



Production of antimicrobial active edible film based on gelatin containing salvia officinalis essential oil: physical, mechanical, antioxidant and antimicrobial properties

Ronak Momeni¹, Mohammadyar Hosseini^{2✉}, Tayyeb Saifi³ and Hamed Hassanzadeh²

¹Bachelor Student of food hygiene, Faculty of Paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran

²Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ilam University, Ilam, Iran

³Master of Veterinary Science, Faculty of Paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran.

✉Correspondence author: Email: m.hosseini@ilam.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: May 27, 2023

Accepted: September 9, 2023

Published: February 29, 2024

Keywords:

Salvia officinalis, essential oil, Gelatin, Edible film, packaging, Antioxidant properties

ABSTRACT

Background: In this research, the properties of edible film based on gelatin mixed with concentrations of salvia officinalis essential oil (0, 1.25%, 2.5% and 3.75%) were investigated.

Aims: The purpose of this study is to produce suitable films for use in food packaging.

Methods: The tests performed in this research were physico-chemical tests, mechanical tests, measurement of 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 the comparison of average data based on Duncan's multiple range test were performed using Minitab18 software at a confidence level of 95%.

Results: In this research, the results of gelatin film samples in mechanical tests were significant ($P < 0.05$) and the highest amount of tensile strength, elongation to breaking point and Young's modulus in the treatment was 2.5%. The lowest solubility and permeability to water vapor were observed in films containing 3.75% and 2.5% essential oil, respectively. The difference in turbidity between 2.5% and 3.75% treatments was not significant and in 1.25% concentration of sage-flower essential oil, turbidity and thickness were the highest. In all samples of edible films, the antioxidant property was significant compared to the control sample ($P < 0.05$). The largest diameter of inhibition zone in antimicrobial activity at 3.75% essential oil concentration was related to *Staphylococcus aureus* with an average zone diameter of 11.11 mm. In the same concentration, the average zone diameter for *Pseudomonas aerogenes* and *Escherichia coli* was reported as 8.27 mm and 4.45 mm, respectively.

Conclusion: The results of this research showed that the addition of sage essential oil at a concentration of 3.75% in gelatin film in addition to inhibiting. The growth and proliferation of bacteria has enough strength and improved the antioxidant properties of the gelatin film, and it also can be used in perishable food.



Extended Abstract

Introduction: Considering that the *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* fishes are used as raw material for preparing canned fish, therefore, it is necessary to identify the most suitable method of catching and keeping them in order to maintain the nutritional value and quality of the raw material. Usually, changes in fish after catching until consumption or processing may be due to reasons such as chemical and enzymatic reactions, oxidative spoilage and bacterial growth, which cause the production and increase of some chemical compounds such as total volatile nitrogen, peroxide number, thiobarbituric acid, change in pH results in a decrease in the quality and shelf life of the fish (Rezaei and Hosseini, 2008), so the proper method of fishing and the correct method of storage and transportation after catching can play an important role in controlling these changes and creating the desired quality in fish and its products include canned fish. The principal components of this fish's muscles are water, fat, protein, minerals and vitamin compounds. Biochemical methods based on production of trimethylamine (TMA), total volatile basic nitrogen (TVB-N) and lipid oxidation have also commonly used to evaluate fish quality (Jinadasa et al., 2015). *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* belongs to the family Scombridae and they are pelagic large size marine fish (Jinadasa et al., 2015). *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* fisheries are of crucial importance to Iran due to their economic importance of fresh, frozen and canning trade. The aim of this study is therefore to determine the nutritional value and quality of the *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* that landed in Chabahr coast using some chemical indices, to established the limit of acceptability and determine if the type of catching and storage as effects on the rate of deterioration.

Material and methods: The samples studied in the present research are *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* fishes with average length and weight of 69.50 ± 2.62 cm and 4123 ± 69.45 gr and 75.00 ± 11.115 cm and 7399 ± 103.44 gr respectively, which were caught by local fishermen using fishing boats

using two methods of fishing with hooks and gillnets, and until they reached the shore of Briss in Chabahar, they were in ice in some boats and in others they were kept frozen. After landing the fishes on the beach for qualitative evaluation, the studied samples were divided into 8 groups based on the type of fishing method (hook and gillnet) and the method of storage after catching (keeping in ice and freezing) on the float. The standard method of AOAC (2005) was used to measure the proximate compositions include moisture, crude protein, crude fat, and crude ash of the samples. The determination of the pH value was performed according to Chen et al. (2019). The determination of the TMA and TVB-N value was performed according to Li et al. (2019). Peroxide value was measured according to the iodometric method provided by Egan et al. (1979) through fish oil extraction using methanol-chloroform and anisidine index was performed according to the AOCS (1998) method with a standard number of 90-18 Cd based on the reaction between the anisidine reagent diluted in Glacial acetic acid with aldehydes in the fat sample.

Results and discussion: In the present study, the results of the proximate composition in the muscles of *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* fish species showed that the moisture content was above 70-75% in all groups of fish, except for the *Thunnus tonggol* fish caught with the hook method and kept in freezing condition. Usually, the largest percentage of biochemical compounds in the fish body is made up of water, which is less than 80% in medium-fat fish such as tuna (Amiri et al., 2015). Tuna fish have high protein (22.26-22.2 gr per 100 gr of muscle) and low-fat content (0.2-2.70 gr per 100 gr of muscle) and high moisture content in fish with low fat content (Rani et al., 2016), that this was also observed in the present study. The amount of moisture and protein in *Thunnus tonggol* fish was slightly higher than *Thunnus albacares* fish. The difference in the proximate composition of fish may be due to feeding or fishing ground and season (Ali et al., 2020). In terms of fat content, *Thunnus tonggol* fish had more fat than *Thunnus albacares* fish, but the

