Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 2, June. July. 2016, p. 276- 285

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۵ ص.۲۸۵-۲۷۶

اثر ضدمیکروبی فیلم زیست‌فعال زئین حاوی اسانس آویشن علیه *Escherichia coli* و *listeriainnocua* طی نگهداری سالاد الویه

محبوبه کشیری*[۱]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۴

چکیده

بسته‌بندی ضدمیکروبی یک فناوری نوین نگهداری است که بر اساس رهایش عوامل فعال ترکیب شده با پلی‌مر بسته‌بندی، به درون محصول غذایی یا محیط اطراف بسته‌بندی برای افزایش کیفیت و امنیت غذایی طراحی شده است. با هدف استفاده از اسانس گیاهان بعنوان ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی، فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss.*) درمحیط مایع (تماس مستقیم) و جامد (فاز بخار) علیه *Escherichia coli* و *listeria innocua* مورد مطالعه قرار گرفت. فیلم‌های زیست فعال زئین حاوی ۵ و ۱۰٪ وزنی اسانس آویشن شیرازی تولید و فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌ها در محیط مایع و جامد آزمایشگاهی ارزیابی شدند. فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌های زئین دارای ۱۰٪ اسانس آویشن شیرازی برای بسته‌بندی سالاد الویه بعنوان یک مدل غذایی طی مدت ۶ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که خواص ضد باکتریایی اسانس آویشن شیرازی در تماس مستقیم در مقایسه با فاز بخار از کارایی بهتری برخوردار بود. از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد بین اندیس کاهش لگاریتمی فیلم زیست فعال زئین حاوی ۵٪ اسانس آویشن در تماس مستقیم علیه *Escherichia coli* و *listeria innocua* وجود نداشت. هم‌چنین با افزایش غلظت اسانس در فیلم زیست فعال زئین اندیس کاهش لگاریتمی باکتریایی در محیط مایع افزایش یافت. علی‌رغم نتایج مطلوب ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی در فیلم‌های زئین در تماس مستقیم، فیلم‌های زیست فعال زئین جهت کاهش آلودگی سالاد الویه بسته‌بندی شده از کارائی لازم برخوردار نبودند.

واژه‌های کلیدی: سفتی بسته‌بندی ضد میکروبی، زئین، اسانس آویشن شیرازی، سالاد الویه

مقدمه

استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری مواد غذایی محسوب می‌گردد. ترکیبات ضد میکروبی در تماس مستقیم ماده غذایی و یا بطور غیرمستقیم با قرار دادن در بسترهای پلی‌مری قادر به کاهش یا به تاخیر انداختن رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (Guarda *et al*., 2011). بسته‌بندی ضدمیکروبی نوعی بسته‌بندی فعال است که مهاجرت پیوسته ترکیبات ضدمیکروبی به سطح ماده غذایی را فراهم می‌سازد، بطوری که تداوم رهایش ترکیبات ضدمیکروبی، اجازه رشد به سلول‌های ترمیم یافته میکروبی را نخواهد داد. بنابراین از بسته‌بندی ضدمیکروبی به‌عنوان تکنولوژی هردل جهت افزایش امنیت و بهبود کیفیت مواد غذایی یاد می‌شود (Muriel- Galet *et al* ., 2012).

اسانس‌های روغنی از متداول‌ترین ترکیبات قابل استخراج از برگ، ساقه، غده و گل گیاهان هستند (Tajkarimi *et al*., 2010).آویشن شیرازی با نام علمی Zataria multiflora Boiss. گیاهی معطر از تیره نعناعیان و بومی مناطق گرم ایران، پاکستان و افغانستان می‌باشد (Moradi *et al*., 2012). مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن کارواکرول و تیمول می‌باشند (Shojaee-Aliabadi *et al*., 2014). این ترکیبات به‌عنوان ترکیبی ایمن و سالم مورد تایید سازمان غذا و دارو آمریکا قرار گرفته است (Guarda *et al* ., 2011).

اثر ضدمیکروبی این اسانس بر *Escherichia coli* و *listeria* salmonella typhimurium،(innocua Salarbashi *et al*., 2014 Bagamboula *et*)shigella ،(Razavilar *et al*., 2006) Abdollahi *et*)،(*listeria monocytogenes*) ،(*al*,2004 *al*.,2012)، کپک و مخمر (Suhr *et al*.,2003) مورد بررسی قرار گرفته است. از یافته‌های علمی در حوزه کاربرد اسانس در تولید فیلم‌های ضدمیکروبی نیز می‌توان به تأثیر اسانس آویشن شیرازی در کیتوزان (Moradi *et al*., 2012)، پلی‌ساکارید محلول سویا (Salarbashi *et al*., 2014) و کاپاکاراگینان (Shojaee-Aliabadi

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(* - نویسنده مسئول: Email: kashiri.m@gmail.com)

www.SID.ir

Archive of SID

et al., 2014)و نیزکاربرد کارواکرول در بستر کیتوزان (Rubilar et al., 2013)،تیمول و کارواکرولدر بستر پلی‌پروپیلن (Guard et al., 2011) اشاره کرد. هم‌چنین اثر افزودن اسانس پونه کوهی در بسترهای پلی‌مری نظیر اتیلن وینیل الکل ., Muriel- Galet et al) (2012، ایزوله سویا (Zinoviadou et al., 2009)، ژلاتین (Hosseini et al., 2013)، تریتیکاله (Aguirrea et al.,2013) گزارش شده است.

