

Preparation of active edible film based on gelatin-carboxymethylcellulose (CMC) containing portulaca oleracea extract: investigation of physicochemical and antimicrobial properties

Mohammadyar Hosseini^{1*}, Bahar Nemati², Maryam Hajizadeh³

¹ Associate Professor, Department of Food Science and hygiene, Faculty of veterinary science, Ilam University, Ilam, Iran,
Email: m.hosseini@ilam.ac.ir

² Bachelor student of food hygiene, Faculty of veterinary science, Ilam University, Ilam, Iran

³ Master graduate of Bacteriology, Faculty of veterinary science, Ilam University, Ilam, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:

Received: 2024-3-26

Revised: 2024-10-20

Accepted: 2024-10-25

Keywords:

Film

Portulaca oleracea extract

Gelatin

CMC

Physicochemical properties

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 recent years, the use of various extracts and essential oils for microbial protection, postponing food spoilage and reducing food waste have gained significant attention in the research related to the production and evaluation of edible films. Films containing gelatin and carboxymethylcellulose have good mechanical resistance, and gelatin 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 *Portulaca oleracea* extract in our country and the cheap price of gelatin and carboxymethylcellulose, this type of film composition can be a model for its use in the food industry.

Materials and methods: In this research, the effect of different concentrations of *Portulaca oleracea* extract on the properties of gelatin-carboxymethylcellulose-based edible film was investigated. The independent variable according to the statistical design includes different concentrations of *Portulaca oleracea* extract (0%, 0.75%, 1.5% and 3.25%) and the dependent variables include physicochemical tests (turbidity, thickness, solubility and vapor permeability), Mechanical experiments (elongation to breaking point, tensile strength and Young's modulus), antioxidant activity and antimicrobial activity were considered. Experiments with three replications were analyzed with a completely randomized design and one-way analysis of variance with SPSS₂₆ software at a probability level of 0.05.

Results: Among the treatments, the difference in the amount of turbidity of the resulting films was not significant ($p > 0.05$), although it was highest at the highest extract concentration. The greatest thickness was obtained at a concentration of 1.5% *Portulaca oleracea* extract, which was statistically significant ($p < 0.05$). Among the treatments, the lowest solubility was observed at a concentration of 3.25% *Portulaca oleracea* extract, and the lowest

vapor permeability was found at the low extract concentration in the treatments. In this research, the highest elongation at the break point (28%), tensile strength (17 MPa), and Young's modulus (134 MPa) were recorded at the concentration of 1.5% *Portulaca oleracea* extract. In edible film treatments, the antioxidant activity using DPPH radicals at concentrations of 1.5% and 3.25% was significant ($p < 0.05$). The evaluation of the antimicrobial activity of the film was conducted using the diffusion disc method. In this test, the largest diameter of inhibition at the concentration of 3.25% extract was related to *Staphylococcus aureus*, with an average diameter of 15.23 mm. At the same concentration, the average diameters for *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* were reported as 8.16 mm and 4.5 mm, respectively.

Conclusion: The results of this research showed that adding a high concentration of *Portulaca oleracea* extract (3.25%) to the gelatin-carboxymethylcellulose film produced films with sufficient strength, which exhibited the highest efficiency and desirable characteristics, and can delay the oxidation of lipids. The mechanical properties and favorable physicochemical changes make it a suitable coating for food protection.

Cite this article: Hosseini, M., Nemati, B., Hajizadeh, M. 2024. Preparation of active edible film based on gelatin-carboxymethylcellulose (CMC) containing *portulaca oleracea* extract: investigation of physicochemical and antimicrobial properties. *Food Processing and Preservation Journal*, 16(3), 115-130.



"Authors retain the copyright and full publishing rights"

DOI: 10.22069/fppj.2024.22321.1808

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تهیه فیلم خوراکی فعال بر پایه ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره خرفه (*portulaca oleracea*): بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی

محمدیار حسینی^{۱*}، بهار نعمتی^۲، مریم حاجی زاده^۳

^۱ دانشیار گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، رایانامه: m.hosseini@ilam.ac.ir

^۲ دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، دانشکده پیرامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

^۳ دانش آموخته کارشناسی ارشد باکتری شناسی، دانشکده پیرامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	سابقه و هدف: به منظور کاهش استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی می‌توان در ترکیب بسته‌بندی‌ها از مواد ضد میکروبی طبیعی استفاده نمود. در پژوهش‌های مربوط به تهیه و ارزیابی فیلم‌های خوراکی در سال‌های اخیر استفاده از انواع عصاره‌ها و اسانس‌ها برای محافظت میکروبی، به تعویق انداختن فساد مواد غذایی و کاهش ضایعات غذایی جایگاه قابل توجهی به دست آورده‌اند. فیلم‌های حاوی ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز مقاومت مکانیکی مناسبی دارند و ژلاتین 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 عصاره خرفه در کشورمان و با توجه به قیمت ارزان ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز، فرمولاسیون آن می‌تواند در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرد.
واژه‌های کلیدی: فیلم، عصاره خرفه ژلاتین کربوکسی متیل سلولز خواص فیزیکوشیمیایی	مواد و روش‌ها: در این پژوهش به بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره خرفه بر ویژگی‌های فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز پرداخته شد. متغیر مستقل شامل غلظت‌های مختلف عصاره خرفه (۰٪، ۰/۷۵٪، ۱/۵٪ و ۳/۲۵٪) و متغیرهای وابسته آزمایش‌ها فیزیکوشیمیایی (کدورت، ضخامت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار)، آزمایش‌ها مکانیکی (ازدیاد طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ)، فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی در نظر گرفته شد. آزمایش‌ها با سه تکرار با طرح کاملاً تصادفی و آنالیز واریانس یکطرفه با نرم‌افزار SPSS ²⁶ در سطح احتمال ۰/۰۵ تحلیل شد.
	یافته‌ها: در این تحقیق در بین تیمارها، اختلاف مقدار کدورت فیلم‌های حاصل معنی‌دار نبود ($p > 0/05$) اگر چه در بیشترین غلظت عصاره، بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. بیشترین مقدار ضخامت در غلظت ۱/۵٪ عصاره خرفه به دست آمد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p < 0/05$). در بین تیمارها، کمترین میزان حلالیت در غلظت ۳/۲۵٪ عصاره خرفه و کمترین نفوذپذیری به بخار در غلظت پایین عصاره در تیمارها بود. بالاترین میزان ازدیاد طول در نقطه شکست (۲۸٪)، استحکام کششی (۱۷ مگاپاسگال)، و مدول یانگ (۱۳۴ مگاپاسگال)

