

*Research Article***Evaluation of antimicrobial and physicochemical properties of the edible film based on sodium caseinate containing nettle extract****Pariya Hamzehzadeh Nakhjavani,¹ Zahra Emam-Djomeh,^{2*}**

1. Graduated from Master of Food Science and Technology, Islamic Azad University, North Tehran Branch
2. Prof, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran

(Received 29 May 2022, Received in revised form 28 September 2023, Accepted 22 October 2023)

Introduction: The spread of microbial diseases caused by food has led to extensive research in order to discover new ways to control microbial growth in food while maintaining their quality, freshness and safety. Coating food with biopolymers is one of the ways to improve the organoleptic properties of products. In order to increase the positive effects of this process, appropriate plant extracts and essential oils can be used. In addition to creating a good taste, these herbal compounds mainly have antimicrobial and antioxidant properties. The inclusion of this material in the formulation of coatings is mainly to improve their antimicrobial properties. The use of food coatings have advantages such as being biodegradable, having nutritional value, preventing or postponing microbial spoilage, preventing moisture absorption or dehydration, preventing the destruction of nutritious compounds due to unwanted reactions such as oxidation and The browning reactions prevent the juice from leaving the meat and also act as a carrier of additives such as antimicrobial compounds, antioxidants, flavorings and colors. One of the biodegradable compounds that can be used to prepare films is sodium caseinate. This substance is highly soluble and can spread very quickly in an aqueous mixture and become homogenized in the presence of oil or fat. Roman nettle (*Urtica pilulifera*) is a one- or two-year-old plant and is one of the native medicinal plants of West Azerbaijan region, which has extensive therapeutic, antioxidant and antimicrobial properties. This extracts have high inhibitory activity against the growth of gram-positive, gram-negative bacteria; Therefore, nettle extract can be used as one of the natural antioxidant and antimicrobial compounds in the packaging industry. In this research, the physical and mechanical properties of the sodium caseinate edible film containing this extract were investigated and its effectiveness in inhibiting the growth of food poisoning and contaminating agents was investigated.

Materials and methods: Two bacterial strains of *Escherichia coli* H7:O157 and *Staphylococcus aureus* were selected to investigate the antimicrobial properties of the produced films. When preparing a liquid culture of bacteria, one full loop of each bacterial sample was removed and cultured under completely sterile conditions in 50 ml of Moller Hinton Broth liquid medium, then at 37 °C and 140-150 rpm for 24 h in a machine. The process of diluting cultures using sterile distilled water until the microbial population was 1×10^6 CFU/ml. 10 g of sodium caseinate was dissolved in 150 g of distilled water containing determined amounts of glycerol at a temperature of 80 ± 5 °C and a stirring speed of 550 rpm then Nettle extract in three concentration levels 0, 1, 3 and 5 (% W/W) along with Tween 80 emulsifier to the amount of 30% of the weight of the essential oil was added to the control film solution and by a thermal stirrer at a speed of 550 rpm for 1 min. 5 were uniformly distributed in the solution at a temperature of 60 ± 5 °C. The prepared solutions were poured amount of 35 ml in the glass plates. Then drying the samples was 13.5 h at 40 °C. The dried films were slowly separated from the plates and stored in desiccators containing saturated magnesium nitrate solution with relative humidity of 50% and temperature of 25°C for experiments. Measuring the thickness of the films - solubility of the films in water - measuring the transparency - determining the WVP- determining the mechanical properties - studying the microstructure of the samples was done through SEM. Experiments were determined based on a completely

* Corresponding Author: emamj@ut.ac.ir

randomized design using the factorial test. Comparison of average data was done at 5% probability level based on One Way ANOVA test using Mini Tab version 17 software.

Results and discussion: The results related to the evaluation of the physical characteristics of the antimicrobial films showed that with the increase in the nettle extract concentration, the thickness of the film samples increased from 85 μ in the control sample to 91 μ in the sample containing 5% essential oil, but this increase was not significant ($P>0.05$). According to the electron microscope images, with the addition of antimicrobial extract, the production films were found to have a spongy texture. As the water molecules were trapped in these pores, the humidity and swelling of the films increased and as a result, their thickness increased.

Adding extract to the samples reduced the transparency so that at 1 and 3% level, this change was not statistically significant ($P>0.05$); But at the 5% level, it decreased significantly ($P<0.05$).

Adding the extract to the samples increased the solubility significantly ($P<0.05$) due to the increase of pores in the structure of the films, which is due to the destruction of the film layers and subsequently the ease of water entering the polymer matrix.

The surface of the sodium caseinate films was uneven due to the swelling of the biopolymer chains; But this unevenness did not disturb the order and coherence of the film and the matrix still maintained its compact structure, the microscopic images also confirm this.

The WVP in the control film was $3.36 \pm 9.79 \times 10^{-11}$. Although the hydrophobic nature of the extract could affect the hydrophilic-hydrophobic characteristics of the films; But physical factors had a major effect on the WVP. As mentioned before, it seems that the spongy structure created in the films containing nettle extract was caused by the disruption of the regular structure of the polymer chains due to the presence of compounds in the extract. This phenomenon increased the permeability to water vapor significantly ($P<0.05$).

The tensile strength of the control film based on sodium caseinate was 7.97 ± 0.60 MPa. The tensile strength values of films containing extract with a concentration of 5% were significantly ($P<0.05$) lower than the control film. The decrease in tensile strength of antimicrobial films was due to the destruction of the film network as a result of the addition of nettle extract can play the role of softener in films and as a result reduce the tensile strength of the film and improve the elongation at break of the film. The addition of extract led to the creation of transparent areas of inhibition around the films, and with the increase in the concentration of the extract, the inhibition area increased significantly ($P<0.05$). was more effective than *Escherichia coli* (gram negative). The images related to the SEM of different film samples indicate that the control film sample has a smooth, dense and uniform surface. The sample images of the film containing antimicrobial extract indicate the presence of many pores and holes on the surface.

Conclusions: Considering the need to develop green packaging films in the food industry, in this research the physical, mechanical, morphological and antimicrobial properties of sodium caseinate films containing nettle extract were investigated. Adding nettle extract to edible films caused a decrease in transparency by creating a spongy structure, and due to the increase of pores in the films' structure, it increased the film's solubility and permeability to water vapor. The tensile strength of the films also decreased when the extract entered the film matrix and disrupted the network order. Films containing nettle extract in microbial tests showed larger inhibition areas compared to the control film, and the resistance of gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) to the antimicrobial film containing nettle extract compared to gram-negative bacteria (*Escherichia coli*) Lower.

Keywords: *Biopolymer; Biodegradable; Edible film; Sodium caseinate; Nettle; Scanning electron microscope.*

How to cite this article:

Hamzehzadeh Nakhjavani, P & Emam-Djomeh, Z., (2023). Evaluation of antimicrobial and physicochemical properties of the edible film based on sodium caseinate containing nettle extract . *Innov. Food Technol.*, 10(3), 215-228.