در جوامع امروزی با تغییر روش زندگی، فرهنگ استفاده از غذاهای آماده به مصرف نیز رواج فراوانی یافته است. سالاد الویه نوعی غذای سرد شامل گوشت مرغ و سیب‌زمینی و تخم مرغ آب‌پز به همراه سس مایونز، خیارشور و دیگر سبزیجات است که بدون اعمال فرایند حرارتی بسته‌بندی عرضه و در دمای یخچال نگهداری می‌شود. اختلاف درجه حرارت سطح و درون گوشت مرغ طی فرایند پخت گوشت مرغ منجر به حذف بار میکروبی سطحی و زنده ماندن برخی از پاتوژن‌های درونی می‌گردد. هم‌چنین نقص در فرایند حرارتی در آماده‌سازی گوشت مرغ و تخم‌مرغ خطرات ناشی از پاتوژن‌های باکتریایی واقع در تخم مرغ و درون گوشت مرغ را فراهم می‌کند (Luber, 2009). *Listeria* و *Escherichia coli* از جمله باکتری‌های تهدیدکننده سلامت مصرف کنندگان می‌باشند.

Listeria در طیف وسیعی از محصولات غذایی آماده به مصرف بسته‌بندی نگهداری شده در شرایط سرد گزارش شده است(Beaufort, 2011 و Newel et al., 2010). با توجه به تنوع ترکیبات در فرمولاسیون محصولات آماده به مصرف، تعیین شرایط مناسب برای رشد هر یک از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا با چالشی همراه است. بدین مفهوم که در فرمولاسیون هر یک از این محصولات افزایش یا کاهش یک ماده می‌تواند تشدید یا محدویت رشد میکرارگانیسم‌های شاخص راسبب گردد. لذا در این خصوص یکی از راه های ارزیابی پتانسیل رشد میکروارگانیسم‌ها در محصولات فرموله شده، تلقیح تعداد مشخصی از آن‌ها و ارزیابی توانایی رشد در محصول است(Beaufort, 2011). روش‌های مختلفی جهت به حداقل رساندن مصرف مواد افزودنی شیمیایی برای مهار رشد میکروبی در مواد غذایی مورد ارزیابی قرار گرفته است که در این بین استفاده از فیلم‌های ضدمیکروبی همراه با سایر هردل‌ها ضمن حفظ کیفیت و طراوت محصول بعنوان یک مهار کننده نهایی رشد میکروارگانیسم‌ها معرفی شده است (Muriel- Galet et al ., 2012).

فیلم‌های ضدمیکروبی علاوه بر نوآوری در بخش علمی، در مقیاس صنعتی مورد استقبال مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان جهت به تضمین سلامت مصرف‌کنندگان قرار گرفته است. لذا هدف از این پژوهش تولید فیلم زیست‌فعال زئین حاوی اسانس آویشن شیرازی و ارزیابی اثر عملکرد فیلم تولیدی در محیط آزمایشگاهی و یک مدل غذایی (سالاد الویه) در مواجهه با باکتری‌های تهدید کننده سلامت مصرف‌کنندگان بود.

مواد و روش

مواد

مواد مورد استفاده در این پژوهش آزمایشگاهی شامل زئین شرکت تولیدی مواد شیمیایی نیپون (اوساکا، ژاپن)، گلیسرول (اسکارلب، اسپانیا)،گیاه آویشن شیرازی (مزارع استان فارس)، اتانول (اسکارلب، اسپانیا)، تریپتون سوی براث (اسکارلب، اسپانیا)، تریپتون سوی آگار[1] (اسکارلب، اسپانیا)، ویولت رد بایل آگار[2] (اسکارلب، اسپانیا)، لیستریا پالکام آگار[3] (مرک، آلمان) بودند.سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در پژوهش حاضر شامل *listeria innocua* CECT (ATCC 19114) 934 از دسته باکتری‌های گرم مثبت و*Escherichia coli* CECT 434 (ATCC 25922) از دسته باکتری‌های گرم منفی که از مرکز کلکسیون میکروبی اسپانیا تهیه شد.

استخراج اسانس

سرشاخه‌های هوایی گیاه آویشن شیرازی استان فارس قبل از گل‌دهی برداشت و پس از تائید گروه گیاه‌شناسی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی با نام علمی آن . *Zataria multiflora Boiss* خشک گردید و به روش تقطیر با بخار آب در مدت ۳ ساعت با استفاده از سیستم کلونجر اسانس‌گیری شد.آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی انجام شد. دستگاه طیف سنج جرمی با ستون موئینه DB5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد و همراه با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان گاز هلیم ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود. طیف سنجی جرمی به روش یونیزاسیون الکترونی با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت (*et al.*,2013Elizaquível).

1Tryptone Soy Agar (TSA)
2Voilet Red Bile Agar
3 Listeria PalcamAgar

www.SID.ir

Archive of SID

آماده‌سازی فیلم

بر اساس آزمایشات اولیه محلول ۱۶ درصد وزنی- وزنی زئین در اتانول ۸۰ درصد تهیه و به مدت یک ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه حرارت داده شد. در ادامه گلیسرول به‌عنوانرم‌کننده (۰/۱۵درصد وزن زئین) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کاملاً همگن شد. محلول حاصل روی صفحه شیشه‌ای پوشیده از ورقه نازک پلی‌پروپیلن پخش و در تونل مجهز به منبع حرارتی به‌مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. فیلم زئین فعال نیز مطابق روش فوق آماده شد، با این تفاوت که پس از افزودن گلیسرول به مدت ۸ دقیقه عمل هم زدن صورت گرفت و در ادامه اسانس آویشن در سطح ۵ و ۱۰ درصد نسبت به وزن زئین اضافه و به مدت ۷ دقیقه هم زدن انجام شد.

