Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Food Processing and Preservation Journal

Print ISSN: 2423 - 3544
Online ISSN: 2423 - 3803

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

Characterization of physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of gelatin edible films containing oregano essence

Parya Miri[1], Mohammadyar Hosseini[2*], Tayeb Saifi[3]

[1] Bachelor student of food hygiene, Faculty of paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran.
[2] Assistant Professor, Department of Food Technology, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, Email: m.hosseini@ilam.ac.ir
[3] Master of Veterinary Science, Faculty of paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2023-03-18
Revised: 2023-05-14
Accepted: 2023-05-27

Keywords:
Oregano essential oil
Gelatin
Mechanical properties
Antioxidant
Edible film

ABSTRACT

Background and objectives: In order to reduce the use of antibiotics, additives and chemical preservatives, natural antimicrobial substances can be used in the composition of packaging. In the researches related to the production and evaluation of edible films in recent years, the use of essential oils (such as clove, cinnamon, ginger and basil essential oils) for microbial protection, delay food spoilage (chemical and microbial) and reducing food waste has a significant consideration. Films containing gelatin have good mechanical resistance and this substance can be used in the production of edible film due to its gel-forming properties (the presence of proline and hydroxyproline amino acids). Considering the abundance and availability of oregano in our country and considering the cheap price of gelatin, this type of film composition has no research history and can be used in food.

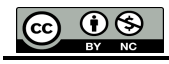
Materials and methods: In this research, the effect of different concentrations of oregano essential oil on properties of gelatin edible film was investigated. The independent variables includes different concentrations of oregano essential oil (0, 1.25, 2.5 and 3.75%) and the dependent variables include physicochemical tests (solubility, vapor permeability, thickness and turbidity), mechanical tests (elongation to the breaking point, tensile strength and Young's model), antioxidant property and antimicrobial activity of edible films. All experiments were performed in three replicates (n=3) with completely random sampling. One-way analysis of variance (ANOVA) and comparison of mean data was performed based on Duncan's multi-range test using Minitab18 software at a probability level of 0.05.

Results: In this research, the highest tensile strength and elongation at break point was 2.5% in the treatment. In the treatments of the films, the lowest solubility and permeability were observed in the concentrations of 3.75% and 1.25% of essential oil, respectively. In all treatments, turbidity was not significant, and in essential oil concentration of 2.5%, it had the highest value among the treatments. The maximum thickness was obtained for film

containing 3.75% essential oil (0.058 mm), which was not significant in all treatments ($p<0.05$). Antioxidant property was significant in all treatments of edible films ($p<0.05$). The largest diameter of the inhibition halo in the disk diffusion method in the presence of film containing 3.75% essential oil was related to *Staphylococcus* aureus with an average of 18.26 mm. The mean halo diameter for *Pseudomonas aerogenesa* and *Escherichia coli* was reported to be 8.27 and 8.9 mm, respectively.

Conclusion: The results of this research showed that adding oregano essential oil to gelatin film at a concentration of 2.5%, in addition to inhibiting the growth and proliferation of bacteria, creating films with sufficient strength which can be used in perishable foods.

Cite this article: Miri, P., Hosseini, M., Saifi, T. 2023. Characterization of physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of gelatin edible films containing oregano essence. *Food Processing and Preservation Journal*, 15 (1), 57-74.



© The Author(s).
DOI: 10.22069/FPPJ.2023.21204.1749
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵۴۴-۲۴۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲۴۲۳

ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی ژلاتین حاوی اسانس پونه

پریا میری[۱]، محمدیار حسینی[۲*]، طیب سیفی[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
[۲] استادیار گروه صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: m.hosseini@ilam.ac.ir
[۳] کارشناسی‌ارشد باکتری شناسی دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۷
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۶

واژه‌های کلیدی:
اسانس پونه
ژلاتین
خواص مکانیکی
آنتی‌اکسیدانی
فیلم خوراکی

چکیده

سابقه و هدف: به منظور کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی می‌توان در ترکیب بسته‌بندی‌ها از مواد ضدمیکروبی طبیعی استفاده نمود. در پژوهش‌های مربوط به ساخت و ارزیابی فیلم‌های خوراکی در سال‌های اخیر استفاده از انواع اسانس (مانند اسانس میخک، دارچین، زنجبیل و ریحان) برای محافظت میکروبی، به تعویق انداختن فساد مواد غذایی (شیمیایی و میکروبی) و کاهش ضایعات غذایی جایگاه قابل توجهی به دست آورده‌اند. فیلم‌های حاوی ژلاتین مقاومت مکانیکی مناسبی دارند و این ماده به دلیل داشتن خاصیت تشکیل ژل(وجود آمینواسیدهای پرولین و هیدروکسی پرولین) می‌تواند در تولید فیلم خوراکی مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به فراوانی و در دسترس بودن پونه در کشورمان و با توجه به قیمت ارزان ژلاتین، این نوع ترکیب فیلم سابقه پژوهشی ندارد و می تواند در مواد غذایی به کار رود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش به بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پونه بر ویژگی‌های فیلم خوراکی ژلاتین پرداخته شد. متغیر مستقل شامل غلظت‌های مختلف اسانس پونه (۰، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۳/۷۵ درصد) و متغیرهای وابسته شامل آزمایشات فیزیکوشیمیایی(حلالیت، نفوذپذیری به بخار، ضخامت و کدورت)، آزمایشات مکانیکی(ازدیاد طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ)، خاصیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های خوراکی بود. تمامی آزمایشات در سه تکرار (n=۳) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار Minitab18 در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته‌ها: در این تحقیق بالاترین میزان استحکام کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست در تیمار ۲/۵ درصد بود. در تیمارهای فیلم‌ها، کمترین میزان حلالیت و نفوذپذیری به ترتیب در غلظت ۳/۷۵ و ۱/۲۵ درصد اسانس مشاهده شد. در تمامی تیمارها کدورت معنی دار نبود و در غلظت اسانس ۲/۵ درصد بیشترین مقدار را در بین تیمارها به خود اختصاص داد. مقدار ضخامت در

فیلم حاوی ۳/۷۵ درصد اسانس بیشترین مقدار (۰/۰۵۸ میلی‌متر) به‌دست آمد که در همه تیمارها معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در تمامی تیمارهای فیلم‌های خوراکی خاصیت آنتی اکسیدانی معنی‌دار بود ($p<0/05$). بیشترین قطرهاله بازدارندگی در روش دیسک انتشاری در حضور فیلم حاوی ۳/۷۵ درصد اسانس مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* با متوسط ۱۸/۲۶ میلی‌متر بود. متوسط قطرهاله برای *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیاکلی* به‌ترتیب ۸/۲۷ و ۸/۹ میلی‌متر گزارش شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد افزودن اسانس پونه به فیلم ژلاتینی در غلظت ۲/۵ درصد، علاوه بر مهار رشد و تکثیر باکتری‌ها، فیلم‌هایی با استحکام کافی ایجاد کرده که می‌تواند در مواد غذایی با قابلیت فسادپذیری بالا استفاده شود.