مقاله پژوهشی

بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی و فیزیکوشیمیایی فیلم خوراکی بر پایه کازئینات سدیم حاوی عصاره گزنه (فیلم خوراکی بر پایه کازئینات سدیم حاوی عصاره گزنه)

پریا حمزه زاده نخجوانی^۱، زهرا امام‌جمعه^{۲*}

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران

(تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۰۳/۰۸، تاریخ آخرین بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۰۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۳۰)

چکیده

افزودن ترکیبات ضد میکروبی طبیعی به بسته‌بندی مواد غذایی یکی از روش‌های مرسوم تولید بسته‌بندی‌های فعال است. در این پژوهش، فیلم‌های خوراکی کازئینات سدیم حاوی عصاره گزنه (در سه سطح ۱، ۳ و ۵٪ وزنی/ وزنی) تولید و ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، ریخت‌شناسی و ضد میکروبی آنها ارزیابی گردید. نتایج نشان داد اثر بازدارندگی فیلم‌های حاوی عصاره گزنه بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. افزودن عصاره گزنه در سطح ۵٪ به فیلم‌های بر پایه کازئینات سدیم سبب افزایش درصد حلالیت در آب، نفوذپذیری به بخار آب‌شده و مقاومت کششی فیلم، درصد افزایش طول در زمان پاره شدن و همچنین شفافیت را کاهش داد. تصاویر به‌دست‌آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز تأییدی بر نتایج به دست آمده بود. با استنباط به نتایج حاصله می‌توان نتیجه‌گیری کرد عصاره گزنه در سطح ۵٪ می‌تواند یک ماده ضد میکروبی مناسب برای تولید فیلم‌های خوراکی بر پایه کازئینات سدیم باشد که برای بسته‌بندی مواد غذایی مختلف به‌ویژه مواد غذایی حساس به گونه‌های باکتری گرم مثبت به کار رود.

واژگان کلیدی: بیو پلیمر، زیست‌تخریب‌پذیر، فیلم خوراکی، کازئینات سدیم، گزنه، میکروسکوپ الکترونی روبشی.

۱. مقدمه

شیوع بیماری‌های میکروبی ناشی از مواد غذایی، موجب به‌وجود آمدن تحقیقات گسترده‌ای در راستای کشف راه‌های جدید جهت کنترل رشد میکروبی در مواد غذایی هم‌زمان با حفظ کیفیت و تازگی و ایمنی آن‌ها گردیده است [۱]. تکنولوژی پوشش‌دهی یکی از فناوری‌های رایج مورد استفاده برای افزایش ماندگاری مواد غذایی است.

پوشش‌دهی مواد غذایی با پلیمرهای زیستی یکی از راه‌های بهبود خصوصیات ارگانولپتیک محصولات می‌باشد. می‌توان به‌منظور افزایش اثرات مثبت این فرایند، از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی متناسب استفاده کرد. این ترکیبات گیاهی علاوه بر ایجاد طعم و بوی مناسب، عمدتاً دارای ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند. قراردادن عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در فرمولاسیون پوشش‌ها عمدتاً جهت بهبود ویژگی‌های ضد میکروبی آنها می‌باشد [۲]. استفاده از پوشش‌های خوراکی به‌عنوان تکنولوژی مدرن دارای مزایایی از جمله زیست‌کافت بودن، دارا بودن ارزش تغذیه‌ای، ممانعت یا به‌تعمیق انداختن فساد میکروبی، بهبود کیفیت ظاهری محصول، ممانعت از جذب رطوبت یا آب‌گیری، ممانعت از تخریب ترکیبات مغذی در اثر واکنش‌های ناخواسته همچون اکسایش و واکنش‌های قهوه‌ای شدن، ممانعت از خروج شیرابه از گوشت و همچنین عمل به‌عنوان حامل مواد افزودنی نظیر ترکیبات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد طعم‌دهنده و رنگ می‌باشد [۳]. پوشش‌های خوراکی اغلب از جنس ترکیبات طبیعی مانند پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و لیپیدها به‌تنهایی و یا ترکیبی از آنها بوده که به‌صورت لایه‌ای نازک در سطح ماده غذایی استفاده می‌شوند. این فیلم‌ها باید ویژگی‌های مکانیکی مطلوبی داشته و از نظر شیمیایی پایدار باشند به‌طوری‌که بتوانند مانع از انتقال رطوبت، گازها، مواد محلول و مواد معطر شوند [۴]. یکی از ترکیبات زیست‌تخریب‌پذیری که جهت تهیه فیلم‌ها می‌توان از آن بهره جست، کازئینات سدیم است [۵، ۶]. کازئینات سدیم نمک سدیم کازئین است و شامل انواع عناصر ضروری برای بدن انسان می‌باشد. این ماده به میزان زیادی محلول است و می‌تواند خیلی سریع در یک مخلوط آبی پخش شود و در حضور روغن و یا

چربی همگن گردد [۷، ۸]. از آنجاکه کاربرد مواد نگهدارنده شیمیایی دارای عوارض جانبی زیادی است، بنابراین امروزه تمایل زیادی به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی وجود دارد [۹، ۱۰، ۱۱]. گزنه رومی (*Urtica pilulifera*) گیاهی یک یا دوساله بوده و یکی از گیاهان دارویی بومی منطقه آذربایجان غربی است که دارای ویژگی‌های درمانی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی گسترده‌ای می‌باشد [۱۲]. عصاره‌های آبی و الکلی این گیاه دارای فعالیت ممانعت‌کنندگی بالا در برابر رشد باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، کپک و مخمر است؛ بنابراین عصاره گزنه می‌تواند به‌عنوان یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی در صنایع بسته‌بندی مورد استفاده واقع گردد [۱۳ و ۱۴]. تاکنون پژوهش‌های مختلف به بررسی ویژگی‌های فیلم‌های خوراکی به‌تنهایی یا در ترکیب با عصاره‌های گیاهی جهت بهبود کیفیت فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیک محصولات غذایی پرداخته‌اند. از این میان می‌توان به استفاده از فیلم فعال نشاسته حاوی عصاره گزنه جهت افزایش پایداری روغن سویا [۱۵]، بهینه‌سازی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های خوراکی تولیدشده از صمغ دانه قدومه شیرازی در ترکیب با گلیسرول [۱۶]، ارزیابی ویژگی‌های مکانیکی و ممانعت‌کنندگی فیلم‌های تهیه‌شده از موسیلاژ دانه چیا (*Salvia hispanica*) در ترکیب با سوربیتول یا گلیسرول [۱۷]، بهینه‌سازی ویژگی‌های مکانیکی و رنگی فیلم بسته‌بندی تولیدشده با استفاده از پلی استایرن/نانورس/نانو ZnO [۱۸] و تأثیر پوشش خوراکی پروتئین آب‌پنیر حاوی عصاره آویشن شیرازی و روغن سبوس برنج بر کیفیت شیمیایی، فیزیکی و میکروبی تخم‌مرغ [۱۹] اشاره کرد [۲۰]. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی فیلم موسیلاژ بذر به دانه (QSM) حاوی اسانس پونه کوهی (OEO) را ارزیابی کرده و مشخص گردید افزودن OEO ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشیده به‌طوری‌که فیلم حاوی ۱٪ از OEO تأثیر مهاری شدیدی بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شرشیا کلای* و *یرسینیا اینترکولیتیکا* نشان داد. کایلا^۱ و همکاران [۲۱] از فیلم نانوکامپوزیت بر پایه کیتوزان حاوی

