بررسی اثر بازدارندگی باکتریایی پوشش خوراکی گلوتن تلفیق شده با وانیلین

اعظم اعرابی*[۱]، حسن عبادی دهاقانی[۲]، صدف سعیدی [۳]

۱- مربی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران.
۲- مربی گروه مهندسی پلیمر، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران.
۳- دانش‌آموخته کارشناسی علوم و صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: aarabi@iaush.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۳/۲/٦ پذیرش نهایی: ۹٤/٤/۲۰)

چکیده

در این مطالعه، اثر بازدارندگی وانیلین بر رشد *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با روش انتشار در آگار بررسی شد. برای این منظور، فیلم خوراکی با استفاده از گلوتن گندم به همراه غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ و ٤ درصد وانیلین تهیه گردید و میزان اثر بازدارندگی میکروبی بر اساس وسعت منطقه مهار میکروبی تعیین گردید. نتایج نشان داد غلظت ۰/۵ درصد وانیلین فاقد اثر مهاری بر رشد باکتری‌ها بود، اما فیلم‌های حاوی بیش از ۱ درصد وانیلین برای هر دو باکتری خاصیت مهاری داشتند. وسعت منطقه مهار رشد برای غلظت‌های مختلف وانیلین متفاوت و با افزایش غلظت وانیلین افزایش یافت. همچنین افزایش مقدار وانیلین، سبب افزایش کشش‌پذیری و ازدیاد طول فیلم گردید که علت آن را می‌توان به‌دلیل شبکه ایجاد شده در نتیجه ایجاد اتصالات عرضی و تولید شیف باز حاصل از واکنش بین وانیلین و گلوتن توجیه نمود. مقدار خاصیت ضدباکتریایی فیلم‌ها برای *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* تفاوت معنی‌داری داشت و فیلم وانیلین در مهار این دو باکتری موثر بود.

واژه‌های کلیدی: فیلم خوراکی، گلوتن، *اشریشیا کولای*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، وانیلین

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

رشد میکروارگانیسم‌ها بر روی سطوح مواد غذایی در نتیجه آلودگی پس از فرایند و در طی انتقال و بسته‌بندی آنها می‌تواند منجر به فساد غذاها، افزایش ضایعات و خسارت‌های مالی گردد. استفاده از تکنیک‌هایی چون غوطه‌وری، اسپری کردن و یا اندود کردن سطوح با مواد آنتی‌باکتریال در سطوح مواد غذایی می‌تواند ایجاد تغییرات نامطلوب و رشد میکروب‌ها روی سطوح را محدود نماید اما ممکن است به‌دلیل تبخیر این مواد و یا مهاجرت آنها به توده ماده غذایی از کارایی آنها بکاهد. برای غلبه بر این مسأله و ایجاد یک بسته‌بندی پایا و پایدار، می‌توان بسته‌بندی‌های تلفیق شده با مواد آنتی‌باکتریال را تهیه نمود (Joerger, 2007). مواد با منشا پروتئینی به‌دلیل اینکه ویژگی‌های ممانعتی خوب در مقابل اکسیژن و مواد معطر دارند به‌عنوان مواد بسته‌بندی مناسب با پتانسیل بالا و حاملی برای ترکیبات ضد میکروبی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Ture *et al.*, 2008; Pintado *et al*., 2009; Cuq *et al*., 1998).

یکی از فراوانترین مطالعات انجام شده در مورد پوشش‌های خوراکی، در مورد گلوتن گندم می‌باشد. دلیل عمده آن در دسترس بودن است و به‌عنوان یک محصول جانبی در صنایع نشاسته‌سازی به‌شمار می‌رود و خواص تهیه فیلم در آن مناسب بوده و به‌راحتی قابل پلیمریزاسیون می‌باشد (*et al.*, 2004; Kuktaite *et al.*, Gallstedt 2011) و می‌تواند به‌عنوان یک ممانعت‌کننده مناسب برای اکسیژن در رطوبت‌های نسبی پایین به شمار می‌آید (Gallstedt *et al.*, 2004). با افزودن ترکیبات ضدمیکروبی به پوشش خوراکی و تماس این پوشش‌ها با سطوح مواد غذایی، به‌تدریج این مواد به سطوح ماده غذایی مهاجرت نموده و اثرات خود را بر جای می‌گذارند.

