Food Research Journal

Online ISSN: 2676-5691 Print ISSN: 2008-515X

https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

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

Ronak Momeni[1], Mohammadyar Hosseini[2]✉, Tayyeb Saifi[3] and Hamed Hassanzadeh[2]

[1]Bachelor Student of food hygiene, Faculty of Paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ilam University, Ilam, Iran
[3] Master 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 11.11mm. 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.

CC BY NC

OPEN ACCESS

Extended Abstract

Introduction: The use of plastic packaging to cover food faces many challenges due to reasons such as non-degradation and migration of toxic chemicals such as bisphenol A, alkylphenol, octylphenol, phthalates, lead, etc. Therefore, other coatings have been focused in the food industry, which can be called edible composite films, which are considered as one of the basic ways to control the physiological, microbial and physicochemical changes of food. Films containing gelatin have good mechanical resistance and this substance can be used in the production of edible film due to its gelling properties (the presence of proline and hydroxyproline amino acids). Gelatin can form an edible layer to protect against desiccation, light and oxygen. However, gelatin films have relatively poor mechanical properties and water resistance. Adding compounds including plant essential oils is one of the ways to improve the physicochemical properties of gelatin layers to strengthen their structure. However, gelatin film has poor antimicrobial and antioxidant properties and is therefore not suitable for packaging perishable food and meat products.

The use of plant essential oils in biodegradable films improves the antimicrobial, antioxidant and permeability effects of hydrophilic films. On the other hand, the combination of essential oils with films reduces the loss of volatile compounds of essential oils during storage, so the essential oil remains in a high concentration and for a longer time on the surface of the food product.

In order to reduce the consumption of antibiotics, chemical additives and preservatives, natural antimicrobial substances can be used in the composition of these packages. In recent years, in research related to the production and evaluation of edible films, plant essential oils such as clove, cinnamon, ginger, and basil essential oils have received much attention for microbial protection, delaying chemical and microbial spoilage, and reducing food waste. In general, essential oils are volatile natural compounds that are secondary metabolites of GRAS-listed plants. The essential oils obtained from different plants have extensive antioxidant properties, which are related to the presence of hydrogen-containing groups in their chemical structure. Common sage (Salvia officinalis) is a perennial and herbaceous plant, with straight roots and many branches, and has the highest number of volatile compounds, including camphor, alpha and beta thujone. Among the spices, sage is often used in pharmaceuticals as a spice that has an essential oil with good antimicrobial and antioxidant properties. The purpose of this research is to investigate the antioxidant properties of sage essential oil in the production of gelatin film with sage essential oil.

In recent years, many studies have been conducted on natural preservatives. Researchers have demonstrated the use of plant essential oils to protect all types of food against spoilage and disease-causing microorganisms. The name salvia is derived from the Latin word meaning to heal. This plant has received special attention since ancient times, it is the most valuable medicinal type of dark mint and has important therapeutic properties. Sage is used in traditional medicine as an effective medicine to treat the effects of insect bites, anti-poison and tonic to strengthen the soul, body and prolong life and as a tonic, anti-rheumatic and chronic pain reliever, antimicrobial, anti-bloating and pain reliever. In terms of its chemical composition, sage leaves contain volatile essential oil, saponin and a bitter substance called picrosalvin with the property of facilitating digestion, diuretic, astringent and stopping the growth of bacteria and organic acids. Sage essential oil is amber and is very rich in terms of camphor content, and the amount of essential oil and the amount of cineole in the essential oil is the highest during the flowering and opening of the flower. The amount of cineole in the essential oil is about 25% in the essential oil of fresh dried branches. In the Middle Ages, sages of traditional European medicine used sage to treat constipation, cholera, colds and gout diseases, chronic rheumatism, Alzheimer's, liver disorders, epilepsy, nervous vertigo and paralysis, and to strengthen muscles. So far,

several species of the genus Salvia, for example S. sclarea, *S. hypoleuca, S. officinalis, S. syriaca,* have been studied and identified and researched. Almost all types of sage are used in traditional medicine. Since ancient times, the leaves of the sclera plant have been used as a tonic and anticonvulsant. The conducted research considers the presence of some compounds in the essential oil of these plants, such as thujone, cineol and camphene, to be responsible for the antimicrobial, antioxidant and possibly anti-cancer properties of sage.