1. Kalia

۲.۲. تهیه فیلم‌های خوراکی حاوی عصاره گزنه

۱۰ g کازئینات سدیم (مرک - آلمان) با درجه غذایی موجود در بازار حاوی ۸۳/۳٪ پروتئین ۱/۲٪ چربی و ۱/۸٪ خاکستر بود. در ۱۵۰g آب مقطر حاوی مقادیر تعیین شده گلیسرول از شرکت ACROS (انگلستان) (۰-۱۵-۳۰٪ وزنی/وزنی) در دمای $5 \pm 60^\circ\text{C}$ و سرعت هم زنی rpm ۵۵۰ حل گردید. گلیسرول به‌عنوان ماده بهبوددهنده برای شکل‌گیری و ممانعت از شکنندگی فیلم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. پس از انحلال کامل کازئینات سدیم دما تا $5 \pm 5^\circ\text{C}$ افزایش و مخلوط حاصل به مدت ۱ h در دما و سرعت هم‌زدن مزبور نگهداری شد. عصاره هیدروالکی گزنه (شرکت زردبند) در سه سطح غلظتی ۰، ۱، ۳ و ۵ (W/W) همراه با امولسیفایر تئوین ۸۰ به مقدار ۳۰٪ وزن اسانس به محلول فیلم شاهد اضافه‌شده و توسط همزن حرارتی با سرعت rpm ۵۵۰ به مدت ۵ min در دمای $5 \pm 60^\circ\text{C}$ به‌طور یکنواخت درون محلول توزیع گردیدند. پس از اینکه کازئینات سدیم به‌طور کامل حل شد دما تا $5 \pm 80^\circ\text{C}$ افزایش داده شد و هموژنیزاسیون مخلوط حاصل با استفاده از میکسر هموژنایزر (JKA-T05 digital، آلمان) در سرعت rpm ۱۵۰۰۰ به مدت ۱ min انجام شد. محلول‌های تشکیل‌دهنده فیلم تحت خلأ و در دمای 25°C هواگیری شدند. سپس از محلول‌های تهیه‌شده، توسط پیپت به مقدار ۳۵ ml در مرکز پلیت‌های شیشه‌ای ریخته شد مدت‌زمان لازم برای خشک شدن نمونه‌ها ۱۳/۵ h در دمای 40°C بود. شرایط پایان دادن به فرایند، رسیدن به رطوبت ثابت بود که برای تمام نمونه‌ها ۱۵٪ گزارش شد. فیلم‌های خشک‌شده به‌آرامی از پلیت‌ها جدا و در دیسک‌اتورهای حاوی محلول اشباع نیترات منیزیم با رطوبت نسبی ۵۰٪ و دمای 25°C جهت انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند [۲۳].

۳.۲. بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی

برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های تولیدشده، از روش دیسک‌های انتشاری استفاده شد. فیلم‌های تولیدشده با استفاده از یک قالب به دیسک‌هایی با قطر ۵ ml تبدیل شدند. هر طرف این دیسک‌ها به مدت ۳۰ min زیر هود در

اکسید مس و عصاره برگ گزنه برای افزایش ماندگاری میوه‌های گواوا استفاده کردند. نتایج تحقیق نشان داد فیلم‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی قابل‌توجهی در برابر انتروباکترها، مخمرها و کپک‌ها بودند. مهجوریان^۱ و همکاران [۲۲] به بررسی ویژگی‌های فیزیکی و میکروبی فیلم بسته‌بندی حاوی عصاره گزنه پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد افزودن عصاره تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی نمونه‌های فیلم داشته و فیلم دارای اثر ضد میکروبی علیه باکتری‌های *اشرشیا کلائی*، *لیستریا مونوسیتوزنر* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. براساس بررسی‌های انجام‌شده تاکنون از عصاره گزنه در تولید فیلم خوراکی بر پایه کازئینات سدیم استفاده نشده است؛ لذا با توجه به ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گزنه رومی، در این تحقیق ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم خوراکی کازئینات سدیم حاوی این عصاره مورد بررسی قرار گرفته و کارایی آن جهت بازدارندگی رشد عوامل مسمومیت‌زا و آلوده‌کننده مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. سویه‌های میکروبی و روش نگهداری آنها

دو سوش باکتریایی *اشرشیا کلی* H7:O157 و *استافیلوکوکوس اورئوس* جهت بررسی خصوصیات ضد میکروبی فیلم‌های تولیدشده انتخاب گردیدند. به‌منظور حفظ قابلیت زیستی باکتری‌ها، هر یک ماه کشت مجدد آنها صورت گرفت. هنگام تهیه کشت مایع از باکتری‌ها یک لوپ پر از هر نمونه باکتری برداشته شده و در شرایط کاملاً سترون در ۵۰ ml محیط مایع مولر هینتون براث کشت داده شد سپس در دمای 37°C و دور rpm ۱۵۰-۱۴۰ به مدت ۲۴ h در یک دستگاه گرمخانه شیکردار گرمخانه‌گذاری شد. در نهایت عمل رقیق‌سازی کشت‌ها با استفاده از آب مقطر استریل تا رسیدن به جمعیت میکروبی مورد نیاز برای کشت سطحی صورت گرفت. هنگام کشت سطحی جمعیت میکروبی 1×10^6 CFU/ml بود [۲۲].



۳.۴.۲. اندازه‌گیری شفافیت

میزان شفافیت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی نوری به روش استاندارد ASTM D 17460 - 09 در طول موج ۵۶۰ nm اندازه‌گیری شد [۲۲]. ابتدا نمونه‌های فیلم با ابعاد ۴۰ × ۱۰ mm را در داخل دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم با رطوبت نسبی ۵۳٪ و دمای محیط قرار داده و دستگاه بر حالت شفافیت تنظیم است. کالیبراسیون دستگاه با یک سل خالی در طول موج ۵۶۰ nm انجام شد.

۴.۴.۲. تعیین میزان نفوذپذیری به بخار آب^۱ (WVP)

آزمون اندازه‌گیری نفوذپذیری به بخار آب برای فیلم‌های تولیدشده، با استفاده از روش اصلاح‌شده انجام گرفت [۲۱]. به این ترتیب که ابتدا هر نمونه فیلم درون سل‌های شیشه‌ای با مساحت ۰/۰۰۱۹۶۲۵ m² به‌طور کامل درب‌بندی شده و داخل دسیکاتور حاوی سیلیکاژل در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند. به‌منظور حفظ گرادیان رطوبت نسبی ۷۵٪ عبوری از فیلم‌ها، از کلرید کلسیم بدون آب در داخل سل‌ها و محلول اشباع کلرید سدیم (رطوبت نسبی ۷۵٪) در داخل دسیکاتور استفاده شد. تغییرات وزنی ظروف شیشه‌ای در فواصل زمانی ۱۲ h با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ g ± اندازه‌گیری و میزان افزایش وزنی تعیین گردید [۲۵، ۲۶، ۲۷]. میزان نفوذپذیری به بخار آب از رابطه (۲) به دست می‌آید:

$$WVP = \frac{\Delta m \times X}{A \times \Delta t \times \Delta P} \quad (2)$$

Δm : افزایش وزنی (g)، A: سطح فیلم (m²)، X: ضخامت فیلم (m)، Δt : زمان (s) و ΔP : اختلاف فشار بین رطوبت نسبی درون ظروف شیشه‌ای و رطوبت نسبی دسیکاتور (Pa) است.