استناد: میری، پ.، حسینی م.ی.، سیفی، ط. (۱۴۰۲). ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی ژلاتین حاوی اسانس پونه. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۵ (۱)، ۷۴-۵۷.

DOI: 10.22069/FPPJ.2023.21204.1749

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

استفاده از بسته‌بندی‌های پلاستیکی در پوشش مواد غذایی به علت تجزیه‌پذیر نبودن و همچنین بروز مشکلاتی از قبیل مهاجرت مواد شیمیایی سمی نظیر بیسفنل A، آلکیل‌فنل، اکتیل‌فنل، فتالات‌ها، سرب و غیره از آن‌ها به درون ماده غذایی نگرانی‌هایی را به دنبال دارد. بنابراین از پوشش‌هایی که در صنایع غذایی به طور وسیعی مورد توجه قرار گرفته‌اند می‌توان به فیلم‌های ترکیبی خوراکی اشاره کرد (۱) و به عنوان یکی از راه‌های اساسی کنترل تغییرات فیزیولوژیکی، میکروبی و فیزیکوشیمیایی در مواد غذایی مطرح می‌باشند (۲،۳). فیلم‌های خوراکی حاوی ژلاتین مقاومت مکانیکی مناسب و مقاومت به آب ضعیفی دارند و این ماده به دلیل داشتن خاصیت تشکیل ژل (وجود آمینواسیدهای پرولین و هیدروکسی پرولین) مورد استفاده قرار می‌گیرد(٤). ژلاتین می‌تواند فیلم خوراکی برای حفاظت در برابر خشک شدن، نور و اکسیژن تشکیل دهد(٦،٥) از راه‌های بهبود خواص فیزیکوشیمیایی فیلم‌های ژلاتین افزودنی‌هایی مانند اسانس‌ها جهت تقویت ساختار آن می‌باشد. با این حال فیلم ژلاتین دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی ضعیفی بوده و بنابراین برای بسته‌بندی موادغذایی فسادپذیر و فرآورده‌های گوشتی مناسب نمی‌باشد (۱۰، ۹، ۸، ۷).

به منظور کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی می‌توان در ترکیب این بسته‌بندی‌ها از مواد ضدمیکروبی طبیعی استفاده نمود(۱۱). در پژوهش‌های مربوط به ساخت و ارزیابی فیلم‌های خوراکی در سال‌های اخیر استفاده از انواع اسانس (مانند اسانس میخک، دارچین، زنجبیل و ریحان) برای محافظت میکروبی، به تعویق انداختن فساد مواد غذایی (شیمیایی و میکروبی) و کاهش ضایعات غذایی جایگاه قابل توجهی به دست آورده‌اند (٤، ۱۲، ۱۳، ١٤). اسانس‌ها ترکیبات طبیعی فراری هستند که از متابولیت‌های ثانویه گیاهان به شمار می‌آیند که به دلیل ایمن بودن آن‌ها در لیست GRAS قرار گرفته‌اند. در میان ادویه جات، پونه کوهی اغلب به عنوان ادویه ای با عطر و طعم مورد پسند همه است که دارای اسانسی با ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مناسب است. بیشترین ترکیب فعال اسانس پونه کوهی ترکیبات فنولیک مونوترپن کارواکرول (۳۲درصد) و تیمول (۳۵ درصد) هستند که اثر آنتی اکسیدانی پونه کوهی مربوط به این ایزومرها می باشد. هدف استفاده از اسانس‌های گیاهی در فیلم‌های زیست تخریب پذیر، بهبود اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و نفوذ پذیری فیلمهای هیدروفیل می‌باشد. از طرف دیگر ترکیب اسانس با فیلم باعث کاهش از دست رفتن ترکیبات فرار اسانس در طول زمان نگهداری می‌شود، لذا اسانس در یک غلظت بالا و برای مدت طولانی تر در سطح فراورده باقی می‌ماند (۱۵،۱٦). در سالهای اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده‌های طبیعی صورت گرفته است. محققین استفاده از اسانس‌های گیاهی را برای محافظت از انواع مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماریزا را نشان داده اند. بونیلا و همکاران(۲۰۱۸) خواص فیزیکی اسانس‌های اوژنول و زنجبیل در فیلم‌های ژلاتین/کیتوزان را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد افزایش قابل توجهی در خاصیت ارتجاعی کلیه فیلم‌ها پس از افزودن ترکیبات فعال مشاهده شد، درحالی‌که نفوذپذیری بخار آب تا حد زیادی تحت تأثیر قرار نمی‌گرفت(۹). شهبازی و همکاران (۲۰۱۸) اثر ضدباکتریایی فیلم ژلاتین حاوی اسانس گیاه کاکوتی کوهی و عصاره هسته انگور را علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت چرخ کرده گاو بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که تعداد باکتری‌های

استافیلوکوکوس اورئوس در تمامی نمونه‌های گوشت چرخ شده بسته‌بندی شده با فیلم‌های ژلاتین حاوی اسانس کاکوتی کوهی و عصاره هسته انگور نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری کمتر می‌باشد (۱۸). اختر و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه ای نشان دادند که عصاره طبیعی گیاهان یک افزودنی مفید است که باعث افزایش خواص عملکردی این فیلم‌ها می شود و با بررسی اثر رنگهای طبیعی موجود در چغندر قند و هویج روی فیلم HPMC به این نتیجه رسیدند که این ترکیبات باعث افزایش مقاومت در برابر نور و در نتیجه باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها می شود(۱۹).هان و همکاران(۲۰۰۳) خواص فیزیکی فیلم ترکیبی سدیم آلژینات و کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس دارچین را بررسی کردند. تحقیقات آن‌ها نشان داد که اسانس دارچین باعث کاهش ضخامت، نفوذپذیری به بخار آب و نفوذپذیری به اکسیژن می‌شود (۲۰). وو و همکاران (۲۰۱۷)خواص فیزیکوشیمیایی فیلم‌های حاوی اسانس دارچین را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که استحکام کششی، افزایش طول تا نقطه شکست و محتوای رطوبتی فیلم مبتنی بر ژلاتین با افزایش غلظت اسانس کاهش می‌یابد، اما نفوذپذیری به بخار آب آن افزایش یافت(٤). لنگرودی و همکاران(۲۰۱۸) اثر ضد میکروبی عصاره سماق با پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس پونه شیرازی را بر نگهداری گوشت گاو بسته‌بندی شده با اتمسفر اصلاح شده و معمولی را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که کاهش معنی‌داری در شمارش کلی باکتری‌ها، لاکتیک اسید باکتری‌ها، *سودوموناس‌ها*، کپک و مخمر در همه‌ی تیمارها نسبت به تیمار کنترل در زمان نگهداری مشاهده شد(۲۱).