ارزیابی خواص ضد باکتریایی اسانس به‌روش میکرو پلیت

به‌منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد اسانس آویشن از روش رقیق‌سازی در چاهک‌های در میکرو پلیت استفاده شد (NCCLS, 2000).

ارزیابی خواص ضد باکتریایی بخار اسانس آویشن شیرازی و فیلم زیست فعال زئین

۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی *Escherichia coli* و *listeria innocua* با استفاده از سوآپ استریل، روی محیط کشت تریپتون سوی آگار پخش گردید. دیسک‌های کاغذی استریل به قطر ۴ سانتی‌متردر سطح فوقانی پلیت‌ها چسبانده و اسانس آویشن در مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰میکرولیتر اضافه شد. در ادامه جهت کاهش خروج ترکیبات فرار موجود در اسانس، هر یک از پلیت‌ها با پارافیلم محصور و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند (Muriel- Galet *et al* ., 2012).

فیلم‌های زیست فعال بر پایه زئین به قطر ۴ و ۸ سانتی‌متر مشابه روش اشاره شده در فوق آماده و به درب پلیت‌ها برای ارزیابی خاصیت بازدارندگی بخار اسانس آویشن، بدون تماس مستقیم با میکروارگانیسم، چسبانده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. نتایج فعالیت ضدمیکروبی در فاز بخار نیز بر اساس شدت تأثیرگذاری ترکیب ضد میکروبی با اصطلاحاتی نظیر بازدارندگی کامل (+++) در شرایطی که رشد باکتری‌ها بطورکامل متوقف گردد، بازدارندگی نسبی (++) در مواردی که اندکی رشد میکروبی مشاهده گردد، کاهش قابل مشاهده در دانسیته میکروبی (+) زمانی که در مقایسه با نمونه شاهد رشد باکتری‌های اندکی تقلیل یابد و در نهایت فاقد بازدارندگی (-) بدین مفهوم که باکتری‌ها بطور کامل رشد نمایند (Gomez- Esteca *et al* ., 2010).

ارزیابی خواص ضدباکتریایی فیلم زیست فعال زئین در محیط مایع آزمایشگاهی

۰/۲۵ گرم از فیلم زیست‌فعال زئین حاوی اسانس آویشن در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول تریپتون سوی برات قرار داده شد و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی در فاز لگاریتمی (جمعیت میکروبی تقریبی 10^5CFU/ml) اضافه و پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تعداد میکروب‌ها شمارش شدند (Muriel- Galet *et al* ., 2012).

ارزیابی خواص ضد باکتریایی فیلم زیست فعال زئین در مدل غذایی

بمنظور ارزیابی کارایی فیلم زیست فعال زئین حاوی ۱۰ درصد اسانس در مدل غذایی (سالاد الویه) نمونه‌های به شرح زیر آماده شدند.

سالاد الویه بسته‌بندی شده در فیلم زئین فاقد اسانس (نمونه شاهد)

سالاد الویه بسته‌بندی شده فیلم زئین حاوی اسانس آویشن (نمونه فاقد تلقیح باکتریایی)

سالاد الویه بسته‌بندی شده در فیلم زئین حاوی اسانس آویشن (نمونه حاوی تلقیح باکتریایی)

پس از آماده‌سازی بسته‌ها در دمایی خچال به‌مدت ۶ روز نگهداری و آزمون‌های میکروبی مطابق روش Murial Galat و همکاران (۲۰۱۲) در روز اول، سوم و ششم انجام شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاًتصادفی با ۳ تکرار اجرا شد و تجزیه و تحلیل نتایج آن با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه دانکن در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن شیرازی

بر اساس طیف‌سنجی جرمی انجام شده ۱۴ ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی از شناسایی و در جدول ۱ خلاصه شد. کارواکرول (۳۷/۲۲ درصد) بیش‌ترین ترکیبات اصلی شناسایی شده اسانس بود. پس از آنتیمول (۲۸/۴۱ درصد)، گاماترپینن (۷/۱۴ درصد) و آلفاپینن (۴/۲۶درصد) بودند. مشتقات فنیل پروپانوئیدها بیش‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی بودند. خواص ضدمیکروبی آویشن و پونه‌کوهی به‌حضور ترکیبات فنولی به‌ویژه تیمول و کارواکرول بستگی دارد.

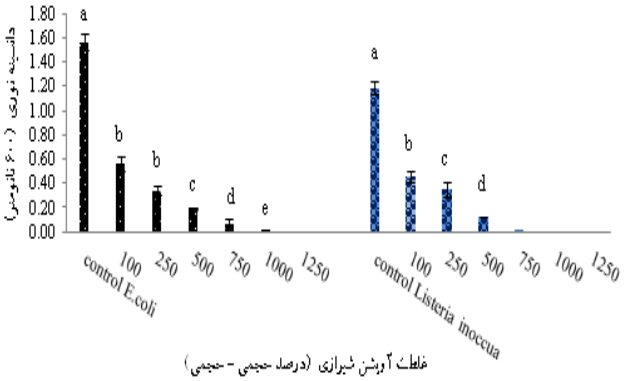
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- ترکیبات قابل شناسایی اسانس آویشن شیرازی با استفاده از طیف سنج جرمی

ترکیب	مقدار (٪)	شاخص بازداری
توژن	۰/۲۹	۹۳۰
آلفا پینن	۴/۲۶	۹۳۷
بتا پینن	۰/۶	۹۷۶
بتا میرسین	۰/۸۵	۹۸۵
پی‌سیمن	۳/۲۷	۱۰۲۴
گاما ترپنین	۷/۱۴	۱۰۵۵
آلفا ترپینن	۲/۲۳	۱۰۶۱
لینالول	۱/۶۳	۱۰۹۰
آلفا ترپینول	۰/۷۷	۱۲۰۹
تیمول متیل استر	۱/۴۷	۱۲۳۶
کارواکرول متیل استر	۳/۴۹	۱۲۴۳
کارواکرول	۳۷/۲۲	۱۳۱۴
تیمول	۲۸/۴۱	۱۴۱۸
گلوبوبول	۲/۳۲	۱۵۸۲
مجموع	۹۳/۹۵	-

بر اساس داده‌های دانسیته نوری، حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی در برابر *Escherichia coli* و *listeria innocua* به‌ترتیب ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (شکل ۱).