percentage of fat in both species was less than 5%. Usually, the amount of fat in tuna fish is less than 5% and they are classified as lean fish (Bahurmiz, 2019). The amount of ash was not much different in both types of *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* fish, this issue shows the same nutritional value of *Thunnus tonggol* and *Thunnus albacares* fish in terms of minerals, because ash is an index for measuring the mineral content of different foods, including fish. The amount of moisture, fat and protein in *Thunnus tonggol* fish caught with gillnet and kept in frozen state has decreased significantly compared to other fish groups ($p < 0.05$), but there was no difference in the amount of ash between different groups of *Thunnus tonggol* fish ($p > 0.05$). The reduction of protein in food products stored at freezing temperature can be caused by protein denaturation as a result of the increase of ionic bonds in the intracellular tissue, followed by the migration of water to the extracellular tissue. The reduction of fat during the storage period of fish may be due to the activity of enzymes involved in the hydrolytic spoilage of fat and its conversion into free fatty acids (Kusuma et al., 2017). In *Thunnus albacares* fish, except for the moisture, which was significantly reduced in the group of fish caught with gillnet and kept in frozen state compared to other groups ($p < 0.05$), the amount of other proximate compounds did not differ significantly between different groups of fish ($p > 0.05$) and the highest amount of these compounds was related to the group of *Thunnus albacares* fishes caught with hooks and kept in frozen condition. The measurement of chemical quality indicators showed that the pH level in *Thunnus tonggol* fish caught with gillnet and kept in ice increased significantly ($p < 0.05$) and in *Thunnus albacares* fish caught with hooks and kept in freezing condition, decreased significantly ($p < 0.05$). The decrease in pH indicates the phenomenon of glycolysis and as a result the production of lactic acid and its subsequent increase to a value higher than 7 also indicates the loss of quality due to the production of volatile compounds and the start of autolytic activity (Done et al., 2018). The peroxide value, thiobarbituric acid and TMA

in the groups caught by the hook method and kept in the frozen state was significantly lower than the other groups, but the anisidine index did not show significant difference in all the fish samples ($p > 0.05$). The amount of TVB-N in *Thunnus tonggol* fish had no significant difference and in *Thunnus albacares* fish it was 13.21 ± 1.53 mg/100g in the method of catching with gillnet and kept in ice, it was significantly higher than other groups ($p < 0.05$). The amount of these compounds was lower than the acceptable limit (Jinadasa et al., 2015), which indicates the proper quality of the fish

Conclusion: Overall, the results of this study showed that fishes caught with hooks and kept in frozen condition have better nutritional value and quality than the other groups

تهیه فیلم خوراکی فعال ضد میکروبی بر پایه ژلاتین حاوی اسانس مریم‌گلی: خواص فیزیکی، مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی

روناک مومنی^۱، محمدیار حسینی^۲، طیب سیفی^۳ و حامد حسن‌زاده^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۲ استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۳ کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

مستعمل مکاتبه: m.hosseini@ilam.ac.ir

چکیده

مشخصات مقاله

زمینه مطالعاتی: در این پژوهش، به بررسی ویژگی‌های فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین آمیخته شده با غلظت‌های اسانس مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (۰، ۱/۲۵٪، ۲/۵٪ و ۳/۷۵٪) پرداخته شد. هدف: هدف از این مطالعه تولید فیلم‌های مناسب جهت استفاده در بسته بندی مواد غذایی است. روش کار: آزمون‌های انجام یافته در این پژوهش، آزمایشات فیزیکی شیمیایی، آزمایشات مکانیکی، اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی بود. تمامی آزمایشات در سه تکرار (n=3) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن با استفاده از نرم افزار Minitab¹⁸ در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گرفت. نتایج: در این تحقیق نتایج نمونه‌های فیلم ژلاتینی در آزمونهای مکانیکی معنی دار بود ($P < 0/05$) و بالاترین میزان استحکام کششی، ازدیاد طول تا نقطه شکست و مدول یانگ در تیمار ۲/۵٪ بود. کمترین میزان حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب به ترتیب در فیلم‌های حاوی ۳/۷۵٪ و ۲/۵٪ اسانس مشاهده شد. تفاوت کدورت بین تیمارهای ۲/۵٪ و ۳/۷۵٪ معنی دار نبود و در غلظت ۱/۲۵٪ اسانس مریم‌گلی، کدورت و ضخامت بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. در تمامی نمونه‌های فیلم‌های خوراکی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به نمونه شاهد معنی دار بود ($P < 0/05$). بیشترین قطر هاله بازدارندگی در فعالیت ضد میکروبی در غلظت اسانس ۳/۷۵٪ مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس با متوسط قطر هاله ۱۱/۱۱ mm بود. در همین غلظت متوسط قطر هاله برای سودوموناس اتروژنز و اشریشیاکلی به ترتیب ۸/۲۷ mm و ۴/۴۵ mm گزارش شد. نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد افزودن اسانس مریم‌گلی در غلظت ۳/۷۵ درصد در فیلم ژلاتینی علاوه بر مهار رشد و تکثیر باکتریها، دارای استحکام کافی بوده و موجب بهبود خصوصیات آنتی‌اکسیدانی فیلم ژلاتینی شد و همچنین قابلیت استفاده در مواد غذایی فسادپذیر را دارد.

