

Determination of the most effective essential oil in preventing the growth of bacteria and its effect on the properties of the protein film containing bacterial nanocellulose

Azam Siyamiyan¹, Seyed Mahdi Ojagh^{*2}, Mehdi Abdollahi³, Alireza Alishahi⁴,
Iman Asgari⁵

1. Ph.D. Student of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: azam.siamian91@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran ,Dept of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. ojagh@ut.ac.ir
3. Assistant Prof., Dept. of Biology and Biological Engineering Food and Nutrition Science, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden. E-mail: abdollahi.mkh@gmail.com
4. Associate Prof., Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: seafood1144@yahoo.com
5. Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: asgari@gau.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 04.11.2024
Revised: 04.21.2024
Accepted: 04.21.2024

Keywords:
Bacteria,
Bacterial nanocellulose,
Essential oil,
Geranium,
Lantern fish protein

ABSTRACT

In this research, the effect of essential oils (fennel, mugwort, cardamom, dill, ginger and geranium) was investigated separately on bacteria (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*) using two well and disk diffusion methods. The results showed that in both methods, geranium essential oil showed the highest amount of growth inhibition. Then geranium essential oil was added as a selective essential oil at three levels (1, 1.5 and 2%) to the protein film of lantern fish containing 3% bacterial nanocellulose and the physical, mechanical and appearance properties of the nanocomposites were studied. The results showed that by adding essential oil to the nanocomposite, the tensile strength and elongation at break in all films decreased significantly, and the water vapor permeability, humidity, and solubility of the films increased with the addition of nanoparticles. The opacity of the films also increased with the addition of essential oils. In general, the addition of geranium essential oil led to increase antibacterial properties in the films.

Cite this article: Siyamiyan, Azam, Ojagh, Seyed Mahdi, Abdollahi, Mehdi, Alishahi, Alireza, Asgari, Iman. 2025. Determination of the most effective essential oil in preventing the growth of bacteria and its effect on the properties of the protein film containing bacterial nanocellulose. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (4), 211-226.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2024.22347.1863

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تعیین مؤثرترین اسانس در جلوگیری از رشد باکتری‌ها و تأثیر آن بر خصوصیات فیلم پروتئینی حاوی نانوسلولز باکتریایی

اعظم صیامیان^۱، سید مهدی اجاق^{۲*}، مهدی عبدالمهی^۳، علیرضا عالیشاهی^۴، ایمان عسگری^۵

۱. دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: azam.siamian91@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران، دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: ojagh@ut.ac.ir
۳. استادیار گروه زیست‌شناسی و مهندسی بیولوژیک علوم غذایی و تغذیه، دانشگاه صنعتی چالمرز، گوتنبرگ، سوئد. رایانامه: abdollahi.mkh@gmail.com
۴. دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: seafood1144@yahoo.com
۵. گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: asgari@gau.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	در این پژوهش، تأثیر اسانس‌های (رازینانه، درمنه، هل، شوید، زنجبیل و ژرانیوم) به صورت جداگانه بر باکتری‌های (اشریشیاکلا، لیستریا مونوسیتوجنز، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) به دو روش چاهک و دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در هر دو روش اسانس ژرانیوم بیش‌ترین میزان بازدارندگی رشد بر همه باکتری‌های مورد مطالعه را نشان داده است. سپس اسانس ژرانیوم به عنوان اسانس انتخابی با سه سطح (۱، ۱/۵ و ۲ درصد) به فیلم پروتئینی فانوس ماهی حاوی ۳ درصد نانوسلولز باکتریایی افزوده و خواص فیزیکی، مکانیکی و ظاهری نانوکامپوزیت‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزودن اسانس به نانوکامپوزیت، مقاومت کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست در همه فیلم‌ها کاهش قابل توجهی نشان داد و میزان نفوذپذیری به بخار آب، رطوبت و حلالیت فیلم‌ها با افزودن نانوذرات افزایش نشان داد. کدورت فیلم‌ها نیز با افزودن مقادیر اسانس افزایش یافت. به طور کلی افزودن اسانس ژرانیوم منجر به ایجاد خاصیت ضد باکتریایی در فیلم‌ها شد.
واژه‌های کلیدی: اسانس، باکتری، پروتئین فانوس ماهی، ژرانیوم، نانوسلولز باکتریایی	

استناد: صیامیان، اعظم، اجاق، سید مهدی، عبدالمهی، مهدی، عالیشاهی، علیرضا، عسگری، ایمان (۱۴۰۳). تعیین مؤثرترین اسانس در جلوگیری از رشد باکتری‌ها و تأثیر آن بر خصوصیات فیلم پروتئینی حاوی نانوسلولز باکتریایی. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۳ (۴)، ۲۲۶-۲۱۱.

DOI: 10.22069/japu.2024.22347.1863



مقدمه

کیفیت و ایمنی از دغدغه‌های اصلی در فرآورده‌های غذایی دریایی است. آلودگی میکروبیولوژیکی محصولات دریایی در طول حمل‌ونقل و پس از فرآوری رخ می‌دهد و این با فساد غذاهای دریایی همراه است که باعث ایجاد طعم و بوی بد محصول می‌شود. همچنین آلودگی میکروبی تهدیدی جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان است (۱ و ۲). بنابراین یکی از نگرانی‌های اصلی صنعت غذا یافتن روش‌هایی با کارایی بیشتر جهت کاهش فساد میکروبی و اکسیداسیونی غذا می‌باشد (۳ و ۴).

