

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی فیلم خوراکی بر پایه پروتئین آب پنیر-ژلاتین حاوی اسانس

شنک (*Tragopogon Graminifolius*)

الهام احمدی^۱، معصومه حیدریبگی^۲، حامد حسن زاده^۳، محمدیار حسینی^{۴*}

- ۱- دکتری علوم و صنایع غذایی، مدرس گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
- ۲- دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
- ۳- استادیار علوم و صنایع غذایی، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
- ۴- دانشیار علوم و صنایع غذایی، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

چکیده

پیشرفت بیوپلیمرهای نوآورانه به دست آمده از منابع کشاورزی یا ضایعات محصولات غذایی یکی از فناوری‌های پیشرو برای حفظ کیفیت، تازگی و ایمنی مواد غذایی است. ایده استفاده از پلیمرها برای طرفداران محیط زیست در کاربردهای بسته بندی و توانایی تشکیل فیلم آنها مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه، فیلم فعال بسته‌بندی زیست‌تخریب پذیر بر پایه ژلاتین و پروتئین آب پنیر و غلظت‌های مختلف (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد) حاوی اسانس شنک تهیه شدند. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فیلم‌های فعال تولیدی مانند (حلالیت، نفوذپذیری به بخار، ضخامت و کدورت)، آزمایشات مکانیکی (ازدیاد طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی در نظر گرفته شد. آزمایشات با سه تکرار با طرح کاملاً تصادفی و آنالیز واریانس یکطرفه با نرم افزار SPSS²⁶ در سطح احتمال (۵٪) تحلیل شد. در بین تیمارها، کمترین میزان حلالیت در غلظت ۴٪ عصاره شنک و کمترین نفوذپذیری به بخار در غلظت پایین اسانس در تیمارها بود. بالاترین میزان ازدیاد طول در نقطه شکست (۲۴٪) در غلظت (۳٪)، استحکام کششی (۱۱ مگاپاسکال) و مدول یانگ (۱۴۰ مگاپاسکال) در غلظت ۲٪ اسانس شنک بود. در بین تیمارها، اختلاف مقدار کدورت فیلم‌های حاصل معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) اگرچه در بیشترین غلظت اسانس، بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. در تیمارهای فیلم خوراکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از گیرندگی رادیکال آزاد DPPH در تمام غلظت‌ها معنی‌دار بود ($p < 0.05$). ارزیابی فعالیت ضد میکروبی فیلم با کمک روش انتشار دیسک انجام گرفت. در این آزمون بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت (۴٪)، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی با متوسط قطر هاله ۸/۳ mm بود. و کمترین قطر هاله بازدارندگی در همین غلظت برای سودوموناس ۴/۷ mm گزارش شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد با افزودن غلظت اسانس شنک به میزان (۴٪) به فیلم آب پنیر-ژلاتین علاوه بر مهار رشد و تکثیر باکتری‌ها دارای خواص مکانیکی مطلوب

موجب بهبود خصوصیات آنتی اکسیدانی فیلم ترکیبی شد و همچنین می تواند به عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

واژه های کلیدی: فیلم، اسانس شنگ، ژلاتین، پروتئین آب پنیر، استحکام کششی

*مسئول مکاتبات: m.hosseini@ilam.ac.ir

۱- مقدمه

بسته بندی های مواد غذایی از نظر اهمیت حفظ و نگهداری تمام انواع مواد غذایی و همچنین مواد خام به ویژه در مقابل اکسیداسیون و فساد میکروبی و همچنین افزایش مدت زمان ماندگاری دارای اهمیت هستند. افزایش استفاده از پلیمر های بسته بندی مواد غذایی، با توجه به عدم زیست تخریب پذیری کامل آنها منجر به مشکلات زیست محیطی گسترده و جدی شده است (۳۱). فیلم خوراکی^۱ یک لایه تشکیل شده از ماتریکس بیوپلیمری است که از ویژگی های فیزیکی و پیوستگی خوبی برخوردار است. ضخامت چنین فیلم هایی ۰/۵۰-۰/۲۵۰ میلی متر است (۲۳).

ژلاتین نیز نوعی پروتئین زیست سازگار است که از هیدرولیز اسیدی، قلیایی یا آنزیمی کلاژن موجود در پوست، بافت و استخوان حیوانات به دست می آید. ساختار کلاژن لینی نامحلول در آب به فرم مارپیچ سه گانه می باشد که با پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره کووالانسی پایدار می گردد (۱۸). همچنین به دلیل محتوای بالای گلیسین، هیدروکسی پرولین و پرولین انعطاف پذیری بالایی داشته و خواص عالی در تشکیل فیلم از خود نشان می دهد (۳۷). با این حال، فیلم ژلاتین خالص خواص مکانیکی، آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی پایینی از خود نشان می دهد و استفاده عملی از آن را به عنوان بسته بندی فعال محدود می کند. بنابراین، فیلم ها و پوشش های بسته بندی فعال معمولاً با بیوپلیمرهای مختلف، عصاره های طبیعی، افزودنی ها، نانوپرکننده ها ترکیب میشوند تا ویژگی های خود را بهبود بخشیده، ایمنی غذایی را افزایش دهند و نیازهای مصرف کننده را برآورده کنند (۳۰).

آب پنیر محصول جانبی کارخانه های پنیرسازی است که به عنوان یک افزودنی و بویژه به شکل پودرهای پروتئینی تغلیظ شده WPC یا ایزوله^۲ WPI در بسیاری از مواد غذایی فرآوری شده مانند فرآورده های قنادی، نانوائی، بستنی و غذای کودک بکار برده می شود (۳۶). پلی فنل ها می توانند با پروتئین های مختلف از طریق پیوندهای برگشت پذیر ضعیف (مانند پیوند هیدروژنی، پیوند آبگریز، و نیروهای واندروالز) و برهمکنش های برگشت ناپذیر (از طریق تشکیل پیوندهای کووالانسی در نتیجه اکسیداسیون

^۱ Edible films

^۲ Whey protein isolate

و فرآورده‌های افزودن هسته دوست) با پروتئین‌های مختلف تعامل متفاوتی داشته باشند (۴). در نتیجه، ترکیب پلی فیل ها در مواد بسته بندی مبتنی بر پروتئین ممکن است عملکرد آنها را بهبود بخشد (۸).