نوع مقاله:

علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۳/۶

پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۱۵

انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۱۰

کلید واژه:

اسانس مریم‌گلی، ژلاتین، فیلم خوراکی، بسته بندی، خواص آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

استفاده از بسته‌بندی‌های پلاستیکی برای پوشش مواد غذایی به سبب تجزیه‌پذیر نبودن و همچنین بروز مشکلاتی از قبیل مهاجرت مواد شیمیایی سمی نظیر بیسفنل A، آلکیل فنل، اکتیل فنل، فتالات‌ها، سرب و غیره از آن‌ها به درون ماده غذایی نگرانی‌هایی را به دنبال دارد. بنابراین فیلم‌های خوراکی در صنایع غذایی به طور وسیعی جهت پوشش دهی مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند (الحسن و نورضیا ۲۰۱۲) و به عنوان یکی از راه‌های اساسی کنترل تغییرات فیزیولوژیکی، میکروبی و فیزیکی شیمیایی در مواد غذایی مطرح می‌باشند (حنانی و همکاران ۲۰۱۴، سورنتینو و همکاران ۲۰۰۷). فیلم‌های ژلاتین مقاومت مکانیکی مناسبی دارند و این ماده به دلیل داشتن خاصیت تشکیل ژل (وجود آمینو اسیدهای پرولین و هیدروکسی پرولین) می‌تواند در تولید فیلم خوراکی مورد استفاده قرار گیرد (ژنادیوس ۲۰۰۲). فیلم‌های ژلاتین دارای خواص حفاظتی مواد غذایی در برابر نور، اکسیژن و خشک شدن می‌باشند (تقی زاده و همکاران ۲۰۱۸). با این حال فیلم‌های ژلاتین خواص مکانیکی و مقاومت به آب ضعیف دارند (جریدی و همکاران ۲۰۱۴). از راه‌های بهبود خواص فیزیکی شیمیایی فیلم‌های ژلاتین افزودنی‌هایی مانند اسانس‌ها جهت تقویت ساختار فنی آن می‌باشد. فیلم ژلاتین دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی ضعیفی بوده و بنابراین برای بسته‌بندی مواد غذایی فسادپذیر و فرآورده‌های گوشتی مناسب نمی‌باشد. خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و خواصی مانند مقاومت به آب فیلم‌های ژلاتین را می‌توان با افزودنی‌هایی مانند اسانس‌ها بهبود بخشید (چنگ و همکاران ۲۰۱۹، چپو و همکاران ۲۰۰۸، صحرائی و همکاران ۲۰۱۷، تومادونی و همکاران ۲۰۱۹).

استفاده از اسانس‌های گیاهی در فیلم‌های زیست تخریب پذیر، بهبود اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و نفوذ پذیری فیلم‌های هیدروفیل را می‌تواند به همراه داشته باشد. 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 فرآورده باقی می‌ماند (قادرمرزی و همکاران ۲۰۱۳، راکش و همکاران ۲۰۱۴).

به منظور کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی می‌توان از مواد ضد میکروبی طبیعی در ترکیب بسته بندی‌ها استفاده نمود (جمروز و همکاران ۲۰۱۸). 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 (بونیا و همکاران ۲۰۱۸، اچوریا و همکاران ۲۰۱۸، ژنادیوس و همکاران ۲۰۰۲، تونگواچان و همکاران ۲۰۱۶). اسانس‌های گیاهی بر حسب نوع خود دارای خواص متعددی همانند طعم دهندگی، ضد میکروبی، تقویت سیستم ایمنی، آنتی‌اکسیدانی و خواص بیولوژیکی می‌باشند (کلهوری و همکاران ۲۰۲۳، حسن زاده و همکاران ۲۰۱۶). بطور کلی، اسانس‌ها ترکیبات طبیعی فراری هستند که از متابولیت‌های ثانویه گیاهان به شمار می‌آیند که به دلیل ایمن بودن آن‌ها در لیست GRAS¹ قرار گرفته‌اند (احمد و همکاران ۲۰۲۳، حبیبوند و همکاران ۲۰۲۳). اسانس‌های روغنی بدست آمده از گیاهان مختلف دارای خواص آنتی‌اکسیدانی گسترده ای هستند که مربوط به وجود گروه‌های هیدروژن دار در ساختار شیمیایی آنها می‌باشد. مریم‌گلی با نام علمی (*Salvia officinalis*)، گیاهی است چند ساله و علفی، ریشه راست و دارای انشعابات فراوان می‌باشد و بیشترین میزان ترکیبات فرار آن را کامفور، آلفا و بتا توچن تشکیل می‌دهد. در میان ادویه جات، مریم‌گلی اغلب به عنوان ادویه ای که دارای اسانسی با ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مناسب است، در داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده‌های طبیعی صورت گرفته است. محققین استفاده از اسانس‌های

¹ . Generally recognized as safe

افزایش طول تا نقطه شکست و محتوای رطوبتی فیلم با افزایش غلظت اسانس کاهش می‌یابد، اما نفوذپذیری به بخار آب آن افزایش یافت. لنگرودی و همکاران (۲۰۱۸) اثر ضد میکروبی عصاره سماق افزوده شده بر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس مریم گلی را بر نگهداری گوشت گاو بسته‌بندی شده با اتمسفر اصلاح شده و معمولی بررسی کردند. نتایج آن‌ها کاهش معنی‌داری در شمارش کلی باکتری‌ها، لاکتیک اسید باکتری‌ها، سودوموناس‌ها، کپک و مخمر در همه‌ی تیمارها نسبت به تیمار کنترل در طول زمان نگهداری نشان داد.

با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی در مورد فیلم خوراکی ژلاتین حاوی اسانس مریم گلی انجام نشده است، هدف از این پژوهش بررسی تاثیر اسانس مریم گلی بر ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی فیلم خوراکی ژلاتین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ژلاتین گاوی با درجه بلوم ۲۰۰ از شرکت ژلاتین حلال، مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت مرک می‌باشد. اسانس مریم گلی از گیاهان بومی منطقه کبیر کوه و از دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام به صورت خشک تهیه شد. سویه‌های میکروبی از دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام تهیه شدند. آنالیز اسانس مریم گلی با دستگاه GC-MS (Shimadzu ژاپن) انجام شد.