۵.۲. تعیین ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها

درجه کششی^۲ (TS) و افزایش طول^۳ (E) فیلم‌ها مطابق استاندارد ASTM D882-2 با استفاده از دستگاه اینسترون مدل BZ2.5/TH/S ساخت آلمان انجام گرفت [۲۲]. فیلم‌ها

معرض اشعه UV (فاصله لامپ تا نمونه ۱۲ cm) جهت استریل کردن قرار گرفت [۲۴]. قبل از قرار دادن دیسک‌ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۱/۰ ml کشت مایع از هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش (۱ × ۱۰^۶ CFU/ml) صورت گرفت. دیسک‌ها در شرایط استریل روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شدند. پس از آن، پلیت‌ها در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ h گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله تشکیل‌شده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۲ mm اندازه‌گیری شد. اختلاف مساحت هاله‌های تشکیل‌شده از مساحت دیسک‌ها به‌عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی در نظر گرفته شد [۲۵]. عدم تشکیل هاله بیانگر عدم فعالیت ضد میکروبی فیلم بود.

۴.۲. اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌ها

۱.۴.۲. اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

ضخامت فیلم‌ها با استفاده از یک میکرومتر دیجیتالی Mituy مدل ۷۰۳۱ ساخت ژاپن با دقت ۰/۰۰۱ mm مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای هر نمونه ۵ نقطه اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها محاسبه شد.

۲.۴.۲. اندازه‌گیری حلالیت فیلم‌ها در آب

ابتدا قطعاتی از فیلم به ابعاد ۲×۲ cm² در آون با دمای ۱۰۰ °C به مدت ۲۴ h تا رسیدن به یک وزن ثابت خشک شد و سپس وزن آنها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ g ± اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خشک‌شده، توزین (M1) و در ۵۰ ml آب مقطر در انکوباتور شیکردار (با سرعت ۷۰ rpm و دمای ۲۵ °C) به مدت ۴ h در شرایط ثابت قرار داده شدند. سپس قطعات فیلم به‌وسیله کاغذ صافی از آب جدا شده و پس از خشک‌کردن در آون در دمای ۱۰۰ °C به مدت ۲۴ h توزین شدند (M2). میزان حلالیت فیلم‌ها با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد [۲۴].

$$\% \text{ حلالیت} = \frac{(M1 - M2) \times 100}{M1} \quad (1)$$

1. Water Vapour Permeability
2. Tensile strength
3. Elongation

پیدا کردند. با محبوس شدن مولکول‌های آب در این منافذ، رطوبت و تورم فیلم‌ها افزایش و در نتیجه ضخامت آنها افزایش یافت. حسینی^۳ و همکاران [۲۹] اعلام کردند افزودن افزودن دارچین، میخک و آویشن به فیلم کازئینات سدیم باعث افزایش ضخامت فیلم ضد میکروبی می‌شود. نتایج مشابهی در خصوص تأثیر روغن اسانس *Zanthoxylum bungeanum* [۳۱] و روغن اسانس پونه کوهی/دارچین [۳۲] بر ضخامت فیلم‌های خوراکی گزارش شده است. در تضاد با این نتایج، پیرس^۴ و همکاران گزارش کردند ضخامت فیلم پروتئینی در اثر افزودن روغن‌های اسانسی سنبل و گشنیز به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی کاهش یافت [۳۳]. دلیل این اختلاف می‌تواند به‌خاطر تفاوت در ترکیب شیمیایی این دو روغن اسانسی با روغن اسانسی گزنه باشد به‌طوری‌که روغن‌های اسانسی سنبل و گشنیز برخلاف گزنه به ترتیب دارای ۶۵/۹ و ۹۱/۴٪ هیدروکربن‌های مونوترپن و سزکویی‌ترین^۵ می‌باشند که تمایل بالایی به واکنش با پروتئین‌ها در ماتریکس فیلم داشته و نهایتاً این واکنش‌های هیدروفوب منجر به کاهش قطر فیلم می‌شود [۳۳].

کدورت یک ویژگی مهم است زیرا بر میزان نوری که به غذا و ظاهر محصولات بسته‌بندی شده تأثیر گذاشته که با پذیرش مصرف‌کننده مرتبط است [۳۴]. همان‌طور که در جدول (۱) نشان داده شده است افزودن عصاره گزنه به نمونه‌های فیلم میزان شفافیت نمونه‌ها را کاهش داد به‌طوری‌که در سطح ۱ و ۳٪، این تغییر از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده ($P > 0.05$)، اما در سطح ۵٪، به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت. که با توجه به ماهیت رنگ تیره عصاره گزنه، کاهش شفافیت فیلم‌ها دور از انتظار نبود.

همچنین افزایش منافذ درون ساختاری فیلم‌های تولید شده حاوی عصاره گزنه، با تسهیل عبور نور باعث افزایش شفافیت فیلم‌های حاصل گردید. از سوی دیگر، این افزایش در کدورت را می‌توان به قطرات اسانس که در سراسر ماتریس پلیمری توزیع شده نسبت داد که باعث پراکندگی نور می‌شود

به‌صورت قطعاتی با ابعاد 1×7 cm برش زده شد. آزمون‌ها در دمای 25°C و رطوبت نسبی ۵۰٪ انجام گرفت. فاصله فک‌های اصلی از یکدیگر ۵۰ mm و سرعت فک‌ها ۱۰ mm/s بود. مقادیر TS و E به ترتیب به Pa و درصد افزایش طول گزارش شد [۲۸].

۶.۲. مطالعه ریزساختار (مورفولوژی) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱ (SEM)

برای مطالعه ریزساختار نمونه‌های فیلم تولیدی، تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح و مقطع عرضی فیلم‌ها با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان^۲ مدل ZEISS- ULTRA55 با ولتاژ ۳۰ kV گرفته شد. قبل از عکس‌برداری از نمونه‌ها، فیلم‌ها در ابعاد 1×5 mm برش و با لایه‌ای از طلا پوشانده شدند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح و مقطع عرضی فیلم‌ها تهیه گردید [۲۹].

۷.۲. آنالیز آماری

آزمایش‌ها، براساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون فاکتوریل تعیین شد. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۵٪ براساس آزمون ANOVA One Way با استفاده از نرم‌افزار Mini Tab نسخه ۱۷ انجام گرفت. آزمایش‌ها در ۳ مرتبه تکرار شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. ویژگی‌های فیزیکی

نتایج مربوط به ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی نمونه فیلم‌های ضد میکروبی در جدول (۱) آمده است. همان‌طور که مشخص است با افزایش غلظت عصاره گزنه، ضخامت نمونه‌های فیلم از $85 \mu\text{m}$ در نمونه شاهد تا $91 \mu\text{m}$ در نمونه حاوی ۵٪ اسانس افزایش یافت اما این افزایش معنادار نبود ($P > 0.05$). با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی (شکل‌های ۱ و ۲)، با افزودن عصاره ضد میکروبی، فیلم‌های تولیدی بافتی اسفنجی

3. Hosseini

4. Pires

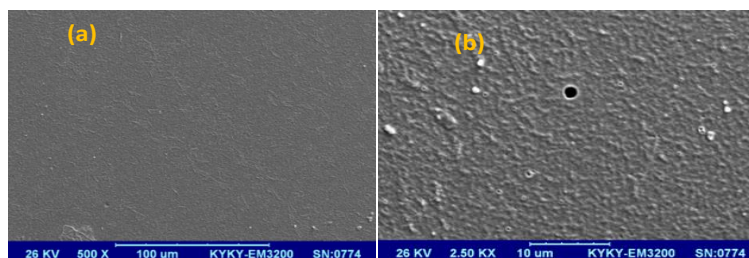
5. sesquiterpene

1. Scanning Electron Microscope

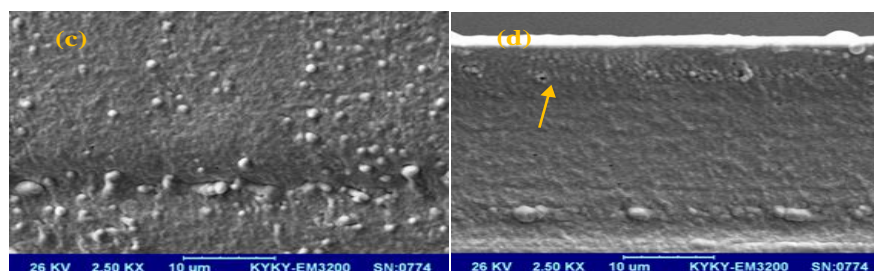
2. Field emission scanning electron microscope (FEG-SEM)