در سالهای اخیر وارد کردن عصاره و اسانس در پوششها و فیلمهای خوراکی به منظور ایجاد اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۲۷). گیاه شنگ با نام علمی *Tragopogon graminifolius* از خانواده *Asteraceae* در ارتفاعات ۱۴۰۰ متری مناطق زاگرس رویش می کند و دارای فرم رویشی علفی چند ساله می باشد که عموماً از برگ های این گیاه استفاده می شود (۱۹). ترکیبات شناسایی شده در این گیاهان مختلف از جنس فلاونوئیدها، ترپن ها، ساپونین ها، بنزید و هیدروایزوکومارین، ترکیبات فنی و استرول ها هستند ، بسیاری از آنها شناسایی شده اند (۱۴). تکنولوژی فیلم های خوراکی علاوه بر داشتن فوایدی مانند قابلیت خوردن، ساختمان ظاهری زیبا، سازگاری با محیط، غیرسمی و ارزان بودن، می تواند همراهی این ترکیبات طبیعی با فیلم های خوراکی مواد غذایی را از آسیب های فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و کاهش دوز مصرفی اسانس با حفظ اثربخشی آن ها حفظ می کند. حسینی و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهشی خواص مکانیکی فیلم های خوراکی بر پایه ژلاتین حاوی اسانس آویشن را بررسی کردند. نتایج آن ها نشان داد که بیشترین مهار رشد و تکثیر باکتری ها و استحکام کافی مربوط تیمار ۲/۵ درصد بود (۲۰). اختر و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه ای نشان دادند که عصاره طبیعی گیاهان (رزماری و نعناع) یک افزودنی مفید به فیلم های خوراکی (پکتین، کیتوزان و پلیمرهای نشاسته) است که باعث افزایش خواص عملکردی آن ها می شود و بالاترین فعالیت بازدارندگی در برابر همه سویه های بیماری زا (باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیاکلی و لیستریا مونوسیتوزنز) نشان داد (۱) با توجه به اینکه تا کنون تحقیقی بر روی تولید و بررسی خصوصیات فیلم ترکیبی ژلاتین و پروتئین آب پنیر صورت نگرفته است، هدف ازاین پژوهش بررسی تاثیر اسانس شنگ بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی، مکانیکی، آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر-ژلاتین می باشد.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد

ژلاتین، پروتئین آب پنیر و مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت مرک می باشد. گیاه شنگ، (*Tragopogon Graminifolius*) از دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام تهیه شد. آنالیز اسانس ها با دستگاه GC-MS (Shimadzu ژاپن) انجام شد.

۲-۲- استخراج اسانس شنگ

استخراج اسانس از شنگ به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد انجام شد. سپس عصاره جمع آوری شد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد در شیشه تیره نگه داشته شد.

۲-۳- تهیه فیلم ترکیبی

ابتدا ۵/۵ درصد پروتئین آب پنیر و ۱ درصد ژلاتین در آب مقطر استریل دیونیزه افزوده شده و با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد بهمزده شد (۱۰ دقیقه). 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، ۲، ۳ و ۴ درصد) از اسانس شنگ به محلول افزوده شد. پس از افزودن ۰/۲ درصد توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر با دستگاه اولتراسونیک هموژنایزر به مدت ۲۰ دقیقه یکنواخت شد. در نهایت محلول‌های حاصل داخل پلیت‌ها ریخته شد و پس از خشک شدن کامل در دمای محیط فیلم‌ها از پلیت جدا شده و داخل فویل‌های آلومینیومی در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم اشباع در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت برای انجام آزمایشات قرار داده شد (۳).

۱-۲-۳- اندازه گیری ضخامت فیلم‌ها

ضخامت فیلم‌های تولیدی توسط میکرومتر (Mitutoyo ژاپن) با دقت نزدیک به ۰/۰۰۰۱ میلی متر و در ۵ نقطه مختلف از هر نمونه اندازه گیری شد (۱۸).

۲-۲-۳- اندازه گیری کدورت فیلم

برای تعیین ویژگی‌های نوری فیلم‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) استفاده شد. به این منظور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۴۰×۹ میلی متر بریده شده و داخل سلول اسپکتروفتومتر قرار گرفته شدند. یک نمونه سلول خالی نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان عبور نور در طول موج‌های مختلف و همچنین جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد. از فرمول زیر برای اندازه گیری کدورت استفاده شد (۲).

ضخامت فیلم / میزان جذب در 500nm = کدورت فیلم

۳-۲-۳-حلالیت

نمونه های فیلم (2×2 سانتیمتر) به مدت یک شب در دمای 105°C توسط آون خشک و توزین (W_1) شدند. سپس نمونه ها در 25 میلی لیتر آب مقطر به مدت 24 ساعت در دمای 25°C غوطه ور شدند، بعد از گذر این زمان از آب خارج شده و در دمای 105°C برای محاسبه وزن نهایی ماده خشک (W_2) خشک شدند (۲). حلالیت در آب نمونه های فیلم با توجه به رابطه زیر تعیین شد : که در آن W_1 وزن خشک اولیه و W_2 وزن خشک نهایی می باشند.

$$\text{حلالیت} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \times 100$$

۴-۲-۳-نفوذپذیری نسبت به بخار آب (تراوش پذیری)

نفوذپذیری نسبت به بخار آب به روش وزن سنجی انجام شد (ASTM-E96-95, 1995). در یک ظرف 14 میلی لیتری، 10 میلی لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم های مورد بررسی با مساحت $1/5$ سانتی متر مربع درب بندی شد. بطری دربندی شده ابتدا توزین گردید و در محفظه دارای سیلیکاژل با میزان رطوبت نسبی و دمای مشخص قرار گرفت. هر 12 ساعت و به مدت 3 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 (۲۰).

$$\text{WVP1 (gm}^{-1}\text{pa}^{-1}\text{s}^{-1}) = \frac{W \times X}{A \times t \times \Delta p}$$

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

۵-۲-۳-ویژگی های مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم ها شامل قدرت کششی (مگاپاسکال)، افزایش طول تا نقطه شکست (درصد) و مدول یانگ (مگاپاسکال) می باشد. این ویژگی ها بر اساس استاندارد ASTM-D882 و با استفاده از دستگاه بافت سنج (TA-Plus, England) محاسبه شد (ASTM2001). ابتدا فیلم ها به ابعاد $1 \times 10 \text{ cm}^2$ بریده شدند و ضخامت در 10 نقطه محاسبه گردید. فیلم ها به مدت 3 روز در دسیکاتور حاوی محلول منیزیم نیترات با رطوبت 55 درصد و دمای 25 درجه سانتی گراد مشروط شدند.