ترکیبات ضدمیکروبی متفاوتی از قبیل اسیدهای آلی، آنزیم‌ها، همچنین عصاره‌های گیاهی، باکتریوسین‌ها و روغن‌ها به‌صورت افزودنی در پلیمرهای زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Pranoto *et al.*, 2005; Seydim *et al.*, 2006). در حال حاضر پوشش‌های خوراکی با منشأ زیستی متفاوت به‌صورت تلفیق‌شده با اسانس‌های گیاهی چون پونه کوهی، آویشن، دارچین، میخک مطالعاتی انجام شده و اثرات آن‌ها بر سویه‌هایی از باکتری *اشریشیا کولای* مورد بررسی قرار گرفته است (Wen-Xian *et al.*, 2011). همچنین در مطالعات دیگر فیلم‌های تهیه شده از سیب به همراه ترکیبات آنتی‌باکتریال گیاهی برای کنترل پاتوژن‌ها بر گوشت انجام شده است (Ravishankar *et al.*, 2009). تانادا- پالمو و همکاران اثر فیلم‌های گلوتنی بر ماندگاری و کیفیت توت‌فرنگی‌های سردخانه‌گذاری شده را مورد بررسی قرار دادند و از پوشش‌ها با عمل غوطه‌وری برای بسته‌بندی میوه استفاده شد. مشخص گردید استفاده از دو لایه پوشش با گلوتن گندم و لیپید (اسید استئاریک، اسید پالمیتیک و موم زنبور عسل) در حفظ کیفیت و تازگی توت فرنگی اثر بهتری داشتند (Tanada- Palmu *et al*., 2005).

پروتئین عمده موجود در آندوسپرم گندم گلوتن می‌باشد. گلوتن از دو قسمت، یکی غیر محلول در الکل یا گلوتنین و دیگری قابل هضم در الکل اتیلیک ۷۰٪ یا گلیادین تشکیل شده است که هر یک دارای ویژگی‌های منحصر به فردی می‌باشند (Payan, 2001). در تهیه فیلم گلوتنی پلاستی سایزرهای متفاوتی مورد آزمایش قرار

www.SID.ir
Archive of SID

گرفتند .همچنین، ترکیبات هیدروفیلیک از قبیل پلی‌ال‌ها (گلیسرول، سوربیتول، پروپان دی ال) و اسید لاکتیک موادی بودند که مورد آزمایش قرار گرفتند و ترکیبات آمفی‌پاتیک نظیر گلیکولیک منواستئارات، استر استیک منوگلیسیرید و استر سوکروز اثر پلاستیک کننده نداشتند. مواد هیدرو فوبیک نظیر اسیدهای چرب و (لوریک، استئاریک، اولئیک) خاصیت ضد پلاستیک کننده داشتند و در نتیجه انعطاف‌پذیری فیلم را کاهش می‌دهند (Irissin – Mangata *et al.*, 2001).

وانیلین یکی از مهمترین ترکیبات طعم‌دهنده در صنایع غذایی می‌باشد که بسته به نوع غذا می‌تواند در غلظت ۵۰ تا ppm ۱۰۰۰ استفاده شود (Kirk- , 2005) Othmer. به علت دارا بودن رایحه و بوی مناسب، از این ماده به عنوان ترکیب معطر (Fragrance) در فرمولاسیون مواد آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. همچنین وانیلین به عنوان یک دئودورانت، توانایی بالایی در محو کردن بوهای نامطلوب داروها و محصولات تمیزکننده بهداشتی و بسیاری از کالاهای ساخته شده از قبیل وسایل پلاستیکی، کالاهای لاستیکی و .... دارد. این ترکیبات شیمیایی دارویی یک طیف وسیعی از کاربردهای دارویی را پوشش می‌دهند (Walton *et al.*, 2003). همچنین با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن به عنوان نگه‌دارنده می‌تواند استفاده شود.. وانیلین هم بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی موثر بوده و نیز در شرایط آزمایشگاهی اثر آن بر مخمرها و کپک‌ها مشخص گردیده است (Fitzgerald *et al.*, 2003) . در پژوهش حاضر، فیلم گلوتن به همراه وانیلین تهیه گردید و پس از انجام آزمون کششی، اثر بازدارندگی فیلم گلوتن حاوی وانیلین بر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد

گندم رقم روشن با درصد پروتئین بالا از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اصفهان تهیه گردید. هیدروکسید آمونیوم، اتانول، گلیسرول، پودر وانیل، محیط کشت نوترینت آگار و نوترینت براث که از شرکت مرک تهیه گردید.

باکتری‌های مورد مطالعه

باکتری‌های مورد مطالعه *اشریشیا کولای* $O_{157}:H_7$ با کد شناسایی ATCC 10536 و *استافیلوکوکوس اورئوس* با کد ATCC 25923 بود که به صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردید.