بسته‌بندی یکی از اجزای مهم بخش فرآوری مواد غذایی است زیرا از مواد غذایی محافظت می‌کند (۵ و ۶) و یک فناوری ضروری برای افزایش ماندگاری مواد غذایی، کاهش خطر آسیب محصولات و فساد مواد غذایی است (۷). جهت ایجاد خواص عملکردی، مواد فعال بیولوژیکی مانند اسانس‌ها را می‌توان به‌عنوان یک منبع مهم از نگهدارنده‌های طبیعی به مواد بسته‌بندی اضافه کرد. استفاده از اسانس‌ها می‌تواند خطرات ایمنی مواد غذایی را کاهش دهد. علاوه بر این، گنجاندن اسانس‌های طبیعی در مواد بسته‌بندی فعال می‌تواند از مواد غذایی بسته‌بندی شده در برابر اکسیداسیون محافظت کند (۸).

اسانس‌ها از گیاهان معطر استخراج می‌شوند و تقریباً در آب نامحلول هستند و معمولاً دارای خاصیت چربی دوستی و فراریت قوی هستند. آن‌ها از ترکیبات با وزن مولکولی کم تشکیل شده‌اند که به گیاه عطر، طعم و مزه مشخص می‌دهد. اسانس‌ها منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی مختلف مانند اجزای معطر مشتق از فنل، ترپن‌ها و ترپنوئیدها هستند (۹). برخی از اسانس‌ها به‌عنوان عوامل بازدارنده پاتوژن‌ها، مانند اشیریشیاکالی، سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس،

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و لیستریا مونوسیتوجنز در نظر گرفته می‌شوند (۱۰). اسانس‌ها دارای فعالیت‌های بالقوه بالایی مانند فعالیت‌های ضد میکروبی (۱۱ و ۱۲)، آنتی‌اکسیدانی (۸) و به دلیل غیرسمی بودن و زیست‌سازگاری جهت افزودن طعم و عطر به غذاها، نوشیدنی‌ها و سایر محصولات غذایی استفاده می‌شوند (۱۳). با این حال، اسانس‌ها به نور، اکسیژن و گرما بسیار حساس بوده و به راحتی اکسید می‌شوند (۱۴).

ژرانیوم با نام علمی *Pelargonium Graveolens* و نام انگلیسی *Rosageranium* متعلق به خانواده *Geraniaceae* می‌باشد. اسانس ژرانیوم از برگ‌های شمعدانی استخراج می‌شود. ژرانیوم حاوی سیترونلول، الکل فنیل اتیلک، مانیتول و الکل آمیلیک می‌باشد. انواع مختلفی از خواص دارویی مانند ضد میکروبی، محرک ایمنی، آنتی‌اکسیدان، کاهش قند خون و اثرات ضد التهابی را نشان داده است (۱۵ و ۱۶).

درمنه با نام علمی *Persica Artemisia* و نام انگلیسی *Mugwort* از خانواده *Anthemideae* گیاهی بوته‌ای و بسیار معطر از خانواده کاسنی‌ها محسوب می‌شود. ترکیبات موجود در اسانس و عصاره‌های مستخرج از این گیاه معطر دارای فعالیت‌های بیولوژیکی بسیاری از جمله ویژگی‌های ضد میکروبی، ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۷).

رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* و نام انگلیسی *Fennel* و از خانواده *Aplaceae* است. رازیانه دارای موادی چون فلاندرین، لیمونن، متیل چاویکول و ویتامین A نیز می‌باشد (۱۸). اسانس رازیانه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۹)، فعالیت ضد قارچی بسیار بالا (۲۰) و فعالیت ضد باکتریایی (۲۱) بوده است.

شوید با نام علمی *Anethum graveolens L.* نام انگلیسی *Dill* متعلق به خانواده *Apiaceae* است.

