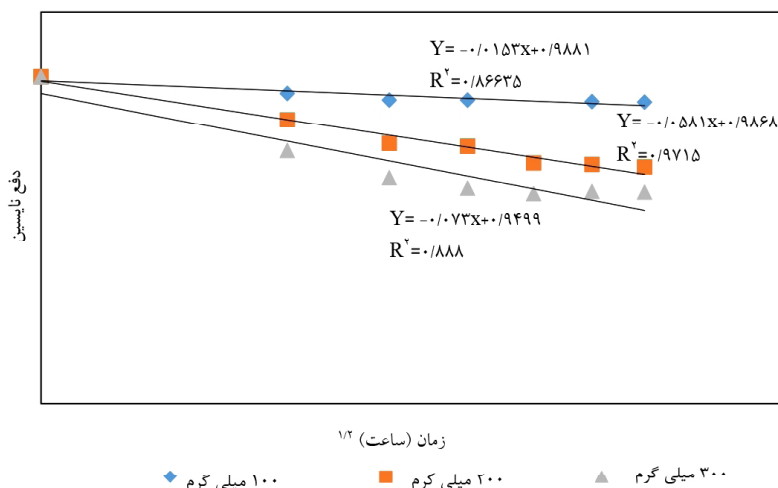
جدول (2)، اثر غلظت‌های مختلف نایسین (۲۰۰، ۱۰۰ و 300 میلی‌گرم) بر ضریب انتشار نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد را نشان می‌دهد.

ضریب انتشار نایسین با افزایش غلظت نایسین از 100 به 300 میلی‌گرم از 5×10^{-11} (سانتی‌متر مربع بر ثانیه) به 33×10^{-11} (سانتی‌متر مربع بر ثانیه) افزایش داشت. بنابراین ضریب انتشار نایسین از طریق فیلم زئین ذرت به شکل معنی‌داری به غلظت نایسین بستگی داشت. با توجه به این‌که نایسین شامل تقریباً 75 درصد کلرورسدیم و 2/5 درصد نایسین خالص است که هر دو محلول در آب هستند، بنابراین نایسین موجود در فیلم زئین ذرت نیز ممکن است موجب افزایش آگریزی ماتریس زئین ذرت و در نتیجه افزایش تعامل آن با حلال و افزایش ضریب انتشار نایسین گردد. مشابه این استدلال توسط میلترز و روسن، اوزدمیر و فلوروس، برای سوربات پتاسیم و انتشار استایرن به‌ترتیب، ارائه شد [51، 52]. ونگ و همکاران بیان داشتند

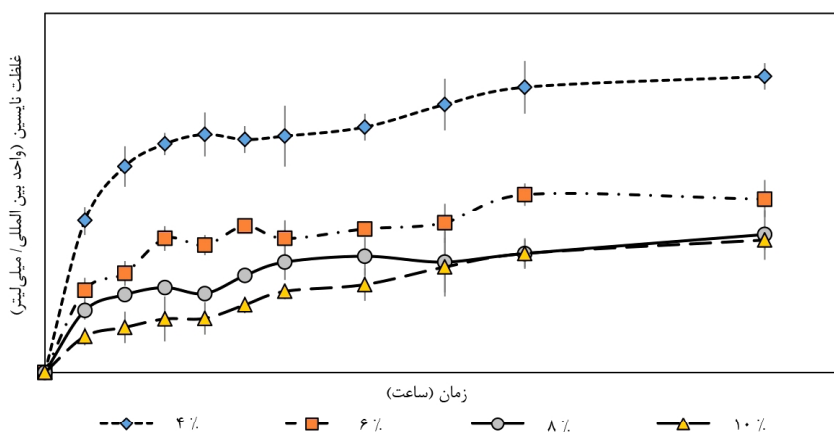
جدول (2) اثر غلظت‌های مختلف نایسین (100، 200، 300) میلی‌گرم بر ضریب انتشار نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد

مقدار نایسین (mg)	ضخامت فیلم، (mm)	شیب، K	ضریب انتشار $D \times 10^{-11}$ (cm ² /s)
100	0/24	-0/015	$5 \pm 0/9^c$
200	0/29	-0/058	$25 \pm 1/6^b$
300	0/32	-0/073	$33 \pm 5/4^a$

ضرایب انتشار با اندیس متفاوت اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0/05$)



شکل (7) شکل دفع غلظت‌های مختلف نایسین پس از 24 ساعت از فیلم‌های ژئین ذرت با غلظت 4 درصد (وزنی/حجمی)