¹ water vapor permeability

سپس 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) و هم چنین مدول یانگ بر اساس آزمون انعطاف پذیری میله پایه دار محاسبه گردید که نشان دهنده سفتی محصول در محدوده الاستیک خطی است (۲۰ و ۲۴).

۶-۳-۲- خواص آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم های ژلاتین توسط تغییر رنگ رادیکال DPPH از بنفش به هیدرازین های زرد رنگ اندازه گیری شد. برای این منظور ۳۰ میلی گرم از هر فیلم در نسبت های برابر آب مقطر و متانول (نسبت ۳ به ۳) حل شد. پس از حل شدن تمام فیلم ها، به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی-گراد نگه داشته شد (۱ شب استراحت) و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس ۱ میلی لیتر از قسمت رویی محلول سانتریفوژ شده هر فیلم با ۴ میلی لیتر 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 اندازه گیری شد (A_s). به عنوان شاهد، ۱ میلی لیتر از محلول آب و متانول (۳ میلی لیتر آب مقطر + ۳ میلی لیتر متانول) با ۴ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار متانولی DPPH به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور (Memmert آلمان) در دمای اتاق نیز نگهداری شد و جذب آن در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) اندازه گیری شد (A_b). در نهایت فعالیت مهار رادیکال DPPH مطابق معادله زیر محاسبه شد (۲۰).

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

۷-۳-۲- اندازه گیری فعالیت ضد میکروب

از روش انتشار دیسک آگار برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم ها بر روی باکتری های مدل /شریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰µL (10^6 cfu/g) از هر یک از سوسپانسیون های باکتریایی به محیط کشت مولر هیتون آگار تلقیح شد. سپس دیسک هایی به قطر ۶ میلی متر از هر فیلم برش داده شد و بر روی سطح آن گذاشته شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای 35 ± 2 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. در نهایت قطر مناطق مهار رشد (میلی متر) برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اندازه گیری شد (۲۰).

۴-۲- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار ($n=3$) با نمونه گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS26 در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آزمون مکانیکی

خواص مکانیکی در فیلم های خوراکی یکی از مهمترین ویژگی ها در بیان دوام و توانایی آن در افزایش یکپارچگی مکانیکی ساختار فیلم و همچنین حداکثر توانایی فیلم ها در برابر تنش می باشد (۱).

نتایج حاصل از آزمون‌های مکانیکی نمونه‌های فیلم ترکیبی ژلاتین-پروتئین آب پنیر در جدول ۱ آمده است. نتایج آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری از آزمون‌های افزایش طول در نقطه شکست، مقاومت کششی و مدول یانگ را در تیمارهای جدول ۱ نشان داده است ($p<0/05$). میزان افزایش طول تا نقطه شکست (کشش پذیری) با افزایش غلظت عصاره شنگ زیاد شد و در غلظت (۳٪) این عصاره، به بیشترین مقدار خود (۲۴/۶۹٪) مگاپاسکال رسید که می‌تواند ناشی از ازدیاد پیوند هیدروژنی بین مولکولی ژلاتین و پروتئین آب پنیر و نرم کننده (گلیسرول) در اثر جذب آب بیشتر می‌باشد. در غلظت ۴٪ عصاره، توزیع ذرات همگن‌تر و ساختار محکم‌تر و فشرده‌تر شده و ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی بجای پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی میزان درصد افزایش طول کاهش می‌یابد (۲۳/۵۶٪).

فیوره و همکاران (۲۰۲۱) فیلم سدیم کازئینات/کیتوزان حاوی اسانس رزماری را تهیه کردند. آنها مشاهده کردند که افزودن اسانس رزماری باعث افزایش معنی‌داری استحکام کششی فیلم شد. مقاومت به کشش به استحکام پلیمر وابسته است، به دلیل افزایش پیوندهای ساختاری و ایجاد برهمکنش‌ها مناسب با ملکول ژلاتین پروتئین و می‌باشد (۱۵). در غلظت ۳٪، بیشترین مقدار مشاهده می‌گردد و با افزایش غلظت اسانس شنگ، مقدار آن کم می‌شود که این کاهش مربوط به تجمع ذرات و برهمکنش پلیمر می‌باشد که کاهش پیوند هیدروژنی بین عصاره و پایه فیلم موجب تضعیف پلیمر و همچنین در اثر نفوذ پلاستی سایزر مقاومت به کشش کم می‌شود.

رفتار مدول یانگ با تغییرات میزان مقاومت کششی و افزایش طول در نقطه شکست هم جهت است. افزایش مدول یانگ احتمالاً به این دلیل است که عصاره می‌تواند باعث بهبود ویژگی الاستیسیته فیلم گردند که باعث افزایش تغییرات طولی نسبت به تغییرات

عرضی در زنجیره و ترکیبات می گردند. این مدول تحت تاثیر توزیع و چگالی فعل و انفعالات درون و بین ملکولی در ساختار فیلم است. میتوان رفتار افزایشی مقاومت کششی و مدول یانگ را به تأثیر اسانس و تعامل قوی بین گلیسرول و ژلاتین - پروتئین آب پنیر نسبت داد.

پینرووس و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی بر روی فیلم های بر پایه نشاسته، رفتار کاهشی مقاومت کششی و مدول یانگ را به تأثیر اسانس بر ساختار هتروژن فیلم و تعامل ضعیف بین گلیسرول و نشاسته نسبت دادند که با نتایج ما مغایرت داشت (۲۹).

جدول ۱- خواص مکانیکی فیلم های خوراکی

مدول یانگ (مگاپاسکال)	ازدیاد طول در نقطه شکست (درصد)	کشش (مگاپاسکال)	تیمار
$37/63 \pm 55^a$	$0/7 \pm 32^c$	$3/24 \pm 0/06^d$	۰٪
$82/16 \pm 58^c$	$17 \pm 24 \ 0/18^b$	$7/93 \pm 0/15^c$	۱٪
$140/2 \pm 1/3^a$	$23/65 \pm 1/35^a$	$11/2 \pm 0/3^a$	۲٪
$102/1 \pm 13/1^b$	$24 \pm 69 \ 1/5^a$	$9/4 \pm 0/64^b$	۳٪
$103/1 \pm 9/63^b$	$23 \pm 56 \ 1/61^a$	$10/5 \pm 0/46^a$	۴٪

نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد در سه تکرار گزارش شده است. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد ($p < 0.05$) است.