استخراج اسانس

استخراج اسانس از گیاه خشک و پودر شده مریم گلی 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 غوطه‌ور شده و طی عملیات گرم شدن و جوش آمدن، اسانس‌ها از سطح یا داخل گیاه به وسیله‌ی پدیده‌ی انتشار وارد آب می‌شوند و با توجه به اختلاف چگالی بین اسانس و آب، این دو از هم جدا می‌گردند) انجام شد. سپس اسانس جمع‌آوری شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در شیشه تیره نگهداری شد (کاماتو و همکاران ۲۰۰۸).

گیاهی را برای محافظت از انواع مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماریزا پیشنهاد کرده‌اند. بونیا و همکاران (۲۰۱۸) 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 به بخار آب تا حد زیادی تحت تأثیر قرار نمی‌گرفت. قادرمرزی و همکاران (۲۰۱۱)، ویژگی‌های فیلم HPMC^۱ حاوی اسانس مریم گلی را بررسی کردند و نشان دادند که تفاوت معنی‌داری با فیلم کنترل مشاهده نشد.

شهبازی و همکاران (۲۰۱۷) 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.

اختر و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ی نشان دادند که عصاره طبیعی گیاهان یک افزودنی مفید است که باعث افزایش خواص عملکردی فیلم‌های بیوپلیمری 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 و در نتیجه باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها می‌شود.

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. وو و همکاران (۲۰۱۷) خواص فیزیکوشیمیایی فیلم‌های مبتنی بر ژلاتین حاوی اسانس دارچین را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که استحکام کششی،

^۱ Hydroxypropyl methylcellulose

تهیه فیلم

محلول‌های ژلاتین و اسانس مریم گلی به صورت جداگانه تهیه شدند. ابتدا محلول ۳ درصد (وزنی/حجمی) ژلاتین همراه با همزدن ملایم (۴۰۰ 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 ۱۵ دقیقه ترکیب شد. در مرحله بعد غلظت‌های (۰، ۱/۲۵، ۲/۵، ۳/۷۵ درصد) از اسانس مریم گلی 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 پلیت‌های شیشه‌ای با قطر ۱۵ سانتی‌متر ریخته شد و پس از خشک شدن کامل در دمای محیط فیلم‌ها از پلیت جدا شده و در دسیکاتور حاوی نیترا منیزیم اشباع در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت قبل از انجام آزمایشها قرار داده شد (فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

تعیین ضخامت فیلم‌ها برای آزمایشات مکانیکی، نفوذ پذیری به بخار آب و خواص نوری امری ضروری می‌باشد. ضخامت فیلم‌های تولیدی توسط میکرومتر (Mitutoyo ژاپن) با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر و در ۱۰ نقطه مختلف از هر نمونه اندازه‌گیری شد و در نهایت مقدار میانگین ضخامت محاسبه شد (فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

حلالیت

برای تعیین حلالیت ابتدا تکه‌های فیلم (۲cm×۲cm) برش داده شد و در ۵۰ سی‌سی آب مقطر قرار داده شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ 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 (فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

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

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (تراوش پذیری)

نفوذ پذیری نسبت به بخار آب به روش وزن سنتی انجام شد (ASTM-E96-95, 1995). در یک ظرف ۱۴ میلی‌لیتری، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم‌های ژلاتینی مورد بررسی با مساحت ۱/۵ سانتی‌متر مربع درب بندی شد. بطری دربندی شده ابتدا توزین گردید و در محفظه دارای در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد 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 (استادعلی و همکاران ۲۰۱۵، فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

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

W میزان اختلاف وزن بطری، X ضخامت فیلم ژلاتینی، A مساحت فیلم ژلاتینی (m²), t زمان بر حسب ثانیه و Δp اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم است.

ویژگی‌های مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم‌ها شامل قدرت کششی (مگاپاسکال)، افزایش طول تا نقطه شکست (%). و مدول یانگ (مگاپاسکال) بر اساس استاندارد ASTM-D882 و با استفاده از دستگاه بافت سنج (TA-Plus, England) اندازه‌گیری شد (ASTM2001). ابتدا فیلم‌ها به ابعاد ۱×۱۰ cm² بریده شدند و ضخامت در ۱۰ نقطه اندازه‌گیری شد. فیلم‌های مشروط شده 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)

¹. water vapor permeability

و هم چنین مدول یانگ از روی منحنی نیرو بر حسب تغییر شکل محاسبه گردید (فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

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، به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۴۰۰۰ ساتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگاه‌داشته شد (۱ شب استراحت) و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۴۰۰۰ ساتریفوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از قسمت رویی محلول ساتریفوژ شده هر فیلم با ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار 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 ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار متانولی DPPH به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور 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 (فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

DPPH scavenging activity(%)

$$= \frac{(A_b - A_s)}{A_b} \times 100$$

اندازه‌گیری کدورت فیلم

برای تعیین ویژگی‌های نوری فیلم‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) استفاده شد. به این منظور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۹×۴۰ میلی‌متر 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 هم چنین جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد از فرمول زیر برای اندازه‌گیری کدورت استفاده شد (فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی

ضخامت فیلم / میزان جذب در ۵۰۰ نانومتر = کدورت

از روش انتشار دیسک آگار برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها بر روی باکتری‌های مدل اش‌ریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژنز استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ μL (10^{-6} cfc/g) از هر یک از سوسپانسیون‌های باکتریایی به صفحات محیط کشت مولر هیتون آگار تلقیح شد. سپس دیسک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر از هر فیلم برش داده شد و بر روی سطح آن گذاشته شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای 35 ± 2 درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت قطر مناطق مهار رشد (میلی‌متر) برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اندازه‌گیری شد (فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار ($n=3$) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار Minitab¹⁸ در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج و بحث