شکل (8) کمیت انتشار نایسین در بافر سیترات از فیلم‌های ژئین ذرت با غلظت‌های 4، 6، 8 و 10 درصد (وزنی/حجمی) پس از 72 ساعت

غلظت زیست پلیمر در ماتریس انتشار پیوسته و آرام‌تر صورت گرفت. آن‌ها گزارش کردند با افزایش غلظت پلیمر، ویسکوزیته و چگالی پلیمر نیز افزایش یافته است و در نتیجه انتشار حلال در ماتریس و هم‌چنین حجم آزاد در دسترس آنزیم پراکسیداز برای انتشار کاهش یافته است [53]. جیانکوپولوس و جیلبرت گزارش کردند با افزایش غلظت آگارز میزان انتشار نایسین موجود در آن به شکل معنی‌داری ($p \leq 0/05$) کاهش یافت، که این می‌تواند بدلیل کاهش اندازه منافذ ژل و کاهش انتشار مولکولی کم‌تر با افزایش محتوای آگارز باشد [54]. در مطالعه دیگری نیز سان و ونگ، اعلام نمودند کاهش انتشار ترکیبات فعال به دلیل افزایش غلظت پلیمر در ماتریس است [55]. بنابراین، استفاده از فیلم‌های بسته بندی حاوی عوامل ضد میکروبی می‌تواند توسط یک انتشار کنترل شده به درون

بود بنابراین بالاترین میزان انتشار نایسین متعلق به فیلم ژئین ذرت 4 درصد بود که این ممکن است به دلیل افزایش انتشار حلال در ماتریس و متعاقباً انتشار نایسین از ماتریس در غلظت پایین زیست پلیمر باشد. با افزایش غلظت ژئین ذرت از 4 به 10 درصد انتشار نایسین از فیلم‌های ژئین ذرت کاهش یافت. این نتیجه را می‌توان این‌گونه توضیح داد که با افزایش غلظت ژئین ذرت چگالی آن نیز افزایش پیدا کرد و با افزایش چگالی درهم فرورفتن و پیچ خوردگی زیست پلیمر ژئین ذرت نیز افزایش پیدا کرد که این پیچ خوردگی زیست پلیمر باعث به دام افتادن و رها سازی کند محلول نایسین گردیده است. در تایید نتایج حاصل از این تحقیق زیلبرمن و سافر، انتشار کنترل شده آنزیم پراکسیداز ریشه خردل را از ساختار فیبر کامپوزیت را مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها دریافتند با افزایش

انتشار نایسین محدود گردد [57]. در مطالعه دیگری، سبتی و همکاران، گزارش کردند انتشار نایسین با افزایش محتوای آگارز از 3 به 8 درصد (وزنی/وزنی) کاهش قابل توجهی پیدا کرد بنابراین مدت زمانی طولانی تری نایسین انتشار یافت [15].

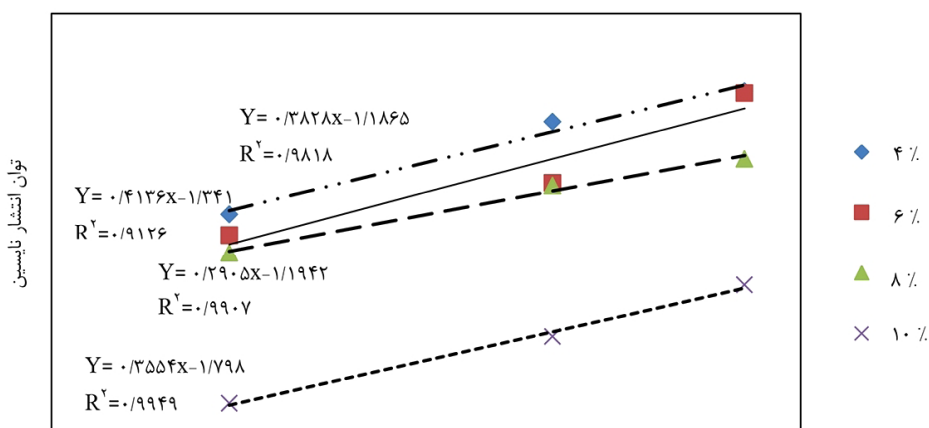
3-2-6- قانون توان انتشار غلظت‌های مختلف نایسین از فیلم زئین ذرت 4 درصد در بافر فسفات