با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی در مورد فیلم ضد میکروبی ژلاتین حاوی اسانس پونه انجام نشده است، هدف از این پژوهش بررسی تاثیر اسانس پونه بر ویژگیهای فیزیکوشیمیایی، مکانیکی، آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی فیلم خوراکی ژلاتین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد: ژلاتین، مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت مرک می باشد. گیاه پونه (*Mentha longifolia*) از دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام تهیه شد. سویه‌های میکروبی از دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام تهیه شدند. آنالیز اسانس پونه با دستگاه GC-MS (Shimadzu ژاپن) انجام شد.

استخراج اسانس: استخراج اسانس از گیاه خشک و پودر شده پونه به روش تقطیر آبی با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد (مواد گیاهی پودر شده داخل مخزن تقطیر در آب غوطه ور شده و طی عملیات گرم شدن و جوش آمدن، اسانس‌ها از سطح یا داخل گیاه به وسیله‌ی پدیده‌ی انتشار وارد آب می شوند و با توجه به اختلاف چگالی بین اسانس و آب، این دو از هم جدا می گردند) انجام شد. سپس اسانس جمع‌آوری شد و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در شیشه تیره نگهداری شد(۲۲).

تهیه فیلم: محلول‌های ژلاتین و اسانس پونه به صورت جداگانه تهیه شدند. ابتدا محلول ۳ درصد ژلاتین همراه با همزدن ملایم (٤۰۰ دور در دقیقه) با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تهیه شد. سپس ۳۵ درصد پلاستی سایزر گلیسرول (براساس وزن ماده خشک مصرفی) افزوده شد و به مدت ۱۵دقیقه ترکیب شد. در مرحله بعد غلظت‌های (۰، ۱/۲۵، ۲/۵، ۳/۷۵ درصد) از اسانس پونه به محلول ژلاتین افزوده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با هم مخلوط شدند و پس از افزودن ۰/۲ درصد

توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر به نمونه‌ها با دستگاه هموژنایزر، یکنواخت گردید و به محلول ژلاتین و گلیسرول افزوده شد و به مدت ۲۰ دقیقه ترکیب شدند. در نهایت محلول‌های حاصل داخل پلیت‌هایی با قطر ۱۵ سانتی‌متر ریخته شد و پس از خشک شدن کامل در دمای محیط فیلم‌ها از پلیت جدا شده و داخل فویل‌های آلومینیومی در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم اشباع در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت برای انجام آزمایشات قرار داده شد(۲۳).

اندازه گیری ضخامت فیلم‌ها: تعیین ضخامت فیلم‌ها برای آزمایشات مکانیکی، نفوذپذیری به بخار آب و خواص نوری امری ضروری می‌باشد. ضخامت فیلم‌های تولیدی توسط میکرومتر (Mitutoyo ژاپن) با دقت نزدیک به ۰/۰۰۱ میلی متر و در ۱۰ نقطه مختلف از هر نمونه اندازه‌گیری شد و در نهایت مقدار میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین قدرت کششی، نفوذ پذیری به بخار آب و کدورت استفاده گردید(۲۳).

حلالیت: برای تعیین حلالیت ابتدا تکه‌های فیلم (۲cm×۲cm) برش داده شد و در ۵۰ سی سی آب مقطر قرار داده شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦ ساعت با همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس فیلم‌ها توسط کاغذ صافی که قبلاً در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به وزن ثابت رسیده بود صاف گردید و توزین شد (A).کاغذ صافی همراه نمونه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از رسیدن به وزن ثابت مجدداً توزین شد (B). در نهایت میزان حلالیت فیلم‌ها از رابطه زیر محاسبه گردید(۲۳).

$$\text{حلالیت} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (تراوش پذیری): نفوذ پذیری نسبت به بخار آب به روش وزن سنجی انجام شد (ASTM-E96-95, 1995). در یک ظرف ١٤ میلی‌لیتری، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم‌های ژلاتینی مورد بررسی با مساحت ۱/۵ سانتی متر مربع درب بندی شد. بطری دربندی شده ابتدا توزین گردید و در محفظه دارای سیلیکاژل با میزان رطوبت نسبی و دمای مشخص قرار گرفت. هر ۱۲ ساعت و به مدت ۳ روز توزین ظرف انجام شد. سپس نمودار تغییرات وزن ظرف در برابر زمان رسم شد. شیب آن محاسبه و میزان نفوذپذیری نسبت به رطوبت با فرمول زیر محاسبه شد (۲۳).

$$WVP^{1}(gm^{-1}pa^{-1}s^{-1}) = \frac{W \times X}{A \times t \times \Delta p}$$

W میزان اختلاف وزن بطری، X ضخامت فیلم ژلاتینی، A مساحت فیلم ژلاتینی(m^2)، t زمان بر حسب ثانیه و Δp اختلاف فشار بخار اتمسفر دو سمت فیلم، ظرف حاوی آب خالص و محفظه دارای سلیکاژل است.

ویژگی‌های مکانیکی: خواص مکانیکی فیلم‌ها شامل قدرت کششی (مگاپاسکال)، افزایش طول تا نقطه شکست (درصد) و مدول یانگ (مگاپاسکال) می‌باشد. این ویژگی‌ها بر اساس استاندارد ASTM-D882 و با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (TA-Plus, England) محاسبه شد (ASTM, 2001). ابتدا فیلم‌ها به ابعاد cm^2 ۱×۱۰ بریده شدند و ضخامت در ۱۰ نقطه محاسبه گردید. فیلم‌ها به‌مدت ۳ روز در دسیکاتور حاوی محلول منیزیم نیترات با رطوبت ۵۵ درصد و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشروط شدند و سپس بین دو فک دستگاه بافت سنج با فاصله اولیه ۵۰mm و سرعت حرکت فک ۵۰mm/min قرار داده شدند و ویژگی‌های مکانیکی شامل قدرت کششی، درصد افزایش طول تا نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) و هم چنین مدول یانگ

1. Water vapor permeatability

از روی منحنی نیرو بر حسب تغییر شکل محاسبه گردید(۲۳).