چرا که ضریب شکست روغن بالاتر از پلیمر می‌باشد [۳۲،۳۵]. در توافق با نتایج تحقیق حاضر، دو اوانگلهو^۱ و همکاران [۳۲] گزارش نمودند افزودن روغن اسانس پرتقال به فرمولاسیون فیلم نشاسته منجر به کاهش معنی‌دار میزان شفافیت نمونه‌ها می‌شود. همچنین لیو^۲ و همکاران [۳۰]، وانگ^۳ و همکاران [۳۱] و والنسیا - سولکا^۴ و همکاران [۳۲]

به ترتیب گزارش نمودند افزودن روغن اسانسی آویشن، روغن اسانسی *Zanthoxylum bungeanum* و روغن اسانسی پونه‌کوهی/دارچین سبب افزایش معنی‌دار میزان کدورت نمونه‌های فیلم می‌شود.



شکل (۱) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به سطح‌رویی نمونه شاهد (a) و ضد میکروبی در سطح ۵ درصد (b).
Fig 1. Scanning electron microscope images of the surface of the control sample (a) and antimicrobial at the level of 5% (b).



شکل (۲) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به مقطع عرضی نمونه شاهد (c) و ضد میکروبی در سطح ۵ درصد (d).
Fig 2. Scanning electron microscope images of the cross-section of the control sample (c) and antimicrobial at the level of 5% (d).

جدول (۱) ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های خوراکی تولیدشده.

Table 1. Physical properties of produced films.

نفوذپذیری به بخار آب (g/m.s.Pa)	میزان حلالیت (%) The degree of solubility (Percentage %)	میزان شفافیت (%) The degree of transparency (Percentage %)	ضخامت (μ) Thickness (μ)	غلظت عصاره در فیلم (%) The concentration of the extract in the film (%)
$3/36 \pm 9/79 \times 10^{-11c}$	$4/099 \pm 1/01^b$	$78/43 \pm 0/49^a$	$85/00 \pm 6/12^a$	0
$3/81 \pm 1/62 \times 10^{-11b}$	$41/83 \pm 0/81^b$	$75/15 \pm 0/92^a$	$85/00 \pm 5/00^a$	1
$3/88 \pm 4/47 \times 10^{-11b}$	$43/33 \pm 1/26^{ab}$	$72/42 \pm 4/81^a$	$89/00 \pm 5/47^a$	3
$3/97 \pm 2/46 \times 10^{-11a}$	$45/23 \pm 1/21^a$	$65/74 \pm 0/94^b$	$91/00 \pm 5/47^a$	5

*میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار باهم هستند ($P < 0.05$)

**داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.

* Means in each column with different English letters have significant differences ($P < 0.05$).

**Data are reported as mean \pm standard deviation

1. do Evangelho
2. Liu
3. Wang
4. Valencia-Sullca



بخار آب را به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش داد. این را می‌توان با این واقعیت توضیح داد که افزودن اسانس باعث کاهش سطح تبلور لایه‌ها می‌شود و در نتیجه نفوذپذیری فیلم‌های بارگذاری شده با روغن اسانسی نسبت رطوبت افزایش می‌یابد. علاوه بر این، تبخیر شدن اسانس بارگیری شده در فیلم در طول فرآیند خشک کردن منجر به تشکیل ریز منافذ در فیلم شده که سرعت عبور آب را بهبود بخشیده و متعاقباً نفوذپذیری رطوبت افزایش می‌یابد. نتایج مشابهی در این زمینه توسط سایر محققان به دست آمده است [۳۳، ۳۸، ۳۷]. در توافق با این نتایج، لیو و همکاران [۳۰] گزارش نمودند با افزودن روغن اسانسی آویشن به فرمولاسیون فیلم خوراکی، میزان نفوذپذیری به بخار آب به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده و از قدرت سدکنندگی این فیلم‌ها به طور معنی‌داری کاسته می‌شود.

۲.۲. ویژگی‌های مکانیکی

تأثیر افزودن عصاره گزنه بر روی ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های کازئینات سدیم در جدول (۲) ارائه گردیده است. میزان مقاومت کششی فیلم شاهد بر پایه کازئینات سدیم برابر $7/97 \pm 0/60$ MPa بود. سایر محققین نیز مقادیر مشابهی را گزارش نموده‌اند [۱۷، ۱۶، ۳۹]. مقادیر مقاومت کششی فیلم‌های حاوی عصاره گزنه با غلظت ۵٪ به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) نسبت به فیلم شاهد کمتر بود. کاهش مقاومت کششی فیلم‌های ضد میکروبی به دلیل تخریب شبکه فیلم در نتیجه افزودن عصاره گزنه بود. گزنه دارای ترکیبات فنولی شامل فالوونوئیدها آنتوسیانین‌ها، کاتچین و تانن‌های قابل هیدرولیز است. گاهی ترکیبات فنولی در غلظت‌های بسیار کم به اتصالات عرضی بین پروتئین‌ها و افزایش مقاومت فیلم‌های خوراکی می‌انجامند؛ اما با افزایش غلظت این ترکیبات، پیوندهای آب‌گریز منجر به تخریب پیوندهای پروتئین-پروتئین می‌گردند. نتایج حاصل از تحقیقات سایر محققان چنین پدیده‌ای را تأیید می‌کند [۱۰].

حلالیت عاملی است که کاربرد فیلم را به عنوان ماده بسته‌بندی برای محصولات غذایی مشخص می‌کند. بنا بر نتایج پژوهش، فیلم شاهد در مقایسه با فیلم حاوی گزنه حلالیت کمی در آب داشت. افزودن عصاره به فیلم‌های خوراکی به دلیل افزایش منافذ در ساختار فیلم‌ها، حلالیت را به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش داد. افزایش حلالیت فیلم با اضافه شدن روغن اسانسی ممکن است به دلیل تخریب لایه‌های فیلم و متعاقباً سهولت ورود آب به ماتریکس پلیمری باشد. همچنین با افزایش ضخامت و ساختارهای سطحی نامنظم در فیلم، سطح تماس فیلم و آب افزایش می‌یابد [۳۶]. تحقیق صورت گرفته توسط حسینی و همکاران نیز افزایش حلالیت فیلم با افزوده شدن ترکیبات ضد میکروبی به ساختار فیلم‌ها را تأیید کرد [۲۹]. در توافق با نتایج این تحقیق، پیرس و همکاران [۳۳] گزارش نمودند حلالیت فیلم خوراکی با افزودن روغن‌های اسانسی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین مشخص شده است ترکیب فیلم تولیدشده از نشاسته ذرت با روغن اسانسی پرتقال سبب افزایش معنی‌دار میزان حلالیت فیلم نهایی در آب می‌شود [۳۴].