از مدل قانون توان برای تعیین این‌که انتشار نایسین فیک یا غیر فیک است، استفاده شد. پارامترها در معادله قانون توان $\ln(M_t/M_\infty)$ در مقابل $\ln(t)$ برای بخش آغازین انتشار نایسین محاسبه شد. مقادیر n از شیب منحنی به دست آمد. مقادیر n از 0/29 تا 0/41 متغیر بود. از آن‌جا که مقادیر $n < 0/5$ بود، بنابراین مکانیسم انتشار نایسین می‌تواند رفتار شبه فیک داشته باشد. تیراکارن و همکاران، انتشار نایسین در فیلم زئین ذرت قالب‌گیری شده را مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که سینتیک انتشار نایسین از یک مدل انتشار فیک پیروی نمود [58]. کارنت ریپوچه و همکاران، سبتی و همکاران، گزارش کردند

مواد غذایی، نه تنها مهار اولیه نامطلوب میکروارگانیسم‌ها، همچنین فعالیت‌های باقی مانده آن‌ها در طول زمان، در طول حمل و نقل و ذخیره سازی مواد غذایی در طول توزیع را کنترل کند [56].

در فیلم‌های با غلظت زئین ذرت 8 و 10 درصد، انتشار نایسین کوتاه مدت برای هر دو غلظت، متفاوت بود. پس از حدود 40 ساعت، انتشار از فیلم‌های با غلظت 8 و 10 درصد، تقریباً مشابه بود. به احتمال زیاد یک بار ماتریس پلیمر به‌طور کامل هیدراته شده، پلیمر سکون پیدا کرده است و انتشار از هر دو ماتریس بدون در نظر گرفتن غلظت زئین ذرت در هر دو فیلم، مشابه بود.

کارنت ریپوچه و همکاران، انتقال جرم از نایسین خالص را در ژل‌های آگارز در غلظت‌های 3، 4 و 7 درصد (وزنی/وزنی) را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها دریافتند که ضریب انتشار نایسین با افزایش غلظت آگارز در ژل کاهش یافته است. آن‌ها همچنین گزارش دادند که چون محتوای آگارز افزایش یافته است، طول مسیر انتشار نیز افزایش پیدا کرده که باعث شده



مقدار نایسین منتشر شده در زمان

شکل (9) توان انتشار نایسین از غلظت‌های مختلف فیلم زئین ذرت (4، 6، 8، 10) درصد (وزنی/حجمی) در بافر فسفات

جدول (3) تاثیر غلظت‌های فیلم زئین ذرت (4، 6، 8، 10) درصد بر ضریب انتشار نایسین

غلظت زئین ذرت (w/w) %	ضخامت یلم، (mm)	شیب، K	ضریب انتشار $D \times 10^{-11}$ (cm ² /s)
4	0/319	-0/072	36±5/4 ^a
6	0/384	-0/043	16±3 ^b
8	0/479	-0/030	14±3 ^{bc}
10	0/537	-0/022	8±2 ^{cd}

ضرایب انتشار با اندیس متفاوت اختلاف معنی داری داشتند ($p < 0/05$)

انتشار نایسین در ژل آگار یک رفتار فیک بوده است [57, 15]. مشاهده گردید، که بالاترین میزان انتشار را داشت. جدول (3)، نتایج مذکور را تایید کرد.

3-2-7- محاسبه ضریب انتشار نایسین در غلظت‌های مختلف زئین ذرت (D)

مقادیر ضریب انتشار نایسین از غلظت‌های مختلف زئین ذرت در جدول (3)، نشان داده شده است. ضریب انتشار نایسین با افزایش غلظت زئین ذرت در فیلم‌ها به شکل معنی‌داری افزایش یافت. با افزایش غلظت زئین ذرت از 4 درصد به 10 درصد ضریب انتشار نایسین کاهش چهار برابری نشان داد و از 36×10^{-11} به 8×10^{-11} سانتی‌متر مربع بر ثانیه کاهش یافت، که این یافته می‌تواند به دلیل خمیدگی و پیچ خوردگی غلظت‌های بالاتر فیلم زئین ذرت باشد که منجر به رهاسازی کندتر نایسین گردیده است. در تایید یافته‌های حاصل از این تحقیق کارنت ریپوچه و همکاران، سبتی و همکاران، گزارش کردند ضریب انتشار نایسین در ژل آگارز با افزایش محتوای آگارز در ژل کاهش یافت [57, 15].