در غلظت ۱/۵٪ عصاره خرفه بود. در غلظت‌های ۱/۵٪ و ۳/۲۵٪ عصاره خرفه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های DPPH معنی‌دار بود ($p < 0.05$). ارزیابی فعالیت ضد میکروبی فیلم با روش دیسک انتشاری انجام گرفت. در این آزمون بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت عصاره ۳/۲۵٪ مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس با متوسط قطر هاله ۱۵/۲۳ mm بود. در همین غلظت متوسط قطر هاله برای سودوموناس اثر وژنر و اشریشیاکلی به ترتیب ۸/۱۶ mm و ۴/۵ mm گزارش شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد افزودن غلظت زیاد عصاره خرفه (۳/۲۵٪) به فیلم ژلاتین-کربوکسی‌متیل سلولز موجب تولید فیلم‌هایی با استحکام کافی شده که بالاترین کارایی و ویژگی‌های مطلوب را دارد و می‌تواند با تأخیر در اکسیداسیون لیپیدها، خواص مکانیکی و تغییرات فیزیکوشیمیایی مطلوب، به عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

استناد: حسینی، محمدیار؛ نعمتی، بهار؛ حاجی‌زاده، مریم. (۱۴۰۳). تهیه فیلم خوراکی فعال بر پایه ژلاتین-کربوکسی‌متیل سلولز حاوی عصاره خرفه (*portulaca oleracea*): بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۶ (۳)، ۱۳۰-۱۱۵.



DOI: 10.22069/fppj.2024.22321.1808

"حق نشر و حقوق کامل انتشار برای نویسندگان محفوظ است"

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

در سال‌های اخیر به واسطه نگرانی درباره محیط‌زیست، نیاز به کاهش مقدار پسماند حاصل از بسته‌بندی و تقاضای مصرف‌کننده برای محصولات غذایی با کیفیت بالاتر، تمایل به استفاده از پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی گسترش یافته است. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به صورت لایه‌های نازکی از مواد خوراکی بر روی سطح مواد غذایی یا میان ترکیبات آن‌ها قرار می‌گیرند و به عنوان یکی از راه‌های اساسی کنترل تغییرات فیزیولوژیکی، میکروبی و فیزیوشیمیایی در مواد غذایی مطرح می‌باشند. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌توانند با جلوگیری از مهاجرت رطوبت و انتشار گازهای دخیل در فساد ماده غذایی نظیر اکسیژن یا دی‌اکسید کربن از محصول غذایی، حفاظت کنند. آن‌ها همچنین می‌توانند باعث بهبود کیفیت و ظاهر محصول غذایی با جلوگیری از مهاجرت طعم و آروما شوند. به علاوه به عنوان حاملین مواد ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد مغذی، رنگ، مواد دارویی و ادویه‌جات عمل کنند. مواد اصلی تشکیل دهنده فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی شامل پروتئین‌ها، چربی‌ها و پلی‌ساکاریدها می‌باشند، این مواد به تنهایی یا در ترکیب با هم به کار می‌روند (۱، ۲).

فیلم‌های خوراکی، ترکیبات بیوپلیمری^۱ با ساختار لایه نازک از مواد خوراکی هستند که با پوشاندن سطح مواد غذایی می‌توانند از مهاجرت رطوبت، بو، چربی و انتشار گازهای دخیل در فساد (اکسیژن یا دی‌اکسید کربن) جلوگیری کنند. همچنین می‌توانند به عنوان حامل عوامل عملکردی، مواد ضد میکروبی، آنتی-اکسیدان‌ها، مواد مغذی، رنگ، مواد دارویی و غیره عمل کنند. از جمله دیگر مزایای استفاده از پوشش‌های خوراکی، حمل و نقل آسان‌تر، حفاظت مکانیکی، سهولت دسترسی و کاهش هزینه بسته‌بندی می‌باشد

(۳). فیلم‌های خوراکی می‌توانند بر پایه پلیمرهای طبیعی یا سنتزی^۲ (مصنوعی) تولید شوند. با این حال، فیلم‌های به دست آمده از یک نوع پلیمر ممکن است دارای محدودیت‌هایی مانند حلالیت و نفوذپذیری نامناسب و خواص حرارتی ضعیف باشند. ژلاتین یک پروتئین حیوانی است که از آبکافت جزئی کلاژن به دست می‌آید و به دلیل خواص منحصربه‌فرد آن مانند فعالیت سطحی، قابلیت تشکیل ژل، کنترل گرانش و تشکیل فیلم، یکی از مهم‌ترین پلیمرهای طبیعی است که در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی کاربرد دارد (۳).