۲-۳- خواص فیزیکی فیلم های تولیدی (کدورت، ضخامت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب)

کدورت معیاری است جهت سنجش شفافیت فیلم هاست که هرچه کدورت بالاتر باشد شفافیت کمتر است. شفافیت فیلم های فعال به دلیل تأثیر آن بر ویژگی های ممانعت کنندگی نور و ظاهر فیلم های بسته بندی، می باشد که نقش مهمی در بسته بندی مواد غذایی ایفا میکند (۲).

نتایج حاصل از خواص فیزیکی نمونه های فیلم در جدول ۱ نشان داده شده است، مقایسه میزان کدورت فیلم های تولیدی نشان داد که اختلاف معنی داری بین آنها وجود نداشت ($p > 0/05$). محدوده پایین کدورت در فیلم های ژلاتین - پروتئین آب پنیر خالص و رنج بالای کدورت در فیلم های ترکیب شده ژلاتین - پروتئین آب پنیر در فیلم مشاهده شد که بیانگر وجود ناخالصی در محلول ژلاتین - پروتئین آب پنیر، با افزایش غلظت اسانس شنگ، ساختار غیر یکنواخت همراه با منافذ در فیلم ایجاد می شود، ناهمگن بودن ذرات در اثر افزایش ضخامت یا در نتیجه جذب نور توسط ترکیبات فنولی موجود در اسانس باشد. در این راستا، علیزاده

ثانی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که افزودن عصاره زعفران و توت قرمز باعث کاهش قابل توجه شفافیت فیلم های بر پایه ژلاتین/کاپا کاراگینان شدند (۲).

ضخامت فیلم از بعد ترکیبی همیشه تحت تاثیر افزودن ترکیبات مختلف نظیر امولسیفایرها، پلاستیسایزرها و مقدار ماده خشک و نیز افزودنیهای مثل اسانسها است. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده، ضخامت فیلم ها در تمامی غلظت ها بجز غلظت ۴٪ معنی دار است ($p < 0.05$). ضخامت فیلم های بر پایه ژلاتین- پروتئین آب پنیر رابطه مستقیمی با میزان محتوی جامد فیلم دارد. ضخامت فیلم ها از ۰/۱۴ تا ۰/۱۹ میلی متر متفاوت است. فیلم ژلاتین خالی و پروتئین آب پنیر دارای کمترین میزان ضخامت بود. ۰/۱۴ میلی متر که این مقدار با افزودن غلظت تا ۳٪ افزایش معنی دار داشت ($p < 0.05$). علت این افزایش ضخامت را می توان به تراکم ذرات کوچک اسانس در فیلم نسبت داد که تاثیر کمی بر تغییر ضخامت فیلم های تهیه شده دارد. علاوه بر آن، افزودن اسانس سبب ایجاد ساختار غیریکنواخت همراه با منافذ می شود که نشان دهنده افزایش ضخامت است (۱۶ و ۷). ولی با افزایش بیشتر غلظت تا ۴٪ ضخامت کمتر شد.

دی جوزپه و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده کردند که افزودن اسانس رزماری باعث تغییر قابل توجهی در میزان ضخامت فیلم های بر پایه کیتوزان و سدیم کازئینات نشد (۹). که با نتایج ما مغایرت داشت. دلیل آن را تفاوت در ماهیت اسانس های مورد بررسی می باشد.

فرناندز و همکاران (۲۰۰۴) از پلاستیسایزرهاى مختلف همانند گلیسرول، اریتریتول و سوربیتول استفاده کردند و فیلم های ترکیبی حاصل هر کدام ضخامت متفاوتی داشتند به صورتی که فیلم ترکیبی حاوی گلیسرول بیشترین ضخامت را داشت. بنابراین، مشاهده ضخامتهای مختلف متأثر از ماهیت و ترکیب فیلم و نوع تعامل میان ترکیبات مختلف فیلم با منشأهای متفاوت است که ساختارهای متفاوتی را ایجاد می کنند (۱۴).

مقدار حلالیت بین همه غلظت های اسانس های مورد استفاده معنی دار بود ($p < 0.05$). به طور کلی در تمامی تیمارها درصد حلالیت فیلم ترکیبی کمتر از شاهد شد و با افزایش غلظت عصاره شنگ به فیلم ترکیبی، حلالیت به ۴۶٪ کاهش یافت. تفاوت در میزان حلالیت، به غلظت و ماهیت گروه های عاملی ترکیبات بستگی دارد. افزودن اسانس به ترکیب فیلم، باعث می شود که اجزای غیرقطبی عصاره با دامنه هیدروفیل ژلاتین در تعامل بوده و باعث افزایش آبگریزی و کاهش حلالیت فیلم حاصل گردد.

در بررسی اثر اسانس اسطوخودوس بر روی فیلم نشاسته/فورسلاران/ژلاتین دریافتند که با افزایش میزان اسانس حلالیت فیلم‌ها در آب کاهش می‌یابد (۲۱). نفوذپذیری نسبت به بخار آب یک فاکتور مهم در مواد بسته بندی است و توانایی فیلم‌ها را در محدود کردن انتقال رطوبت بین دو طرف داخلی و خارجی فیلم‌ها نشان می‌دهد (۲۲ و ۳۸).

بر اساس مطالعات Bravin و همکاران (۲۰۰۶) ضخامت نیز در میزان نفوذپذیری به بخار آب تأثیرگذار است بدین ترتیب که با افزایش ضخامت نفوذناپذیری فیلم به بخار آب افزایش می‌یابد (۵). در جدول ۲ نتایج نفوذپذیری با بخار آب در تمام غلظت‌ها معنی‌دار بود و در حضور غلظت زیاد اسانس ۴٪ به طور معنی‌داری به ۵.۳۴ (گرم بر متر ثانیه پاسکال) افزایش یافت ($p < 0.05$). دلیل این رفتار احتمالاً به علت وجود ترک و شکاف ایجاد شده به علت تبخیر عصاره موجود در فرمولاسیون فیلم‌ها می‌باشد. علاوه بر آن نسبت ترکیبات آبدوست به آب‌گریز مواد موجود در فیلم، تأثیر مستقیمی روی میزان انتقال بخار در فیلم دارد این نتایج با نتایج حسینی و همکاران (۲۰۲۳) هماهنگ می‌باشد که با افزایش اسانس پونه کوهی، نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بر پایه ژلاتین افزایش یافت (۲۰). همچنین علت این افزایش را به پیوستگی بستر یا ماتریس پلیمرها در حضور عصاره نسبت می‌دهند. ژانگ و همکاران، (۲۰۱۹) و لی و همکاران، (۲۰۱۱) فیلم خوراکی کیتوزان تحت تأثیر غنی سازی با عصاره سیب‌زمینی شیرین و عصاره پوست آلو سیاه قرار دادند. نتایج نشان داد، که افزایش نفوذپذیری به بخار آب ممکن است به دلیل گروه‌های آبدوست بیشتری باشد که در اسانس‌ها وجود دارد که بر ویژگی‌های مانع آب فیلم‌ها تأثیر می‌گذارد (۲۶ و ۳۹).