اوزدمیر و فلوروس انتشار پتاسیم سوربات را در فیلم‌های پروتئین آب پنیر بررسی کردند. آن‌ها مشاهده کردند که با افزایش غلظت پروتئین در فیلم، ضریب انتشار سوربات کاهش یافته است [52]. جیاناکوپولوس و جیلبرت نتایج مشابهی را برای انتشار اسید سوربیک در ژل‌های آگار گزارش دادند و کاهش ضریب انتشار را به افزایش سفتی ژل نسبت دادند [54]. با توجه به این‌که با استفاده از فیلم زئین ذرت 10 درصد انتشار نایسین به‌طور قابل توجهی کاهش یافت و با استفاده از فیلم زئین ذرت 4 درصد نیز بخش زیادی از نایسین در مدت زمان کوتاه انتشار یافت بنابراین استفاده از زئین ذرت با غلظت 8 درصد در بسته‌بندی می‌تواند انتشار کنترل شده، مداوم و مطلوبی داشته باشد و برای بسته بندی‌های مواد غذایی توصیه می‌گردد. شکل (10)، میزان دفع نایسین از فیلم‌های زئین ذرت با غلظت‌های 4، 6، 8 و 10 درصد را پس از 24 ساعت را نشان می‌دهد. با توجه به این‌که M_t مقدار نایسین باقی مانده در فیلم در زمان t و M_0 مقدار نایسین که در ابتدا در فیلم وجود داشت، است بنابراین مقدار نایسین باقی مانده در فیلم زئین ذرت 10 درصد که کم‌ترین میزان انتشار را داشت بیش‌تر بود و کم‌ترین مقدار نایسین باقی مانده در فیلم زئین ذرت 4 درصد

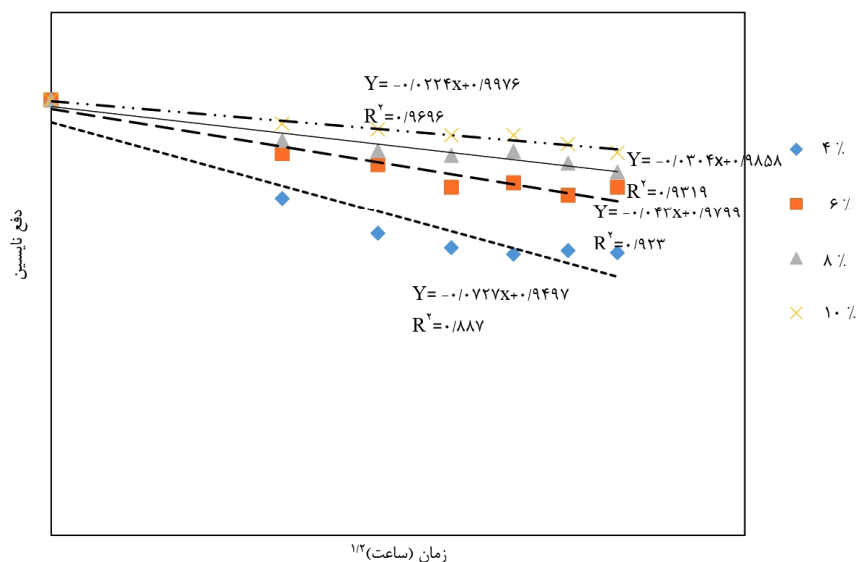
3-2-8- انتشار نایسین مطابق با مدل‌سازی وایبل

شکل (11)، نشان می‌دهد که انتشار نایسین تجربی و پیش‌بینی‌شده (مدل Weibull) از فیلم‌های زئین ذرت با غلظت‌های مختلف، به صورت تابعی از زمان ترسیم شده است. با توجه به این‌که تمامی ضرایب R^2 بالاتر از 0/95 بودند بنابراین پیش‌بینی مدل وایبل بسیار مطلوب بوده است. تفاوت بین مقادیر تجربی و پیش‌بینی شده، منوط به استفاده از پارامترهای α و β با استفاده از تابع Solver به حداقل رسید. همان‌طور که در جدول (4) دیده می‌شود، زمانی که غلظت زئین ذرت از 4 به 10 درصد (وزنی/حجمی) افزایش یافت، مقدار α نیز از 6/89 به 25/43 افزایش پیدا کرد. این مشاهدات نشان می‌دهد که انتشار اولیه برای زئین ذرت با غلظت کم‌تر، نسبت به زئین ذرت با غلظت بالاتر، سریع‌تر بوده است. این یافته‌ها با نتایج (شکل 11) تطابق داشت. هنگامی که غلظت زئین ذرت افزایش یافت، چگالی پلیمر در ماتریس افزایش یافته در نتیجه حجم نایسین آزاد، کاهش پیدا نمود. این امر، انتشار حلال داخل ماتریس و انتشارهای بعدی نایسین از ماتریس را کند می‌کند. عامل وایبل β توصیف شکل منحنی انتشار است. در یک مدل وایبل $0/75 < \beta < 1$ نشان دهنده یک مکانیسم ترکیبی (فیک و حالت دوم انتقال) $\beta = 1$ نشان دهنده سینتیک اولین بار، $\beta > 1$ نشان دهنده یک مکانیسم پیچیده، می‌باشند [33].