شکل ۱- متوسط جذب نور ناشی از *Escherichia coli* و *listeria innocua* درغلظت‌های مختلف اسانس آویشن

با مقایسه نتایج حاصل باگزارش *Elizaquível* و همکاران (۲۰۱۳) می‌توان بیان داشت که حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی در مقایسه دارچین، میخک و پونه کوهی علیه *monocytogeneslisteria* و *Escherichia coli* پایین‌تر بود. اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن به ساختار کارواکرول و تیمول، توانمندی این ترکیبات در برقراری پیوندهای هیدروژنی، ترکیب آن‌ها با سایر مونوترپن‌ها نظیر گاماترپنین‌ها و بروز اثرات سینرژیستی نسبت داده می‌شود که در نهایت منجر به بی‌ثباتی غشاء سلولی باکتری می‌گردد (Elizaquível *et al*., 2013).

خواص ضد باکتریایی بخار اسانس آویشن در محیط آزمایشگاهی

تبخیر ترکیبات ضدمیکروبی و مهاجرت آن به فضای خالی بسته‌بندی یک مزیت ویژه برای کاهش بار میکروبی مواد غذایی در مقایسه با ترکیبات ضد میکروبی غیرفرار محسوب می‌گردد (Han., 2000). نتایج حاصل از تأثیر بخار اسانس آویشن شیرازی در محیط جامد در جدول۲ نشان داده شده است. همان‌طوری که جدول ۱ مشاهده می‌شود، بازدارندگی ناشی از تبخیر اسانس آویشن شیرازی بر *listeria innocua* در غلظت ۵۰ و ۷۵ میکرولیتر بیش از *Escherichia coli* بود. در تفسیر علت این پدیده می‌توان بوجود دیواره لیپوپلی‌ساکارید در باکتری‌های گرم منفی اشاره کرد که از ورود ترکیبات فعال به غشاء سیتوپلاسمی ممانعت به‌عمل می‌آورد (Bozin *et al*., 2007). هم‌چنین وجود آنزیم‌ها در فضای پری‌پلاسمیک باکتری‌های گرم منفی سبب شکستن ترکیبات ضد میکروبی و جلوگیری از ورود آن به درون سلول می‌گردد. این در حالی است که باکتری‌های گرم مثبت فاقد فضای پری پلاسمیک هستند و ترکیبات ضد میکروبی به آسانی دیواره سلول و غشاء سیتوپلاسمی را تخریب و منجر به خروج سیتوپلاسم از سلول می‌گردد. ترکیبات ضدمیکروبی بسته به ماهیت آن‌ها، مکان‌هایی خاصی از میکروارگانیسم را مورد هدف قرار می‌دهند (Burt.,2004). اسانس‌ها با اتصال به بخش‌های لیپیدی باکتری‌ها، نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی را افزایش می‌دهند که این پدیده منجر به خروج یون‌ها و اجزاء سلولی می‌گردد (Estaca Gómez-*et al*., 2010). نتایج پژوهش حاضر حاکی از کاهش قابل مشاهده در دانسیته (+) دو باکتری فوق با استفاده از ۲۵ میکرولیتر از اسانس آویشن شیرازی بود. محدوده بازدارندگی در برابر باکتری *listeria innocua* با افزایش مقدار اسانس مصرفی به ۵۰ میکرولیتر افزایش (++)یافت. درحالی‌که در باکتری *Escherichia* تنها کاهش دانسیته میکروبی (+) مشاهده گردید. حداقل غلظت لازم اسانس برای بروز اثرات ضد میکروبی مطلوب در برابر *Escherichia coli* بیش از ۵۰ میکرولیتر بود. محدوده بازدارندگی بخار حاصل از ۷۵ میکرولیتر اسانس در برابر *listeria innocua* (+++) بیش از *Escherichia coli* (++) بود. بیش‌ترین محدوده بازدارندگی باکتریایی ناشی از بخار اسانس، بازدارندگی کامل (+++)، در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بازدارندگی بخار اسانس علیه *Escherichia coli* در محیط جامد با افزایش غلظت اسانس از ۵۰ به ۱۰۰ میکرولیتر افزایش یافت که از این حیث باگزارش *Tajkarimi* و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تأثیر مقدار اسانس آویشن بر مهار رشد باکتریایی در فاز بخار

مقدار اسانس آویشن (میکرولیتر)	*listeria innocua*	*Escherichia coli*
۲۵	+	+
۵۰	++	+
۷۵	+++	++
۱۰۰	+++	+++

در ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها در تماس مستقیم با محیط جامد، ضریب نفوذپذیری و قدرت انحلال آن‌ها تعیین‌کننده شدت اثر می‌باشد، درحالی‌که در تماس غیرمستقیم اسانس با محیط جامد، میزان فراریت ترکیبات اسانس نقش مهم ایفا می‌کنند. اثرات ضد باکتریایی فاز بخارهای اسانس مرکبات در محیط جامد (Tyagi *et al*., 2010)، پونه کوهی (Muriel- Galet *et al* ., 2012)، آویشن و مرزنجوش (Lopez *et al*., 2007) و (Guynot *et al*., 2003)، میخک و دارچین (Suher *et al*., 2003) مورد ارزیابی قرار گرفته است. حداقل غلظت بخارات اسانس پونه کوهی (۵۰ میلی‌گرم) برای بروز بازدارندگی کامل باکتریایی (+++) در مقایسه با اسانس مرکبات (۷ میلی‌گرم) بیش‌تر گزارش شده است (Muriel- Galet *et al* ., 2012) لذا بر این اساس می‌توان بیان داشت که حداقل غلظت مورد نیاز اسانس آویشن شیرازی برای بروز اثرات بازدارندگی در تماس غیرمستقیم (فاز بخار) نسبت به اسانس مرکبات و پونه‌کوهی بالاتر بود.