Material and Methods: The tests performed in this research include physical and chemical tests (solubility, water vapor permeability, thickness and turbidity), mechanical tests (elongation to breaking point, tensile strength and Young's model), measurement of antioxidant property and antimicrobial activity. All experiments were performed in three replicates (3 subjects) in a completely randomized design. One-way analysis of variance (ANOVA) and average comparison of data were performed based on Tukey's test using Minitab18 software at a confidence level of 95%.

Results and discussion: In this research, all mechanical parameters were significant ($p<0.05$) and the highest amount of tensile strength, elongation at break point and Young's model in the treatment was 2.5%. In the treatments of the films, the lowest solubility and permeability were observed in concentrations of 3.75% and 2.5% of essential oil, respectively. In the experiment, the turbidity of the 2.5% and 3.75% treatments was not significant ($p > 0.05$) and at the concentration of 1.25% essential oil, it had the highest value and thickness of 0.05 mm. The addition of plant essential oils was also significant on the antioxidant properties of edible films ($p<0.05$). Antimicrobial activity of the film was measured by disk diffusion method. In this experiment, the largest inhibition zone diameter in the concentration of 3.75% essential oil was related to *Staphylococcus aureus* with the average inhibition zone diameter of 11.11 mm. The average inhibition zone diameter for *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* was reported as 8.27 mm and 4.45 mm, respectively.

Conclusion: The results of this research showed that adding sage essential oil with a concentration of 3.75% to the gelatin film, in addition to preventing the growth and proliferation of bacteria, has enough power to increase the shelf life of perishable food.

پژوهش‌های صنایع غذایی
شاپا الکترونیکی: ۵۶۹۱-۲۶۷۶ ، شاپا چاپی ۵۱۵X- ۲۰۰۸
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

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

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 باکتری شناسی دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
✉مسئول مکاتبه: m.hosseini@ilam.ac.ir

مشخصات مقاله

نوع مقاله:
علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۲/۳/۶
پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۱۵
انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۱۰

کلید واژه:
اسانس مریم گلی، ژلاتین، فیلم خوراکی، بسته بندی، خواص آنتی‌اکسیدانی

چکیده

زمینه مطالعاتی: در این پژوهش، به بررسی ویژگیهای فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین آمیخته شده با غلظتهای اسانس مریم گلی (*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: آزمون های انجام یافته در این پژوهش، آزمایشات فیزیکی شیمیایی، آزمایشات مکانیکی، اندازه-گیری خاصیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی فیلم های خوراکی بود. تمامی آزمایشات در سه تکرار (n=۳) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند 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<۰/۰۵) و بالاترین میزان استحکام کششی، ازدیاد طول تا نقطه شکست و مدول یانگ در تیمار ۲/۵٪ بود. کمترین میزان حلالیت و نفوذپذیری به بخارآب 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 فیلم های خوراکی خاصیت آنتی اکسیدانی نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بود(P<۰/۰۵). بیشترین قطر هاله بازدارندگی در فعالیت ضد میکروبی در غلظت اسانس ۳/۷۵٪ مربوط به *استافیلوکوکوس آورئوس* با متوسط قطر هاله ۱۱/۱۱ mm بود. در همین غلظت متوسط قطر هاله برای *سودوموناس ائروژنز* و *اشریشیاکلی* به ترتیب ۸/۲۷ mm و ۴/۴۵mm گزارش شد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد افزودن اسانس مریم گلی در غلظت ۳/۷۵ درصد در فیلم ژلاتینی علاوه بر مهار رشد و تکثیر باکتریها، دارای استحکام کافی بوده و موجب بهبود خصوصیات آنتی-اکسیدانی فیلم ژلاتینی شد و همچنین قابلیت استفاده در مواد غذایی فسادپذیر را دارد.

مقدمه

استفاده از بسته‌بندی‌های پلاستیکی برای پوشش مواد غذایی به سبب تجزیه‌پذیر نبودن و همچنین بروز مشکلاتی از قبیل مهاجرت مواد شیمیایی سمی نظیر بیسفنلA، آلکیل‌فنل، اکتیل‌فنل، 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 ۲۰۱٤، 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 ۲۰۱٤). از راه‌های بهبود خواص فیزیکی شیمیایی فیلم‌های ژلاتین افزودنی هایی مانند اسانس ها جهت تقویت ساختار فنلی آن می‌باشد. فیلم ژلاتین دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی ضعیفی بوده و بنابراین برای بسته‌بندی موادغذایی فسادپذیر و فرآورده‌های گوشتی مناسب نمی‌باشد. خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و خواصی مانند مقاومت به آب فیلم‌های ژلاتین را می‌توان با افزودنی‌هایی مانند اسانس‌ها بهبود بخشید(چنگ و همکاران ۲۰۱۹، چیو و همکاران ۲۰۰۸، صحرایی و همکاران ۲۰۱۷، تومادونی و همکاران ۲۰۱۹).