آنالیز اسانس مریم گلی

جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس مریم گلی از دستگاه کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی (مدل Agilent آمریکا) استفاده شد. دستگاه مورد استفاده قابلیت تزریق نمونه‌های مایع با توانایی رقیق سازی Split/Splitless Inlet را داشت و دارای آشکارساز طیف سنج جرمی جهت شناسایی ترکیبات کیفی و کمی نمونه‌ها بود. در جدول ۱ برخی ترکیبات آنالیز اسانس مریم گلی آورده شده است. نتایج نشان داد که ترکیب غالب موجود در اسانس مریم گلی، α -Thujone ۲۶/۷٪ و بعد از آن Camphor می‌باشد که ۲۴/۲٪ را به خود اختصاص می‌دهند که ترکیبات غالب در اسانس این گیاه دارویی شناسایی شد و دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد اسپاسم، قابض و آنتی هیدروتیک است. آنالیز این گیاه دارویی مریم گلی با نتایج بابایی فافلستانی و

فیلم می باشد و مقاومت به کشش کم می شود. ازدیاد طول تا نقطه شکست (کشش پذیری) در همه نمونه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0/05$) و مقدار بیشتری نسبت به تیمار شاهد را دارا می باشد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۲/۵٪ بوده که احتمالاً به علت جذب آب بیشتر و پیوند هیدروژنی قوی تر در ساختار پروتئین ژلاتین می باشد و پلاستی سائز روغنی باعث افزایش حجم آزاد در نمونه می گردد که با تغییرات مدول یانگ هم جهت است که افزایش مدول یانگ احتمالاً به این دلیل است که اسانسها به شکل قطرات روغن می تواند باعث بهبود خواص الاستیسته گردند که در نتیجه افزایش تغییرات طولی نسبت به تغییرات عرضی در زنجیره و ترکیبات اتفاق می افتد. مقاومت کششی تیمارهای ۱/۲۵٪ و ۳/۷۵٪ اختلاف معنی دار ندارند ($p > 0/05$) و تفاوت مقاومت کششی این دو نمونه با نمونه کنترل و نمونه حاوی ۲/۵٪ اسانس معنی دار می باشد.

عوامل متعددی از جمله مورفولوژی و ساختار ماکرومولکولی، اندازه و پراکندگی ذرات و همچنین میزان برهمکنش بین ذرات در خواص مکانیکی موثرند. حسینی و همکاران (۲۰۱۳) 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.

حسینی و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که با افزایش اسانس پونه کوهی در فیلم هایی بر پایه ژلاتین و کیتوزان، مقاومت کششی و مدول یانگ کاهش یافتند که نتایج آن با این تحقیق همسو بود. پینروس و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی بر روی فیلمهای بر پایه نشاسته، علت این رفتار را احتمالاً به علت تاثیر وجود اسانس روی ساختار هتروژن فیلم و تعامل ضعیف بین گلیسرول و نشاسته تخمین زدند. 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. 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.

همکاران (۲۰۲۰) از لحاظ نوع ترکیبات یکسان ولی مقدار آنها متفاوت بود. در مطالعه دیگری کیلادیس و همکاران (۲۰۰۲) به بررسی خصوصیات شیمیایی نمونه‌های گیاه دارویی مریم-گلی در دو کشور صربستان و مونته‌نگرو پرداختند و گزارش نمودند α -Pinene، Borneol، Camphor، 1,8-Cineol، β -Pinene، Myrcene و ترکیبات غالب در برگهای این گیاه دارویی بودند که تعداد و میزان ترکیبات غالب زیادت‌ر پژوهش مذکور بود.

Table1- Some chemical composition of essential oils from *salvia officinalis*

Composition	Value (%)
(Z)-Salvene	0.3
α -pinene	2.5
camphene	4.1
β - pinene	0.3
myrcene	0.6
p-cymene	1.3
Limonene	1.3
1,8-cineole	9.4
Trans-linalool oxide	tr
Cis-linalool oxide	0.1
Linalool	0.4
α -thujone	26.7
β -thujone	10.0
Trans-thujol	0.2
Camphor	24.2
Pinocamphone	0.2
Borneol	2.4
terpinene-4-ol	0.2
myrtenol	0.2
Bornyl acetate	0.4
β - caryophyllene	0.6
humulene epoxide II	0.3

آزمون مکانیکی

نتایج حاصل از آزمونهای مکانیکی نمونه‌های فیلم‌های ژلاتینی در جدول ۲ آمده است که میزان مقاومت به کشش در نمونه ۲/۵٪ با نمونه شاهد اختلاف معنی دار دارد ($p < 0/05$). با افزایش درصد اسانس، این شاخص نسبت به فیلم شاهد (۰٪) افزایش یافت. بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۲/۵٪ می باشد و با افزایش درصد اسانس، این روند کاهش می یابد که احتمالاً به دلیل پیوند بین مولکولی در اثر نفوذ پلاستی سائز به داخل

تهیه شده از ژلاتین به نتایج مشابهی دست یافتند (احمد و همکاران ۲۰۱۲).

نتایج نفوذپذیری با بخار آب نشان داد که با افزودن اسانس مریم گلی نفوذپذیری در تمامی تیمارها نسبت به فیلم شاهد معنی دار نبود و در تیمار ۲/۵٪ اختلاف معنی دار مشاهده شد ($p < 0.05$). کمترین میزان نفوذپذیری مربوط به فیلم ۲/۵٪ و بیشترین میزان نفوذپذیری مربوط به فیلم ۳/۷۵٪ بود. دلیل این رفتار احتمالاً به علت وجود ترک و شکاف ایجاد شده به علت تبخیر اسانس موجود در فرمولاسیون فیلم ها می باشند. این نتایج با نتایج حسینی و همکاران (۲۰۱۵) که با افزایش اسانس پونه کوهی، نفوذ پذیری به بخار آب فیلمهایی بر پایه ژلاتین - کیتوزان افزایش یافت، مغایر بود.