استخراج گلوتن از گندم

در این مطالعه از گلوتن گندم که به روش شستشو استخراج شده بود برای تهیه فیلم استفاده شد. گندم با آسیاب والسی آزمایشگاهی در آزمایشگاه تبدیل به آرد شد و به‌منظور جدا شدن ذرات درشت آرد به‌دست آمده از الک عبور داده شد سپس با کمک دستگاه گلوتن شوی اتوماتیک گلوتن - گلوتامیک ایندکس ساخت کشور سوئد مدل پرتن ۲۱۰۰ (Perten 2100) استخراج گردید. در مرحله بعد گلوتن به‌دست آمده در آون خلا در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و خلا ۲۰ اینچ جیوه خشک گردید (ISO 21415-2 :2006). به‌منظور جلوگیری از تخریب بافت گلوتنی، عمل خشک شدن در دمای پایین انجام گرفت. گلوتن خشک شده با

Archive of SID
www.SID.ir

آسیاب به پودر بسیار ریزی تبدیل شده و در مرحله بعد برای تهیه فیلم مورد استفاده قرار گرفت.

تولید فیلم آنتی‌باکتریال گلوتن

ابتدا محلول فیلمی تهیه شده و روی سطح صاف که اکثرا از جنس تفلون می‌باشد پخش شده و پس از تبخیر حلال فیلم از سطح جدا گردید (Ture *et al*., 2008). جهت تهیه فیلم محلولی از گلوتن شامل ۹ گرم گلوتن، اتانول ۳۲/۵ میلی‌لیتر، گلیسرول ۱/۵ گرم، به همراه آب مقطر آماده گردید و pH محلول با هیدروکسید آمونیوم در pH= ۱۰ تنظیم شد (Micard *et al*., 2000). تمامی این اجزاء با هم‌زن مغناطیسی تا رسیدن به دمای ۷۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد و مقادیر ۰/۵، ۱، ۲ و ٤ ٪ وانیل به آن اضافه گردید و سپس به مدت ٦ دقیقه در g ۵۰۰۰ در دمای اتاق سانتریفوژ شد. در مرحله نهایی قسمت شفاف به دست آمده روی یک صفحه کاملا صاف تهیه شده از جنس تفلون به‌طور یکنواخت پخش گردید و اجازه داده شد تا به مدت ٢٤ ساعت خشک شود.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی

آمپول‌های لیوفیلیزه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* ابتدا در شرایط سترون باز و به محیط کشت مایع نوترینت براث (Nutrient Broth (NB انتقال و به مدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. سپس یک لوپ از کلنی باکتری برداشته و ٢٤ ساعت قبل از هر آزمون آن را به نوترینت براث تلقیح شد. به‌همین صورت برای هر آزمون جهت بررسی اثرات ضدمیکروبی کشت تازه ٢٤ ساعته تهیه گردید. با استفاده از سمپلر یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی ٢٤ ساعته به لوله حاوی نوترینت براث سترون انتقال داده و سپس کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده، با استفاده از استاندارد مک فارلند تنظیم شده با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ٦٢٥ نانومتر با میزان جذب ۰/۰۸ –۰/۱۳ برابر با (CFU/ml ۱۰^{۸} ×۱/۵)، به صورت چشمی مقایسه گردید. از محیط کشت مولر هینتون آگار برای روش انتشار در آگار (Agar diffusion) با استفاده از دیسک استفاده شد. کلیه محیط‌های کشت بر اساس دستور کارخانه سازنده مرک تهیه و با استفاده از دستگاه اتوکلاو سترون گردید (Ture *et al*., 2008; Wen-Xian *et al*., 2011).

انجام آزمون مکانیکی بر روی فیلم

تست کشش فیلم با استفاده از دستگاه کشش مطابق با استاندارد روش استاندارد ASTM D 882-83 و با سرعت کشش ۵۰ میلیمتر بر دقیقه برای تمامی فیلم‌های تهیه شده با غلظت‌های مختلف وانیلین در دستگاه اینسترون سنتام (Santam) ساخت ایران انجام شد و دو پارامتر استحکام کششی (Tensile strength) و درصد ازدیاد طول تا پارگی فیلم (Percent elongation) مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت بررسی خواص مکانیکی فیلم‌های تهیه شده، نمونه‌های آزمون کشش به‌مدت یک روز در رطوبت نسبی۵۲٪ قرار داده شد (Tanada-Palmu and Grosso, 2002). سپس از هر نمونه پنج فیلم مطابق استاندارد بریده شد و پس از قرار دادن در دستگاه کشش، خواص کششی آنها بررسی شد.