در برابر اشعه فرابنفش نشان دادند و به‌طور قابل توجهی نفوذپذیری به بخار آب را کاهش دادند. هم‌چنین خاصیت ضدباکتریایی محلول‌های تشکیل‌دهنده فیلم علیه اشیریشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس با افزودن اسانس دارچین بهبود یافت (۳۴). افزودن اسانس درمنه بر خواص فیزیکوشیمیایی و فعالیت بیولوژیکی لایه‌های کیتوزان/ نشاسته بذر کویکس حاوی نانو اکسید روی باعث کاهش مقاومت کشش شد، اما ازدیاد طول در نقطه شکست، فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد (۳۵). افزودن اسانس دارچین و میخک به فیلم‌های کامپوزیتی کیتوزان/ نشاسته استیله شده میزان نفوذپذیری به بخار آب، رطوبت، حلالیت در آب، مقاومت کشش و ازدیاد طول در هنگام شکست فیلم‌ها را کاهش و کدورت فیلم‌ها را افزایش داد. فیلم‌های حاوی اسانس تیره‌تر، قرمزتر و زردتر از فیلم بدون اسانس بودند و فعالیت ضدباکتریایی عالی در برابر باکتری‌های عامل فساد اشیریشیاکلاهی روی گوشت گاو نشان دادند (۳۶). افزودن اسانس دارچین و زنجبیل به فیلم کیتوزان- کربوکسی متیل سلولز میزان ضخامت و کدورت و زاویه تماس فیلم‌ها افزایش و میزان نفوذپذیری به بخار آب، مقاومت کشش و ازدیاد طول در نقطه شکست فیلم‌ها کاهش یافت (۳۷). افزودن نانو امولسیون اسانس زنجبیل به فیلم‌های بر پایه ژلاتین تقویت شده با مونت موریلونیت نفوذپذیری به بخار آب تغییر نکرد، مقاومت کشش فیلم‌ها با افزودن اسانس زنجبیل کاهش و ازدیاد طول در نقطه شکست افزایش یافت (۳۸). افزودن اسانس به فیلم آگار-سلولز سبب افزایش ضخامت، میزان نفوذپذیری به بخار آب، زاویه تماس، سفیدی و اختلاف رنگ فیلم‌ها و کاهش در میزان شفافیت و نفوذپذیری در برابر نور، حلالیت، ازدیاد طول در نقطه شکست و مقاومت کشش فیلم‌ها شد (۳۹).

بیش‌ترین میزان اسانس در دانه‌ها و گل‌ها گزارش شده است. مهم‌ترین ترکیبات اسانس موجود در این گیاه کارون و فلاندرن و مهم‌ترین ترکیبات حاصل از بذرها کاملاً رشدیافته کارون و لیمنن هستند (۲۲). اسانس شوید دارای فعالیت‌های ضدباکتری (۲۳) آنتی‌اکسیدان (۲۴) و کاهش چربی خون (۲۵) نیز ثبت شده است.

زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* و نام انگلیسی ginger متعلق به خانواده Zingiberaceae می‌باشد. اسانس زنجبیل از ریزوم‌های گیاه استخراج می‌شود و حاوی ترکیبات زیادی مانند پارادول، شوگوال، اسید فنولیک و جینجرول است که دارای خواص بیولوژیکی مانند آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی (۲۶ و ۲۷)، ضد قارچی (۲۸) و ضد سرطانی (۲۹) و (۳۰) است.

هل با نام علمی *Elettaria cardamomum* و نام انگلیسی Cardamum از خانواده Zingiberaceae تک‌لپه‌ای علفی و چندساله و از گیاهان گرمسیری می‌باشد. اسانس هل اثرات بیولوژیکی متفاوتی از جمله خاصیت ضدباکتریایی (۳۱)، ضدقارچ، آنتی‌اکسیدان، اثر محافظتی گوارشی و ضدسرطان است و دارای فعالیت بیولوژیکی در برابر عوامل بیماری‌زا است (۳۱ و ۳۲).

در سال‌های اخیر مطالعات زیادی جهت بهبود ویژگی فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر انجام شده است. که می‌توان به ترکیب اسانس‌های مختلف در بستر فیلم‌ها اشاره کرد. افزودن اسانس مرزه را به فیلم‌های کیتوزان مورد بررسی قرار دادند. افزودن اسانس مرزه باعث کاهش ازدیاد طول در نقطه شکست و نوسانات نامنظم در مقادیر مقاومت کشش فیلم‌ها شد. هم‌چنین سبب کاهش حلالیت در آب و تغییر رنگ فیلم‌ها شد (۳۳). فیلم‌های کامپوزیت کیتوزان/ پلی وینیل الکل تقویت شده با اسانس دارچین خاصیت ممانعتی عالی

هدف از این مطالعه با افزودن اسانس به فیلم پروتئینی حاوی نانوذره نانوسلولز باکتریایی افزودن خواص ضد میکروبی فیلم‌های تولیدی جهت کاربرد در بسته‌بندی فراورده‌های دریایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعیین خواص ضد میکروبی اسانس‌ها: جهت اندازه‌گیری خواص ضد باکتریایی، اسانس‌ها (شوید، هل، رازیانه، زنجبیل، ژرانیوم و درمنه) به شکل آماده از شرکت طبیب دارو کاشان تهیه و اثر آن‌ها به دو روش دیسک و چاهک بر باکتری‌ها (اشریشیاکالای، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و لیستریا نونوسیتوجنز) مورد بررسی قرار گرفت. سپس بر اساس قطر هاله ایجاد شده بهترین اسانس از نظر بیش‌ترین میزان بازدارندگی رشد باکتری‌ها جهت تهیه فیلم مورد استفاده قرار گرفت.