استفاده از اسانس های گیاهی در فیلم های زیست تخریب پذیر، بهبود اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و نفوذ پذیری فیلمهای هیدروفیل را می‌تواند به‌همراه داشته باشد. از طرف دیگر ترکیب اسانس با فیلم باعث کاهش از دست رفتن ترکیبات فرار اسانس در طول زمان نگهداری می شود، لذا اسانس در یک غلظت بالا و برای مدت طولانی تر در سطح فراورده باقی می‌ماند (قادرمرزی و همکاران ۲۰۱۳، راکش و همکاران ۲۰۱٤).

به منظور کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی می‌توان از مواد ضدمیکروبی 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(بونیلا و همکاران ۲۰۱۸، اچوریا و همکاران ۲۰۱۸، ژنادیوس و همکاران ۲۰۰۲، تونگواچان و همکاران۲۰۱٦). اسانس‌های گیاهی بر حسب نوع خود دارای خواص متعددی همانند طعم دهندگی، ضدمیکروبی، تقویت سیستم ایمنی، آنتی اکسیدانی و خواص بیولوژیکی می باشند(کلهوری و همکاران ۲۰۲۳، حسن زاده وهمکاران ۲۰۱٦). بطورکلی، اسانس‌ها ترکیبات طبیعی فراری هستند که از متابولیت‌های ثانویه گیاهان به شمار می‌آیند که به دلیل ایمن بودن آن‌ها در لیست GRAS[1] قرار گرفته‌اند(احمد و همکاران ۲۰۲۳، حبیبوند و همکاران ۲۰۲۳). اسانس های روغنی بدست آمده از گیاهان مختلف دارای خواص آنتی اکسیدانی گسترده ای هستند که مربوط به وجود گروههای هیدروژن دار در ساختار شیمیایی آنها می باشد. مریم‌گلی با نام علمی (*Salvia officinalis*)، گیاهی است چند ساله و علفی، ریشه راست و دارای انشعابات فراوان می باشد و بیشترین میزان ترکیبات فرار آن را کامفور،آلفا و بتا توجن تشکیل می‌دهد. در میان ادویه جات، مریم گلی اغلب به عنوان ادویه ای که دارای اسانسی با ویژگی های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مناسب است، در داروسازی مورد استفاده قرار می گیرد. در سالهای اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده های طبیعی صورت گرفته است. محققین استفاده از اسانس های

[1] . Generally recognized as safe

گیاهی را برای محافظت از انواع مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم های عامل فساد و بیماریزا پیشنهاد کرده‌اند. بونیلا 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[1] 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 مطالعه ای نشان دادند که عصاره طبیعی گیاهان یک افزودنی مفید است که باعث افزایش خواص عملکردی فیلم های بیوپلیمری می شود و با بررسی اثر رنگهای طبیعی موجود در چغندر قند و هویج روی فیلم HPMC به این نتیجه رسیدند که این ترکیبات باعث افزایش مقاومت در برابر نور و در نتیجه باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها می شود.

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، 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، آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی فیلم خوراکی ژلاتین می باشد.

مواد و روش‌ها

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

استخراج اسانس

استخراج اسانس از گیاه خشک و پودر شده مریم‌گلی به روش تقطیر آبی با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد (مواد گیاهی پودر شده داخل مخزن تقطیر در آب غوطه ور شده و طی عملیات گرم شدن و جوش آمدن، اسانس ها از سطح یا داخل گیاه به وسیله ی پدیده ی انتشار وارد آب می شوند و با توجه به اختلاف چگالی بین اسانس و آب، این دو از هم جدا می گردند) انجام شد. سپس اسانس جمع‌آوری شد و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در شیشه تیره نگهداری شد(کاماتو و همکاران ۲۰۰۸).

[1] . 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 نمونه ها 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 نیترات 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).

اندازه گیری ضخامت فیلم ها

تعیین ضخامت فیلم ها برای آزمایشات مکانیکی، نفوذ پذیری به بخار آب و خواص نوری امری ضروری می باشد. ضخامت فیلم های تولیدی توسط میکرومتر (Mitutoyo ژاپن) با دقت ۰/۰۰۱ میلی متر و در ۱۰ نقطه مختلف از هر نمونه اندازه گیری 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 سی سی 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).