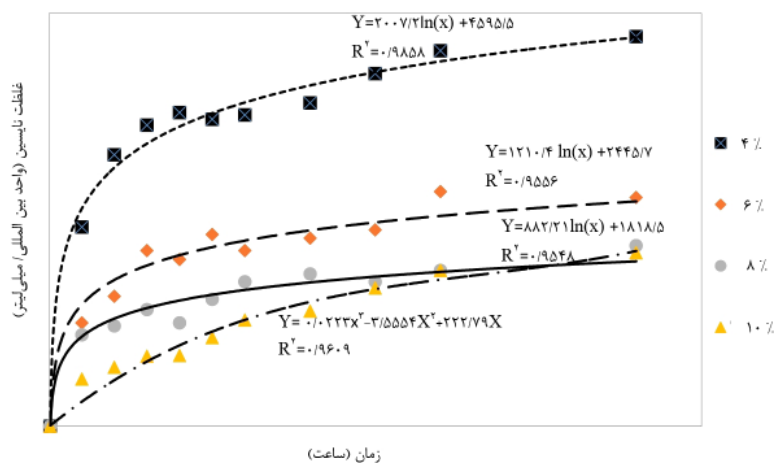
همان‌طور که از مقادیر β (جدول 4) مشهود است، فیلم‌های زئین ذرت با غلظت‌های 4، 6 و 8 درصد (وزنی/حجمی) نشان دهنده انتشار فیک هستند. با این حال، بر خلاف مولفه n در مدل قانون توان، فاکتور شکل وایبل β بین انتشار فیک و شبه فیک تفاوتی قائل نمی‌شود. فیلم‌ها با غلظت زئین ذرت 10 درصد (وزنی/حجمی) دارای مقدار β ، 0/91 بودند که یک مکانیسم ترکیبی از فیک و حالت دوم انتقال (غیر فیک) را نشان داد. در غلظت زئین ذرت 10 درصد (وزنی/حجمی)، به احتمال زیاد انتشار توسط گرادیان غلظت نایسین و همچنین برخی از مکانیسم‌های دیگر کنترل شده است. پس از

4- نتیجه گیری 8 و 10

درصد، مشابه بودند. به احتمال زیاد تأثیر غلظت زئین ذرت در نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد فیلم‌های زئین ذرت فیلم بر انتشار نایسین در غلظت‌های پایین‌تر مشهودتر بود. حاوی ترکیبات ضد میکروبی نظیر نایسین را می‌توان در



شکل (10) دفع نایسین از فیلم‌های زئین ذرت با غلظت‌های 4، 6، 8 و 10 درصد (وزنی/حجمی) پس از 24 ساعت



شکل (11) انتشار نایسین (سمبل‌ها) و وایبل پیش بینی شده (خطوط) از فیلم‌های زئین ذرت در 72 ساعت با غلظت‌های 4، 6، 8 و 10 درصد (وزنی/حجمی)

جدول (4) تاثیر غلظت‌های فیلم زئین ذرت (4، 6، 8، 10) درصد بر ضریب انتشار نایسین

غلظت زئین ذرت (W/W) %	پارامتر مقیاس (α)	فاکتور شکل (β)
4	6/89	0/54
6	9/57	0/62
8	11/42	0/50
10	25/43	0/91

مقدار کم‌تر پارامتر مقیاس α نشان می‌دهد که فرایند، در آغاز انتشار سریع‌تر است.