انجام آزمون آنتی‌باکتریال

آزمون فعالیت آنتی‌باکتریال پوشش خوراکی با روش انتشار در آگار انجام شد. ابتدا از فیلم‌های مورد نظر

www.SID.ir
Archive of SID

دیسک‌های دایره‌ای شکل با قطر ۲۰ میلی‌متر به دقت و یکنواخت تهیه شد. قبل از انجام آزمون و به‌منظور ایجاد شرایط استریل در پوشش‌ها، قطعات تهیه شده از فیلم‌ها به‌مدت ۱ ساعت در محفظه مجهز به لامپ UV، در فاصله ۲۰ سانتی‌متر از لامپ به‌صورت مستقیم تیمار شده و سپس قطعات دایره‌ای شکل تهیه شده بر روی محیط کشت نوترینت آگار موجود در پتری که قبلا توسط ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول تلقیح باکتری که محتوی میکروارگانیسم مورد نظر به مقدار 10^{5}-10^{6} cfu/ml تلقیح شده است قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند و بعد از یک روز وضعیت آنتی‌باکتریال آنها مورد بررسی قرار گرفت (Ture *et al.*, 2008; Wen-Xian *et al.*, 2011). قطر منطقه بازداری شده پیرامون فیلم که به صورت یک منطقه شفاف و یا هاله‌ای شفاف ظاهر می‌شود اندازه‌گیری شد و بر اساس آن مقدار اثر آنتی‌باکتریال فیلم بر باکتری مورد نظر ارزیابی گردید.

آزمون‌های آماری

تحقیق به‌صورت طرح آماری کاملا تصادفی و آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل نتایج کلیه آزمایش‌ها با استفاده از برنامه آماری SAS صورت پذیرفت. میانگین و انحراف‌معیار به‌دست آمد و جهت مطالعه اختلاف بین تیمارهای مختلف، از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p<۰/۰۵$) استفاده گردید.

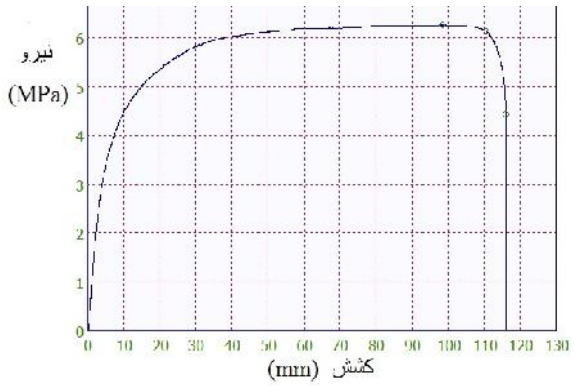
یافته‌ها

آزمون مکانیکی

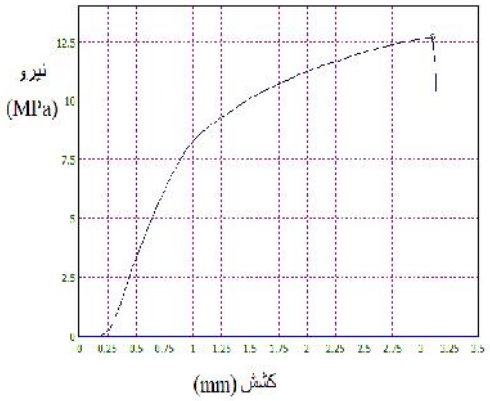
تست کشش فیلم با استفاده از دستگاه کشش مطابق با استاندارد روش استاندارد ASTM D 882-83 و با سرعت کشش ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه برای تمامی فیلم‌های تهیه شده با غلظت‌های مختلف وانیلین و ارزیابی دو پارامتر استحکام کششی و درصد ازدیاد طول تا پارگی فیلم انجام شد. در شکل (۱) نتایج آزمون کشش به‌صورت منحنی تنش- کرنش و به‌منظور مقایسه بهتر نتایج ازدیاد طول در پارگی نمودار ستونی نیز در شکل (۲) نشان داده شده است.

Archive of SID

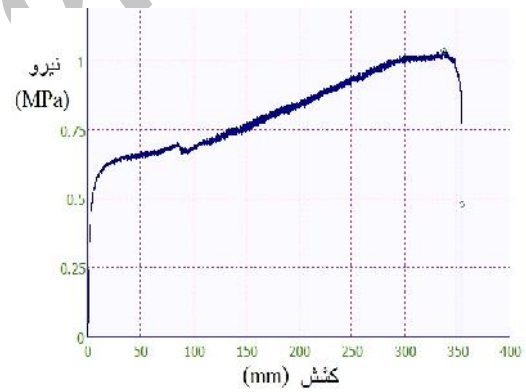
www.SID.ir



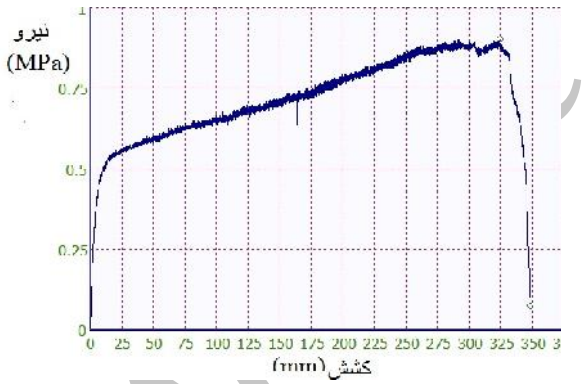
الف- نمونه شاهد (بدون وانیل)