کربوکسی متیل سلولز (CMC^۳) پلی‌ساکاریدی خطی است که از منومرهای β -D-glucose تشکیل شده و یکی از مشتقات مهم سلولز محسوب می‌شود (۴). ویژگی‌های نانوکامپوزیتی و طبیعی بودن آن موجب می‌گردد که خصوصیات تشکیل فیلم بسیار خوبی را از خود به جای بگذارد (۵). دسترس‌پذیری، ارزان قیمت بودن، فرآوری آسان، لزجت بالا، غیر سمی و حساسیت‌زا بودن از دیگر خصوصیات قابل ذکر آن می‌باشد. فیلم‌های حاصل از این پلیمر ویژگی‌های ممانعتی خوبی نسبت به گازها داشته و تقریباً از ویژگی‌های مناسب مکانیکی برخوردار می‌باشند (۶). در پژوهشی نشان داده شده است که فیلم CMC نیز به دلیل خاصیت هیدروفیل بالا، مقاومت کمی در مقابل نفوذ بخار آب دارد. یکی از روش‌هایی که برای غلبه بر محدودیت‌های ذکر شده ارائه شده است، استفاده ترکیبی از پلیمرها به منظور تشکیل فیلم است. در سال‌های اخیر استفاده از انواع اسانس و عصاره‌های گیاهی برای محافظت میکروبی، به تعویق انداختن فساد مواد غذایی (شیمیایی و میکروبی) و کاهش ضایعات غذایی جایگاه قابل

² Synthetic polymers

³ Carboxymethyl cellulose

¹ Biopolymer

بر مخلوط ژلاتین و کیتوزان با افزودن اوژنول بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی را بر اساس آزمایش ظرفیت ترولکس نشان دادند ($p < 0.05$) (۱۱).

هان و همکاران در سال ۲۰۱۸ خواص فیزیکی و ضد میکروبی فیلم ترکیبی سدیم آلزینات 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؛ علاوه بر این، استحکام کششی به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. با این حال با افزودن توئین ۸۰ نفوذپذیری به اکسیژن فیلم‌ها کمی کاهش یافت. فیلم‌های حاوی اسانس دارچین فعالیت ضد میکروبی خوبی در برابر اشراشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس داشتند. با افزایش میزان اسانس به ۱۵ گرم بر لیتر اثرات مهاری بر استافیلوکوکوس اورئوس با افزایش توئین ۸۰ افزایش یافت. علاوه بر این، فیلم‌های حاوی اسانس به‌عنوان پوشش برای نگهداری موز مورد بررسی قرار گرفت؛ نتایج آن‌ها نشان داد که این پوشش‌ها می‌توانند عمر مفید موز را افزایش دهند (۱۲).

در مطالعه‌ای نشان داده شد، عصاره طبیعی گیاهان یک افزودنی مفید به فیلم‌های خوراکی است که باعث افزایش خواص عملکردی آن‌ها می‌شود 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 می‌شود (۱۳). با توجه به این که تاکنون تحقیقی در مورد فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین-کربوکسی متیل-سلولز حاوی عصاره خرفه انجام نشده است، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر این عصاره بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی این فیلم خوراکی می‌باشد.

توجهی به دست آورده‌اند (۷۸). گیاه خرفه که از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی است با نام علمی *Portulaca oleracea* و از تیره پرتولاکاسه (*Portulacaceae*) است. این گیاه برگ‌های ضخیم و ساقه قرمز رنگی دارد. پژوهش‌ها نشان داده است که عصاره خرفه غنی از اسیدهای چرب غیراشباع W_3 ، آلفاتوکوفرول، اسید آسکوربیک، بتاکاروتن، گلوکاتینون، اسید آلفالینولنیک و فلاونوئیدهاست. این گیاه در قاره‌های آسیا، اروپا و آمریکا رشد می‌کند و کاربرد طب سنتی دارد (۹).

شهبازی و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثر ضد باکتریایی 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 به‌صورت معنی‌داری کمتر می‌باشد. علاوه بر این، در بین فیلم‌های مختلف بیشترین اثر ضد میکروبی مربوط به فیلم ژلاتین حاوی اسانس کاکوتی کوهی به همراه عصاره هسته انگور بود (۱۰).

بونیا و همکاران در سال ۲۰۱۸ پتانسیل آنتی اکسیدانی اسانس‌های اوژنول و زنجبیل در فیلم‌های ژلاتین/کیتوزان را بررسی کردند. خواص نوری، ریز ساختاری، مکانیکی و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها مشخص شد. تجزیه و تحلیل طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)، حضور گروه‌های جدید با افزودن اسانس‌های اوژنول یا زنجبیل را تأیید کرد. 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. فیلم‌های مبتنی

مواد و روش‌ها

مواد: ژلاتین گاوی با درجه بلوم ۲۰۰ از شرکت ژلاتین حلال، مواد شیمیایی، کربوکسی متیل سلولز و محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت مرک می‌باشد. گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) از دانشکده کشاورزی و سویه‌های میکروبی /شریشیاکلی ATCC25922، اسـتافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923 و سودوموناس آئروژنز ATCC27853 از دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام تهیه شدند.

استخراج عصاره: ابتدا تخم خرفه آسیاب شد و سپس به ازای هر گرم پودر، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بشر ریخته شد و به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده و پس از سرد شدن آن را از پارچه صافی تمیزی گذرانده و توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف شدند. عصاره به دست آمده مجدداً جهت تغلیظ حرارت داده شد و در نهایت عصاره‌ای با ویسکوزیته بالا به دست آمد. عصاره حاصل جهت خشک شدن و تهیه تیمارهای آزمایشی، در انکوباتور با حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (۱۴).

تهیه فیلم: هر یک از محلول‌های ژلاتین و کربوکسی-متیل سلولز به صورت جداگانه تهیه شدند. ابتدا محلول ۳ درصد ژلاتین (w/v) با آب مقطر ۸۰ درجه سانتی‌گراد تهیه و ۳۰ دقیقه عمل هم زدن انجام شد. به محلول حاصل ۳۰ درصد گلیسرول (w/w) اضافه شد و با دور ۲۴۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه هم‌وزن (مدل IKA T25 digital Ultra turrax آلمان) شد. سپس محلول ۲ درصد CMC (w/v) در آب مقطر تهیه گردید و ۰/۵ گرم گلیسرول اضافه و تا دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت و به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۴۰۰rpm هم‌وزن شد. از دو محلول تهیه شده به نسبت ۴ به ۱ (ژلاتین به CMC) مخلوط و تا ۵/۵- pH=۵ تنظیم شد. به محلول حاصل ۰/۱ درصد توین

۸۰ اضافه و به مدت ۴ دقیقه هم‌وزن گردید. محلول حاصل خنک شد و عصاره خرفه با غلظت‌های ۰، ۰/۷۵، ۱/۵، ۳/۲۵ (v/v) به محلول اضافه و به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد. نمونه‌ها در پتری دیش پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتی‌متر ریخته و زیر هود تحت خلأ به مدت یک ساعت نگهداری و به آون ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۰ ساعت نمونه‌ها خشک شده و در دسیکاتور جهت انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند (۱۵).