ساخت فیلم‌های نانوکامپوزیت زیست‌فعال: جهت تولید فیلم‌های حاوی اسانس، پس از استخراج پروتئین از فانوس ماهی به روش شیفت pH، به میزان ۳ درصد وزن پروتئین موجود در محلول، نانوسلولز باکتریایی افزوده و توسط التراسونیک هموژن گردید. سپس ۰/۲ درصد حجم مصرفی اسانس، توئین ۸۰ به‌عنوان امولسیفایر به محلول فیلم اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی هموژن گردید. سپس اسانس ژرانیوم با نسبت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ درصد (انتخاب براساس آزمون‌های اولیه و حذف درصد‌های کم‌تر به‌دلیل ناکارآمدی) به محلول فیلم‌ها افزوده و توسط هموژن‌ساز به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق هموژن (روش اصلاح شده (۴۰)). در انتها گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به‌میزان ۳۵ درصد وزن پروتئین محلول اضافه و به‌مدت ۲۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی هموژن گردید. پس از هواگیری محلول جهت تولید فیلم، ۲۵

گرم از محلول فیلم درون پلیت ۱۰ سانتی‌متر ریخته و درون آون به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد خشک گردید. فیلم‌ها پس از جدا شدن، جهت تعدیل رطوبتی (رسیدن به وزن ثابت) در دسیکاتور نیترات منیزیم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند. آزمون‌های ظاهری، فیزیکی، مکانیکی و میکروبی روی آن‌ها انجام گرفت و بهترین درصد اسانس از لحاظ خواص ضد باکتریایی مشخص گردید.

سنجش ضخامت فیلم‌ها: ضخامت فیلم‌ها با استفاده از ریزسنج دیجیتال (Mytutoyo ساخت ژاپن) با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر، در ۵ نقطه مختلف به صورت تصادفی اندازه‌گیری و میانگین ضخامت به‌دست‌آمده به عنوان داده خام جهت محاسبه مقادیر نفوذپذیری به بخار آب و مقاومت کششی استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب: سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب طبق روش شماره E96-95 مصوب ASTM صورت گرفت (۴۱). درون ظرف‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری آب مقطر ریخته شد و سپس سطح سلول به‌وسیله فیلم با استفاده از گریس پوشانده شد و سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی سلیکاژل قرار گرفتند. آب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۱۰۰ درصد ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اختلاف فشار بخاری معادل $10^3 \times 2/337$ پاسکال ایجاد می‌کند. تغییرات وزن سلول‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. در تمام نمونه‌ها با رسم منحنی تغییرات وزن سلول نسبت به زمان، یک خط راست ($R^2 > 0/99$) حاصل شد. نرخ انتقال بخار آب بر حسب ($\text{متر}^{-1} \text{ ثانیه}^{-1} \text{ گرم}$) معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول بود و از رابطه ۱ حاصل شد. سطح سلول‌ها $0/07065$ مترمربع بود.

(۱) سطح سلول / شیب خط = نرخ انتقال بخار آب

(۲ سانتی‌متر × ۲ سانتی‌متر) از هر فیلم برش داده و وزن شد (Wi). نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون (Memmert UN55، شواباخ، آلمان) تا رسیدن به وزن ثابت نگهداری و خشک شدند. سپس نمونه‌ها به همراه پلیت خارج و پس از سرد شدن در دیسیکاتور حاوی سیلیکاژل مجدداً وزن‌کشی شدند و میزان (درصد) رطوبت با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد.

از ضرب نمودن نرخ انتقال بخار آب در ضخامت روکش‌ها و تقسیم آن در اختلاف فشار موجود در دو سمت روکش میزان نفوذپذیری بخار آب به دست آمد و به صورت $g s^{-1} m^{-1} pas^{-1}$ پاسکال^{-۱} متر^{-۱} ثانیه گرم گزارش شد.

اندازه‌گیری میزان رطوبت و سنجش حلالیت در آب فیلم‌ها: میزان رطوبت فیلم‌ها با توجه به روش توصیف شده توسط (۴۲) تعیین شد. نمونه‌های مربعی

(۲) وزن نمونه مرطوب / (۱۰۰ × وزن آب) = درصد رطوبت بر مبنای وزن مرطوب

سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند (۴۳) سپس از آون خارج در دیسیکاتور سیلیکاژل پس از هم‌دم شدن با محیط کاغذهای صافی به همراه فیلم‌های نامحلول وزن شدند و وزن کاغذ صافی از آن کم شد. حلالیت آب فیلم‌ها با استفاده از رابطه ۳ تخمین زده شد.

جهت تجزیه و تحلیل حلالیت در آب، فیلم‌های خشک شده در آون ۱۰۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت پس از هم‌دم شدن با محیط، وزن‌کشی شد و در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در جای ثابت نگهداری شدند. سپس قطعات فیلم نامحلول توسط کاغذ صافی واتمن خشک و وزن شده و در دمای ۱۰۵ درجه

(۳) $100 \times$ وزن ماده خشک اولیه / (وزن فیلم پس از غوطه‌وری - وزن ماده خشک اولیه) = درصد حلالیت

میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد. فاکتورهایی شامل مقاومت کششی، درصد کرنش در نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) مطابق روش شماره D882-02 مصوب ASTM از روی منحنی‌های نیرو بر حسب تغییر شکل از روابط زیر به دست آمدند (۴۴).

اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها: آزمایش‌های کشش با استفاده از دستگاه تجزیه و تحلیل بافت (TexVol, Swiss) انجام گرفت. قبل از انجام آزمایش‌های کشش تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل گردیدند. فیلم‌ها به شکل مستطیل به ابعاد $2/5 \times 10$ سانتی‌متر مربع بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵ سانتی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰

(۴) عرض فیلم × ضخامت فیلم / (حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن) = مقاومت کششی

(۵) فاصله بین دو فک دستگاه / (۱۰۰ × ازدیاد طول در نقطه شکست) = درصد ازدیاد طول

اندازه‌گیری‌ها بر روی پس زمینه استاندارد سفید (L=۹۴/۶۳، a = -۰/۸۸ و b=۰/۶۵) به عنوان مرجع انجام شد. شاخص‌های ΔE ، سفیدی (WI) و زردی (YI) با معادلات زیر با استفاده از میانگین پنج اندازه‌گیری مختلف برای هر فیلم که در آن L^* ، a^* و b^* مقادیر رنگی نمونه فیلم هستند.

اندازه‌گیری رنگ سطحی، انتقال نور و کدورت فیلم‌ها: ابتدا دستگاه توسط کاشی مخصوص کالیبره شد و سپس نمونه‌های فیلم به منظور سنجش رنگ درون دستگاه قرار داده شدند و مقادیر رنگ (L^* (lightness) (روشنایی)، a^* (قرمزی-سبزی) و b^* (زردی-آبی) فیلم‌ها با استفاده از رنگ‌سنج (loviband CAM-System 500) اندازه‌گیری شد.

$$\text{اختلاف رنگ فیلم‌ها} = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (۶)$$

$$100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} = \text{شاخص سفیدی} \quad (۷)$$

$$YI = \frac{142.86 \times b^*}{L^*} \quad (۸)$$

طول موج‌های ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسکن گردید.

هم‌چنین به منظور محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها از رابطه زیر استفاده گردید (۴۵):

$$\text{ضخامت فیلم/میزان جذب در } 600 \text{ نانومتر} = \text{کدورت فیلم} \quad (۹)$$

برداشته و محلول ۰/۹ درصد آب نمک جایگزین آن گردید و به مدت ۵ دقیقه با همان دور سانتریفیوژ گردید. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتری‌ها، دوباره محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه با همان دور سانتریفیوژ شد. سپس جهت تعیین تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین، از روش کدورت‌سنجی به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده شد و تعداد باکتری‌ها به (10^8 cfu/ml) رسانیده شد. میزان جذب به عنوان شاخصی از بار باکتریایی استفاده گردید. بدین منظور، پس از آماده‌سازی سویه‌های باکتری عمل کشت سطحی با استفاده از سوآب استریل به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر کشت

به منظور سنجش میزان شفافیت فیلم‌ها و عبور نور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۹×۴۰ میلی‌متر در درون سلول‌های اسپکتروفتومتری قرار گرفت و به منظور سنجش میزان عبور نور در

اندازه‌گیری خواص ضد میکروبی اسانس‌ها: به منظور تعیین اسانس با خاصیت ضد میکروبی بهتر از روش نفوذ در محیط آگار استفاده گردید. جهت فعال‌سازی سویه‌های باکتریایی، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از استوک هر یک از باکتری‌های اشریشیاکالی، لیستریا مونوسایتوجنز، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط استریل به لوله‌های فالكون حاوی ۱۰ سی‌سی محیط کشت BHI منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور نگهداری شد تا تعداد باکتری‌ها به اندازه کافی افزایش یابد. سپس محیط کشت حاوی باکتری به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و مایع رویی

بحث

خواص ضد میکروبی اسانس‌ها: نتایج بررسی خواص ضد میکروبی اسانس‌های مختلف (رازیانه، درمنه، هل، شوید، زنجبیل و ژرانیوم) باکتری‌های (لیستریا مونوسایتوجنز، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و اشیریشیاکلای) به دو روش چاهک (جدول ۱) و دیسک دیفیوژن (جدول ۲) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد اسانس‌های مورد مطالعه خواص ضدباکتریایی داشتند. در هر دو روش بیشترین اثر بر روی باکتری‌ها توسط اسانس ژرانیوم مشاهده شد. بیشترین متوسط قطر هاله عدم رشد اسانس ژرانیوم در روش چاهک و دیسک دیفیوژن در برابر باکتری لیستریا مونوسایتوجنز بوده که به ترتیب ۳۳/۶ و ۲۲/۲ میلی‌متر بوده و کمترین قطر هاله عدم رشد در روش چاهک و دیسک دیفیوژن مربوط به باکتری اشیریشیاکلای و به ترتیب ۲۰/۱ و ۱۷/۵ میلی‌متر بوده است. پس از ژرانیوم اسانس درمنه و زنجبیل نیز قطر هاله عدم رشد زیادی داشتند. مهم‌ترین هدف استفاده از اسانس‌ها در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر، بهبود اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها، بهبود خصوصیات نفوذپذیری فیلم‌های هیدروفیل و کاهش در میزان از دست رفتن ترکیبات فرار به خصوص در مورد اسانس‌ها در طول زمان نگهداری می‌باشد، بنابراین در این صورت ترکیب موردنظر در یک غلظت بالا و برای مدت طولانی در سطح فرآورده باقی خواهد ماند.