ب- گلوتن + ۰/۵ درصد وانیل



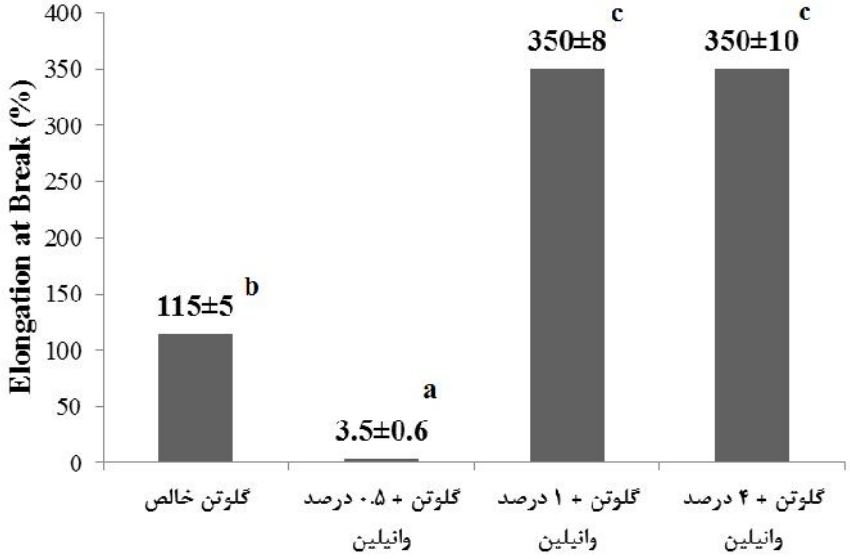
ج- گلوتن + ۱ درصد وانیل



د- گلوتن + ٤ درصد وانیل

شکل (۱)- نتایج آزمون کشش به صورت منحنی تنش- کرنش

www.SID.ir



شکل (۲)- مقایسهٔ ازدیاد طول در پارگی فیلم‌های گلوتن خالص (نمونه شاهد) با نمونه‌های دارای وانیل

a، b و c: حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد

مقادیر انحراف میانگین استاندارد داده‌های هر نمونه نیز روی منحنی مربوطه مشخص شده است. طبق این نتایج، با افزایش درصد وانیل به جز در مورد نمونه ۰/۵٪، میزان ازدیاد طول در پارگی به‌طور چشمگیری افزایش یافته و بین نمونه‌ها شاهد و نمونه حاوی وانیل اختلاف معنی‌داری دیده شد در حالی‌که این تفاوت بین دو نمونه فیلم حاوی وانیل با مقادیر ۱ و ٤٪ معنی‌دار نبود.

آزمون آنتی‌باکتریال

آزمون انتشار در آگار روشی است که برای بررسی اثر بازدارندگی میکروبی و بر اساس انتشار ترکیبات مورد آزمون در پلیت‌های محتوی آگار انجام می‌گیرد. برای این آزمون از نمونه فاقد وانیلین به‌عنوان نمونه شاهد استفاده گردید و اثر آنتی‌باکتریال نمونه‌های محتوی ۰/۵، ۱، ۲، ٤٪ وانیلین بر روی هر دو نوع باکتری گرم منفی (*اشریشیا کولای*) وگرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج حاصل از آزمون انتشار در آگار نشان داد که وانیلین می‌تواند در رشد باکتری *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نقش بازدارندگی ایفا نماید. نمونه فیلم گلوتن شاهد (فاقد وانیل) اثر بازدارندگی بر روی باکتری مورد نظر نشان نداد. این در حال بود که تلفیق وانیل با فیلم گلوتن سبب بروز اثر بازدارندگی بر روی هر دو نوع باکتری گرم منفی و مثبت گردید و در این میان حساسیت باکتری *اشریشیا کولای* بیش‌تر از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود.

با توجه به شکل (۳) می‌توان اثر وانیلین در مهار رشد باکتری *اشریشیا کولای* را مشاهده نمود. در نمونه شاهد که فاقد وانیل است منطقه شفافی مشاهده نگردید و مقایسه آن با تصاویر (د) در شکل (۱) و حضور هاله روشن، موثر بودن وانیل را در این زمینه نشان می‌دهد.