خواص آنتی اکسیدانی: فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های ژلاتین توسط تغییر رنگ رادیکال DPPH از بنفش به هیدرازین‌های زرد رنگ اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۳۰ میلی‌گرم از هر فیلم در نسبت‌های برابر آب مقطر و متانول (نسبت ۳ به ۳) حل شد. پس از حل شدن تمام فیلم‌ها، به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ٤۰۰۰ سانتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داشته شد (۱ شب استراحت) و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ٤۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از قسمت رویی محلول سانتریفوژ شده هر فیلم با ٤ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار متانولی DPPH مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب هر یک در ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (A_S). به عنوان شاهد، ۱ میلی‌لیتر از محلول آب و متانول (۳ میلی‌لیتر آب مقطر+ ۳ میلی‌لیتر متانول) با ٤ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار متانولی DPPH به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور (Memmert آلمان) در دمای اتاق نیز نگهداری شد و جذب آن در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر(Shimadzu ژاپن) اندازه‌گیری شد (A_b). در نهایت فعالیت مهار رادیکال DPPH مطابق معادله زیر محاسبه شد(۲۳).

$$\text{DPPH scavenging activity (درصد)} = \frac{(A_b - A_s)}{A_b} \times 100$$

اندازه گیری کدورت فیلم: برای تعیین ویژگی‌های نوری فیلم‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) استفاده شد. به این منظور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۹×٤۰ میلی متر بریده شده و داخل سلول اسپکتروفتومتر قرار گرفته شدند. یک نمونه سلول خالی نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان عبور نور در طول موج‌های مختلف و همچنین جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد. از فرمول زیر برای اندازه گیری کدورت استفاده شد (۲۳).

کدورت فیلم = ضخامت فیلم / میزان جذب در ۵۰۰nm

اندازه گیری فعالیت ضدمیکروبی: از روش انتشار دیسک آگار برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها برروی باکتری‌های مدل *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰µL (10^{-6} cfu/g) از هریک از سوسپانسیون‌های باکتریایی به محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح شد. سپس دیسک‌هایی به قطر ٦ میلی‌متر از هر فیلم برش داده شد و بر روی سطح آن گذاشته شدند. سپس به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۵±۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت قطر مناطق مهار رشد (میلی‌متر) برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی اندازه‌گیری شد(۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار (n=۳) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار $Minitab_{18}$ در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج و بحث

آنالیز اسانس پونه: نتایج آنالیز اسانس پونه توسط دستگاه GC-MS شناسایی شد و در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد که ترکیب غالب موجود در اسانس پونه، Menthone (٤۵/۵درصد) و بعد از آن Pulegone می‌باشد که ۳۹/۸ درصد را به خود اختصاص می‌دهند. این نتایج تقریباً مشابه سایر مطالعات می‌باشد که احتمالاً مربوط به جنس و گونه یکسان آنها می‌باشد.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس پونه

Table1. Chemical composition of oregano essential oil

Composition ترکیبات	Value (%) مقادیر(درصد)
α-thujene	0.08
α-pinene	0.12
3-methyle-cyclohexanone	0.09
sabinene	0.1
β- pinene	0.26
3-octanone	0.34
p-cymene	0.05
limonene	1.32
1,8-cineole	1.17
terpinopene	0.07
3-octanalacetate	0.19
menthone	45.5
menthol	2.07
Cis-isopulegone	1.18
neoisomenthol	0.71
myrtenal	0.04
pulegone	39.8
piperitone	1.57
β-caryophyllene	0.47
α-copaene	0.06
α-humulene	0. 77
cadinene	0.06
Caryophyllene oxide	0.31

آزمون مکانیکی: نتایج حاصل از آزمونهای مکانیکی ترکیب فیلم ژلاتین با غلظت‌های مختلف اسانس پونه که نشانگر حداکثر استرس کششی و میزان سختی فیلم می باشد و مرتبط با زنجیره‌ها و پیوندهای داخلی آن می باشد در جدول ۲ آمده است که در تمامی آزمایشات معنی دار است. میزان مقاومت به کشش در همه نمونه‌ها با هم اختلاف معنی دار دارند ($p<۰/۰۵$). با افزایش درصد اسانس، این شاخص نسبت به فیلم شاهد (۰درصد) افزایش یافت که می‌تواند به دلیل افزایش پیوندهای ساختاری و ایجاد برهمکنش‌های مناسب با ملکول ژلاتین باشد. بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۲/۵درصد می باشد و با افزایش درصد اسانس بیش از ۲/۵درصد، این روند کاهش می‌یابد که احتمالاً به دلیل پیوند بین مولکولی در اثر نفوذ پلاستی سایزر می باشد و مقاومت به کشش کم می شود. ازدیاد طول تا نقطه شکست (کشش پذیری) در همه نمونه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار دارند ($p<۰/۰۵$) و مقدار بیشتری نسبت به تیمار شاهد را دارا می‌باشد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۲/۵درصد بوده که احتمالاً به علت جذب آب بیشتر و پیوند هیدروژنی قوی تر در ساختار پروتئین ژلاتین می باشد و پلاستی سایزر روغنی باعث افزایش حجم آزاد در نمونه می گردد و باعث افزایش کشش پذیری فیلم ژلاتین می گردد که با تغییرات مودل یانگ هم جهت است که

افزایش مودل یانگ احتمالاً به این دلیل است که اسانس‌ها به شکل قطرات روغن می تواند باعث بهبود خواص الاستیسیته گردند که در نتیجه افزایش تغییرات طولی نسبت به تغییرات عرضی در زنجیره و ترکیبات اتفاق می‌افتد.

عوامل متعددی از جمله مورفولوژی و ساختار ماکرومولکولی، اندازه و پراکندگی ذرات و همچنین میزان برهمکنش بین ذرات در خواص مکانیکی موثرند. نتایج پژوهش فلاح و همکاران (۲۰۲۰) بر روی تاثیر اسانس کندر و نقش اتصال دهندگی سدیم هگزامتافسفات بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختاری و میکروبی فیلم خوراکی ژلاتین و اثر تیمار بهینه بر نگهداری یخچالی فیله ماهی قزل‌آلا با نتایج این تحقیق همسو بود (۱۶). حسینی و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه ای ویژگی‌های دو پلیمر کیتوزان-ژلاتین را در نسبت‌های مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد اضافه کردن کیتوزان باعث افزایش مقاومت کششی فیلم شد(۲۴). نتایج مشابه توسط کاووسی و همکاران(۲۰۱۳) ارائه شده است، به طوری که با افزایش درصد تیمول در فیلم‌های بر پایه ژلاتین، مقاومت کششی و مدول یانگ فیلم‌ها کاهش یافت (۱۵). حسینی و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که با افزایش اسانس پونه کوهی در فیلم‌هایی بر پایه ژلاتین و کیتوزان، مقاومت کششی و مدول یانگ کاهش یافتند (۲۴). پینرووس و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی بر روی فیلم‌های بر پایه نشاسته، علت رفتار کاهشی مقاومت کششی و مدول یانگ را احتمالاً به علت تاثیر وجود اسانس روی ساختار هتروژن فیلم و تعامل ضعیف بین گلیسرول و نشاسته تخمین زدند (۲۵). تونگوانچان و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی ویژگی‌های فیلم ژلاتین پوست ماهی حاوی روغن پالم و اسانس ریحان با سورفاکتانت‌های مختلف دریافتند که افزودن اسانس باعث کاهش میزان مقاومت کششی شد(۲۶). وو و همکاران(۲۰۱۷) نیز طی بررسی فیلم‌های ژلاتین ماهی حاوی اسانس دارچین به نتایج مشابهی دست یافتند. به دلیل وجود ترکیبات مختلف در اسانس‌های با منشأ متفاوت، این ترکیبات به صورت متفاوتی در تعامل با پروتئین تأثیرگذار هستند(۴).