نفوذپذیری فیلم‌های خوراکی مربوط به مسیرهای ریز موجود در شبکه میکرو ساختاری پروتئین فیلم مانند کنسانتره آب پنیر و وجود اسیدهای آمینه آبدوست در ساختارشان است، در جلوگیری از انتقال رطوبت ضعیف عمل می‌کند (۲۶). بنابراین یک راه دیگر برای کاهش تروایی فیلم‌های پروتئینی پر کردن منافذ موجود در شبکه پروتئینی فیلم است نانو ذرات فضاهای خالی بین مولکولی را پر و سبب کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌ها می‌شوند. همچنین نفوذپذیری آب را می‌توان با افزودن روغن‌ها یا موم زنبور عسل که مواد آب‌گریز هستند تغییر داد که با گلیسرول تغییر داده شد.

جدول ۲- خواص فیزیکی فیلم‌های خوراکی

ضخامت (میلی متر)	کدورت	نفوذپذیری (گرم بر متر ثانیه پاسکال)	حلالیت (درصد)	تیمار
0.14 ± 0.04^d	0.58 ± 0.06^c	1.14 ± 0.13^c	71.2 ± 0.75^a	%
0.18 ± 0.02^c	0.83 ± 0.051^b	1.06 ± 0.14^d	67.97 ± 0.67^b	۱%

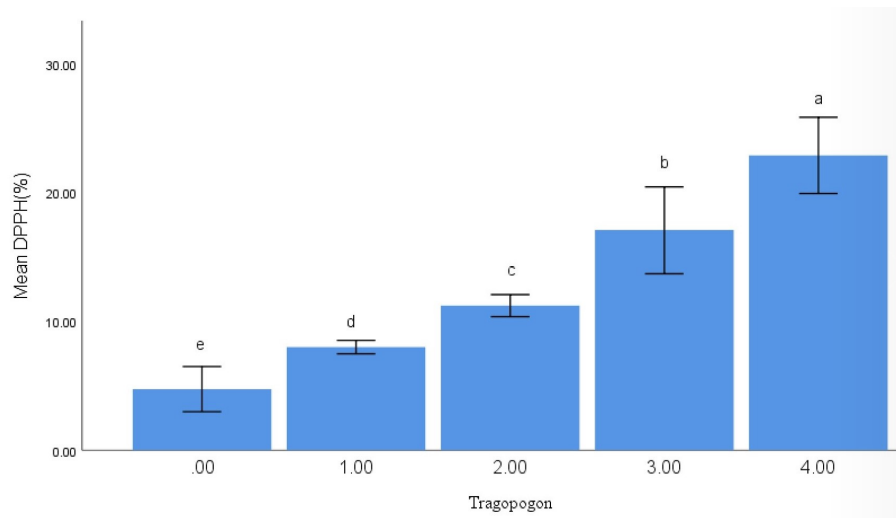
۲٪	۵۶/±۰/۴۱ ^c	۳/±۰۳۷/۱۷ ^c	۰/±۰۸۶/۰۱ ^b	۰/±۰۱۹/۳۹ ^b
۳٪	۴۹/±۲۳/۹۶ ^d	۴/±۰۲۸/۲۱ ^b	۰/±۰۹۷/۰۱۵ ^a	۰/±۰۲۱/۰۱ ^a
۴٪	۴۶/۰۱±۰۷/۹۶ ^c	۵/±۰۳۴/۳۴ ^a	۱/±۰۱ ۰/۰۲ ^a	۰/±۰۱۹/۴۸ ^b

نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد در سه تکرار گزارش شده است. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد ($p < 0.05$) است.

۳-۳-فعالیت آنتی اکسیدانی

شکل ۱ نمودار حاصل از فعالیت آنتی اکسیدانی تیمارها در غلظت های مختلف اسانس شنگ را نشان می دهد که در تمامی غلظت ها به صورت معنی داری بود. و با افزایش درصد اسانس، قدرت مهار رادیکال تیمارها نسبت به فیلم شاهد به صورت معنی داری افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). که احتمالاً بدلیل افزایش ترکیبات فنولی موجود در گیاه (*Tragopogon Graminifolius*) مانند ترکیبات آپیزین، لوتولین، کوئرتسین، ویتکسین، ایزوویتکسین، ویسین-۱ و ۲، سویرتیزین، اوریتین، ایزوریتین، لوسنین-۱ و ۲ به دست آمده در اسانس می باشد (۱۳).

آنتی اکسیدان ها به دلیل مهار واکنش های اکسیداسیون و افزایش ماندگاری محصولات غذایی در فیلم های بسته بندی فعال استفاده می شوند (۳۵). فیلم ژلاتین و آب پنیر پروتئین خالص دارای فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیفی بود که نشان دهنده عدم وجود گروه های عاملی حذف کننده رادیکال آزاد در ساختار ژلاتین ولی فیلم های حاصل از پروتئین های آب پنیر بازدارنده ای مناسب برای اکسیژن هستند (۲۸). بطوری که کمترین و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در فیلم شاهد و فیلم ترکیبی در غلظت (۴٪) می باشد. در فیلم حاوی غلظت های متفاوت اسانس شنگ مشاهده شد که به دلیل وجود برخی آمینواسیدهای خاص مانند گلايسین و پرولين در ژلاتین و همچنین وجود آمینواسیدهای حلقوی مانند تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین می باشد (۱۰). مشابه با نتایج ما، هم سوی چین و همکاران ۲۰۱۷ گزارش دادند که افزودن ژل آلوه ورا به فیلم بر پایه ژلاتین منجر به فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم شد، که با افزایش غلظت آلوه ورا این فعالیت افزایش میابد. فعالیت آنتی اکسیدانی آلوه ورا مرتبط با ترکیبات فنولی موجود در این ژل می باشد (۳۴). علاوه بر این، اسانس رزماری گنجانده شده در فیلم کیتوزان دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بود که این فعالیت رابطه مستقیمی با افزایش غلظت اسانس رزماری داشت (۳۳).