Archive of SID
www.SID.ir

الف- نمونه کنترل (بدون وانیل) قبل از تلقیح با باکتری

ب نمونه فیلم گلوتن محتوی وانیل قبل از تلقیح با باکتری

ج- نمونه شاهد (فاقد وانیلین) تلقیح شده بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری

د نمونه دارای ۴٪ وانیلین ، تلقیح شده بعد از ۴۸ ساعت

شکل (۳)- نمونه‌های فیلم گلوتن شاهد (فاقد وانیلین) و فیلم محتوی ٤٪ وانیل قبل و بعد از تلقیح با باکتری *اشریشیا کولای* و گرمخانه‌گذاری

همانطور که در جدول (۱) مشاهده می‌گردد وسعت منطقه بازداری برای غلظت‌های مختلف متفاوت بوده، به طوریکه برای غلظت ۰/۵٪ وانیلین منطقه بازداری برای دو باکتری قابل تفکیک نیست و این منطقه در غلظت ۱٪ به بالا قابل مشاهده بود بطوریکه با افزایش مقدار وانیل در فیلم، وسعت منطقه شفاف افزایش یافت و بیشترین مقدار قطر هاله و دیسک مربوط به غلظت ٤٪ و برای باکتری *اشریشیا کولای* دیده شد. در مورد نمونه کنترل و نمونه ۰/۵٪ اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ مشاهده نگردید.

www.SID.ir

جدول (۱)- مقایسه اثر بازدارندگی فیلم‌های گلوتنی با مقادیر مختلف وانیلین

غلظت وانیلین (٪)	هاله عدم رشد (cm)	
	اشریشیا کولای	*استافیلوکوکوس اورئوس*
۰/۵	–	–
۱	۲/۸ ±۰/ ۰۳۱[a]	۱/۵ ±۰/ ۰۴[a*]
۲	۳/۰±۰/۰۲ [b]	۲/۴±۰/ ۱۲[b]
٤	۳/٤±۰/۲۵[c]	۲/۵±۰/ ۲۲[b]

* اعداد موجود در جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که افزودن وانیل منجر به افزایش انعطاف‌پذیری در فیلم شده است. میزان کاهش استحکام کششی با افزودن وانیل را می‌توان به نقش ذرات وانیل در تمرکز تنش (Stress Concentration) نسبت داد (Nielsen *et al.*, 1994).

افزایش چشمگیر و وجود تفاوت معنی‌دار در ازدیاد طول در پارگی را می‌توان به افزایش اتصالات عرضی در شبکه گلوتنی مرتبط دانست. تعداد زیادی عوامل ایجاد کننده اتصالات عرضی مانند گلوتر آلدهید، فرمالدهید و ... شناسایی شده‌اند که همگی ترکیبات سمی می‌باشند اما ترکیبی مانند وانیلین علاوه بر ایجاد طعم و آرومای مناسب می‌تواند در این زمینه به عنوان یک ماده مجاز و غیر سمی معرفی گردد. افزایش اتصالات عرضی را به دلیل اثر گروه‌های آلدهیدی موجود در وانیل که با ایجاد اتصالات عرضی با گروه‌های آمین موجود در پروتئین گلوتن ایجاد شیف باز نموده و باعث تشکیل شبکه می‌شوند، نسبت داده می‌شود (Peng *et al.*, 2010).

نتایج نشان می‌دهد که میزان وانیل در تشکیل این شبکه نقش اساسی دارد زیرا در مقادیر کم وانیل (۰/۵ درصد) هیچگونه ازدیاد طولی دیده نمی‌شود.

نتایج این تحقیق در مورد بازدارندگی وانیلین بر *اشریشیا کولای* با نتایج گزارش شده در سال ۲۰۰۹، همسویی داشت با این تفاوت که مقدار کمینه برای ایجاد اثر بازدارندگی در تحقیق آنها ۵٪ برای پوشش‌های کیتوزان گزارش گردید (Rakchoy *et al.*, 2009). وانیلین جزء ترکیباتی است که دارای حلقه فنلی بوده و می‌توان اثر بازدارندگی وانیلین را به آن نسبت داد. ترکیبات فنلی نقش مهمی در جلوگیری از رشد باکتری‌ها دارند (Das *et al.*, 2010). همچنین در پژوهش انجام شده در سال ۲۰۰٤ بازدارندگی وانیلین در سوسپانسیون *اشریشیا کولای* گزارش شد و علت آن را در تغییر شیب پتاسیم در غشاء سلول و تغییر در ذخیره ATP داخل سلولی بیان نمود (Fitzgerald *et al.*, 2004). استفاده از روغن‌های فرار گیاهی و مقایسه آنها با وانیل و وانیلین نشان داد اثر بازدارندگی روغن‌های فرار گیاهی و روغن وانیل بیش از وانیلین است و فیلم‌های تهیه شده از گوجه فرنگی و تلفیق آن‌ها با وانیلین، بر *اشریشیا کولای* اثر بازدارندگی