جدول ۲- خواص مکانیکی فیلم‌های خوراکی

Table 2. mechanical properties of edible films

Treatment تیمار	Tensil strength(Mpa) درصد کشش(مگاپاسکال)	Elongation at break(٪) ازدیاد طول در نقطه شکست (درصد)	Young modulous(Mpa) مودل یانگ (مگاپاسکال)
0%	4.58 ± 0.5^{a}	14.44 ± 0.02^{a}	46.53 ± 1.26^{a}
1.25٪	8.25 ± 0.25^{b}	19.14 ± 0.44^{b}	63.45 ± 1.4^{b}
2.5٪	10.25 ± 0.12^{c}	23.43 ± 0.09^{c}	83.46 ± 1.43^{c}
3.75٪	6.62 ± 0.28^{d}	17.33 ± 0.25^{d}	53.21 ± 1.11^{d}

نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد در سه تکرار گزارش شده است. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ($p< 0.05$) است.

The results in the table have reported as mean ±standard deviation of triplicate analysis. Different words in the same column represent significant difference at 5 % ($p< 0.05$).

خواص فیزیکی فیلم‌های تولیدی (حلالیت، نفوذپذیری به بخار آب، کدورت و ضخامت): نتایج حاصل از حلالیت، نفوذپذیری به بخار آب، کدورت و ضخامت در جدول ۳ نشان داده شده است. خواص حلالیت در همه غلظتهای اسانس معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). به طور کلی در حضور غلظت‌های مختلف از اسانس

پونه، بیشترین و کمترین میزان حلالیت به ترتیب مربوط به فیلم شاهد و فیلم ۳/۷۵درصد بود، به طوری که از ۹٤/۳۱درصد به ۷۹/۲۳درصد به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (p<۰/۰۵). در غلظت بیشتر اسانس، به دلیل ماهیت روغنی آن، درون شبکه بیوپلیمرها قرار می‌گیرد، بنابراین اسانس سبب تحرک بیشتر شبکه پلیمر شده و به عنوان یک مانع باعث تضعیف شبکه پلیمری می‌شود. تفاوت در میزان حلالیت، وابسته به غلظت و ماهیت گروه‌های عاملی ترکیبات موجود در فیلم‌های ترکیبی می‌باشد.

افزودن اسانس به ترکیب فیلم، بسته به نوع ترکیبات شیمیایی و همچنین ماهیت آبگریز آن می‌تواند سبب شود که اجزای غیرقطبی اسانس با دامنه هیدروفیل ژلاتین در تعامل بوده و باعث افزایش آبگریزی و کاهش حلالیت فیلم حاصل گردد (۲۷). این نتایج قابل مقایسه با یافته‌های شجاعی- علی آبادی و همکاران(۲۰۱۳) می باشد که گزارش کردند افزودن اسانس مرزه به فیلم‌های کاپا کاراگینان موجب کاهش حلالیت در آب فیلم‌ها گردید(۱۲). جمریز و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی اثر اسانس اسطوخودوس برروی فیلم نشاسته/فورسلاران/ژلاتین دریافتند که با افزایش میزان اسانس حلالیت فیلم‌ها در آب کاهش یافت (۲۳). مهرج احمد و همکاران (۲۰۱۸) نیز در بررسی اثر اسانس ترنج و لیموترش برروی فیلم تهیه شده از ژلاتین به نتایج مشابهی دست یافتند (۲۷). نتایج نفوذپذیری با بخار آب نشان داد که با افزودن اسانس پونه نفوذپذیری در تمامی تیمارها نسبت به فیلم شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵) و در تیمارهای ۲/۵درصد و ۳/۷۵درصد اختلاف معنی دار مشاهده نشد (p>۰/۰۵). کمترین میزان نفوذپذیری مربوط به فیلم شاهد و بیشترین میزان نفوذپذیری مربوط به فیلم ۳/۷۵ درصد بود. دلیل این رفتار احتمالاً به علت وجود ترک وشکاف ایجاد شده به علت تبخیر اسانس موجود در فرمولاسیون فیلم‌ها می باشند. علاوه بر آن نسبت ترکیبات هیدروفیلیک به هیدروفوبیک مواد موجود در فیلم، تاثیر مستقیمی روی میزان انتقال بخار در فیلم دارد(۲۸). به‌طوری‌که بر هم کنش بین اسانس روغنی باعث کاهش خاصیت آبگریزی ماتریس فیلم شده و در نتیجه نفوذپذیری به بخار آب افزایش می یابد. این نتایج با نتایج حسینی و همکاران(۲۰۱۵) هماهنگ می باشد که با افزایش اسانس پونه کوهی، نفوذ پذیری به بخار آب فیلمهایی بر پایه ژلاتین- کیتوزان افزایش یافت(۲٤).

نفوذ و عبور رطوبت از بخش هیدروفیل فیلم بیان کننده نفوذپذیری به بخار آب می‌باشد. ماهیت بیوپلیمرها و ترکیبات افزوده شده، ساختار بیوپلیمر در ماتریس فیلم، ضخامت و همچنین نسبت هیدروفیل به هیدروفوب در فیلم‌های خوراکی بر میزان نفوذپذیری به بخار آب تأثیرگذار می‌باشد(۲۹). افزایش میزان نفوذپذیری به بخار آب می‌تواند نشان دهنده کاهش میانکنش و اتصالات اسانس پونه با پلیمر ژلاتین و ایجاد ساختار متراکم‌تر باشد. کاهش اتصالات متقاطع در ماتریس پلیمری می‌تواند باعث افزایش حجم آزاد ماتریس فیلم گردد؛ همچنین می‌تواند بر جهت‌گیری نامنظم پروتئین در ساختار فیلم اثرگذار باشد و باعث افزایش آمینواسیدهای آبگریز برروی سطح فیلم و در نتیجه تغییر در میزان نفوذپذیری فیلم گردد. مهرج احمد و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که اختلاط سطح بیشتر اسانس ترنج باعث افزایش نفوذپذیری می شود که با مشاهدات پژوهش منطبق داشت، اما غلظت بالاتر اسانس لیموترش منجر به کاهش نفوذپذیری فیلم‌های ژلاتین شده است که مطابق با مشاهدات نبود. دلیل آن را تفاوت در ماهیت اسانس‌های مورد بررسی بیان کردند(۲۷).