شکل ۱- خواص آنتی اکسیدانی تیمارهای فیلم‌های ژلاتین-پروتئین آب پنیر با غلظت‌های مختلف اسانس شنگ

۳-۴- فعالیت ضد میکروبی

توانایی مهار یا جلوگیری از فساد یا رشد میکروارگانیسم‌های بیماری زا روی مواد غذایی یکی دیگر از ویژگی‌های مهم مواد بسته‌بندی فعال است (۳۵). فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. در تمام تیمارهای دارای اسانس شنگ فعالیت ضد میکروبی موثری در برابر هر سه گونه مورد آزمایش باکتری *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس* نشان دادند. اثر بخشی فیلم خوراکی در برابر رشد میکروبی به ماهیت اسانس و نوع میکروارگانیسم‌ها بستگی دارد.

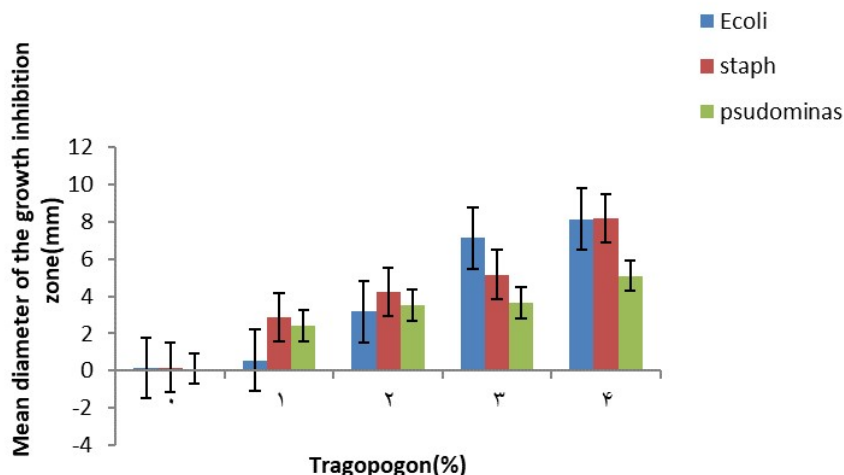
اثر غلظت‌های مختلف اسانس شنگ جهت کاهش یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس* به روش انتشار آگار مورد بررسی قرار گرفت.

روکش‌ها و محلول تشکیل دهنده فیلم بدون اسانس (شاهد) هیچ اثر بازدارنده‌ای را در برابر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نشان ندادند. این نتایج با نتایج به دست آمده در مورد فیلم‌های پروتئین آب پنیر توسط کاگری و همکاران (۲۰۰۱) در یک راستا می‌باشد (۶). با این حال افزودن اسانس شنگ به فیلم بر پایه ژلاتین و پروتئین آب پنیر، باعث فعالیت آنتی باکتریال قابل توجه فیلم شد. افزایش غلظت عصاره اثر معنی‌داری بر افزایش قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان مهار رشد در هر سه گونه باکتریای *سودوموناس آئروژنز* و *اشریشیا کلی* و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمار (۴٪) بود. بیشترین مهار رشد برای *استافیلوکوکوس اورئوس* با افزایش غلظت اسانس تا ۲٪ ولی با افزایش بیشتر غلظت ۳ و (۴٪) مربوط به باکتری *اشریشیا کلی* با بیشترین مهار به ترتیب ۷/۸ و ۸/۳ داشت.

اسانس‌های گیاهی و ترکیبات مؤثر آن‌ها در برابر انواع گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعال شناخته شدند. هر چند در برخی بررسی‌ها باکتری‌های گرم مثبت مقاومتی مانند باکتری‌های گرم منفی نشان دادند (۲۸). خاصیت مهارکنندگی بیشتر اسانس‌های مورد مطالعه بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی می‌تواند به علت اتصال گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات فنلی موجود در عصاره به گروه N استیل گلوکز آمین موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم- مثبت باشد و مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به عصاره ممکن است؛ به علت وجود لیپولی ساکاریدهای غشاء بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که ذاتاً به عوامل خارجی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاومند (۲۵ و ۱۱). فعالیت ضد میکروبی محلول ژلاتینی بیشتر به علت وجود زنجیره الیگوپپتیدی حاصل از آبکافت ژلاتین می‌باشد. با افزایش غلظت پوشش در محلول پوشش‌دهی خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت که احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت فیلم تشکیل شده روی سطح اسانس شنگ و اثر ممانعتی قوی تر آن به نفوذ اکسیژن می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط سلیمانی و همکاران (۱۳۸۹) انجام پذیرفت، نتایج نشان داد که بیشترین میزان هاله عدم رشد باکتری‌ها مربوط به باسیلوس سرئوس با قطر ۴۵ میلی‌متر، باسیلوس سوبتیلیس ۲۱ میلی‌متر، استافیلوکوکوس اورئوس ۲۰ میلی‌متر، شیگلایکسنری ۱۸ میلی‌متر، اشیریشیا کلی ۱۶ میلی‌متر و سالمونلاتیفیموریوم ۸ میلی‌متر، بود. آنها اعلام کردند که دلیل اصلی خواص ضد باکتریایی اسانس زیره، حضور کومین آلدئید در آن است (۳۲).

الانساری و همکاران (۲۰۲۰) اثر ضد میکروبی شش گیاه از گونه *Ferocactus* را روی پنج باکتری باسیلوس سرئوس، اشیریشیا کلی، لیستریا مونوسیتوژنز، مارنیلوتای کوکوس فلاووس و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند که نشان دهنده اثر ضد میکروبی قابل توجه اسانس این گونه‌ها بر دو باکتری اشیریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با سایر باکتری‌ها بود که با نتایج ما مطابقت داشت (۱۱).

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 (۱۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل مهار رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی توسط فیلم‌های ترکیبی ژلاتین- آب پنیر می‌تواند برای نگهداری مواد غذایی مؤثر باشد و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و ایمنی محصول گردند.