مایع حاوی ۱۰^۶ از باکتری‌های (اشیریشیاکلای، لیستریا مونوسایتوجنز، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار انجام گرفت. سپس پلیت‌ها به دو دسته تقسیم شدند. جهت انجام تست چاهک، با استفاده از سرسمپلرهای استریل یک سی‌سی، چاهک‌هایی با قطر ۰/۶ سانتی‌متر ایجاد و به میزان ۵۰ میکرولیتر از اسانس موردنظر به درون چاهک‌ها اضافه گردید. دیسک‌هایی به قطر ۰/۶ سانتی‌متر که به انواع اسانس (رازیانه، زنجبیل، هل، شوید، ژرانیوم و درمنه) آغشته شدند نیز بر روی پلیت‌های دیگر قرار داده شد (۴۶). سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده از قطر دیسک‌ها به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی اسانس در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. جهت بررسی اختلاف معنی‌دار بین داده‌های حاصل از فیلم‌های تهیه شده، از تجزیه واریانس یک‌طرفه (way-One ANOVA) استفاده شد. همچنین جهت تعیین وجود تفاوت معنی‌دار بین مقادیر میانگین تیمارهای مختلف از آزمون تفاوت حداقل معنی‌دار (LSD) در سطح ($P \leq 0/05$) استفاده شد. تمام آزمایش‌ها با حداقل ۳ تکرار انجام گرفت.

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها به وسیله اسانس‌های مختلف به میلی‌متر در آزمایش چاهک.

Table 1. Diameter of bacterial growth inhibition zones (in mm) by different essential oils in the well diffusion assay.

نوع اسانس	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	لیستریا مونوسیتوژنز	اشیریشیاکلای
رازیانه	۱۹/۰±۹/۱	۱۸/۰±۱/۴	۱۸/۰±۳/۲	۱۵/۰±۵/۳
هل	۲۲/۰±۷/۶	۲۲/۰±۶/۵۳	۲۴/۰±۰/۱۶	۱۶/۰±۱/۵
شوید	۱۸/۰±۲/۸	۱۹/۰±۲/۱۳	۱۸/۰±۴/۳	۱۳/۰±۵/۷
زنجبیل	۲۴/۰±۷/۷	۲۲/۰±۶/۸	۱۹/۰±۴/۳	۱۶/۰±۸/۷
ژرانیوم	۲۶/۰±۳/۱۱	۳۱/۰±۸/۸	۳۳/۰±۶/۱۳	۲۲/۰±۷/۷
درمنه	۲۴/۰±۵/۱۹	۲۱/۰±۸/۵	۲۵/۰±۷/۸	۲۰/۰±۱۰/۷

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها به وسیله اسانس‌های مختلف به میلی‌متر در آزمایش دیسک.

Table 2. Diameter of bacterial growth inhibition zones (in mm) by different essential oils in the disk diffusion assay.

نوع اسانس	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	لیستریا مونوسیژنوز	اشریشیاکالی
رازیانه	۱۳/۰±۵/۱۶	۱۳/۰±۱/۴	۱۲/۰±۳/۳	۷/۰±۹/۶
هل	۱۳/۰±۹/۷	۱۴/۰±۴/۶	۱۳/۰±۹/۱۱	۱۰/۰±۲/۸
شوید	۱۲/۰±۳/۲	۱۳/۰±۹/۹	۱۱/۰±۹/۶	۷/۰±۶/۱۲
زنجبیل	۱۴/۰±۱/۶	۱۳/۰±۶/۳	۱۳/۰±۶/۱	۱۳/۰±۰/۳
ژرانیوم	۱۸/۰±۴/۷	۲۰/۰±۷/۱۴	۲۲/۰±۲/۱	۱۷/۰±۵/۴
درمنه	۱۸/۰±۳/۱۱	۱۶/۰±۱/۱۴	۲۰/۰±۱/۴	۱۵/۰±۵/۸

نشان داد. کم‌ترین میزان درصد حلالیت مربوط به نانوکامپوزیت فاقد اسانس به میزان ۳۲/۴۱ درصد بود و مقدار حلالیت در نانوکامپوزیت حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم ۴۲/۴۵ و ۴۵/۶۸ درصد بوده است. نتایج با مشاهدات حاصل از پژوهش پیرامون فیلم کیتوزان- نشاسته با اسانس میخک و دارچین (۳۶) همخوانی نداشت که می‌تواند به دلیل غلظت بالای اسانس به‌کار گرفته در نانوکامپوزیت‌ها باشد. غلظت بالای اسانس می‌تواند منجر به افزایش میزان آبدوستی ماتریس بیوپلیمرها گردد که در این حالت، نفوذ آب در ساختار فیلم‌های تولیدی افزایش می‌یابد و در نهایت منجر به افزایش میزان حلالیت فیلم‌ها خواهد شد.