خواص ضدباکتریایی فیلم زیست فعال زئین

خواص ضدباکتریایی بخار اسانس فیلم زیست فعال زئین

نتایج تأثیر غلظت ۵ و ۱۰ درصد اسانس آویشن شیرازی در فاز بخار در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، فاز بخار اسانس فیلم زیست فعال زئین حاوی ۵ درصد اسانس آویشن شیرازی در قطر ۴ سانتی‌متری، فاقد اثرات بازدارندگی در مقابل *Escherichia coli* و *listeria innocua* بود. با افزایش غلظت اسانس (۱۰ درصد) و سطح مقطع (۸ سانتی‌متر) فیلم زیست فعال زئین، در مقایسه با نمونه شاهد کاهش دانسیته میکروبی در برابر *Escherichia coli* و *listeria innocua* مشاهده شد. لازم به ذکر است که فیلم زئین بدون اسانس، فاقد هرگونه فعالیت ضد باکتریایی بود.

یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج Muriel-Galet و همکاران (۲۰۱۲) مبنی بر افزایش شدت ضدمیکروبی فاز بخار اسانس پونه کوهی در بستر اتیلن وینیل الکل در مقایسه با دیسک‌های کاغذی حاوی اسانس مطابقت نداشت. در خصوص تفسیر نتایج فوق، ضمن در نظر گرفتن شدت فراریت ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس آویشن و با استناد به استدلال‌های Murirel- Galet و همکاران (۲۰۱۲) مبتنی بر تأثیر بستر الحاق اسانس در قدرت فراریت و انتشار می‌توان بیان داشت که به سبب ماهیت آب‌گریزی پلی‌مر زئین، ترکیبات مؤثر اسانس آویشن در ساختار فیلم محبوس و قدرت رهایش در محیط اطراف کاهش و در نتیجه اثرات ضد میکروبی در فاز تبخیر نیز کاهش یافت. علی‌رغم عدم مطابقت نتایج این تحقیق با Murirel- Galet و همکاران (۲۰۱۲) مبنی بر افزایش اثرات ضدمیکروبی فاز بخار اسانس در ترکیب با فیلم زیست فعال، اما در اصل مبحث که همانا نقش بستر در بروز عوامل ضد میکروبی اتفاق نظر وجود داشت. بدین مفهوم که محققان فوق اختلاف ماهیت دیسک‌های کاغذی و اتیلن وینیل الکل بر مهار نسبی تبخیر اسانس اثرگذار معرفی کردند. در حالی‌که در تحقیق حاضر احتمالا آب‌گریزی بیش‌تر زئین در مقایسه با دیسک‌های کاغذی (سلولزی)، سبب مهار تأثیر ضدمیکروبی در فاز بخار اسانس گردیده است.

جدول ۳- تأثیر غلظت اسانس در ترکیب فیلم زئین بر مهار رشد باکتریایی در فاز بخار

قطر فیلم	نوع باکتری	محدوده بازدارندگی		
		فیلم فاقد اسانس	فیلم حاوی ۵ ٪ اسانس	فیلم حاوی ۱۰ ٪ اسانس
۴ سانتی‌متر	*listeria innocua*	-	-	-
	Escherichia coli	-	-	–
۸ سانتی‌متر	*listeria innocua*	-	-	+
	Escherichia coli	–	–	+

(–) فاقد اثر بازدارندگی، (+)کاهش قابل مشاهده در دانسیته میکروبی .

خواص ضدباکتریایی فیلم زیست فعال زئین در محیط مایع

اثر ضد باکتریایی فیلم‌های زیست فعال زئین حاوی اسانس آویشن شیرازی در محیط تلقیح شده *listeria innocua* و *Escherichia coli* پس از ۶ روز نگهداری در محیط مایع در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ارزیابی شدند. نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن بود که تعداد کلنی‌های قابل شمارش *listeria innocua* و *coli* در محیط مایع حاوی فیلم زیست فعال زئین با ۵ در صد اسانس آویشن شیرازی به‌ترتیب دارای ۷/۰۶Log CFU/ml و ۷/۷۳ بود که با شمارش تعداد باکتری‌های تلقیح شده در نمونه شاهد، اندیس کاهش لگاریتمی *listeria innocua* و *Escherichia coli* به‌ترتیب ۱/۱۴ و ۱/۳۹ محاسبه گردید. با افزایش غلظت اسانس در فیلم زئین فعال، اندیس کاهش لگاریتمی در برابر *listeria innocua* و *Escherichia coli* به‌ترتیب به ۲/۷۵ و ۳/۰۷ افزایش یافت. همان‌طوری که در جدول ۴ مشاهده می‌شود از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین

www.SID.ir

Archive of SID

انـدیس کـاهش *Escherichia coli* و*listeria innocua* در سـطح احتمال ۵ درصد وجود نداشت.