سطح فیلم‌های کازئینات سدیم به دلیل تورم زنجیره‌های بیوپلیمری ناهموار بود؛ اما این ناهمواری، نظم و انسجام فیلم را برهم نروده و ماتریکس همچنان ساختار به هم فشرده خود را حفظ نمود، تصاویر میکروسکوپی نیز تأییدکننده این موضوع است (شکل ۱).

میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم شاهد بر پایه کازئینات سدیم $10^{-11} \times 9/79 \pm 3/36$ بود. با وجودی که ماهیت آبگریز عصاره می‌توانست ویژگی‌های آبدوستی-آبگریزی فیلم‌ها را تحت تأثیر قرار دهد؛ اما عوامل فیزیکی اثر عمده‌ای بر روی نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب داشتند. همان‌طور که قبلاً هم اشاره شد، به نظر می‌رسد که ساختار اسفنجی شکل ایجادشده در فیلم‌های حاوی عصاره گزنه ناشی از برهم خوردن ساختار منظم زنجیره‌های پلیمری ناشی از حضور ترکیبات موجود در عصاره بود. این پدیده نفوذپذیری به

جدول (۲) ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های خوراکی تولیدشده.

Table 2. Mechanical properties of produced films.

افزایش طول در لحظه پاره شدن (%) Elongation at the moment of rupture (Percentage %)	مقاومت کششی فیلم (MPa) Tensile strength of the film (MPa)	غلظت عصاره در فیلم (%) The concentration of the extract in the film (%)
17/95 ± 2/70 ^b	7/97 ± 0/60 ^b	0
18/16 ± 1/68 ^b	7/78 ± 0/50 ^b	1
19/27 ± 3/14 ^b	7/83 ± 0/59 ^a	3
37/13 ± 1/08 ^a	7/16 ± 0/26 ^b	5

*میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار باهم هستند (P<0.05).

**داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

* Means in each column with different English letters have significant differences (P<0.05).

**Data are reported as mean ± standard deviation

۳.۳. ویژگی‌های ضد میکروبی

اثر ضد میکروبی فیلم‌های تولیدشده علیه باکتری‌های مورد آزمایش در جدول (۳) نشان داده شده است. افزودن عصاره گزنه منجر به ایجاد نواحی شفاف بازدارندگی در اطراف فیلم‌ها گردید و با افزایش غلظت عصاره، مساحت بازدارندگی به صورت معنی‌داری (P<0.05) افزایش یافت (جدول ۴). اثر بازدارندگی عصاره گزنه بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان یک باکتری گرم مثبت به صورت معنی‌داری (P<0.05) مؤثرتر از *اشرشیاکلی* (گرم منفی) بود. نتایج مشابهی به وسیله لیو و همکاران [۳۰] در خصوص تأثیر روغن اسانس آویشن بر باکتری‌های گرم مثبت و منفی ارائه شده است. علت این پدیده تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. بدین ترتیب که ترکیب اصلی دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت، پپتیدوگلیکان به همراه مقدار کمی پروتئین است اما دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی پیچیدگی بیشتری داشته و علاوه بر پپتیدوگلیکان، پلی ساکاریدهای مختلف، پروتئین و لیپیدها نیز در دیواره سلولی آنها وجود دارد. دیواره سلولی این باکتری‌ها دارای غشاء خارجی است که سطح دیواره را پوشانده و به طور کلی باعث افزایش مقاومت باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت می‌شود. همچنین به نظر می‌رسد مقاومت سلول‌های میکروبی وابسته به سرعت و میزان انحلال (حل شدن) مواد ضد میکروبی در بخش لیپیدی غشای سلولی است [۴۲، ۴۱].

شجاعی - علی‌آبادی^۱ و همکاران [۴۰] اعلام نمودند کاهش میزان مقاومت کششی فیلم‌ها با افزودن روغن اسانس احتمالاً از یک سو به دلیل تشکیل ساختارهای ناپیوسته و غیریکنواخت و از سوی دیگر ناشی از جایگزینی برهم‌کنش قوی پلیمر-پلیمر با برهم‌کنش ضعیف‌تر پلیمر-روغن می‌باشد. از سوی دیگر، میزان افزایش طول نمونه‌های فیلم در نقطه پاره‌شدن به طور معنی‌داری تحت تأثیر اضافه شدن عصاره (۵٪) به فیلم قرار گرفت به طوری که بالاترین میزان این شاخص در نمونه فیلم حاوی ۵٪ اسانس مشاهده شد. از آنجایی که اسانس در دمای اتاق در حالت مایع بوده و به صورت قطرات ریز روغن در فیلم توزیع شده است؛ لذا به راحتی تغییر شکل داده و نهایتاً منجر به بهبود انعطاف‌پذیری فیلم می‌شود [۳۱]. بنابراین، عصاره گزنه می‌تواند نقش نرم‌کننده را در فیلم‌ها ایفا کند و در نتیجه استحکام کششی فیلم را کاهش داده و ازدیاد طول در هنگام شکست فیلم را بهبود بخشد. نتایج مشابهی به وسیله لیو و همکاران [۳۰] و وانگ و همکاران [۳۱] به ترتیب در خصوص تأثیر روغن اسانس آویشن و روغن اسانس *Zanthoxylum bungeanum* بر مقاومت کششی و درصد افزایش طول فیلم گزارش شده است. جوکی^۲ و همکاران [۲۰] فیلم‌های موسیلاژ بذر به دانه حاوی اسانس پونه کوهی (OEO) در غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ (V/V) را تولید و گزارش نمودند با افزایش غلظت OEO در فیلم تا سطح ۲ (W/W) مقدار مقاومت کششی کاهش و مقدار افزایش طول در شکست افزایش پیدا کرد.

1. Shojaee-Aliabadi

2. Jouki

جدول (۳) قطر هاله (mm) عدم رشد ایجاد شده توسط فیلم کازئینات سدیم حاوی عصاره ضد میکروبی بر روی باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس با روش دیسک‌های انتشاری.

Table 3. Halo diameter (mm) No growth created by sodium caseinate film containing antimicrobial extract on *Escherichia coli* by diffuse disk method.

استافیلوکوکوس اورئوس <i>Staphylococcus aureus</i>	اشرشیاکلی <i>Escherichia coli</i>	غلظت عصاره در فیلم (%) The concentration of the extract in the film (%)
00/00 ± 00/00 ^d	00/00 ± 00/00 ^d	0
10/18 ± 0/25 ^e	7/02 ± 0/35 ^e	1
15/25 ± 0/1 ^b	10/18 ± 0/4 ^b	3
18/41 ± 0/33 ^a	13/71 ± 0/6 ^a	5

*میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار باهم هستند (P<0.05)

**داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

* Means in each column with different English letters have significant differences (P<0.05).

**Data are reported as mean ± standard deviation

فیلم کازئینات سدیم حاوی عصاره پوست انار پرداختند. نتایج نشان داد به‌طور کلی فیلم‌ها حاوی عصاره انار بر باکتری‌های گرم مثبت مؤثرتر از باکتری‌های گرم منفی شد [۴۴].