کدورت معیاری جهت سنجش شفافیت فیلم‌هاست. هر چه کدورت بالاتر باشد شفافیت کمتر است و می‌تواند سبب جلوگیری از فساد در مواد غذایی بسته بندی شده گردد. مقایسه میزان کدورت فیلم‌های تولیدی نشان داد که اختلاف معنی داری بین تیمارها به جز تیمار ۱/۲۵درصد و ۲/۵درصد وجود دارد ($p<0/05$) و مقدار کدورت با افزایش غلظت اسانس کاهش یافت و فیلم‌ها شفاف تر شدند. کاهش میزان عبور نور بر اثر افزودن اسانس احتمالاً به علت وجود ترکیبات آروماتیک در اسانس پونه کوهی می‌باشد که این ترکیبات موجب می‌شوند اسانس به عنوان مانع خوبی در برابر اشعه UV عمل کند(۳۰). همچنین دلیل این رفتار را می توان به عدم تناسب در ترکیبات مواد نسبت داد که سبب تغییرات قابل توجهی در خواص نوری فیلم‌ها تاثیر می گذارد. همچنین نتایج حاصل در تطابق با یافته‌های احمد و همکاران(۲۰۱۲) می باشد که با افزایش درصد اسانس ترنج و همچنین اسانس پوتار میزان عبور نور از فیلم‌ها و کدورت آنها کاهش یافت(۲۷). نتایج حاصل از ضخامت فیلم‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود ضخامت فیلم‌ها از ۰/۰۴۲ تا ۰/۰۵۸ میلیمتر متغیر است. فیلمها در تیمار ۱/۲۵درصد و تیمار ۲/۵درصد اختلاف معنی دار ندارند($p>0/05$) و در غلظت‌های اسانس شاهد و بالاتر اسانس معنی دار بود ($p<0/05$). با افزایش درصد اسانس پونه کوهی، ضخامت فیلم‌ها افزایش یافت. علت این افزایش ضخامت را می توان به تراکم ذرات کوچک اسانس در فیلم نسبت داد که تاثیر کمی بر تغییر ضخامت فیلم‌های تهیه شده دارد. علاوه بر آن، افزودن اسانس سبب ایجاد ساختار غیریکنواخت همراه با منافذ می شود که نشان دهنده افزایش ضخامت است (۳۱،۳۰).

جدول ۳- خواص فیزیکی فیلم‌های خوراکی

Table 3. Physical properties of edible films

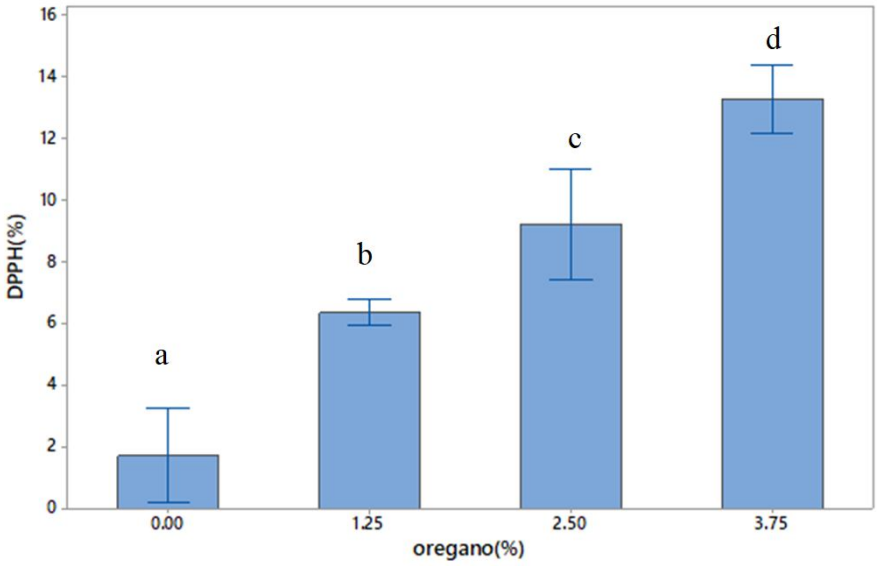
Treatment تیمار	Solubility(%) حلالیت(درصد)	Permeatability(gm-1s-1pa-1) نفوذپذیری(گرم بر متر ثانیه پاسکال)	Turbidity کدورت	Thickness(mm) ضخامت(میلی متر)
0%	94.31±0.73^{a}	1.6±0.02^{a}	0.05±0.001^{a}	0.042±0.002^{a}
1.25٪	87.79±1.67^{b}	1.23±0.02^{b}	0.04±0.002^{b}	0.049±0.001^{b}
2.5٪	84.63±0.49^{c}	3.54±0.27^{c}	0.045±0.002^{bc}	0.051±0.0005^{b}
3.75٪	79.23±0.8^{d}	6.35±0.55^{c}	0.042±0.001^{c}	0.058±0.001^{c}

نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد در سه تکرار گزارش شده است. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ($p< 0.05$) است.

The results in the table have reported as mean ±standard deviation of triplicate analysis. Different words in the same column represent significant difference at 5 % ($p< 0.05$).

خواص آنتی اکسیدانی: شکل ۱ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی تیمارها نسبت به فیلم شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$) که احتمالاً به‌دلیل افزایش ترکیبات فنلی در اسانس می باشد. نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای مورد مطالعه توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را داشتند. در فیلم شاهد مقدار میانگین ۱/۷۲ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که می‌تواند به دلیل وجود برخی آمینواسیدهای خاص مانند گلایسین و پرولین در ژلاتین و همچنین وجود آمینواسیدهای حلقوی ماتند تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین باشد (٤). رمزی و همکاران (۲۰۱۱) ضعیف بودن فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گونه‌های باسویلیا را برای کاهش رادیکال DPPH، به محتوای کم ترکیبات

فنولیک آن نسبت دادند(۳۳) کـه یافتـه‌هـای خاصـیت آنتی اکسیدانی این پژوهش همسو و مقادیرش بیش از پژوهش رمزی و همکاران (۲۰۱۱) می‌باشـد. اختـر و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادنـد کـه ماهیـت فـیلم و تفاوت در قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات افـزوده شـده بر میزان فعالیـت آنتـی اکسـیدانی فـیلم‌هـا تأثیرگـذار هستند(۱۹).