نفوذ و عبور رطوبت از بخش هیدروفیل فیلم بیان کننده نفوذپذیری به بخار آب می باشد. ماهیت بیوپلیمرها و ترکیبات افزوده شده، ساختار بیوپلیمر در ماتریس فیلم، ضخامت و همچنین نسبت هیدروفیل به هیدروفوب در فیلم های خوراکی بر میزان نفوذپذیری به بخار آب تأثیرگذار می باشد (جریدی و همکاران ۲۰۱۴). کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب می تواند نشان دهنده کاهش میانگینش و اتصالات اسانس مریم گلی با پلیمر ژلاتین و ایجاد ساختار متراکم تر باشد. کاهش اتصالات متقاطع در ماتریس پلیمری می تواند باعث افزایش حجم آزاد ماتریس فیلم گردد؛ همچنین می تواند بر جهت گیری نامنظم پروتئین در ساختار فیلم اثرگذار باشد و باعث افزایش آمینو اسیدهای آبگریز بر روی 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 منطبق بر نتایج بود و غلظت بالاتر اسانس لیموترش منجر به کاهش نفوذپذیری فیلم های ژلاتین شده است و دلیل آن را تفاوت در ماهیت اسانس های مورد بررسی بیان کردند.

کدورت معیاری جهت سنجش شفافیت فیلمهاست. هر چه کدورت بالاتر باشد شفافیت کمتر است و می تواند سبب جلوگیری از ورود نور و کاهش فوتو اکسیداسیون در مواد غذایی بسته بندی شده گردد. مقایسه میزان کدورت فیلمهای

Table 2- Mechanical properties of gelatin edible films containing salvia essential oil

Treatment	Tensile strength(Mpa)	Elongation at break(%)	Young modulus(Mpa)
GE+0.00%E	3.45±0.45 ^d	14.44±0.02 ^d	32.53±2.06 ^d
GE+1.25%E	5.88±0.49 ^b	19.14±0.44 ^b	45.09±2.09 ^c
GE+2.5%E	7.45±0.24 ^a	23.43±0.09 ^a	73.28±2.71 ^a
GE+3.75%E	4.71±0.57 ^c	17.33±0.25 ^c	53.63±2.03 ^b

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. حلالیت در آب در همه غلظتهای اسانس معنی دار بود ($p < 0.05$). به طور کلی در حضور غلظت های مختلف از اسانس مریم گلی، بیشترین و کمترین میزان حلالیت به ترتیب مربوط به فیلم شاهد و فیلم حاوی ۳/۷۵٪ اسانس بود، به طوری که از ۹۸/۶٪ به ۸۱٪ به طور معنی داری کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$).

در غلظت بیشتر اسانس، به دلیل ماهیت روغنی آن، درون شبکه بیوپلیمرها قرار می گیرد، بنابراین اسانس سبب تحرک بیشتر شبکه پلیمر شده و به عنوان یک مانع باعث تضعیف شبکه پلیمری می شود. تفاوت در میزان حلالیت، وابسته به غلظت و ماهیت گروه های عاملی ترکیبات موجود در فیلم های ترکیبی می باشد.

افزودن اسانس به ترکیب فیلم، بسته به نوع ترکیبات شیمیایی و همچنین ماهیت آبگریز آن می تواند سبب شود که اجزای غیرقطبی اسانس با دامنه هیدروفیل ژلاتین در تعامل بوده و باعث افزایش آبگریزی و کاهش حلالیت فیلم حاصل گردد (احمد و همکاران ۲۰۱۸). این نتایج قابل مقایسه با یافته ها شجاعی - علی آبادی و همکاران (۲۰۱۳) می باشد که گزارش کردند افزودن اسانس مرزه به فیلم های کاپا کاراگینان موجب کاهش حلالیت در آب فیلمها گردید. جمریز و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی اثر اسانس اسطوخودوس بر روی فیلم نشاسته/فورسلاران/ژلاتین دریافتند که با افزایش میزان اسانس، حلالیت فیلمها در آب کاهش یافت. مهرج احمد و همکاران (۲۰۱۸) نیز در بررسی اثر اسانس ترنج و لیموترش بر روی فیلم

نتایج حاصل از ضخامت فیلم‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود ضخامت فیلم‌ها در تمامی غلظت‌ها معنی‌دار نیست ($p > 0.05$). با افزایش درصد اسانس مریم‌گلی، ضخامت فیلم‌ها نسبت به فیلم شاهد به طور نامنظمی افزایش یافت. علت این افزایش ضخامت را می‌توان 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 می‌شود که نشان‌دهنده افزایش ضخامت است (جمروز و همکاران ۲۰۱۸، نورالدینی و همکاران ۲۰۱۸).

تولیدی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در تیمار ۱/۲۵٪ وجود دارد ($p < 0.05$) و مقدار کدورت با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت. کاهش میزان عبور نور بر اثر افزودن اسانس احتمالاً به علت وجود ترکیبات آروماتیک در اسانس مریم‌گلی می‌باشد که این ترکیبات موجب می‌شوند اسانس به عنوان مانع خوبی در برابر اشعه UV عمل کند (پینروس و همکاران ۲۰۱۷). همچنین دلیل این رفتار را می‌توان به عدم تناسب در ترکیبات مواد نسبت داد که سبب تغییرات قابل توجهی در خواص نوری فیلم‌ها تاثیر می‌گذارد. همچنین نتایج حاصله در تطابق با یافته‌های احمد و همکاران (۲۰۱۲) می‌باشد که با افزایش درصد اسانس ترنج و همچنین اسانس پوتار میزان عبور نور از فیلم‌ها کاهش یافت.