اندازه‌گیری کدورت فیلم: برای تعیین ویژگی‌های نوری فیلم‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu ژاپن) استفاده شد. به این منظور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۹×۴۰ میلی‌متر بریده شده و داخل سل اسپکتروفتومتر قرار داده شدند. یک نمونه سل 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 رابطه ۱ برای اندازه‌گیری کدورت استفاده شد (۵).

$$\text{رابطه ۱} \quad \text{میزان جذب در } 500 \text{ nm} = \frac{\text{ضخامت فیلم}}{\text{کدورت فیلم}}$$

اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها: ضخامت تیمارهای فیلم توسط میکرومتر (مدل Mitutoyo ژاپن) با دقت نزدیک به ۰/۰۰۱ میلی‌متر و اندازه‌گیری‌ها در شش نقطه اطراف و یک نقطه در مرکز هر فیلم انجام شد و میانگین آن‌ها به عنوان ضخامت در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها در محاسبات ویژگی‌های مکانیکی و نفوذپذیری به بخار آب ضروری است (۵).

حلالیت: نمونه خشک شده را در ۵۰ mL آب مقطر با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت تحت هم‌زنی با سرعت ۱۵۰ rpm قرار گرفت. سپس قطعات فیلم توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۲ از آب جدا شده و با دستمال نرم، به آرامی قطرات آب روی فیلم پاک شد و بعد فیلم متورم به همراه کاغذ صافی

رطوبت نسبی داخل سل‌ها و رطوبت نسبی داخل
دسیکاتور (kPa)، به‌دست آمد (۵):

روابط ۳ و ۴

$$WVTR^3 = \frac{\text{شیب منحنی}}{\text{مساحت سطح فیلم}}$$

$$WVP = \frac{WVTR \times \text{ضخامت}}{\text{اختلاف فشار}}$$

ویژگی‌های مکانیکی: از روش استاندارد
مصوب ASTM D882-02 (ASTM 2002) و دستگاه
اینسترن برای اندازه‌گیری ویژگی‌های کششی فیلم‌ها
استفاده شد. به این صورت که نمونه‌های مورد
آزمایش که قبلاً به مدت حداقل ۷۲ ساعت در
دسیکاتور حاوی نیتراژ منیزیم (رطوبت نسبی ۵۰٪)
قرارگرفته بودند را به‌وسیله تیغ تیز به شکل مستطیل و
به ابعاد ۱۵۰×۱۰ mm بریده شدند. فاصله بین دو فک
دستگاه ۱۰۰ mm تنظیم و نمونه‌ها با سرعت
۵۰ mm/min با دور شدن فک‌ها از هم کشیده شدند.
نیروی مورد نیاز برای کشش (N) و مقدار
کشش‌پذیری (mm) طی آزمون ثبت شدند. در این
آزمون، مقاومت نسبت به کشش (TS)، کشش‌پذیری
در لحظه پارگی (EAB) و مدول یانگ (YM)
نمونه‌ها محاسبه شدند (۵):

روابط ۵ و ۶

$$TS = \frac{\text{بیشینه نیروی وارده به فیلم}}{\text{ضخامت فیلم} \times \text{عرض فیلم}}$$

$$EAB = \frac{\text{تغییر طول نمونه}}{\text{طول اولیه}} \times 100$$

فعالیت آنتی اکسیدانی: فعالیت آنتی اکسیدانی
فیلم‌های ژلاتین توسط تغییر رنگ رادیکال DPPH از
بنفش به هیدرازین‌های زردرنگ اندازه‌گیری شد. برای

درون آن 110°C به مدت ۵ ساعت قرار داده شد تا
خشک شده و به وزن ثابت برسد. سپس توسط
ترازوی دیجیتال توزین شد (W_2). در نهایت درصد
حلالیت فیلم در آب از رابطه ۲ محاسبه شد:

رابطه ۲

$$\text{Water Solubility (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

که در آن W_1 وزن نمونه خشک و W_2 وزن نمونه
متورم خشک هستند.

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (تراوش پذیری):^۱ این
آزمون بر اساس روش اصلاح شده شماره E69
مصوب ASTM^۲ انجام شد (ASTM, 1995). ابتدا
درون سل‌های شیشه‌ای، کلریدکلسیم بی آب ریخته و
سطح سل‌ها به وسیله فیلم بدون چروکیدگی و حباب
پوشانده شد و با استفاده از پارافین مذاب و پارافیل
دهانه ظروف کاملاً پوشانده شد. سل‌ها درون
دسیکاتور حاوی آب‌نمک اشباع قرار گرفتند تا
به این ترتیب در داخل آن‌ها رطوبت نسبی ۱۰۰٪ و خارج
آن‌ها رطوبت نسبی ۷۵٪ ایجاد شود. اختلاف رطوبت
در دو سمت فیلم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، فشار
بخاری معادل ۱۷۵۳/۵۵ Pa ایجاد می‌کند. تغییرات وزن
ظرف‌ها طی زمان (حدود یک هفته) با استفاده از یک
ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. هدف، اندازه‌گیری
رطوبتی بود که جذب فیلم شده اما از آن عبور نکرده
است. منحنی تغییرات وزن-زمان رسم و شیب هر
خط به وسیله رگرسیون خط مناسب ($R^2 > 0.89$)
محاسبه گردید و در نهایت سرعت انتقال بخار آب از
تقسیم شیب خط کشیده‌شده (g.h^{-1}) بر مساحت فیلم
(m^2) و مقدار نفوذپذیری به بخار آب
($\text{g.mm/h.m}^2.\text{KPa}$) با ضرب کردن ضخامت فیلم
(mm) در نرخ انتقال و تقسیم بر اختلاف فشار بین