جدول ٤- اثر ضد باکتریایی فیلم زیست فعال زئین در برابر *Escherichia coli* و *listeria innocua* در محیط مایع

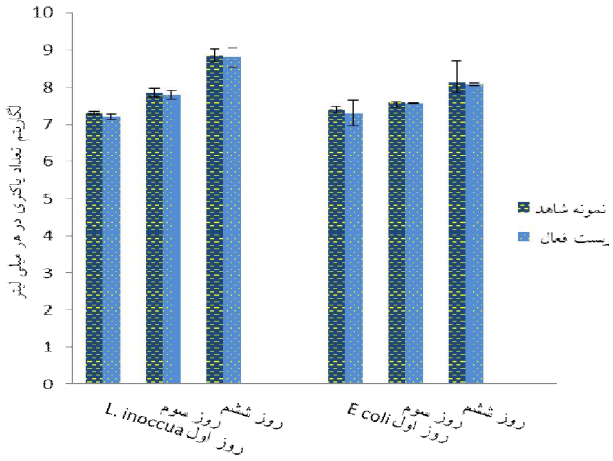
	listeria innocua		*Escherichia coli*	
	Log CFU/ml	LRV	Log CFU/ml	LRV
شاهد میکروبی* (A)	۷/۰۶±۰/۲۴		۷/۷۳±۰/۳۶	
۵٪ اسانس آویشن	۵/۹۲ ±۰/۲۱	۱/۴ a**	۶/۳۴±۰/۱۲	۱/۳۹a
شاهد میکروبی* (B)	۷/۳۵±۰/۱۵		۶/۲۰±۰/۷۷	
۱۰٪ اسانس آویشن	۴/۶۰±۰/۳۲	۲/۷۵b	۳/۱۲±۰/۴۹	۳/۰۷b

**حروف غیرمشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داراست (P<۰/۰۵)

*شاهد میکروبیA و B به‌ترتیب نمونه شاهد بار میکروبی فیلم حاوی ۵ و ۱۰ درصد فیلم حاوی اسانس

خواص ضدباکتریایی فیلم زیست فعال زئین در مدلغذایی

در راستای ارزیابی اثر بخشی فیلم زئین فعال در بسته‌بندی سالاد الویه، در گام نخست آزمون‌های میکروبی عدم حضور *Escherichia coli* و *listeria innocua* در محصول اولیه تایید شد. همان‌طوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، تعداد *listeria* innocua قابل شمارش نمونه شاهد آلوده در روز نخست پس از تلقیح برابر ۷/۳۳ ±۰/۰۲CFU/ml بود. مقایسه اندیس لگاریتم کاهشی فیلم زیست فعال حاوی ۱۰ درصد اسانس آویشن (۷/۲۳ ±۰/۰۸ CFU/ml) با نمونه شاهد حاکی از عدم کاهش معنی‌دار بود. نتایج بررسی سالاد الویه تلقیح شده به *listeria innocua* و بسته‌بندی شده با فیلم فعال زئین در روز سوم حاکی از افزایش ۰/۵۶ لگاریتمی جمعیت میکروبی (۷/۷۹ ±۰/۱۱ CFU/ml) نسبت به روز اول بود. مقایسه اندیس کاهش لگاریتمی با نمونه شاهد (۷/۸۶ ±۰/۱۰ CFU/ml) نشان داد که جمعیت میکروبی ۰/۰۶ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. جمعیت و *listeria innocua* در روز ششم نگهداری سالاد الویه بسته‌بندی شده در فیلم فعال زئین و فیلم شاهد به ترتیب ۸/۸۱ ±۰/۲۴۰CFU/ml و ۸/۸۶ ±۰/۱۷ شمارش شد. همان‌طوری که در شکل ۲ نشان داده شده است جمعیت *Escherichia coli* در طی شرایط نگهداری کاهش معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد مشاهده نشد. بنابراین بر اساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان اظهار داشت که فیلم فعال زئین علی‌رغم اثر بخشی در محیط آزمایشگاهی از کارائی لازم به‌منظور کنترل جمعیت باکتریایی در مدل واقعی غذایی برخوردار نبود.در تفسیر علت کاهش کارائی خواص ضد میکروبی در یک سیستم واقعی غذایی می‌توان بیان داشت که عوامل متعددی علاوه بر نوع میکروارگانیسم هدف در بروز این پدیده دخالت دارندکه در این میان ویژگی های محصول غذایی نظیر pH، فعالیت آبی، مقدار چربی و پروتئین، آنتی‌اکسیدان، نمک و همچنین عوامل خارجی (دمای نگهداری و ترکیبات اتمسفر) نقش به‌سزایی دارند (Burt., 2004) و Quintavalla *et al*., 2002). با توجه به این که سالاد الویه حاوی پروتئین (سیب‌زمینی و گوشت مرغ) و چربی (سس مایونز) می‌باشد، ترکیبات فعال اسانس می‌توانند به سبب برهم‌کنش‌هایی با مواد تشکیل‌دهنده سالاد الویه خنثی گردند. از طرفی دیگر کاهش مقدار آب در مدل غذایی در مقایسه با محیط کشت مایع آزمایشگاهی می‌تواند دسترسی ترکیب ضد میکروبی را به باکتری کاهش دهد (Smith-Palme *et al*., 2001). هم‌چنین حضور منبع غنی و قابل دسترس ترکیبات مغذی در مدل غذایی می‌تواند در ترمیم سلول‌های آسیب‌دیده باکتری کمک نماید (Gill *et al*., 2002). ضمن آن‌که بر اساس گزارش Marcos و همکاران (۲۰۱۳) نوع فیلم بسته‌بندی، ماهیت غذا، نوع و غلظت ترکیب ضد میکروبی در کارایی بسته‌بندی فعال نیز مؤثر می‌باشد. همچنین کاهش خواص ضد میکروبی فیلم زئین فعال به‌عنوان یک پلی‌مر پروتئینی آب‌گریز را می‌توان به محبوس شدن احتمالی ترکیبات فعال اسانس در بستر پلی‌مری و کاهش رهایش آن‌ها نیز نسبت داد.