شکل۱- خواص آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها حاوی غلظت‌های مختلف اسانس پونه

Figure 1. Antioxidant properties of films containing different oncentrations of oregano essential oil

فعالیت ضد میکروبی: اثر فیلم‌های مختلف اسانس پونه جهت کاهش یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* به روش انتشار آگـار مـورد بررسـی قـرار گرفت. میزان مهار رشد میکروارگانیسم‌هـا (قطـرهالـه عدم رشد) در جدول ٤ نشان داده شـده اسـت. نتـایج نشـان داد کـه در فـیلم شـاهد فعالیـت ضـدمیکروبی ناچیزی علیه هر سه گونه مورد مطالعه مشاهده شد که قابل صرفنظر است. ولی افزودن غلظت‌هـای مختلـف اسانس پونه به ساختار فیلم ژلاتین منجر به مهار رشد هر سه گونه باکتریـایی مـورد بررسـی شـد. افـزایش غلظت اسانس پونه اثر معنی‌داری بر افزایش قطرهالـه عدم رشد میکروارگانیسم‌هـای مـورد بررسـی داشـت ($p<۰/۰۵$). بیشترین میزان مهار رشد در هر سه گونـه باکتریـایی سـودوموناس *آئروژینـوزا*، *اشریشـیاکلی* و *باکتری استافیلوکوکوس آورئوس* در تیمار ۳/۷۵درصد بود. برای *استافیلوکوکوس اورئوس* با افزایش غلظـت اسانس، میزان مهار رشد افزایش یافت به طـوری کـه بیشترین قطرهاله عدم رشد ۱۸/۲٦ میلی‌متر مربوط بـه تیمار ۳/۷۵درصد بود.

نتـایج نشـان داد کـه در فـیلم شـاهد، فعالیـت ضدمیکروبی علیه هر سـه گونـه مـورد مطالعـه شـبیه یکدیگر و ناچیز مـی باشـد. فعالیـت ضـد میکروبـی تیمارهای حاوی اسـانس پونـه مـی‌توانـد نتیجـه اثـر هم‌افزایی هیـدروکربن‌هـای مونـوترپن و مشـتقات آن باشد. مطالعات انجام شده نشان داده اسـت کـه مـواد تشکیل دهنـده جزئـی (بـا غلظـت کـم) در ترکیبـات فیلم‌ها می‌توانند نقش مهمی در فعالیـت ضـدمیکروبی فـیلم‌هـا داشـته باشـند (۳۳،۳۲). ریحانـا اختـر و همکاران(۲۰۱۹) در بررسـی فـیلم‌هـای بیوکمپوزیـت

حاوی اسانس رزماری و نعناع، مهار رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را نتیجه وجود اجزای پلی‌فنولیک دانستند (۱۹). اسانس‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله: اختلال در غشای سلولی فسفولیپیدی و نشت سیتوپلاسم، واکنش با آنزیم‌های تنفسی غشاء سلولی و همچنین مهار سنتز آنزیم در میتوکندری، تأثیر بر ماده ژنتیکی و ترکیبات هسته‌ای توسط ترکیبات الکتروفیل، کاهش انرژی در سلول‌های میکروبی ناشی از آزاد سازی پروتون گروه‌های هیدروکسیل و یا تشکیل اسیدهای چرب هیدروپراکسیداز (ناشی از اکسیژن رسانی اسیدهای چرب اشباع نشده) می‌توانند بر میکروارگانیسم‌ها اثرگذار باشند. به‌طورکلی، اثربخشی فیلم خوراکی در برابر رشد میکروبی به ماهیت اسانس و نوع میکروارگانیسم بستگی دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل مهار رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی توسط فیلم‌های ترکیبی ژلاتین می‌توانند برای نگهداری مواد غذایی مؤثر باشد و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و ایمنی محصول گردند(۳۵،۳٤).

جدول٤- فعالیت ضدمیکروبی (قطر منطقه بازدارندگی رشد (mm)) فیلم ژلاتین حاوی اسانس پونه بر روی میکروارگانیسم‌های آزمایش شده

Table 5. The antimicrobial activity (diameter of the growth inhibition zone (mm)) of gelatin films containing oregano essential oil against the tested microorganisms

Treatment تیمار	*P.aeruginosa* سودوموناس آئروژنز	*S. aureus* استاف آئوروس	*E.coli* ایکولای
0%	0.07 ± 0.1^{a}	0.17 ± 0.14^{a}	0.14 ± 0.22^{a}
1.25٪	1.76 ± 0.11^{b}	1.46 ± 0.05^{b}	1.7 ± 0.14^{b}
2.5٪	2.57 ± 0.27^{c}	12.77 ± 0.2^{c}	2.5 ± 0.14^{c}
3.75٪	8.27 ± 0.16^{d}	18.26 ± 0.24^{d}	8.9 ± 0.21^{d}

نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد در سه تکرار گزارش شده است. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ($p< 0.05$) است.

The results in the table have reported as mean ±standard deviation of triplicate analysis. Different words in the same column represent significant difference at 5 %($p< 0.05$).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی در این پژوهش ویژگی‌های فیلم خوراکی ژلاتین تحت تأثیر افزودن غلظت‌های مختلف اسانس پونه قرار گرفت. نتایج نشان داد که حلالیت و نفوذپذیری تمامی تیمارها در نتیجه افزودن اسانس پونه نسبت به تیمار شاهد (بدون اسانس پونه) به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). مقاومت کششی و افزایش طول تا نقطه شکست در تمامی فیلم‌ها نسبت به فیلم شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) به طوری که بیشترین میزان آن در تیمارهای حاوی ۲/۵درصد اسانس پونه مشاهده شد. همچنین بیشترین قطرهاله بازدارندگی در غلظت بیش از ۲/۵درصد مشاهده شد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت فیلم‌های فعال ژلاتین حاوی ۲/۵درصد اسانس پونه می‌توانند با تأخیر در اکسیداسیون لیپیدها و همچنین تأخیر در فساد میکروبی و کاهش میکروارگانیسم‌ها، به عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

References

1.Piermaria, JA., Pinotti, A., Garcia, MA., Abraham, AG. 2009. Films based on kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 23(3):684-90.

2.Prakash, B., Mishra, PK., Kedia, A., Dubey, N. 2014. Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant potential of chemically characterized Boswellia carterii Birdw essential oil and its in vivo practical applicability in preservation of Piper nigrum L. fruits. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2):240-7.

3.Hanani, ZN., Roos, YH., Kerry, J.2014. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International journal of biological macromolecules*, 71:94-102.