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

نفوذپذیری نسبت به بخار آب(تراوش پذیری)

نفوذ پذیری نسبت به بخار آب به روش وزن سنجی انجام شد(ASTM-E96-95, 1995). در یک ظرف ۱۴ میلی لیتری، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم های ژلاتینی مورد بررسی با مساحت ۱/۵ سانتی متر 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).

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

W میزان اختلاف وزن بطری، X ضخامت فیلم ژلاتینی، A مساحت فیلم ژلاتینی(m^2)، t زمان بر حسب ثانیه و $\mathbf{\Delta p}$ اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم است.

ویژگی‌های مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم ها 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 فیلم ها به ابعاد cm^2 ۱۰×۱ بریده شدند و ضخامت در ۱۰ نقطه اندازه گیری شد. فیلم های مشروط شده بین دو فک دستگاه بافت سنج با فاصله اولیه ۵۰mm و سرعت حرکت فک ۵۰mm/min قرار داده شدند و ویژگی های مکانیکی شامل قدرت کششی، درصد افزایش طول تا نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰)

[1] .water vapor permeatability

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 ٤۰۰۰ سانتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگه‌داشته شد (۱ شب استراحت) و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ٤۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از قسمت رویی محلول سانتریفوژ شده هر فیلم با ٤ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار متانولی DPPH مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب هر یک در ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (A_S). به عنوان شاهد، ۱ میلی‌لیتر از محلول آب و متانول (۳ میلی‌لیتر آب مقطر+ ۳ میلی‌لیتر متانول) با ٤ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار متانولی DPPH به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور 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).

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

اندازه گیری کدورت فیلم

برای تعیین ویژگی های نوری فیلم ها از دستگاه اسپکتروفتومتر(Shimadzu ژاپن) استفاده شد. به این منظور نمونه های فیلم به ابعاد ۹×٤۰ میلی متر بریده شده و داخل سلول اسپکتروفتومتر قرار گرفته شدند. یک نمونه سلول خالی نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان عبور نور در طول موج های مختلف و هم چنین جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد از فرمول زیر برای اندازه گیری کدورت استفاده شد(فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

ضخامت فیلم / میزان جذب در۵۰۰نانومتر = کدورت

اندازه گیری فعالیت ضدمیکروبی

از روش انتشار دیسک آگار برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها برروی باکتری‌های مدل اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژنز استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰µL (10^{-6} cfc/g) از هریک از سوسپانسیون‌های باکتریایی به صفحات محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح شد. سپس دیسک‌هایی به قطر ٦ میلی‌متر از هر فیلم برش داده شد و بر روی سطح آن گذاشته شدند. سپس به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت قطر مناطق مهار رشد (میلی‌متر) برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی اندازه‌گیری شد(فلاح و همکاران ۲۰۲۱).

تجزیه و تحلیل آماری

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

نتایج و بحث

آنالیز اسانس مریم گلی

جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس مریم‌گلی از دستگاه کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی(مدل Agilent آمریکا) استفاده شد. دستگاه مورد استفاده قابلیت تزریق نمونه-های 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 ۲٦/۷٪ و بعد از آن Camphor می باشد که ۲٤/۲٪ را به خود اختصاص می دهند 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 قاقلستانی و

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، 1,8-Cineol ،β- Pinene و 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<۰/۰۵). 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 سایزر به داخل 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<۰/۰۵) و مقدار بیشتری نسبت به تیمار شاهد را دارا می باشد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۲/۵٪ بوده که احتمالا به علت جذب آب بیشتر و پیوند هیدروژنی قوی تر در ساختار پروتئین ژلاتین می باشد و پلاستی سایزر روغنی باعث افزایش حجم آزاد در نمونه می گردد 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>۰/۰۵) و تفاوت مقاومت کششی این دو نمونه با نومنه 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 مودل 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.

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

Treatment	Tensil strength(Mpa)	Elongation at break(%)	Young modulous(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 colomn 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 ($p<۰/۰۵$). به طور کلی در حضور غلظت‌های 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 ۹۸/٦٪ به ۸۱٪ به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($p<۰/۰۵$).

در غلظت بیشتر اسانس، به دلیل ماهیت روغنی آن، درون شبکه بیوپلیمرها قرار می‌گیرد، بنابراین اسانس سبب تحرک بیشتر شبکه پلیمر شده و به عنوان یک مانع باعث تضعیف شبکه پلیمری می‌شود. تفاوت در میزان حلالیت، وابسته به غلظت و ماهیت گروه‌های عاملی ترکیبات موجود در فیلم‌های ترکیبی می‌باشد.