Archive of SID
www.SID.ir

مشاهده نگردید. نتایج گزارش شده توسط دیگر محققان نیز نشان می‌دهد مقدار غلظت آن برای مهار باکتری‌ها و کپک‌های مختلف متفاوت می‌باشد و بسته به اینکه منشأ پوشش تهیه شده از چه ماکرومولکولی باشد بازداری ناشی از وانیل متفاوت می‌باشد (Wen-Xian *et al.*, 2011). همچنین اثر بازدارندگی وانیلین نسبت به باکتری گرم منفی *اشریشیا کولای* بیش تر از باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده گردید که احتمال می‌رود به دلیل لایه پپتیدوگلیکان و اسید تایکوئیک موجود در دیواره باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد که توانایی مقاومت این باکتری‌ها را به ترکیبات بازدارنده رشد افزایش می‌دهد (Benhammou *et al.*, 2008). در مورد بررسی اثر ضد میکروبی عصاره بنه قطر هاله عدم رشد عصاره بنه (*Pistacia atlantica*) برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۵/۱۶ میلی‌متر و برای *اشریشیا کولای* ۵/۹ میلی‌متر گزارش گردید (Benhammou *et al.*, 2008). در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۰۵ و استفاده از عصاره سیر در فیلم کیتوزان، بازدارندگی کیتوزان و عصاره سیر برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا منوسیتوژنز* بیشتر از *اشریشیا کولای* گزارش گردید (Pranoto *et al.*, 2005). در توجیه این تفاوت مشاهده شده می‌توان گفت پدیده انتشار به اندازه، شکل و قطبیت ماده منتشر شده بستگی دارد. همچنین ساختار شیمیایی و قدرت اتصالات عرضی که ماده مورد نظر با پوشش، آب موجود در اتصال با آگار و همچنین جایگاه‌های فعال باکتری مورد آزمون ایجاد می‌نماید اثر مهمی در نتایج آزمون دارد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از پودر وانیل با غلظت بالاتر از ۱٪ به‌عنوان یک افزودنی در تهیه فیلم گلوتن می‌تواند در بازداری باکتری *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* موثر باشد. به‌دلیل وجود لایه پپتیدوگلیکان نازک در باکتری گرم منفی، حساسیت آن‌ها به وانیلین نسبت به باکتری‌های گرم مثبت بیشتر است. نتایج نشان می‌دهد مقدار غلظت آن برای بازداری باکتری‌ها متفاوت بوده و بسته به اینکه منشأ پوشش تهیه شده از چه ماکرومولکولی باشد می‌تواند در بازداری ایجاد شده توسط وانیلین متفاوت باشد. همچنین به‌دلیل اثر وانیلین در ایجاد اتصالات عرضی با گلوتن، ازدیاد طول فیلم در غلظت ۰/۵ تا ٤ درصد وانیل دیده شد.

سپاسگزاری

هزینه‌های این مطالعه از بودجه طرح پژوهشی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا تأمین گردیده است. لذا نگارنده بر خود لازم می‌داند از زحمات بی‌دریغ معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا و همکاران کمال تشکر و قدردانی را بنماید.

منابع

- Benhammou, N., Atik Bekkara, F. and Kadifkova Panovska, T. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2: 22-28.

www.SID.ir
Archive of SID

- Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. (1998). Proteins as agricultural polymers for packaging production. Cereal Chemistry, 75(1): 1–9.
- Das, K., Tiwari, R.K.S. and Shrivastava, D.K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research, 4(2): 104-111.
- Fitzgerald, D.J., Stratford, M. and Narbad, A. (2003). Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin. International Journal of Food Microbiology, 86: 113-122.
- Fitzgerald, D.J., Stratford, M., Gasson, M.J., Ueckert, J., Bos, A. and Narbad, A. (2004). Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua***.** Journal Applied Microbiology; 97(1): 104-13.
- Gallstedt, M., Mattozzi, A., Johansson, E. and Hedenqvist, M.S. (2004). Transport and tensile properties of compression-molded wheat gluten films. Biomacromolecules, 5(5): 2020–2028.
- Irissin – Mangata, J., Bouduin, G., Boutevin, B. and Gontard, N. (2001). New plasticizers for Wheat gluten films. European polymer journal, 37: 1533-1541.
- International Organization for Standardization (ISO), (2006). Wheat and wheat Flour - Gluten Content -Part 2: Determination Of wet gluten by mechanical means. ISO No. 21415-2: 2006.
- Joerger, R.D. (2007). Antimicrobial films for food applications: A quantitative analysis of their effectiveness. Packaging Technology and Science, 20: 231–273.
- Kirk, O. (2005). Encyclopedia of Chemical Technology; 5th edition, John Wiley & Sons.publication.
- Kuktaite, R., Plivelic, T.S., Cerenius, Y., Hedenqvist, M.S., Gallstedt, M., Marttila, S., *et al*. (2011). Structure and morphology of wheat gluten films: From polymeric protein aggregates toward superstructure arrangements. Biomacromolecules, 12(5): 1438–1448.
- Micard, V., Belamri, R., Morel, M.H. and Guilbert, S. (2000). Properties of chemically and physically treated wheat gluten films. J.Agric.Food Chemistry, 48: 2948-2953.
- Nielsen, E. and Landel, R.F. (1994). Mechanical Properties of Polymers and Composites. Second edition, Marcel Dekker Inc., New York.
- Payan, R. (2001). Introduction of Cereal Technology, Aiezh pub. 2nd Edition.
- Peng, H., Hua Xiong, H., Jinhua Li, J., Xie, M., Yuzhen L., Bai, C., *et al*. (2010). Vanillin cross-linked chitosan microspheres for controlled release of resveratrol. Food Chemistry, 121: 23–28.
- Pintado, C., Ferreira, M. and Sousa, I. (2009). Properties of whey protein-based films containing organic acids and nisin to control Listeria monocytogenes. Journal of Food Protection, 72(9): 1891–1896.
- Pranoto, Y., Rakshit, S.K. and Salokhe, V.M. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT- Food Science and Technology, 38(8): 859–865.
- Rakchoy, S., Suppakul, P. and Jinkarn, T. (2009). Antimicrobial effects of vanillin coated solution for coating paperboard intended for packaging bakery products. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(04): 138-147.
- Ravishankar, S., Zhu, L., Olsen, C.W., Mchugh, T.H. and Mendel Friedman, M. (2009). Edible Apple Film Wraps Containing Plant Antimicrobials Inactivate Foodborne Pathogens on Meat and Poultry Products. Journal of Food Science, 74(8): 440-445.
- Seydim, A. C. and Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International, 39(5): 639–644.
- Tanada-Palmu, P.S. and Grosso, C.R.F. (2002). Edible wheat gluten films: development, mechanical and barrier properties and application to strawberries. B.Ceppa, Curitiba, 20: 291-300.