شکل ۲- فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین- پروتئین آب پنیر با تیمارهای مختلف اسانس شنگ

۴- نتیجه‌گیری کلی

نتیجه آزمایش‌های انجام شده بر روی فیلم خوراکی ژلاتین-پروتئین آب پنیر نشان داد که مقادیر کدورت فیلم‌های ژلاتین-پروتئین آب پنیر حاصل معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). بیشترین مقدار ضخامت در غلظت ۳٪ عصاره شنگ بدست آمد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). میزان حلالیت با افزایش میزان عصاره شنگ کاهش یافت و نفوذپذیری به رطوبت تمامی تیمارها با افزایش میزان عصاره شنگ به طور معنی‌داری افزایش یافت. افزایش طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول ینگ در تمامی تیمارها با افزایش غلظت عصاره شنگ در محیط از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود و همچنین بیشترین تاثیر در فعالیت ضد میکروبی در اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورونوس در غلظت ۴٪ مشاهده شد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت فیلم‌های فعال ژلاتین-پروتئین آب پنیر در حضور غلظت زیاد عصاره شنگ، بالاترین کارایی و ویژگیهای مطلوب را دارد و می‌تواند با تأخیر در اکسیداسیون لیپیدها، خواص مکانیکی و فیزیکوشیمیایی مطلوب، به عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

- 1- Akhter R, Masoodi F, Wani TA, Rather SA. Functional characterization of biopolymer based composite film: Incorporation of natural essential oils and antimicrobial agents. *International journal of biological macromolecules*. 2019; 137:1245-55.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.214>.
- 2- Alizadeh Sani M, Tavassoli M, Salim SA, Azizi-lalabadi M, McClements DJ. Development of green halochromic smart and active packaging materials: TiO₂ nanoparticle- and anthocyanin loaded gelatin/κ-carrageenan films. 2022; 124: 10732.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107324>.
- 3- Azarifar M, Ghanbarzadeh B, Sowti M, Akhondzadeh Basti A, Abdulkhani A, Noshirvani N, Hosseini M. The optimization of gelatin-CMC based active films containing chitin nanofiber and Trachyspermum ammi essential oil by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*. 2019; 208: 457-468. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.005>.
- 4- Bandyopadhyay P, Ghosh A K, Ghosh C. Recent developments on polyphenol-protein interactions: Effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. *Food and Function*. 2012; 3(6): 592–605. <https://doi.org/10.1039/c2fo00006g>.
- 5- Bravin B, Peressini D, Sensidoni A. Development and application of polysaccharide–lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. *Food Eng*. 2006; 76(3): 280-290.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.021>.
- 6- Cagri A, Ustunol Z, Ryser E T. Antimicrobial, mechanical and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing p-aminobenzoic or Sorbicacids. *Food Sci*. 2001; J. 66 (6): 865-870. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15188.x>.
- 7- Cheng S, Wang W, Li Y, Gao G, Zhang K, Zhou J. Cross-linking and film-forming properties of transglutaminase-modified collagen fibers tailored by denaturation temperature. *Food chemistry*. 2019; 271:527-35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.223>.
- 8- Choi, I, Lee S. E, Chang Y, Lacroix M., Han J. Effect of oxidized phenolic compounds on cross-linking and properties of biodegradable active packaging film composed of turmeric and gelatin. *LWT*. 2018; 93: 427–433. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.065>.

- 9- Di Giuseppe FA, Volpe S, Cavella S, Masi P, Torrieri E. Physical properties of active biopolymer films based on chitosan, sodium caseinate, and rosemary essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*. 2022; 32:100817. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100817>.
- 10- Ejaz M, Arfat YA, Mulla M, Ahmed J. Zinc oxide nanorods/clove essential oil incorporated Type B gelatin composite films and its applicability for shrimp packaging. *Food Packaging and Shelf Life*. 2018; 15:113-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.12.004>
- 11- Elansary HO, Szopa A, Klimek-Szczykutowicz M, Ekiert H, Barakat AA, Al-Mana FA. Antiproliferative, antimicrobial, and antifungal activities of polyphenol extracts from *Ferocactus* species. *Processes*. 2020; 8(2): 138. doi: 10.3390/pr8020138.
- 12- Fadaei M, Fallah A, Taheri A. Effect of Edible Starch Coating Enriched with Pennyroyal (*Mentha pulegium*) Essential Oil on Shelf life of Rainbow Trout Fillet Esmail Pirali khirabadi1, *Journal of Veterinary Research*. 2020; 75:3, 300-309. <https://doi.org/10.22059/jvr.2019.266480.2854>.
- 13- Farzaeia M H, Rahimia R, Attarb F, Siavoshic F, Sanieec S, Hajimahmoodid M, Mirnezamie T, Khanavie M. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Extracts of *Tragopogon graminifolius*, a Medicinal Herb from Iran. *Natural Product Communications*. 2014; 9(1):121-124.
- 14- Fernández-Cervera M, Heinämäki J, Krogars K, Jörgensen A C, Karjalainen M, Iraizoz-Colarte A. Solid-state and mechanical properties of aqueous chitosan- amylose starch films plasticized with polyols. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2004; 5: 1-6. <https://doi.org/10.1208/pt050115>.
- 15- Fiore A, Park S, Volpe S, Torrieri E and Masi P. Active packaging based on PLA and chitosan-caseinate enriched rosemary essential oil coating for fresh minced chicken breast application. *Food Packaging and Shelf Life*. 2021; 29: 100708.
- 16- Ghadermarzi R, Keramat J, Goli SA. The effect of oregano essential oil on the properties of hydroxypropyl methyl cellulose edible film. *Quarterly journal of new food technologies*. 2013; 2(7): 61-74. <https://doi.org/10.22104/jift.2015.130>.
- 17- Ghosh C. Recent developments on polyphenol-protein interactions: Effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. *Food and Function*. 2012; 3(6): 592–605. <https://doi.org/10.1039/c2fo00006g>.
- 18- Gomez-Guillén M C, Giménez B, López-Caballero M E, Montero M P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources. *Potravinarstvo Slovak Jorنال Of Food Sciences*. 2011; 25: 1813-1827. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007>.