شکل ۲- ارزیابی خواص ضدباکتریایی فیلم زیست فعال زئین (۱۰٪ اسانس آویشن) در مدل غذایی (سالاد الویه)

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

نقش ماهیت پلی‌مر در بروز فعالیت ضد باکتریایی از طریق بخارات اسانس آویشن شیرازی مورد تایید قرار گرفت. فعالیت ضدباکتریایی بخارات اسانس آویشن در ترکیب با زیست پلی‌مر زئین کاهش یافت.علی‌رغم نتایج ضدمیکروبی ضعیف فاز بخار فیلم فعال در محیط جامد، این ترکیب به‌عنوان یک افزودنی طبیعی در ترکیب با پلی‌مر زئین در تماس مستقیم در محیط مایع از کفایت لازم برخوردار بود. نظر به اهمیت کنترل جمعیت میکروبی و تضمین امنیت مواد غذایی با تکیه بر رهایش ترکیبات فعال در مدل‌های واقعی غذایی می‌توان اظهار کرد که فیلم زئین حاوی اسانس به‌عنوان تکنولوژی هردل در کنترل رشد لگاریتمی *Escherichia coli* و *listeria innocua* تلقیح شده در سالاد الویه مثبت ارزیابی نگردید و نقش نوع فیلم، خواص و ماهیت ترکیبات ضد میکروبی و هم‌چنین ماهیت ماده غذایی مورد هدف در چگونگی عملکرد فیلم‌های فعال ضدمیکروبی قابل توجه معرفی گردید.

قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و گروه بسته‌بندی IATA والنسیا به‌ویژه دکتر رافائل گابارا، گرسیا لوپز- کاربایو و ویرجینیا موریل‌گلت که با فراهم آوردن امکانات تحقیق و حمایت‌های علمی مرا یاری کردند، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

Abdollahi, M., Rezaei, M & Farzi, G., 2012, A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*,111(2), 343-350.

Aguirrea, A., Borneoa, R. B & Leon, A. E., 2013, Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience*,1, 2-9.

Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H & Abdollahi, M., 2014,Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogen.*Food Control*, 36, 1-7.

Bagamboula, C., Uyttendaele, M & Debevere, J., 2004,Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and Shigella flexner. *Food Microbiology*, 21(1), 33-42.

Beaufort, A., 2011, The determination of ready-to-eat foods into Listeria monocytogenes growth and no growth categories by challenge tests. *Food Control*,22(9), 1498-1502.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I & Jovin, E., 2007, Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of agriculturl and food chemistry*, 55(19), 7879-7885.

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

Elizaquível, P., Azizkhani, M., Sánchez, G & Aznar, R., 2013, Evaluation of Zataria multiflora Boiss. essential oil activity against Escherichia coli O157:H7, Salmonella enterica and Listeria monocytogenes by propidium monoazide quantitative PCR in vegetables. *Food Control*, 34(2), 770-776.

Gill, A., Delaquis, P., Russo, P& Holley, R., 2002, Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International Journal of Food Microbiology*, 73(1), 83-92.

Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C&Montero, P., 2010, Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7), 889-896.

Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J & Galotto, M. J., 2011, The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *International Journal of Food Microbiology*,146(2), 144-150.

Guynot, M., Ramos, A., Seto, L., Purroy, P., Sanchis, V & Marin, S., 2003, Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. Journal *of Applied Microbiology*, 94(5), 893-899.

Han, J. H., 2000, Antimicrobial food packaging. Food Technology, 54, 56-65 .

Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M &Ghavi, F. F., 2013, Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. *Food Chemistry*, 136(3–4), 1490-1495.

Lopez, P., Sanchez, C ,.Batlle, R& Nerin, C., 2007, Vapor-Phase Activities of Cinnamon, Thyme, and Oregano Essential Oils and Key Constituents against Foodborne Microorganisms. *Journal of Agriculture and Food*

www.SID.ir

Archive of SID

Chemistry, 55(11), 4348-4356.

Luber, P., 2009, Cross-contamination versus undercooking of poultry meat or eggs—which risks need to be managed first?.*International Journal of Food Microbiology*, 134(1–2), 21-28.

Marcos, B., Aymerich, T., GarrigaM. & Arnau, J., 2013, Active packaging containing nisin and high pressure processing as post-processing listericidal treatments for convenience fermented sausages. *Food Control*, 30(1), 325-330.

Moradi, M., Tajik, H., Razavi Rohani, S. M., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J & Hadian, M., 2012, Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. LWT- *Food Science and Technology*, 46(2), 477-484.

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

Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H& Kruse, H., 2010, Food-borne diseases — The challenges of 20years ago still persist while new ones continue to emerge. International Journal of *Food Microbiology*, 139, S3-S15.

Quintavalla, S & Vicini, L, 2002, Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Science, 62(3), 373-380.

Razavilar, V., Akhoundzadeh Basti, A., Abbasifar, R & Radmehr, B., 2006, Effect of zataria multiflora Boiss. essential oil, acetic acid, temperature and storage time on probabl growth of salmonella typhimurium in Brain heart infusion broth. *Journal of veterinary research*, 61(2), 135-141.

Rubilar, J. F., Cruz, R. M. S., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I & Vieira, M. C., 2013. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering*,115(4), 466-474.