نفوذپذیری به بخار آب: نتایج مربوط به نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها در جدول ۳ نشان می‌دهد که نفوذپذیری به بخار آب با افزودن اسانس‌ها تغییر معنی‌دار ($P \leq 0.05$) داشته است. نفوذپذیری به بخار آب به‌طور معنی‌داری از $0.23 \times 10^{-1} \times \text{پاسکال}^{-1} \times \text{متر}^{-1} \times \text{ثانیه}^{-1}$ تا 0.38 و $0.4 \times 10^{-1} \times \text{پاسکال}^{-1} \times \text{متر}^{-1} \times \text{ثانیه}^{-1}$ (گرم) به ترتیب در نانوکامپوزیت حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم افزایش یافت. این افزایش در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب به دلیل تخریب ساختار فیلم و ایجاد ترک و منفذ در فیلم‌ها است. از آنجایی که اسانس‌ها در دمای اتاق معمولاً به صورت

بر اساس آزمون‌های مقدماتی (تست دیسک و چاهک) انجام شده بر روی خواص ضدباکتریایی اسانس‌های (ژرانیوم، درمنه، هل، شوید، زنجبیل و رازیانه) بر باکتری‌های (استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیاکالی و لیستریا مونوسیژنوز)، اسانس ژرانیوم به‌عنوان بهترین اسانس از نظر میزان قطر هاله ایجاد شده در برابر باکتری‌های موردنظر انتخاب شد و از اسانس ژرانیوم جهت تولید فیلم استفاده گردید. مقادیر ۱، ۱/۵ و ۲ درصد از اسانس ژرانیوم به فیلم‌ها افزوده شد و مشاهده شد که افزودن ۲ درصد ژرانیوم منجر به تخریب فیلم‌ها گردید. در نتیجه فیلم‌های حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم جهت انجام آنالیز فیزیکی، مکانیکی و ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج حاصل از آزمون‌های انجام شده به شرح زیر گزارش شد.

درصد رطوبت و حلالیت: مقادیر درصد رطوبت و حلالیت نانوکامپوزیت فاقد اسانس و نانوکامپوزیت حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود افزودن اسانس منجر به افزایش میزان درصد رطوبت از ۲۰/۹۳ در فیلم نانوکامپوزیت فاقد اسانس به ترتیب به ۲۴/۶۱، ۲۴/۱۱ در نانوکامپوزیت حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم گردید.

هم‌چنین حلالیت نانوکامپوزیت‌ها با افزودن مقادیر مختلف اسانس ژرانیوم افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$)

مایع هستند با حضور در ساختار فیلم به راحتی می‌توانند تغییر شکل داده و باعث انعطاف‌پذیری و تحرک زنجیره‌های مولکولی شوند (۴۷) در نتیجه تحرک بیش‌تر، انتقال مولکول‌های آب از طریق فیلم آسان‌تر می‌شود (۴۸).

جدول ۳- خواص فیزیکی فیلم نانوسلولز ۳ درصد و نانوکامپوزیت حاوی درصد‌های مختلف اسانس ژرانیوم.

Table 3. Physical properties of 3% nanocellulose film and nanocomposites containing different percentages of geranium essential oil.

نوع فیلم	رطوبت (درصد)	حلالیت (درصد)	نفوذپذیری به بخار آب
ف - س ۳ درصد	۲۰/۱±۹۳/۰۳۹ ^a	۳۲/۳±۴۱/۳۳ ^a	۰/۰±۲۳/۱۴ ^a
ف* - س ۳ درصد - ژ ۱ درصد	۲۴/۲±۶۱/۰۳۵ ^a	۴۲/۰±۴۵/۲۵ ^b	۰/۰±۳۸/۱۱ ^b
ف - س ۳ درصد - ژ ۱/۵ درصد	۲۴/۲±۱۱/۰۱ ^a	۴۵/۰±۶۸/۵۸ ^b	۰/۰±۴/۱ ^b

a, b و c حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح (P≤۰/۰۵)

* فیلم پروتئینی - نانوسلولز باکتریایی ** فیلم پروتئینی - نانوسلولز باکتریایی - اسانس ژرانیوم

می‌گردد. که با نتایج پژوهش‌ها پیرامون افزودن اسانس درمنه به فیلم کیتوزان-نشاسته بذر کوویکس و نانو اکسید روی (۳۵) همخوانی داشت. به‌طورکلی این پدیده را می‌توان این‌گونه تشریح کرد که پیوند میان مولکول‌های قطبی، بسیار قوی‌تر از پیوند بین مولکول‌های غیرقطبی اسانس و یا پیوند بین مولکول‌های قطبی پلیمر با مولکول‌های غیرقطبی اسانس می‌باشد که منجر به کاهش یکنواختی ساختاری در فیلم‌ها می‌گردد. به‌طور عمومی اضافه نمودن مواد افزودنی به جز مواد اتصال‌دهنده عرضی، باعث کاهش شاخص مقاومت کشش می‌شوند.

درصد ازدیاد طول نانوکامپوزیت‌ها با افزودن اسانس به‌طور قابل‌توجهی (P≤۰/۰۵) کاهش یافت. مقادیر افزایش طول با افزودن ۱ درصد اسانس تا میزان ۵۱/۱ درصد و همچنین افزودن ۱/۵ درصد اسانس منجر به کاهش تا ۳۹/۵ درصد ازدیاد طول نانوکامپوزیت‌ها گردید. بیش‌ترین افزایش طول مربوط به نانوکامپوزیت فاقد اسانس ۹۱/۵۶ درصد بود که با نتایج مطالعات پیرامون افزودن اسانس مرزه به فیلم کیتوزان (۳۳) همخوانی داشت.