- 19- Heidari M, Malekmoohamadi L. Medicinal plants in Ghasemloo valley of Uromieh. *Iran J Med Arom Plants*. 2007; 3: 14-20. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60257-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60257-1).
- 20- Hosseini M, Rahimi Z, saifi.T. Production of edible film based on gelatin containing thyme essential oil: investigation of its physicochemical, mechanical, antioxidant and microbial properties. *Iranian food science and technology*. 2023; 20(135): 129-139. 10.22034/FSCT.19.135.129.
- 21- Jamróz E, Juszczak L, Kucharek M. 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*. 2018; 114:1094-101. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.014>.
- 22- Jancikova S, Jamróz E, Kulawik P, Tkaczewska J, Dordevic D. Furcellaran/gelatin hydrolysate/rosemary extract composite films as active and intelligent packaging materials. *Intern J Biol Macrom*. 2019; 131: 19-28. N <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.050>.
- 23- Jooyandeh H. Whey protein films and coatings: A review. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2011; 10 (3): 296-301. <http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2011.296.301>.
- 24- Khanzadi M, Jafari S M, Mirzaei H, Chegini F K, Maghsoudlou, M Y. Dehnad, D Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate–pullulan by application of beeswax. *Carbohydrate polymers*. 2015; 118: 24-29. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.015>.
- 25- Koné WM, Atindehou KK, Kacou-N'douba A, Dosso M. Evaluation of 17 medicinal plants from Northern Côte d'Ivoire for their in vitro activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2006; Aug; 4(1): 17-22.
- 26- Li, Jiang, Y, Liu F, Ren F, Zhao G, Leng X. Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids* 2011; 25(5): 1098-1104. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.10.006>.
- 27- Moradi M, Tajik H, No HK, Razavi Rohani S, Oromiehie A, Ghasemi S. Potential inherent properties of chitosan and its applications in preserving muscle food. *J Chitin Chitosan*. 2010; 15: 35-45.
- 28- Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E coli* 0157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. May 2007; 18(5):414-420. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.009>.

- 29- Piñeros-Hernandez D, Medina-Jaramillo C, López-Córdoba A, Goyanes S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*. 2017; 63: 488-495. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.034>.
- 30- Rangaraj VM, Devaraju S, Rambabu K, Banat F and Mittal V. Silver-sepiolite (Ag-Sep) hybrid reinforced active gelatin/date waste extract (DSWE) blend composite films for food packaging application. *Food Chemistry*. 2022; 369: 130983. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130983>
- 31- Sabiha-Hanim S, Siti-Norsafurah A. Physical properties of hemicellulose films from sugarcane bagasse. *Journal of Chemical Engineering* 2012; 42:1390-1395. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2012.07.532>.
- 32- Soleimani N, Sattari M, Sepehri Seresht S, Daneshmandi S Derakhshan S. Evaluation of drug interactions and antibacterial activity of black cumin essential oil (*Bunium persicum*) against a number of gram-positive and gram-negative bacteria. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2010 ; 4(1):26-34. In Persian.
- 33- Souza VGL, Pires JRA, Vieira ÉT, Coelho IM, Duarte MP, Fernando AL. Activity of chitosan-montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary essential oil: From in vitro assays to application in fresh poultry meat. *Food Hydrocolloids* 89. 2019; 241–252.
- 34- Sui Chin S, Han Lyn F, Nur Hanani. Effect of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel on the physical and functional properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Packaging and Shelf Life*. 2017; 12: 128–134. Amil Nadu, India. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.04.008>.
- 35- Tavassoli M, Sani MA, Khezerlou A, Ehsani A and McClements DJ. Multifunctional nanocomposite active packaging materials: Immobilization of quercetin, lactoferrin, and chitosan nanofiber particles in gelatin films. *Food Hydrocolloids*. 2021; 118: 106747. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106747>.
- 36- Wakai M, Almenar E. Effect of the presence of montmorillonite on the solubility of whey protein isolate films in food model systems with different compositions and pH. *Food Hydrocolloids*. 2015; 43: 612-621. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.022>.
- 37- Wang H, Ding F, Ma L, Zhang Y. Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application. 2021; 40: 100871. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100871>.

- 38- Zhang A, Han Y, Zhou Z. Characterization of citric acid crosslinked chitosan/gelatin composite film with enterocin CHQS and red cabbage pigment. *Food Hydrocolloids* . 2023. 135: 108144. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108144>.
- 39- Zhang X, Liu Y, Yong H, Qin Y, Liu J, Liu J. Development of multifunctional food packaging films based on chitosan, TiO₂ nanoparticles and anthocyanin-rich black plum peel extract. *Food Hydrocolloids*. 2019; 94: 80-92. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.009>.

Investigating the physicochemical and antimicrobial properties of the edible film based on whey protein-gelatin containing *Tragopogon Graminifolius* Essential Oil

ElhamAhmadi¹, Masoumeh Haider Beigi^{2*}, Hamed Hassanzadeh³, Mohammadyar Hosseini^{4*}
 ph.D in Food Science and Technology, Professor Department of Health and Food Industry, Faculty of
 Paraveterinary Medicine, Ilam University, Ilam, Iran
 Bachelor student of food hygiene, Faculty of paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran
 Assistant Professor, Department of Health and Food Industry, Faculty of Paraveterinary Medicine, Ilam
 University, Ilam, Iran
 Assistant Professor, Department of Food Technology, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran,

Abstract

The development of innovative biopolymers obtained from agricultural sources or food product waste is one of the leading technologies for maintaining the quality, freshness and safety of food. The idea of using polymers for environmentalists in packaging applications and their ability to form films has been considered. In this study, biodegradable packaging active film based on gelatin and whey protein and different concentrations (2, 3, 1 and 4%) containing *Tragopogon graminifolius* Essential Oil were prepared. The physicochemical properties of the produced active films such as (turbidity, thickness, solubility and vapor permeability), mechanical tests (elongation to breaking point, tensile strength and Young's modulus), antioxidant activity and antimicrobial activity were considered. Experiments with three replications were analyzed with a completely randomized design and one-way analysis of variance with SPSS₂₆ software at a probability level of α %. Among the treatments, the lowest solubility was in the 4% concentration of the Essential Oil and the lowest vapor permeability was in the low concentration of the Essential Oil in the treatments. The highest elongation at break point (24%) in 3% concentration, tensile strength (11 MPa) and Young's modulus (140 MPa) was in 2% concentration of *Tragopogon graminifolius* Essential Oil. Among the treatments, the difference in the amount of turbidity of the resulting films was not significant ($p>0.05$), although it had the highest amount at the highest Essential Oil concentration. . In edible film treatments, antioxidant activity using DPPH radicals was significant in all concentrations ($p<0.05$). Evaluation of the antimicrobial activity of the film was done with the help of diffusion disc method. In this test, the largest diameter of the inhibition zone was *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* at a concentration of 4% with an average diameter of 8.2 mm. And the lowest diameter of the inhibition halo in the same concentration was reported for *Pseudomonas* 4.7 mm. The results of this research showed that by adding 4% concentration of essential oil to the whey-gelatin film, in addition to inhibiting the growth and proliferation of bacteria with favorable mechanical properties, it improved the antioxidant properties of the combined film, it improved the antioxidant properties of the combined film And it can also be used as a suitable coating to protect food.

Keywords: Film, *Tragopogon graminifolius*, Essential Oil, Gelatin, Whey protein, Tensile strength

* Corresponding author: m.hosseini@ilam.ac.ir