¹ Water vapor permeability

² American Society for Testing and Materials

³ Water vapor transmission rate

مناطق مهار رشد (میلی-متر) برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اندازه گیری شد (۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار (n=3) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS₂₆ در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج و بحث

خواص فیزیکی فیلم‌های تولیدی (کدورت، ضخامت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب): نتایج حاصل از خواص فیزیکی نمونه‌های فیلم در جدول ۱ نشان داده شده است. کدورت معیاری جهت سنجش شفافیت فیلم‌ها است. مقایسه میزان کدورت فیلم‌های تولیدی نشان داد که اختلاف معنی‌دار فقط در تیمار ۱/۵٪ وجود دارد و در بین سایر تیمارهای جدول ۱ وجود ندارد (p>0/05). جدول ۱ نشان می‌دهد تیمارهای عصاره خرفه نسبت به تیمار شاهد تأثیری در افزایش کدورت در فیلم خوراکی را ندارد که احتمالاً به علت کاهش میزان ترکیبات فنلی در عصاره و همچنین همگن بودن ذرات در فیلم‌ها است. ضخامت فیلم‌ها در تمامی غلظت‌ها معنی‌دار بود (p<0/05). با افزایش غلظت عصاره خرفه، ساختار غیریکنواخت همراه با منافذ در فیلم ایجاد شد که نشان‌دهنده افزایش ضخامت است. ضخامت فیلم از بعد ترکیبی همیشه تحت تأثیر افزودن ترکیبات مختلف نظیر امولسیفایرها، نرم کننده‌ها و مقدار ماده خشک و نیز افزودنی‌هایی مثل اسانس‌ها است (۱۷). علت آن را می‌توان به میزان ترکیبات مختلف مواد نسبت داد که سبب تغییرات قابل توجهی در خواص

این منظور ۳۰ میلی گرم از هر فیلم در نسبت‌های برابر آب مقطر و متانول (نسبت ۳ به ۳) حل شد. پس از حل شدن تمام فیلم‌ها، به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۴۰۰۰ سانتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داشته شد و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از قسمت رویی محلول سانتریفوژ شده هر فیلم با ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار متانولی DPPH مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب هریک در ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (A_s). به‌عنوان شاهد، ۱ میلی‌لیتر از محلول آب و متانول (۳ میلی‌لیتر آب مقطر + ۳ میلی‌لیتر متانول) با ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار متانولی DPPH به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری 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 (۱۶).

رابطه ۷

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

فعالیت ضد میکروبی: از روش انتشار دیسک در آگار برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها علیه باکتری‌های /شریشیاکلی، /استافیلوکوکوس /اورئوس و سودوموناس آئروژنز استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ μL (۱۰^۶ cfu/ml) از هریک از سوسپانسیون‌های باکتریایی به صفحات محیط کشت مولر هیتتون آگار تلقیح شد. سپس دیسک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر از هر فیلم برش داده و بر روی سطح آن گذاشته شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵±۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت قطر

نوری فیلم‌ها می‌شود. یافته‌های احمد و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که با افزایش درصد اسانس ترنج و همچنین اسانس پوتار، باعث کاهش میزان عبور نور از فیلم‌ها و افزایش کدورت آن‌ها شد (۱۸). تأثیر ماهیت پلیمر و ترکیب فیلم بر ضخامت‌های حاصل را می‌توان در نتایج به دست آمده از مطالعات سایر محققین نیز مشاهده کرد. فرناندز و همکاران (۲۰۰۴) از نرم‌کننده‌های مختلف همانند گلیسرول، اریتریتول و سوربیتول استفاده کردند و فیلم‌های ترکیبی حاصل هر کدام ضخامت متفاوتی داشتند به صورتی که فیلم ترکیبی حاوی گلیسرول بیشترین ضخامت را داشت. بنابراین، مشاهده ضخامت‌های مختلف متأثر از ماهیت و ترکیب فیلم و نوع تعامل میان ترکیبات مختلف فیلم با منشاها متفاوت است که ساختارهای متفاوتی را ایجاد می‌کنند (۱۹).

حلالیت غلظت‌های مختلف عصاره معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). در تمامی تیمارها تیمار شاهد درصد حلالیت فیلم بیشتری داشت و با افزایش غلظت عصاره خرفه به مخلوط، حلالیت به ۴۶٪ کاهش یافت. تفاوت در میزان حلالیت، به غلظت و ماهیت گروه‌های عاملی ترکیبات بستگی دارد. افزودن عصاره به ترکیب فیلم، باعث می‌شود که اجزای غیر قطبی عصاره با دامنه هیدروفیل ژلاتین در تعامل بوده و باعث افزایش آب‌گریزی و کاهش حلالیت فیلم حاصل شود (۱۸). این نتایج با پژوهش‌های شجاعی-علی‌آبادی و همکاران (۲۰۱۳) منطبق بود که کاهش

حلالیت در آب فیلم‌های کاپا کاراگینان را در نتیجه افزودن اسانس مرزه به آن گزارش کردند (۲۰). جمریز و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی اثر اسانس اسطوخودوس بر روی فیلم نشاسته/فورسلاران/ژلاتین مشاهده کردند که با افزایش میزان اسانس، کاهش حلالیت فیلم‌ها در آب اتفاق می‌افتد (۲۱).