افزودن اسانس به ترکیب فیلم، بسته به نوع ترکیبات شیمیایی و همچنین ماهیت آبگریز آن می‌تواند سبب شود که اجزای غیرقطبی اسانس با دامنه هیدروفیل ژلاتین در تعامل بوده و باعث افزایش آبگریزی و کاهش حلالیت فیلم حاصل گردد(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 برروی 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 برروی فیلم 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($p<۰/۰۵$). 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 می‌باشد. ماهیت بیوپلیمرها و ترکیبات افزوده شده، ساختار بیوپلیمر در ماتریس فیلم، ضخامت و همچنین نسبت هیدروفیل به هیدروفوب در فیلم‌های خوراکی بر میزان نفوذپذیری به بخار آب تأثیرگذار می‌باشد(جریدی و همکاران ۲۰۱٤). کاهش میزان نفوذپذیری به بخارآب می‌تواند نشان دهنده کاهش میانکنش و اتصالات اسانس مریم گلی با پلیمر ژلاتین و ایجاد ساختار متراکم‌تر باشد. کاهش اتصالات متقاطع در ماتریس پلیمری می‌تواند باعث افزایش حجم آزاد ماتریس فیلم گردد؛ همچنین می‌تواند بر جهت‌گیری نامنظم پروتئین در ساختار فیلم اثرگذار باشد و باعث افزایش آمینو اسیدهای آبگریز برروی سطح فیلم و در نتیجه تغییر در میزان نفوذپذیری فیلم گردد. مهرج احمد و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که اختلاط سطح بیشتر اسانس ترنج باعث افزایش نفوذپذیری می شود که منطبق بر نتایج بود و غلظت بالاتر اسانس لیموترش منجر به کاهش نفوذپذیری فیلم‌های ژلاتین شده است و دلیل آن را تفاوت در ماهیت اسانس‌های 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

تولیدی نشان داد که اختلاف معنی داری در تیمار ۱/۲۵٪ وجود دارد (p<۰/۰۵) 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 مریم گلی می باشد که این ترکیبات موجب می شوند اسانس به عنوان مانع خوبی در برابر اشعه UV عمل کند(پینروس و همکاران ۲۰۱۷). همچنین دلیل این رفتار را می توان به عدم تناسب در ترکیبات مواد نسبت داد که سبب تغییرات قابل توجهی در خواص نوری فیلم ها تاثیر می گذارد. همچنین نتایج حاصله در تطابق با یافته های احمد و همکاران(۲۰۱۲) می باشد که با افزایش درصد اسانس ترنج و همچنین اسانس پوتار میزان عبور نور از فیلم ها کاهش یافت.

نتایج حاصل از ضخامت فیلم ها در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود ضخامت فیلم ها در تمامی غلظت ها معنی دار نیست(p>۰/۰۵). با افزایش درصد اسانس مریم گلی، ضخامت فیلم ها نسبت به فیلم شاهد به طور نامنظمی افزایش یافت. علت این افزایش ضخامت را می توان به تراکم ذرات کوچک اسانس در فیلم نسبت داد که تاثیر کمی بر تغییر ضخامت فیلمهای تهیه شده دارد. علاوه بر آن، افزودن اسانس سبب ایجاد ساختار غیریکنواخت همراه با منافذ می شود که نشان دهنده افزایش ضخامت است(جمروز و همکاران ۲۰۱۸، نورالدینی و همکاران ۲۰۱۸).

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

Treatment	Solubility (%)	Permeability ($gm^{-1}s^{-1}pa^{-1}$)	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 colomn represent significant difference at 5 % (p< 0.05).

خواص آنتی اکسیدانی

شکل ۱ آنالیز واریانس حاصل از خواص آنتی اکسیدانی را در همه غلظت های اسانس به صورت معنی دار نشان داد(p<۰/۰۵). 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 گلایسین و پرولین در ژلاتین و همچنین وجود آمینو اسیدهای حلقوی مانند تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین باشد(الکساندر و همکاران ۲۰۱۶). شکل ۱ نشان می دهد که با افزایش غلظت اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی تیمارها نسبت به فیلم شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵). رمزی و همکاران (۲۰۱۱) ضعیف بودن فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گونه‌های باسویلیا را برای کاهش رادیکال DPPH، به محتوای کم ترکیبات فنولیک آن نسبت دادند. اختر و همکاران(۲۰۱۹) گزارش دادند که ماهیت فیلم و تفاوت در قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات افزوده شده بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها تأثیرگذار هستند.