۴.۳. بررسی ریز ساختار (مورفولوژی)

تصاویر مربوط به میکروسکپ الکترونی روبشی نمونه‌های مختلف فیلم در شکل‌های (۱) و (۲) نشان داده شده است. همانطور که مشخص است نمونه فیلم شاهد دارای سطحی صاف، متراکم و یکنواخت می‌باشد. تصاویر نمونه فیلم حاوی عصاره ضد میکروبی حاکی از حضور منافذ و سوراخ‌های زیاد در سطح می‌باشد که احتمالاً حضور این منافذ را می‌توان به فراریت اسانس گزنه نسبت داد که در مرحله خشک کردن از فیلم خارج شده و سوراخ‌های سطحی را برجای گذاشته است. در واقع این فضاها شاید قبلاً به وسیله اسانس پر شده بودند که به دلیل فراریت و تبخیر از سطح فیلم خارج شده‌اند؛ اما به‌طور کلی حضور عصاره گزنه در فرمولاسیون فیلم برهم‌کنش بین پروتئین با پروتئین را در ماتریکس کاهش می‌دهد، بنابراین ساختار فیلم تشکیل شده بازتر شده و هنگام خشک شدن سوراخ‌های مذکور ایجاد می‌شوند. از سوی دیگر با افزایش غلظت اسانس، میزان این حفرات در نمونه‌های فیلم افزایش پیدا کرد. حضور سوراخ‌ها باعث افزایش نفوذپذیری فیلم تولید شده می‌گردد. در توافق با نتایج تحقیق حاضر، لیو و همکاران [۳۰] گزارش کردند ترکیب

مشخص شده است ترکیب روغن اسانسی در فیلم بسته‌بندی سبب فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلاهی *O157:H7* می‌شود [۳۰، ۳۱، ۳۴]. در توافق با نتایج تحقیق حاضر، صفوی و جوانمرد^۱ [۱۹] گزارش نمودند استفاده از عصاره آویشن شیرازی با غلظت ۱ و ۲ μl در فرمولاسیون پوشش خوراکی پروتئین آب‌پنیر به ترتیب باعث کاهش بار میکروبی کل سطح پوسته تخم‌مرغ تا ۸۷٪ و ۱۰۰٪ شد. همچنین جوکی و همکاران [۲۰] فیلم‌های موسیلاژ بذر به دانه حاوی اسانس پونه کوهی در غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ (V/V %) را تولید و گزارش نمودند این فیلم فعالیت بازدارندگی شدیدی بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلاهی و یرسینیا اینترکولیتیکا دارد. پرانوتو^۲ و همکاران [۱۰] خواص ضد میکروبی فیلم آلژینات سدیم حاوی روغن سیر را بر روی باکتری‌های بیماری‌زا اشریشیاکلی، سالمونلاتیفی موربوم، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که روغن سیر بر روی ۴ گونه باکتری بیماری‌زا دارای اثر ضد میکروبی است. افزودن روغن سیر به درون فیلم آلژینات سدیم در مقادیر بیشتر از ۰/۲٪، اثرات ضد میکروبی بالایی را نشان داد [۱۰]. همچنین کرمی مقدم^۳ و همکاران [۴۳]، به بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی

1. Safavi & Javanmard
2. Pranoto
3. Karami Moghaddam



خوراکی با ایجاد ساختار اسفنجی، باعث کاهش شفافیت و به دلیل افزایش منافذ در ساختار فیلم‌ها، موجب افزایش حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب فیلم شد. مقاومت به کشش فیلم‌ها نیز با ورود عصاره به ماتریکس فیلم و برهم زدن نظم شبکه کمتر شد. فیلم‌های حاوی عصاره گزنه در آزمون‌های میکروبی، نواحی بازدارندگی بزرگ‌تری را در مقایسه با فیلم شاهد نشان دادند و نتایج مشخص کرد مقاومت باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) در برابر فیلم ضد میکروبی حاوی عصاره گزنه در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی (شرشیاکلی) کمتر است. تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی نیز تأییدی بر نتایج به دست آمده بود. نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از عصاره گزنه در سطح ۵٪ می‌تواند منجر به تولیدی فیلمی سبز با ویژگی‌های میکروبی و فیزیکی مناسب جهت کاربرد در حوزه بسته‌بندی مواد غذایی شود.

۵. سپاسگزاری

نگارندگان مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات لازم جهت انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

روغن اسانس آویشن در فرمولاسیون فیلم خوراکی سبب ایجاد سطحی خشن همراه با توده‌های سطحی و منفذ می‌شود. این محققان اعلام کردند دلیل این مشاهدات تضعیف برهم‌کنش‌های بین پلی ساکاریدها در شبکه فیلم در اثر حضور روغن اسانس و نیروی تغییر شکل ناشی از تبخیر حلال روی زنجیره پلیمری در طی فرآیند آگلومریزاسیون می‌باشد. همچنین دو اوانگلهو و همکاران [۳۴] گزارش نمودند استفاده از روغن اسانس در فرمولاسیون فیلم فارغ از غلظت آن منجر به کاهش میزان یکنواختی در سطح فیلم‌ها شده و منافذی نیز در آن تشکیل می‌گردد. این محققان اعلام کردند آگریزی روغن و اختلاف چگالی آن با محلول آبی نشاسته می‌تواند بر پایداری محلول فیلم تأثیر بگذارد و در نتیجه ساختارهای ناهمگنی را به دلیل جدا شدن فازها و وجود منافذ ایجاد کند. این ناهمگنی‌ها، مانند منافذ با توجه به اینکه فرآیند انتشار اسانس را از داخل ماتریس پلیمری تسهیل می‌کنند، ممکن است به خاصیت ضد باکتریایی لایه‌ها کمک کنند [۳۴].

۴. نتیجه‌گیری

با توجه به لزوم توسعه فیلم‌های بسته‌بندی سبز در صنایع غذایی، در این پژوهش ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، مورفولوژی و ضد میکروبی فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی عصاره گزنه بررسی شد. افزودن عصاره گزنه به فیلم‌های

منابع

- [1] Abebe E, Gugsu G, Ahmed M. (2020). Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. *J Tropical Medicine*.
- [2] Foromandi M., Khani M.R. (2019) The effect of chitosan edible coating containing garlic extract and coriander essential oil on microbial and sensory properties of rainbow trout fillet in refrigerated storage. *J Food Microbiology*, 6, 1-14.
- [3] Zakri Seyed Mehdi, Khademi Shurmasti Dariush (2016). Comparison of active food coatings based on carbohydrates and proteins, enriched with ascorbic acid and propyl gallate on the microbial load of chicken fillets during storage, *National Conference on New Achievements in the Food and Healthy Nutrition Industries*.
- <https://www.sid.ir/fa/seminar/ViewPaper.aspx?ID=23602>
- [4] Pérez-Santaescolástica, C., Munekata, P. E., Feng, X., Liu, Y., Bastianello Campagnol, P. C., & Lorenzo, J. M. (2020). Active edible coatings and films with Mediterranean herbs to improve food shelf-life. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 1-13.
- [5] Zhang Y, Zhong Q. (2020). Physical and antimicrobial properties of neutral nanoemulsions self-assembled from alkaline thyme oil and sodium caseinate mixtures. *Int J Biological Macromolecules*. 148:1046-52.
- [6] Razavi Setoti H. Mortazavi S.A. Shakeri M.S., Toosi Beiraghi Sh., Asadolahi E. (2013). Evaluating the feasibility of producing antimicrobial film based