4.Wu, J., Sun, X., Guo, X Ge S., Zhang, Q.2017. Physicochemical properties, antimicrobial activity and oil release of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil, *Aquaculture and Fisheries*. 2(4):185-92.

5.Ahmed, J., Mulla, M., Arfat, YA., Bher, A., Jacob, H., Auras, R.2018. Compression molded LLDPE films loaded with bimetallic (Ag-Cu) nanoparticles and cinnamon essential oil for chicken meat packaging applications. *LWT*, 93:329-38.

6.Taghizadeh, M., Mohammadifar, MA., Sadeghi, E., Rouhi, M., Mohammadi, R., Askari, F.2018. Photosensitizer-induced cross-linking: A novel approach for improvement of physicochemical and structural properties of gelatin edible films. *Food research international*, 112:90-7.

7.Ejaz, M., Arfat, YA., Mulla, M., Ahmed, J.2018. Zinc oxide nanorods/clove essential oil incorporated Type B gelatin composite films and its applicability for shrimp packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 15:113-21.

8. Gennadios, A.2002. Protein-based films and coatings: *CRC Press*.

9.Bonilla, J., Poloni, T., Lourenço, RV., Sobral, PJ.2018. Antioxidant potential of eugenol and ginger essential oils with gelatin/chitosan films. *Food bioscience*. 23:107-14.

10. Zafarani, M., Ojagh, SM., Alishahi, A., Kazemi, M. 2017. The effect of chitosan type on the properties of biodegradable films produced from gelatin obtained from the skin of elephant fish .*Quarterly journal of new food technologies*, 6(1): 149-159.

11.European Commission Regulation No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives Text with EEA relevance.

12.Shojaee-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar M A, Mohammadi A, Ghasemlou M, Ojagh S M, Hosseini S M and Khaksar R. 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-carrageenan films containing Satureja hortensis essential oil. *International journal of biological macromolecules,* 52: 116-124.

13. Jridi, M., Hajji, S., Ayed, HB., Lassoued, I., Mbarek, A., Kammoun, M.2014. Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. *International journal of biological macromolecule*, 67:373-9.

14. Tomadoni, B., Ponce, A., Pereda, M., Ansorena, M.2019. Vanillin as a natural cross-linking agent in chitosan-based films: Optimizing formulation by response surface methodology. *Polymer Testing*, 10(5):93-95.

15.Kavoosi G, Dadfar S M M and Purfard A M, 2013. Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing. *Journal of Food Science,* 78(2).

16. Fallah, M., Rouhi, M., Sadeghi, E., Sarlak, Z., Moghadam, A & Mohammadi, R. 2021. Effects of Olibanum essantial oil on physicochemical, structural, antioxidant and microbial characteristics of Gelatin edible films. *Iranian journal of nutrition science and food technology*, 15(4): 93-102.

17.Echeverría, I., López-Caballero, ME., Gómez-Guillén, MC., Mauri, AN., Montero, MP.2018. Active nanocomposite films based on soy proteins-montmorillonite-clove

essential oil for the preservation of refrigerated bluefin tuna (Thunnus thynnus) fillets. *International journal of food microbiology*, 266:142-9.
18. Shahbasi, Y., Rezaei, F. 2018. Evaluation of the antibacterial effect of gelatin film containing the essential oil of Kakuti plant and grape seed extract against *Staphylococcus aureus* in ground beef. The first national and international conferene of food industry and organic product in Iran, 1-8.
19. Akhter, R., Masoodi, F., Wani, TA., Rather, SA. 2019. Functional characterization of biopolymer based composite film: Incorporation of natural essential oils and antimicrobial agents. *International journal of biological macromolecules,* 137:1245-55.
20. Han, JH 2003. Antimicrobial food packaging. *Novel food packaging techniques*, 8:50-70.
21. Langroodi ,AM., Hossein, Tajik. 2017. Antimicrobial effects of hydroalchol sumac extract with chitosan containing zataria multiflora boiss essential oil on beef meat in normal and modified atmosphere packaging. *The Journal of Urmia University of Medical Sciences*, 28(3):192-205
22. Martucci, JF., Gende, LB., Neira, L., Ruseckaite, R.A. 2015. Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Industrial Crops and Products*, 71:205-13.
23. Jamróz, E., Juszczak, L., Kucharek, M.2018. Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. *International journal of biological macromolecules*, 114:1094-101.
24. Hosseini S.F., Rezaei M., Zandi M. and Farahmandghavi, F. 2015. Bio-based composite edible films containing Origanumvulgare L. essential oil. *Industrial Crops and products,* 67: 403-413.
25. Piñeros-Hernandez D., Medina-Jaramillo C., López-Córdoba A. and Goyanes S. 2017. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids,* 63: 488-495.
26. Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Pisuchpen, S., Osako, K. 2016. Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants. *Food Hydrocolloids*. 56:93-107.
27. Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Agustini, TW.2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids*, 28(1):189-199.
28. Alexandre, EMC., Lourenço, RV., Bittante, AMQB., Moraes, ICF. 2016. Gelatin-based films reinforced with montmorillonite and activated with nanoemulsion of ginger essential oil for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 10:87-96.
29. Al-Hassan, A., Norziah, M. 2012. Starch–gelatin edible films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26(1):108-17.
30. Ghadermarzi, R., Keramat, J and Goli SA, 2013. The effect of oregano essential oil on the properties of hydroxypropyl methyl cellulose edible film. *Quarterly journal of new food technologies*, 2(7) 61-74.
31. Cheng, S., Wang, W., Li, YGao.G., Zhang, K., Zhou, J.2019. Cross-linking and film-forming properties of transglutaminase-modified collagen fibers tailored by denaturation temperature. *Food chemistry*, 271:527-35.
32. Fadaei, M ., Fallah, A., Taheri, A.,2020. Effect of Edible Starch Coating Enrichmed with Pennyroyal (Mentha pulegium) Essential Oil on Shelf life of Rainbow Trout Fillet Esmail Pirali khirabadi1 *, Journal of Veterinary Research*, 75:3, 300-309.
33. Hosseini, SF., Rezaei, M. 2016. Development of flexible bactericidal films based on poly (lactic acid) and essential oil and its effectiveness to reduce microbial growth of refrigerated rainbow trout. *LWT-Food Science and Technology*, 72:251-60.

34. Shahbasi, Y., Mosavi, MH. 2016. Study on the effect of Ziziphora clinopodioides essential oil and methanolic pomegranate peel extract on physical, mechanical and antibacterial properties of edible chitosan film. *Food technology research journal*, 27(2): 121-134.
35.Nouraddini, M , M Esmaiili, M and Mohtarami, F.2018. Development and characterization of edible films based on corn starch and eggplant powder with Mentha longifolia L. essential oil. *Journal of Food Researches*.29:4, 171-184.