Table 3- Physical properties of gelatin edible films containing salvia essential oil

Treatment	Solubility (%)	Permeability ($\text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$)	Turbidity	Thickness (mm)
0.00%	98.6±0.45 ^a	2.43±0.1 ^a	0.06±0.001 ^c	0.051±0.002 ^a
1.25%	91.59±0.66 ^b	2.21±0.08 ^a	0.07±0.005 ^b	0.0212±0.27 ^a
2.5%	86.26±0.89 ^c	1.4±0.14 ^b	0.088±0.002 ^a	0.055±0.001 ^a
3.75%	81.00±1.18 ^d	2.5±0.22 ^a	0.093±0.002 ^a	0.05±0.001 ^a

Different words in the same column represent significant difference at 5 % ($p < 0.05$).

که ماهیت فیلم و تفاوت در قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات افزوده شده بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها تأثیرگذار هستند.

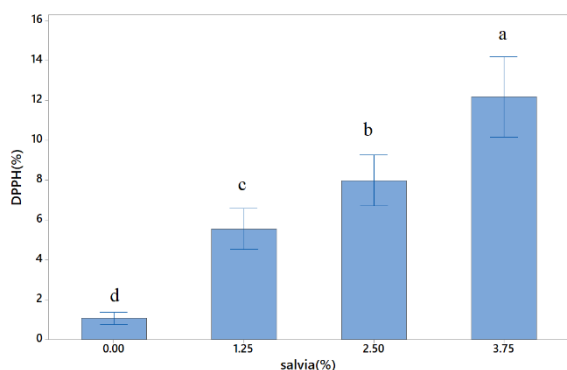


Fig 1- Antioxidant properties of gelatin film and gelatin films containing different percentages of salvia essential oil

خواص آنتی‌اکسیدانی

شکل ۱ آنالیز واریانس حاصل از خواص آنتی‌اکسیدانی را در همه غلظت‌های اسانس به صورت معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای مورد مطالعه توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را داشتند. در فیلم شاهد مقدار میانگین ۱/۰۹٪ فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که می‌تواند به دلیل وجود برخی آمینو اسیدهای خاص مانند گلايسين و پرولين در ژلاتین و همچنین وجود آمینو اسیدهای حلقوی مانند تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین باشد (الکساندر و همکاران ۲۰۱۶). شکل ۱ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها نسبت به فیلم شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). رمزی و همکاران (۲۰۱۱) ضعیف بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گونه‌های باسویلیا را برای کاهش رادیکال DPPH، به محتوای کم ترکیبات فنولیک آن نسبت دادند. اختر و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند

فعالیت ضد میکروبی

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. 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 می‌تواند برای نگهداری مواد غذایی مؤثر باشد و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و ایمنی محصول گردند (آلوز و همکاران ۲۰۱۱، فدایی و همکاران ۲۰۲۰).

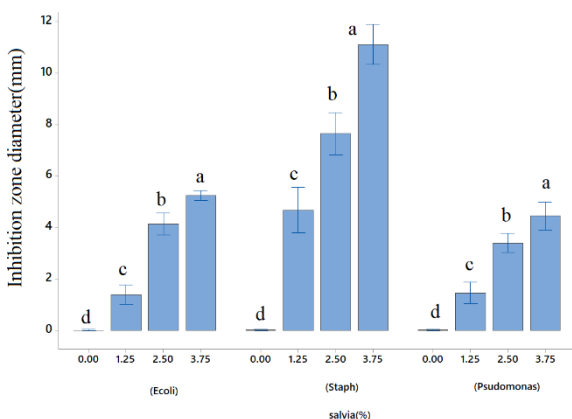


Fig 2- Antimicrobial activity of gelatin films with different concentrations of salvia essential oil

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش و پژوهش‌های مشابه نشان داد که خصوصیات مکانیکی فیلم ژلاتینی تحت تاثیر اسانس مریم گلی قرار گرفت و بالاترین میزان استحکام کششی، ازدیاد طول تا نقطه شکست و مدول یانگ در تیمار ۲/۵٪ بود. غلظت اسانس ۳/۷۵٪ در فیلم خوراکی سبب کاهش نفوذپذیری به بخار آب گردید. در غلظت ۱/۲۵٪ اسانس مریم گلی، کدورت و ضخامت بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد و شفافیت تا حدودی کاهش یافت. در این آزمون بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت اسانس ۳/۷۵٪ مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس بود و همچنین بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در همین غلظت

اثر غلظتهای مختلف اسانس مریم گلی جهت کاهش یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژنز به روش انتشار آگار مورد بررسی قرار گرفت. میزان مهار رشد میکروارگانیسم‌ها (قطر هاله 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 اسانس مریم گلی به ساختار فیلم ژلاتین منجر به مهار رشد هر سه گونه باکتریایی مورد بررسی شد. افزایش غلظت اسانس مریم گلی اثر معنی داری بر افزایش قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان مهار رشد در هر سه گونه باکتریایی سودوموناس آئروژنز و اشریشیاکلی و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در تیمار ۳/۷۵٪ بود. برای استافیلوکوکوس اورئوس با افزایش غلظت اسانس، میزان مهار رشد افزایش یافت به طوری که بیشترین قطر هاله عدم رشد ۱۱/۱۱ میلی متر مربوط به تیمار ۳/۷۵٪ بود. نمودار میزان مهار رشد میکروارگانیسم‌ها (قطر هاله عدم رشد) در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در فیلم شاهد، فعالیت ضد میکروبی علیه هر سه گونه مورد مطالعه شبیه یکدیگر و ناچیز می باشد. فعالیت ضد میکروبی تیمارهای حاوی اسانس مریم گلی می‌تواند نتیجه اثر سینرژیک هیدروکربن‌های مونوترپن و مشتقات آن باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است که مواد تشکیل دهنده جزئی (با غلظت کم) در ترکیبات فیلم‌ها می‌توانند نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها داشته باشند (ایجاز و همکاران ۲۰۱۸، مارتوسی و همکاران ۲۰۱۵). ریحانا اختر و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی فیلم‌های بیوکمپوزیت 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 و همچنین مهار سنتز آنزیم در میتوکندری، تأثیر