Salarbashi, D., Tajik, S., Aliabadi, S. S., Ghasemlou, M., Moayyed, H., Khaksar, R & Shahidi Noghabi, M., 2014, Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporated Zataria multiflora Boiss. and Mentha pulegium essential oils. *Food Chemistry*,146, 614-622.

Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S. M & Khaksar, R., 2014, Characterization of κ-carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 101(0), 582-591.

Smith-Palmer, A., Stewart, J & Fyfe, L., 2001, The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18(4), 463-470.

Suhr, K. I & Nielsen, P. V., 2003, Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of AppliedMicrobiology*, 94(4), 665-674.

Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A & Cliver, D. O., 2010, Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9), 1199-1218.

Tyagi, A. K & Malik, A., 2010, Antimicrobial action of essential oil vapours and negative air ions against Pseudomonas fluorescens. *International Journal of Food Microbiology*, 143(3), 205-210.

Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, K. P & Biliaderis, C. G., 2009, Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 82(3), 338-345.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 2, June. July. 2016, p. 276- 285

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۵ ص.۲۸۵-۲۷۶

Performance of antimicrobial bio active zein film against *Escherichia coli* and listeriainnocua during storage of Olivier salad

M. Kashiri[1]

Received: 2014.09.05
Accepted: 2015.01.04

Introduction: Antimicrobial packaging is a novel preservation technology that is designed base on releaseing of active agents incorporated with the packaging polymer into the packaged food or the surrounding environment for improveing the quality and food safety. Zein, water insoluble proteinof cornof corn, reported to be thermoplastic material with high tensile strength, excellent hydrophobic film, biodegradability.Zataria multiflora Boiss. (Z) is a thyme-like plant belonging to the Laminaceae family that geographically grows wild in central and southern parts of Iran. Antimicrobial activity of Z essential oil (ZEO) has been successfully tested against foodborne pathogens. Most of the studies on antimicrobial packaging mainly focused on the initial screening of newly developed films for ZEO in laboratory media and quantifying the bacterial reductions obtained during storage for different types of packaged food products. it is really important to know the variation in antibacterial activity of the agents when incorporated into the packaging film from its original activity in order to establish the levels that need to be incorporated for effective bacteria inhibition, hence The aims of the present study were to investigate the antimicrobial potential of ZEO incorporated zein film against pathogenic microorganisms inoculated in olivier saladto provide evidence of their applicability in the design of active food packaging systems.

Materials and method: Z was collected in the Shiraz province of Iran and extected by using clevenger type apparatus. Chemical composition ZEO was analyzed by gas chromatography.Antibacterial activity of ZEO was studied in the liquid (direct contact) and solid media (vapour phase) against *Listeriainnocua* and *Escherchia coli* . Zein powder was dissolved in a hydro alcoholic solution to obtain 16% (w/w) films forming solutions. The solution was stirred for at 80 °C using a magnetic stirrer hotplate. Glycerol (15%) was added to the solution and stirred again for 8 min at 30°Cm, then ZEO was added to the polymer solutions in 5% and 10% with respect to polymer content and stirred for 8 min. Films were obtained by casting, the film forming solutions were extended over it using an extension bar and introduced in a drying tunnel equipped with a heat of 2500 W during 20 min. Control zein films were prepared without active agent. To evaluate the efficacy of developed zein films was tested against two bacteria. Prior to the experiment, a loop of each strain was transferred to 10 ml of TSB and incubated at 37 ˚C for 18 h to obtain early stationary phase cells and100 µl of microorganism were inoculated into tubes with 10 ml of TSB. The tubes were then incubated at 37 °C for 18 h and 4 °C for 5 days. As control, zein film without active agent was also used in every experiment. Antibacterial activity of zein films containing 10% ZEO were evaluaterd for packaing of olivier salad as a real food model for 6 days, by performing serial dilutions with peptone and subsequent plating in Palcam Listeria Selective Agar and Brilliant Green Agar for *Listeriainnocua*and*Escherchia coli*respectively. Plates were incubated at 37 °C for 48 hours.

Results and Discussion: GC–MS analysis showed thatthe major compound of ZEO was carvacrol (45.22%). The antimicrobial effects of ZEO in the vapor phase against *Escherchia coli*and *Listeriainnocua*by using the disk diffusion methodshowed that the25 µg of ZEO produced a visible decrease in microbial density retraction zone (+). No inhibition was observed with the addition of lower amounts of the antimicrobial agents, therefore 25 µg was the minimum inhibitory concentration (MIC).Activezein films containing 5% ZEOweren't able to inhibit the growth of the two bacteria in the vapour pase.. When the concentrations of ZEO was increased to 10%, only active films with a diameter of 80 mm (50.24 cm^2)provided a retraction zone (+) against *Listeriainnocua*and *E. coli*. These values were indicative that incorporation of the agent in the zein films produced weaker vapor phase inhibition than its incorporation in the paper disk.The results of this studied showedthat films with 5% ZEO caused a growth reduction of 1.17 log against*Listeriainnocua*and 1.14 log against *Escherchia coli*, while 10% ZEO produced reductions of 2.16 and 2.64 log against *Listeriainnocua*, *Escherchia coli*respectively. There was no significantdifference betweenlog reduction values of ZEO incorporated in zein films against *Listeria innocua*and *Escherchia coli*. And also in the liquid media with

1- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
(*Corresponding author: kashiri.m@gmail.com)

www.SID.ir

Archive of SID

increasing the concentration of ZEO in zein films, the log reduction values were increased against both bactreia. Despite of the excellent antibactrerial effect of ZEO in zein films in direct contact, bio active zein films were not effective enough for reducing the contamination of packaged Olivier.

Keywords: Antibacterial packaging; Zein; Essential oil

www.SID.ir