- on sodium caseinate and essential oil of zataria multiflora boiss. *Iranian Food Science and Technology Research J*, 9, 195-201.
- [7] Khwaldia K, Perez C, Banon S, Desobry S, Hardy J. (2004). Milk proteins for edible films and coatings. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44(4):239-51.
- [8] Vieira MGA, da Silva MA, dos Santos LO, Beppu MM. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer J*. 47(3):254-63.
- [9] Sofi S, Singh J, Rafiq S, Ashraf U, Dar B, Nayik GA. (2018). A comprehensive review on antimicrobial packaging and its use in food packaging. *Current Nutrition & Food Science*. 14(4):305-12.
- [10] Pranoto Y, Salokhe VM, Rakshit SK. (2005). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research Int*. 38(3):267-72.
- [11] Colak BY, Peynichou P, Galland S, Oulahal N, Prochazka F, Degraeve P. (2016). Antimicrobial activity of nisin and natamycin incorporated sodium caseinate extrusion-blown films: A comparative study with heat-pressed/solution cast films. *J Food Science*. 81(5):E1141-E50.
- [12] Yener Z, Celik I, Ilhan F, Bal R. Effects of *Urtica dioica* L. (2009). Seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 47(2):418-24.
- [13] Chrubasik JE, Roufogalis BD, Wagner H, Chrubasik S. (2007). A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part II: *urticae radix*. *Phytomedicine*. 14(7-8):568-79.
- [14] Shojaeizad S, Tavakoli R, Sheykholeslami MA. (2020). Preparation and characterization of wound dressing based on chitosane including *urtica dioica*. *Research in Medicine*. 44(3):454-9.
- [15] Almasi, H., Zandi, M., Beigzadeh, S., Haghju, S., & Mehrnow, N. (2016). Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica Dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: II. antioxidant activity and release properties. *J Microencapsulation*, 33(5), 449-459.
- [16] Abbasi Rad, S., & Askari, G. (2019). Optimization of edible *Alyssum homalocarpum* films for physical and mechanical properties. *J Food and Bioprocess Engineering*, 2(2), 85-92.
- [17] Urbizo-Reyes, U., San Martin-González, M. F., Garcia-Bravo, J., & Liceaga, A. M. (2020). Development of chia seed (*Salvia hispanica*) mucilage films plasticized with polyol mixtures: mechanical and barrier properties. *International J Biological Macromolecules*, 163, 854-864.
- [18] Fakhri, L. A., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Abbasi, F., & Ranjbar, H. (2018). Optimization of mechanical and color properties of polystyrene/nanoclay/nano ZnO based nanocomposite packaging sheet using response surface methodology. *Food Packaging and Shelf Life*, 17, 11-24.
- [19] Safavi, M., & Javanmard, M. (2016). Effect of whey protein-rice bran oil incorporated zataria multiflora extract edible coating on chemical, physical and microbial quality of chicken egg. *Iranian Food Science and Technology Research J* 11 738-746.
- [20] Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Koocheki, A. (2014). Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 36, 9-19.
- [21] Kalia, A., Kaur, M., Shami, A., Jawandha, S. K., Alghuthaymi, M. A., Thakur, A., & Abd-Elsalam, K. A. (2021). Nettle-Leaf extract derived ZnO/CuO nanoparticle-biopolymer-based antioxidant and antimicrobial nanocomposite packaging films and their impact on extending the post-harvest shelf life of guava fruit. *Biomolecules*, 11(2), 224.
- [22] Mahjoorian, A., Jafarian, S., & Fazeli, F. (2021). Nettle (*Urtica dioica*) essential oil incorporation in edible film from caspian whitefish (*Rutilus frisii kutum*) scale: physical, antimicrobial, and morphological characterization. *J Aquatic Food Product Technology*, 30(2), 151-161.
- [23] Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2008). Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85(3), 393-400.
- [24] Bank, H. L., John, J., Schmehl, M. K., & Dratch, R. J. (1990). Bactericidal effectiveness of modulated UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(12), 3888-3889.
- [25] Seydim, A. C., & Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research Int*, 39(5), 639-644.
- [26] Emam-Djomeh Z, Moghaddam A, Yasini Ardakani SA. (2015). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract, physical, mechanical, barrier and antimicrobial properties of pomegranate peel extract-incorporated sodium caseinate film and application in packaging for ground beef. *Packaging Technology and Science* .28(10):869-81.
- [27] Salarnia M, Ganjloo A, Emam-Djomeh Z, Bimakr M. (2018). Physical, barrier and antimicrobial properties of sodium caseinate-based edible film containing hemp seed oil. *Innovative Food Technologies* .5(3):485-97.

- [28] Khwaldia K, Banon S, Desobry S, Hardy J. (2004). Mechanical and barrier properties of sodium caseinate–anhydrous milk fat edible films. *Int J Food Science & Technology*, 39(4):403-11.
- [29] Hosseini, M. H., Razavi, S. H., & Mousavi, M. A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *J Food Processing and Preservation*, 33(6), 727-743.
- [30] Liu, Z., Lin, D., Shen, R., Zhang, R., Liu, L., & Yang, X. (2021). Konjac glucomannan-based edible films loaded with thyme essential oil: Physical properties and antioxidant-antibacterial activities. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100700.
- [31] Wang, B., Sui, J., Yu, B., Yuan, C., Guo, L., Abd El-Aty, A. M., & Cui, B. (2021). Physicochemical properties and antibacterial activity of corn starch-based films incorporated with Zanthoxylum bungeanum essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 254, 117314.
- [32] Valencia-Sullca, C., Vargas, M., Atarés, L., & Chiralt, A. (2018). Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 75, 107-115.
- [33] Pires C, Ramos C, Teixeira B, Batista I, Nunes M, Marques A.(2013). Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*.;30(1):224-31.
- [34] do Evangelho, J. A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., El Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., ... & da Rosa Zavareze, E. (2019). Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 222, 114981.
- [35] Atarés, L., & Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 51-62.
- [36] Kim, H., Beak, S. E., & Song, K. B. (2018). Development of a hagfish skin gelatin film containing cinnamon bark essential oil. *LWT*, 96, 583-588.
- [37] Zinoviadou KG, Koutsoumanis KP, Biliaderis CG. (2009). Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 82(3):338-45.
- [38] Pruneda E, Peralta-Hernández J, Esquivel K, Lee S, Godínez L, Mendoza S.(2008). Water vapor permeability, mechanical properties and antioxidant effect of mexican oregano–soy based edible films. *J Food Science*, 73(6):C488-C93.
- [39] Saberli, B., Thakur, R., Vuong, Q. V., Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Scarlett, C. J., & Stathopoulos, C. E. (2016). Optimization of physical and optical properties of biodegradable edible films based on pea starch and guar gum. *Industrial Crops and Products*, 86, 342-352.
- [40] Shojaei-Aliabadi, S., Mohammadifar, M. A., Hosseini, H., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S. M., ... & Khaksar, R. (2014). Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with zataria multiflora essential oil and nanoclay. *Int J Biological Macromolecules*, 69, 282-289.
- [41] Holley RA, Patel D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4):273-92.
- [42] Imran M, Klouj A, Revol-Junelles A-M, Desobry S. (2014). Controlled release of nisin from HPMC, sodium caseinate, poly-lactic acid and chitosan for active packaging applications. *J Food Engineering*, 143:178-85.
- [43] Karami Moghaddam, A., Emam Jomeh, Z., & Yasini Ardakani, S. A. (2014). Effect of pomegranate peel extract on the antibacterial and mechanical Properties of sodium caseinate film. *Iranian J Biosystems Engineering*, 45(2), 121-130.
- [44] Karami Moghaddam, A., Emam Jomeh, Z., & Yasini Ardakani, S. A. (2014). Effect of pomegranate peel extract on the antibacterial and mechanical properties of sodium caseinate film. *Iranian J Biosystems Engineering*, 45(2), 121-130.