نتایج نفوذپذیری به بخار آب نشان داد که در حضور غلظت زیاد عصاره خرفه نفوذپذیری به بخار آب به‌طور معنی‌داری به ۷/۱۹ افزایش یافت ($p < 0.05$). دلیل آن احتمالاً به علت وجود ترک و شکاف ایجاد شده به علت تبخیر عصاره موجود در فرمولاسیون فیلم‌ها می‌باشد. علاوه بر آن نسبت ترکیبات آب‌دوست به آب‌گریز مواد موجود در فیلم، تأثیر مستقیمی روی میزان انتقال بخار آب در فیلم دارد (۵). این نتایج با نتایج حسینی و همکاران (۲۰۲۳) سازگار بود که با افزایش اسانس پونه کوهی، نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بر پایه ژلاتین افزایش یافت (۵). همچنین علت این افزایش را به پیوستگی بستر یا شبکه پلیمرها در حضور عصاره نسبت می‌دهند. مهرج احمد و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که اختلاط درصد بیشتر اسانس ترنج باعث افزایش نفوذپذیری به بخار آب می‌شود که با مشاهدات پژوهش منطبق بود 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 (۱۸).

جدول ۱- میانگین و انحراف استاندارد خواص فیزیکی فیلمهای خوراکی

Table 1. Mean and standard deviation of physical properties of edible films

Treatment	Turbidity	Thickness(mm)	Solubility(%)	Water vapor permeability($\text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$)
0.00%	0.92±0.03 ^a	16.66±4.04 ^d	74.46±3.7 ^a	0.93±0.06 ^c
0.75%	0.91±0.02 ^a	34.23±2.01 ^b	64.00±1.45 ^b	1.67±0.5 ^c
1.5%	0.43±0.04 ^b	34.43±1.87 ^a	68.14±3.15 ^b	5.61±0.42 ^b
3.25%	1.00±0.05 ^a	24.56±1.36 ^c	46.23±1.66 ^c	7.19±0.44 ^a

حروف کوچک متفاوت بر روی هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها در $p < 0.05$ می‌باشد.

Different small words on each column represent significant difference between the samples at $p < 0.05$.

آزمون مکانیکی: نتایج حاصل از آزمون‌های مکانیکی نمونه‌های فیلم ترکیبی ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز در جدول ۲ آمده است. نتایج آنالیز آماری آزمون‌های افزایش طول در نقطه شکست، مقاومت کششی و مدول یانگ در جدول ۲ بصورت اختلاف معنی‌داری نشان داده شده است ($p < 0.05$). با افزایش غلظت عصاره خرفه، میزان افزایش طول تا نقطه شکست (کشش‌پذیری) کاهش یافت و در غلظت ۱/۵٪ عصاره، به بیشترین مقدار خود (۲۸/۳۹٪) رسید که می‌تواند به دلیل افزایش پیوندهای ساختاری بهتر و هم جهت با ملکول ژلاتین باشد. در غلظت زیاد عصاره، توزیع ذرات همگن‌تر و ساختار محکم‌تر و فشرده‌تر می‌شود و میزان درصد افزایش طول کاهش می‌یابد.

مقاومت به کشش (TS) به استحکام پلیمر وابسته است. در غلظت ۱/۵٪، بیشترین مقدار مشاهده گردید و با افزایش غلظت عصاره خرفه، مقدار آن کم شد که این کاهش مربوط به تجمع ذرات و برهمکنش پلیمر می‌باشد که کاهش پیوند هیدروژنی بین عصاره و پایه فیلم موجب تضعیف پلیمر و کاهش TS می‌شود. رفتار مدول یانگ با تغییرات میزان مقاومت کششی و افزایش طول در نقطه شکست هم جهت است. افزایش مدول یانگ احتمالاً به این دلیل است که عصاره به دلیل ماهیت روغنی می‌تواند باعث بهبود ویژگی الاستیسیته فیلم گردد که باعث افزایش

تغییرات طولی نسبت به تغییرات عرضی در زنجیره و ترکیبات می‌گردد. این مدول وابسته به توزیع و چگالی فعل و انفعالات درون و بین ملکولی در ساختار فیلم است. ماهیت روغنی عصاره و نسبت سطح به حجم بالای آن در غلظت ۱/۵٪، باعث افزایش حجم فضای خالی بین زنجیره‌ها شده و مدول یانگ زیاد می‌شود.

نتایج پژوهش فلاح و همکاران (۲۰۲۰) بر روی تأثیر اسانس کندر و نقش اتصال‌دهندگی سدیم هگزامتافسفات بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختاری و میکروبی فیلم خوراکی ژلاتین و اثر تیمار بهینه بر نگهداری یخچالی فیله ماهی قزل‌آلا نشان داد که با افزایش درصد اسانس، ازدیاد طول در نقطه شکست و مقاومت به کشش افزایش می‌یابد که با نتایج این تحقیق همسو بود (۸). پینرووس و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی بر روی فیلم‌های بر پایه نشاسته، رفتار کاهشی مقاومت کششی و مدول یانگ را به تأثیر اسانس بر ساختار هتروژن فیلم و تعامل ضعیف بین گلیسرول و نشاسته نسبت دادند (۲۲). تونگوانچان و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای بر روی ویژگی‌های فیلم ژلاتین پوست ماهی حاوی روغن پالم و اسانس ریحان با سورفاکتانت‌های مختلف نشان دادند که افزودن اسانس باعث کاهش میزان مقاومت کششی فیلم گردید (۲۳).