Archive of SID

www.SID.ir

- Tanada-Palmu, P.S. and Grosso, C.R.F. (2003). Development and characterization of edible films based on gluten from semi-hard and soft Brazilian wheat flours. Ciencia e Tecnologia de Alimentos. Campinas, 23(2): 264-269.
- Tanada-Palmu, P.S. and Grosso, C.R.F. (2005). Effect of edible Wheat gluten –based films and coatings on refrigerated strawberry (Fragaria ananassa) quality. Postharvest Biology Technology, 36: 199-208.
- Ture, H., Eroglu, E., Soyer, F. and Ozen, B. (2008). Antifungal activity of biopolymers containing natamycin and rosemary extract against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii*. International Journal of Food Science and Technology, 43(11), 2026–2032.
- Türe, H., Gallstedt, M. and Hedenqvist , M.S. (2012). Antimicrobial compression-moulded wheat gluten films containing potassium sorbate. Food Research International, 45: 109–115.
- Walton, N.J., Mayer, M.J. and Narbad, A. (2003). Molecules of interest Vanillin. Phytochemistry, 63: 505-515.
- Wen-Xian, D., Roberto, J., Bustillos, A., Sui Sheng, T., Tara, H. and McHugh, T.H. (2011). Antimicrobial volatile essential oils in edible films for food safety,against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. A. Méndez-Vilas,(Editors), pp. 1124-1134.

Archive of SID

www.SID.ir

Antimicrobial effects of edible gluten films incorporated with vanillin

Aarabi, A.[*1], Ebadi-Dehaghani, H.[2], Saiedi, S.[3]

1- Instructor, Department of Food Science and Technology, Shahreza Branch, Islamic Azad University, Shahreza, Iran.
2- Instructor, Department of Polymer Engineering, Shahreza Branch, Islamic Azad University, Shahreza, Iran.
3- Graduate of Food Science and Technology, Shahreza Branch, Islamic Azad University, Shahreza, Iran.
*Corresponding author email: aarabi@iaush.ac.ir
(Received: 2014/4/26 Accepted: 2015/7/11)

Archive of SID

Abstract

This research aimed to evaluate the antibacterial effect of vanillin on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using agar diffusion technique. For this reason, edible films were manufactured from wheat gluten containing 0.5%, 1%, 2% and 4% w/w. The inhibitory effect of the films was assessed based on the surface area of inhibition zone. According to the results, 0.5% of vanillin had no inhibitory effect neither on *E. coli* nor *S. aureus*. However, vanillin concentrations higher than 1% could have antibacterial effect on *E. coli* and *S. aureus*. Results revealed that with the increasing of vanillin concentration, the surface area of inhibition zone was increased. Moreover, the increasing of vanillin concentration could lead to an increase in the extensibility and elongation of the gluten film. Interpenetrating network cross-linking mechanisms might account for the Schiff base reaction between gluten and vanillin. Although significantly different inhibitory effect was observed between *E. coli* and *S. aureus*, the vanillin films were effective on both bacteria.

Key words: Edible film, Gluten, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, Vanillin

www.SID.ir