پوشش‌های مواد غذایی و یا در بسته‌بندی به کار برد. نایسین موجود در فیلم‌های زئین ذرت به خوبی می‌تواند به آرامی انتشار پیدا نماید و از رشد میکروکوکوس لوتئوس جلوگیری نماید. افزایش میزان غلظت نایسین موجود در فیلم‌ها باعث افزایش بیش‌تر میزان مهار رشد میکروکوکوس لوتئوس روی محیط کشت شد. افزایش میزان غلظت زئین ذرت تا 8 درصد در فیلم‌ها باعث کاهش انتشار نایسین در حد مطلوب

و کارآمدی در فیلم‌ها گردید. بنابراین استفاده از چنین پوشش‌هایی می‌تواند منجر به افزایش ماندگاری، میکروب‌کشی و حفظ کیفیت محصولات غذایی گردد. پیشنهاد می‌شود برای مطالعات آینده از فیلم‌های زئین ذرت حاوی نایسین در پوشش‌های مواد غذایی استفاده شود و افزایش ماندگاری و خواص کیفی محصولات غذایی بررسی گردد.

منابع

- from corn, corn products, and coproducts and modifications for various applications: A Review. *Cereal Chem.*, 88(2), 159-173.
- [8] Krochta, J.M. (1997). Edible protein films and coatings. In: Damodaran, S., Paraf, A. editors. Food proteins and their applications. New York, Marcel Dekker. 529-550.
- [9] Savich, I.M. (1991). Hydrophobic properties of maize zein. *Khim. Prir. Soedin* (translated in English). 1,105-108.
- [10] Hoffmann, K.L., Han, I.Y., Dawson, P.L. (2001). Antimicrobial effects of corn zein films impregnated with nisin, lauric acid, and EDTA. *J. Food prot.*, 64(6), 885-889.
- [11] Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 71(1), 1-20.
- [12] Nes, I.F., Diep, D.B., Havarstein, L.S., Brurberg, M.B., Eijsink, V., Holo, H. (1996). Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie van leeuwenhoek.*, 70, 113-128.
- [13] Davies, E.A., Bevis, H.E., Potter, R., Harris, J., Williams, G.C., Delves-Broughton, J. (1998). Research note: The effect of pH on the stability of nisin solution
- [1] Ghanbarzadeh, B., Musavi, M., Oromiehie, A.R., Rezayi, K., Razmi Rad, E., Milani, J. (2007). Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability, surface energy and micro-structure properties of zein films. *LWT-Food Sci. Technol.*, 40, 1191-1197.
- [2] Ghanbarzadeh, B., Oromiehie, A. R. (2008). Biodegradable biocomposite films based on whey protein and zein: Barrier, mechanical properties and AFM analysis. *Int. J. Biol. Macromol.*, 43(2), 209-215.
- [3] Ghanbarzadeh, B., Oromiehie, A.R., Musavi, M., D-Jomeh, Z.E., Rad, E.R., Milani, J. (2006). Effect of plasticizing sugars on rheological and thermal properties of zein resins and mechanical properties of zein films. *Food Res. Int.*, 39(8), 882-890.
- [4] Han, J. H. (2000). Antimicrobial food packaging. *Food Technol.*, 54(3), 56 - 65.
- [5] Guerra, N.P., Macias, C.L., Agrasar, A.T., Castro, L.P. (2005). Development of a bioactive packaging cellophane using nisaplin as biopreservative agent. *Lett. Appl. Microbiol.*, 40(2), 106 -110.
- [6] Zactiti, E. M., Kieckbusch, T. G. (2006). Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. *J. Food. Eng.*, 77(3), 462 - 467.
- [7] Anderson, T.J., Lamsal, B.P. (2011). Zein extraction