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد خواص مکانیکی فیلمهای خوراکی

Table 2. Mean and standard deviation of mechanical properties of edible film

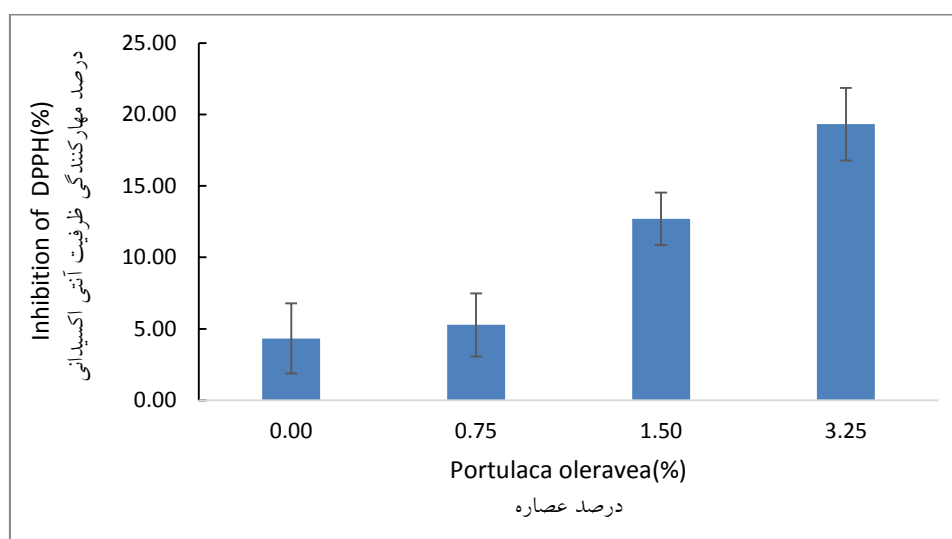
Treatment	Elongation at break(%)	Tensile strength(Mpa)	Young modulus(Mpa)
0.00%	19.47±0.07 ^b	9.66±0.62 ^c	96.9±3.11 ^d
0.75%	20.83±5.88 ^b	13.22±0.36 ^b	113.77±1.6 ^b
1.5%	28.39±0.08 ^a	17.3±0.95 ^a	134.02±1.21 ^a
3.25%	21.11±0.21 ^b	13.44±0.61 ^b	103.01±2.05 ^c

حروف کوچک متفاوت بر روی هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها در $p < 0.05$ می‌باشد.

Different small words on each column represent significant difference between the samples at $p < 0.05$.

تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین باشد (۲۴). شکل ۱ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها نسبت به فیلم شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). اختر و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که ماهیت فیلم و تفاوت در قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات افزوده شده بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها تأثیرگذار هستند (۲۵).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: شکل ۱ نمودار حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در غلظت‌های بالای عصاره خرفه به صورت معنی‌دار نشان می‌دهد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای مورد مطالعه توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را داشتند. در فیلم شاهد مقدار میانگین 4.33% فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که می‌تواند به دلیل وجود برخی آمینواسیدهای خاص مانند گلیسین و پرولین در ژلاتین و همچنین وجود آمینواسیدهای حلقوی مانند



شکل ۱- خواص آنتی‌اکسیدانی تیمارهای فیلم‌های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز با غلظت‌های مختلف عصاره خرفه

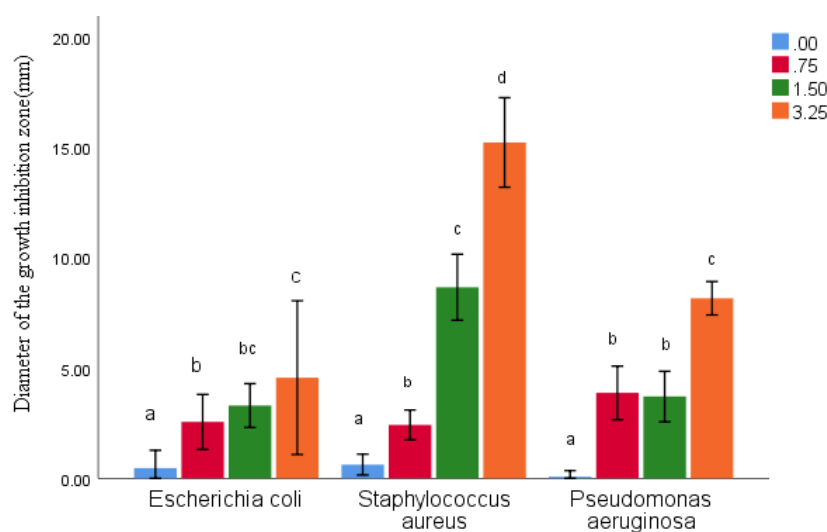
Figure 1. Antioxidant properties of gelatin-CMC films with different concentrations of *portulaca oleracea* extract

فیلم، منجر به مهار رشد هر سه گونه باکتریایی مورد بررسی شد. افزایش غلظت عصاره اثر معنی‌داری بر افزایش قطراله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان مهار رشد در هر سه گونه باکتریایی سودوموناس آئروژنز و اشیریشیاکلی و باکتری استافیلوکوکوس آئروژنس در تیمار 3.25% بود. برای استافیلوکوکوس آئروژنس با افزایش غلظت اسانس، میزان مهار رشد افزایش یافت به طوری که بیشترین قطراله عدم رشد 15.23 میلی‌متر مربوط به تیمار 3.25% بود.

فعالیت ضد میکروبی: اثر غلظت‌های مختلف عصاره خرفه جهت کاهش یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های اشیریشیاکلی، استافیلوکوکوس آئروژنس و سودوموناس آئروژنز به روش انتشار در آگار مورد بررسی قرار گرفت. میزان مهار رشد میکروارگانیسم‌ها (قطراله عدم رشد) در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در فیلم شاهد فعالیت ضد میکروبی ناچیزی علیه هر سه گونه مورد مطالعه مشاهده شد که قابل صرف نظر است. ولی افزودن غلظت‌های مختلف عصاره خرفه به ساختار

هسته‌ای توسط ترکیبات الکتروفیل، کاهش انرژی در سلول‌های میکروبی ناشی از آزادسازی پروتون گروه‌های هیدروکسیل و یا تشکیل اسیدهای چرب هیدروپراکسیداز (ناشی از اکسیژن‌رسانی اسیدهای چرب اشباع نشده) می‌توانند بر میکروارگانیسم‌ها اثرگذار باشند (۲۵). به‌طور کلی، 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-کربوکسی متیل سلولز می‌توانند برای نگهداری مواد غذایی مؤثر باشند و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و ایمنی محصول گردند (۲۴).