بهتری نسبت به فیلم شاهد می باشد. با مطالعه بیشتر بر ویژگیهای فیزیکی و مکانیکی آن می‌توان یک بسته بندی مناسب برای حفظ ویژگیهای کیفی و افزایش طول عمر ماده غذایی معرفی کرد.

مشاهده شد. فیلم خوراکی حاوی اسانس گل‌گلی علاوه بر مهار رشد و تکثیر باکتریها، دارای استحکام کافی بوده و همچنین قابلیت استفاده در مواد غذایی فسادپذیر را دارد و می‌توان فیلم خوراکی فعال جدید به حوزه بسته بندی مواد غذایی معرفی نمود که دارای ویژگی فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی

References

- Ahmed SA, Saleem MF & Hassanzadeh H. (2023). Optimization of solvent evaporation method in liposomal nanocarriers loaded-garlic essential oil (*Allium sativum*): Based on the encapsulation efficiency, antioxidant capacity, and instability. *IET nanobiotechnology*.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Alves PM, Carvalho RA, Moraes IC, Luciano CG, Bittante AMQ, Sobral PJ. 2011. Development of films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. *Food hydrocolloids* 25(7):1751-7.
- BabeiGhaghelestani A, Alebrahim MT & Asadi M. (2020). Chemical Analysis and Identifying Dominant Essential Oils Compositions from Sage (*Salvia officinalis* L.). *JFST* 101(17) 155-165.
- 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.
- Cheng S, Wang W, Li Y, Gao 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.
- Chiou B-S, Avena-Bustillos RJ, Bechtel PJ, Jafri H, Narayan R, Imam SH, 2008. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. *European Polymer Journal* 44(11):3748-53.
- Couladis M, Tzakou O, Mimica Dukić N, Jančić R & Stojanović D. (2002). Essential oil of *Salvia officinalis* L. from Serbia and Montenegro. *Flavour and fragrance journal*, 17(2), 119-126.
- 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.
- 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.

- Fadaei M, Fallah A, Taheri A, 2020. Effect of Edible Starch Coating Enriched with Pennyroyal (*Mentha pulegium*) Essential Oil on Shelf life of Rainbow Trout Fillet Esmail Pirali kharabadi1, *Journal of Veterinary Research* 75:3, 300-309.
- 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.
- 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.
- Gennadios A. 2002. Protein-based films and coatings: CRC Press.
- Habibvand M, Yousefi M, Ahmed S A & Hassanzadeh H. (2023). Formulation of nanoemulsion carriers containing Pennyroyal (*Mentha pulegium*) and Gijavash (*Froriepia subpinnata*) essential oils for enriching Dogh (Iranian dairy drink). *IET nanobiotechnology*, 17(2), 80-90.
- Han JH 2003. Antimicrobial food packaging. *Novel food packaging techniques* 8:50-70.
- 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.
- Hassanzadeh H, Alizadeh M & RezazadBari M. (2016). Kinetic modeling and optimization of milk coagulation affected by several prevalent cheesemaking factors and essence addition. *International Journal of Food Engineering*, 12(5), 421-428.
- 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.
- Hosseini S F, Rezaei M, Zandi M and Farahmandghavi F, 2015. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and products* 67: 403-413.
- Kalori R, Rezazadbari M, Alizadeh M & Hassanzadeh H. (2023). Evaluation of the viability of starter bacteria and physicochemical properties in functional yogurt enriched with wheat germ powder and a mixture of processed plant essential oils. *Journal of food science and technology (Iran)*, 20(134), 135-147.
- Kamatou G P, Makunga NP, Ramogola WPN & Viljoen AM, 2008. South African *Salvia* species: a review of biological activities and phytochemistry. *Journal of ethnopharmacology*, 119(3), 664-672.
- 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.
- 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.
- 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
- 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.
- Mothana RA, Hasson SS, Schultze W, Mowitz A, Lindequist, U, 2011. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of three endemic *Soqotraen Boswellia* species. *Food chemistry* 126(3):1149-54.
- Nouraddini M, Esmaili 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.
- Ostadali T, Ghanbarzadeh B, Darikvand F, Mortazavi SA and Abolghasemi Fakhri L, 2015. Thermoplastic starch-nanosilver-nanoclay nanocomposites: investigation of anti-bacterial effect against *Escherichia coli*, mechanical and permeability properties. *Journal of Food Researches* 26(1), 161-175.

- 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.
- 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.
- Sahraee S, Milani JM, Ghanbarzadeh B, Hamishehkar H, 2017. Effect of corn oil on physical, thermal, and antifungal properties of gelatin-based nanocomposite films containing nano chitin. *LWT-Food Science and Technology* 76:33-9.
- Shahbazi Y, Rezaei F, 2017. Evaluation of the antibacterial effect of the gelatin film containing the essential oil of the mountain cockatoo plant and grape seed extract against *Staphylococcus aureus* in ground beef. The first national conference and the first international conference of food industry and organic products in Iran 1-7.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.