- ible whey protein films and coatings. Ph.D. Dissertation, Purdue University, West Lafayette, IN, pp 20-30.
- [25] Lawton, J.W. (2004). Plasticizers for zein: their effect on tensile properties and water absorption of zein films. *Cereal Chem.*, 81(1), 1-5.
- [26] Dawson, P.L., Hirt, D.E., Rieck, J.R., Acton, J.C., Sotthibandhu, A. (2003). Nisin release from films is affected by both protein type and film-forming method. *Food Res. Int.*, 36(9-10), 959-968.
- [27] Lai, H.-M., Padua, G.W. (1997). Properties and microstructure of plasticized zein films. *Cereal Chem.*, 74(6), 771-775.
- [28] Pongtharangkul, T.; Demirci, A. (2004). Evaluation of agar diffusion bioassay for nisin quantification. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 65(3), 268-272.
- [29] Liu, W., Hanssen, J.N. (1990). Some physical and chemical properties of nisin, a small protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ Microbiol.*, 56(8), 2551-2558.
- [30] Buonocore, G.G., Del Nobile, M.A., Panizza, A., Corbo, M.R., Nicolais, L. (2003). A general approach to describe the antimicrobial agent release from highly swellable films intended for food packaging applications. *J. Control. Release.*, 90(1), 97-107.
- [31] Cussler, E.L. (1997). Diffusion: mass transfer in fluid systems. Cambridge university press, England, pp 45-50.
- [32] Crank, J. (1975). The mathematics of diffusion. 2nd ed. Oxford University Press, England, pp 28-36.
- [33] Papadopoulou, V.V., Kosmidis, K.K., Vlachou, M.M., Macheras, P.P. (2006). On the use of the weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *Int. J. Pharm.*, 309(1-2), 44-50.
- [34] Marabi, A., Livings, S., Jacobson, M., Saguy, I.S. (2003). Normalized weibull distribution for modeling rehydration of food particulates. *Eur. Food Res. Technol.*, during autoclaving. *Lett. Appl. Microbiol.*, 27(3), 186-187.
- [14] Van de Ven, F.J.M., Van den Hooven, H.W., Konings, R.N.H., Hilbers, C.W. (1991). NMR Studies of lantibiotics: the structure of nisin in aqueous solution. *Eur. J. Biochem.*, 202(3), 1181-1188.
- [15] Sebti, I., Blanc, D., Carnet-Ripoche, A., Saurel, R., Coma, V. (2004). Experimental study and modeling of nisin diffusion in agarose gels. *J. Food. Eng.*, 63(2), 185-190.
- [16] O'Leary, W.M., Wilkinson, S.G. In: Ratledge, C., Wilkinson, S.G. (Eds). (1988). Microbial lipids, Vol.1, academic press, New York, 117-201.
- [17] Breukink, E. (1997). The c-terminal region of nisin is responsible for the initial interaction of nisin with the target membrane. *Biochemistry.*, 36(23), 6968-6976.
- [18] Cha, D.S., Cooksey, K., Chinnan, M.S., Park, H.J. (2003). Release of nisin from various heat-pressed and cast films. *LWT-Food Sci. Technol.*, 36(2), 209-213.
- [19] Sanjurjo, K., Flores, S., Gerschenson, L., Jagus, R. (2006). Study of the performance of nisin supported in edible films. *Food Res. Int.*, 39(6), 749-754.
- [20] Teerakarn, A., Hirt, D.E., Acton, J.C., Rieck, J.R., Dawson, P.L. (2002). Nisin diffusion in protein films: Effects of film type and temperature. *J. Food Sci.*, 67(8), 3019-3025.
- [21] Fan, L.T., Singh, S.K. (1989). Controlled release: a quantitative treatment. Berlin, Germany, Springer Verlag, pp 211- 230.
- [22] Madigan M., Martinko, J. (editors). (2005). Brock biology of microorganisms (11th ed). Prentice hall. ISBN 0-13-144329-1.
- [23] Baron, J. K., Summer, S. S. (1993). Antimicrobial containing edible films as an inhibitory system to control microbial growth of meat products. *J. Food prot.*, 56, 9-16.
- [24] Ozdemir, M. (1999). Antimicrobial releasing ed-