فعالیت ضد میکروبی تیمارهای حاوی عصاره خرفه می‌تواند نتیجه اثر هم‌افزایی هیدروکربن‌های مونوترپن و مشتقات آن باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است که مواد تشکیل‌دهنده جزئی (با غلظت کم) در ترکیبات فیلم‌ها می‌توانند نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها داشته باشند (۱). ریحانا اختر و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی فیلم‌های بیوکامپوزیت حاوی اسانس رزماری و نعناع، مهار رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را نتیجه وجود اجزای پلی فنولیک دانستند. اسانس‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله: اختلال در غشای سلولی فسفولیپیدی و نشت سیتوپلاسم، واکنش با آنزیم‌های تنفسی غشاء سلولی همچنین مهار سنتز آنزیم در میتوکندری، تأثیر بر ماده ژنتیکی، ترکیبات



شکل ۲- فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز با تیمارهای مختلف عصاره خرفه
Figure 2. Antimicrobial activity of gelatin-CMC films with different concentrations of *Portulaca oleracea* extract

($p > 0.05$). بیشترین مقدار ضخامت در غلظت ۱/۵٪ عصاره خرفه به دست آمد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). میزان حلالیت با افزایش میزان عصاره

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی در این پژوهش ویژگی‌های فیلم خوراکی ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز تحت تأثیر افزودن غلظت‌های مختلف عصاره خرفه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقادیر کدورت فیلم‌های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاصل معنی‌دار نبود

خرفه کاهش یافت و نفوذپذیری به بخار آب تمامی تیمارها با افزایش میزان عصاره خرفه به طور معنی داری افزایش یافت. افزایش طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ در تمامی تیمارها با افزایش غلظت عصاره خرفه در ترکیب فیلم به صورت معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$) به طوری که با افزایش غلظت عصاره رابطه مستقیمی مشاهده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی در غلظت های بالا معنی دار بود و همچنین بیشترین تأثیر در فعالیت ضد میکروبی در استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. به طور کلی می توان نتیجه گرفت فیلم های فعال ژلاتین-کربوکسی-متیل سلولز در حضور غلظت زیاد عصاره خرفه، بالاترین کارایی و ویژگی های مطلوب را دارد و می توانند با تأخیر در اکسیداسیون لیپیدها، خواص مکانیکی و فیزیکی شیمیایی مطلوب، 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 kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: development and characterization. Food Hydrocolloids. 23(3):684-90.
2. 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.
3. Sorrentino, A., Gorrasi, G., & Vittoria, V. 2007. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. Trends in Food Science & Technology. 18(2):84-95.
4. Tabari, F., Rezaei, M., Aryaee, P. & Abdullahi, M. 2016. Evaluation of some Physical and Mechanical Properties of Carboxymethyl cellulose/ Tragacanth Edible Film. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 12(1) 88-97.
5. De Moura, M.R., Lorevice, M.V., Mattoso, L.H.C. & Zucolotto, V., 2011. Highly stable, edible cellulose films incorporating chitosan nanoparticles. Journal of Food Science, 76(2).
6. Gutiérrez, M., Echeverría, I., Ihla, M., Bifani, V., Mauri, A., 2012. Carboxymethylcellulose-montmorillonite nanocomposite films activated with murta (Ugni molinae Turcz) leaves extract. Carbohydrate Polymers 87, 1495-1502.
7. Kavooosi, G., Dadfar S.M.M. & Purfard AM. 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).
8. Fallah, M., Rouhi, M., Sadeghi, E., Sarlak, Z., Moghadam, A. & Mohammadi, R. 2021. Effects of Olibanum essential oil on physicochemical, structural, antioxidant and microbial characteristics of Gelatin edible films. Iranian journal of nutrition science and food technology. 15(4): 93-102.
9. Mohamed, A.I. & Hussein, A.S. 1994. Chemical composition of purslane (Portulaca oleracea). Plant Foods for Human Nutrition, 45(1): 1-9.
10. Yaser shahbasi, Evaluation of Antibacterial Effects of Gelatin Film Containing Essential Oil of Cacti Mountain and Grape Seed Extract against Staphylococcus aureus in Cowpeas.
11. 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.
12. Han, Y., Yu, M., & Wang L. 2017. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. Food Packaging and Shelf Life; (15):35-42.
13. Ghadermarzi, R., Keramat, J & 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.
14. Su JF, Xia-Yan Y, Zhen H, Xin-Yu W, Xu-Zhen L, Li-Dan Z & Sheng-Bao W. 2012. Physicochemical properties of soy protein isolate/carboxymethyl cellulose blend films

- crosslinked by Maillard reactions: Color, transparency and heat-sealing ability. *Material Science and Engineering: C*, 32 (1): 40-46.
15. Azarifar, M., Ghanbarzadeh, B., Sowti, M., Akhondzadeh Basti, A., Abdulkhani, A., Noshirvani, N. & Hosseini, M. 2019. The optimization of gelatin-CMC based active films containing chitin nanofiber and Trachyspermum ammi essential oil by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*. 208, 457-468.
 16. Tongdeesontorn, W., Mauer, L., Wongruong, S., Sriburi, P., & Rachtanapun, P., 2011. Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. *Chemistry Central Journal*, 5(6), 1-8.
 17. Pinotti, A., García, M., Martino, M. & Zaritzky, N. 2007. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. *Food Hydrocolloids*. 21: 66-2.
 18. 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.
 19. Fernández-Cervera, M., Heinämäki, J., Krogars, K., Jörgensern, A. C., Karjalainen, M. & Iraizoz-Colarte, A. 2004. Solid-state and mechanical properties of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 5: 1-6.
 20. Shojaei-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S.M., Hosseini, S.M. & Khaksar R. 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International journal of biological macromolecules*. 52: 116-124.
 21. 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.
 22. Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., López-Córdoba, A. & Goyanes, S. 2017. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*. 63: 488-495.
 23. 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.
 24. 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.