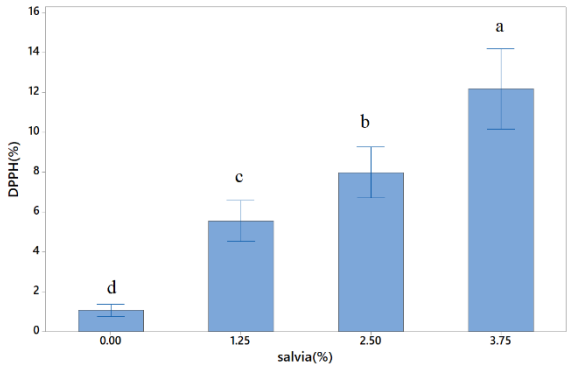

Fig 1- Antioxidant properties of gelatin film and gelatin films containing different percentages of *salvia* essential oil

فعالیت ضد میکروبی

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 ضدمیکروبی ناچیزی علیه هر سه گونه مورد مطالعه مشاهده شد که قابل صرفنظر 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 معنی‌داری بر افزایش قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت ($p<۰/۰۵$). بیشترین میزان مهار رشد در هر سه گونه باکتریای *سودوموناس آئروژنز* و *اشریشیاکلی* و *باکتری استافیلوکوکوس آورئوس* 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 میلی‌متر 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 ضدمیکروبی علیه هر سه گونه مورد مطالعه شبیه یکدیگر و ناچیز می باشد. فعالیت ضد میکروبی تیمارهای حاوی اسانس مریم گلی می‌تواند نتیجه اثر سینرژیست هیدروکربن‌های مونوترپن و مشتقات آن باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است که مواد تشکیل دهنده جزئی (با غلظت کم) در ترکیبات فیلم ها می‌توانند نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها 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 پلی‌فنولیک 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 بر ماده ژنتیکی و ترکیبات هسته‌ای توسط ترکیبات الکتروفیل، کاهش انرژی در سلول‌های میکروبی ناشی از آزاد سازی پروتون گروه‌های هیدروکسیل و یا تشکیل اسیدهای چرب هیدروپراکسیداز (ناشی از اکسیژن رسانی اسیدهای چرب اشباع نشده) می‌توانند بر میکروارگانیسم‌ها اثرگذار باشند. به‌طورکلی، اثربخشی فیلم خوراکی در برابر رشد میکروبی به ماهیت اسانس و نوع میکروارگانیسم بستگی دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل مهار رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی توسط فیلم‌های ترکیبی ژلاتین می‌توانند برای نگهداری مواد غذایی مؤثر باشد و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و ایمنی محصول گردند (آلوز و همکاران ۲۰۱۱، فدایی و همکاران ۲۰۲۰).

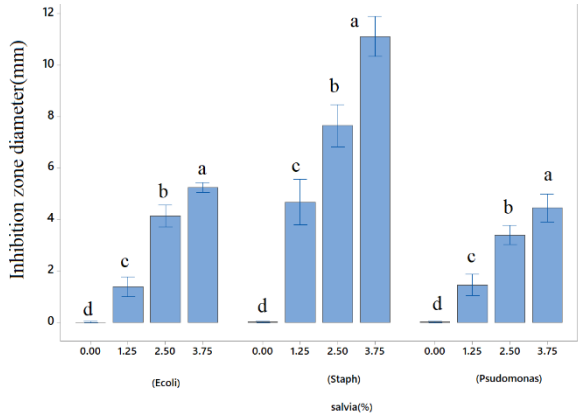

Fig 2- Antimicrobial activity of gelatin films with different concentrations of *salvia* essential oil

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش و پژوهش های مشابه نشان داد که خصوصیات مکانیکی فیلم ژلاتینی تحت تاثیر اسانس مریم‌گلی 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 بخارآب گردید. در غلظت ۱/۲۵٪ اسانس مریم‌گلی، 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 آورئوس* بود و همچنین بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در همین غلظت

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

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 Enrichmed with Pennyroyal (Mentha pulegium) Essential Oil on Shelf life of Rainbow Trout Fillet Esmail Pirali khirabadi1, Journal of Veterinary Research 75:3, 300-309.

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

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 Doogh (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 Origanumvulgare 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, Esmaiili M and Mohtarami F, 2018. Development and characterization of edible films based on corn starch and eggplant powder with Mentha longifolia L. essential oil. Journal of Food Researches 29:4, 171-184.

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.