- H., Sun, M., Jiang, S. (2015). Kinetics and functional effectiveness of nisin loaded antimicrobial packaging film based on chitosan/poly (vinyl alcohol). *Carbohydr. Polym.*, 127, 64-71.
- [44] Cha, D.S., Choi, J.H., Chinnan, M.S., Park, H.J. (2002). Antimicrobial films based on Na-alginate- and κ -carrageenan. *Lebensm. Wiss. Technol*, 35, 715-719.
- [45] Seydim, A.C. and Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with thyme, rosemary and garlic essential oils. *Food Res. Int.*, 39(5), 639-644.
- [46] Nguyen, V.T., Gidley M.J., Dykes, G. (2008). A potential of nisin-containing bacterial cellulose film to inhibit listeria monocytogenes on processed meats. *Food Microbiol.*, 25(3), 471-478.
- [47] Economou, T., Pournis, N., Ntzimani, A., Savvaidis, I.N. (2009). Nisin-EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chem.*, 114(4), 1470-1476.
- [48] Neetoo, H., Ye, M., Chen, H., Joerger, R.D., Hicks, D., Hoover, D.G. (2008). Use of nisin coated plastic films to control *Listeria monocytogenes* on vacuum packaged cold smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.*, 122(1-2), 8-15.
- [49] Cao-Hoang L., Chaine A., Grégoire L, Waché Y. (2010). Potential of nisin-incorporated sodium caseinate films to control *Listeria* in artificially contaminated cheese. *Food Microbiol.*, 27(7), 940-944.
- [50] Hosseini, S.M.H., Razavi, S.H., Mousavi, S.M.A. (2009). Studies on physical, mechanical, antibacterial and microstructural properties of chitosan edible films containing thyme and cinnamon essential oils. *EJFPP*, 1(2), 47-68.
- [51] Miltz, J., Rosen-Doody, V. (1985). Migration of styrene monomer from polystyrene packaging materials into food simulants. *J. Food Process. Preserv.*, 217(4), 311-318.
- [35] Pfeiffer, P., Orben, C. (1997). Determination of nisin in wine after solid phase extraction and high performance liquid chromatography. *Dtsch Lebensmittel Rundsch.*, 93, 47-49.
- [36] Grower, J.L., Cooksey, K., Getty, K. (2004). Release of nisin from methylcellulose-hydroxypropyl methylcellulose film formed on low-density polyethylene film. *J. Food Sci.*, 69(4), FMS107-FMS111.
- [37] Hedayati rad, F., Sharifan, A., Khodayian Chegini, F., Hosini, E. (2013). Antimicrobial activity of Pullulan film incorporated with *Artemisia sieberi* essential oil. *J. Fasa Univ. Med. Sci.*, 3(2), 130-135.
- [38] Boroumand, A., Hamed, M., Emamjome, Z., Razavi, S.H. (2013). Investigation on the antimicrobial effect of caseinate edible film containing the essential oil of *Zataria multiflora*. *Iran J. Nutr Sci Food Technol.*, 41(10), 13-21.
- [39] Sedaght, N., Mohammad-Hosseini, M., Khoshnoudi-Nia, S., Habibi, M.B., Koocheki, A. (2015). Antimicrobial Properties of CMC-based edible films incorporated with coriander and citrus lemon essential oils on the shelf-life of fresh lamb-meat at refrigerator temperature. *Iran J. Nutr. Sci. Food Technol.*, 9(4), 53-62.
- [40] Arrieta, M.P., Peltzer, M.A., Garrigós, M.C., Jiménez A. (2013). Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol. *J. Food Eng.*, 114(4), 486-494.
- [41] Ghanbarzadeh, B., Pezeshki Najafabadi, A., Almasi, H. (2011). Antimicrobial edible films for food packaging. *Iran J. Nutr. Sci. Food Technol.*, 8(31), 123-135.
- [42] Chandrasekar, V., Coupland, J.N., Anantheswaran, R.C. (2016). Kinetics of nisin from chitosan alginate complex films. *J. Food Sci.*, 81(10), 2503-2510.
- [43] Wang, H., Zhang, R., Zhang, H., Jiang, S., Liu,

8(3-4), 151-161.

[52] Ozdemir, M., Floros, J.D. (2001). Analysis and modeling of potassium sorbate diffusion through edible whey protein films. *J. Food Eng.*, 47(1), 149-155.

[53] Zilberman, M., Sofer, M. (2006). A mathematical model for predicting controlled release of bioactive agents from composite fiber structures. *J. Biomed. Mater. Res.*, 80A(3), 679-686.

[54] Giannakopoulos, A., Guilbert, S. (1986). Determination of sorbic acid diffusivity in model food gels. *Int. J. Food Sci Tech.*, 21(4), 339-353.

[55] Sun, Z., Wang, C.H. (1996). Quasielastic light scattering from semidilute ternary polymer solutions of polystyrene and poly (methyl methacrylate) in benzene. *Macromolecules*, 29(6), 2011-2018.

[56] Cutter, C.N. (2002). Microbial control by packaging: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 42(2), 151-161.

[57] Carnet Ripoche, A., Chollet, E., Peyrol, E., Sebti, I. (2006). Evaluation of nisin diffusion in a polysaccharide gel: Influence of agarose and fatty content. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 7(1-2), 107-111.

[58] Teerakarn, A., Hirt, D.E., Acton, J.C., Rieck, J.R., Dawson, P.L. (2002). Nisin diffusion in protein films: Effects of film type and temperature. *J. Food Sci.*, 67(8), 3019-3025.