ضخامت: همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود ضخامت نانوکامپوزیت‌ها با افزودن ۱/۵ درصد اسانس افزایش معنی‌داری (P≤۰/۰۵) یافت. ضخامت نانوکامپوزیت فاقد اسانس ۰/۲۲ میلی‌متر بود در حالی‌که ضخامت نانوکامپوزیت حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم به ترتیب (۰/۳۸ و ۰/۲۴) میلی‌متر بوده است. نتایج به‌دست آمده با نتایج حاصل از پژوهش پیرامون تأثیر افزودن اسانس دارچین و زنجبیل به فیلم کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز (۳۷) همخوانی داشت.

مقاومت کشش و ازدیاد طول در نقطه شکست: نتایج مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول در نقطه شکست فیلم‌های تولیدی در جدول ۴ نشان داده شده است. مقاومت کششی نانوکامپوزیت‌ها با افزودن اسانس کاهش معنی‌دار (P≤۰/۰۵) داشت. به‌طوری‌که بیش‌ترین مقاومت کشش مربوط به نانوکامپوزیت فاقد اسانس با ۷/۳۵ مگاپاسکال و کم‌ترین میزان مربوط به نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم با ۳/۶۵ مگاپاسکال بوده است. افزودن اسانس بیش از حد به پلیمر غالباً منجر به ایجاد ساختار ناهمگن در فیلم از جمله ناپیوستگی و یا بی‌نظمی در ساختار فیلم

جدول ۴- ویژگی مکانیکی فیلم نانوسلولز ۳ درصد و نانوکامپوزیت حاوی درصدهای مختلف اسانس ژرانیوم.

Table 4. Mechanical properties of 3% nanocellulose film and nanocomposites containing different percentages of geranium essential oil.

نوع فیلم	ضخامت (میلی‌متر)	مقاومت کششی (مگاپاسکال)	افزایش طول (درصد)
*ف - س ۳ درصد	۰/۰±۲۲/۰۹۵ ^a	۷/۰±۳۵/۱۹ ^a	۹۱/۲±۵۶/۰۵ ^a
**ف - س ۳ درصد - ژ ۱ درصد	۰/۰±۲۴/۰۱۵ ^a	۴/۰±۳۸/۳۲ ^b	۵۱/۳±۰۹۵/۷۷ ^b
ف - س ۳ درصد - ژ ۱/۵ درصد	۰/۰±۳۸/۰۱۵ ^b	۳/۰±۶۵/۷۷ ^c	۳۹/۵±۵/۲۵ ^c

a, b و c حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح (P≤۰/۰۵)

* فیلم پروتئینی - نانوسلولز باکتریایی ** فیلم پروتئینی - نانوسلولز باکتریایی - اسانس ژرانیوم

اسانس ژرانیوم و ۱۴/۷ در نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم تغییر نمود که با مطالعه پیرامون افزودن اسانس مرزه به فیلم آگار- سلولز (۳۹) همخوانی داشت. شاخص سفیدی نیز با افزودن اسانس به نانوکامپوزیت‌ها کاهش یافت به طوری که شاخص سفیدی در نانوکامپوزیت فاقد اسانس ۹۰/۱۹ و در حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم به ترتیب ۸۷/۴۴ و ۸۰/۸۲ بوده است. افزودن اسانس منجر به افزایش معنی‌دار در زردی فیلم‌ها از ۵/۵ در فاقد اسانس به ۵/۶۸ و ۱۲/۹۹ به ترتیب در نانوکامپوزیت حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم شد.

رنگ سطحی: مقادیر L^* ، a^* و b^* هائتر و اختلاف رنگی کل (ΔE) فیلم‌ها در جدول ۵ مشاهده می‌شود. افزودن اسانس منجر به تغییر معنی‌دار ($P \leq 0/05$) در L^* ، a^* و b^* نانوکامپوزیت‌های حاوی اسانس ژرانیوم گردید. روشنایی فیلم‌ها با افزودن اسانس کاهش یافت. به طوری که با افزودن ۱/۵ درصد اسانس مقدار a^* به شکل معنی‌دار ($P \leq 0/05$) افزایش و مقادیر b^* کاهش نشان داد. افزودن ۱ درصد اسانس تغییر قابل توجهی در میزان a^* و b^* فیلم‌ها ایجاد نکرد. میزان اختلاف رنگی کل فیلم‌ها از ۵/۷ در فیلم نانوکامپوزیت فاقد اسانس تا ۷/۸۶ در نانوکامپوزیت حاوی ۱ درصد

جدول ۵- ویژگی‌های رنگ سطحی نانوکامپوزیت فاقد اسانس و نانوکامپوزیت‌های حاوی درصدهای مختلف اسانس ژرانیوم.

Table 5. Surface color properties of nanocomposites without essential oil and nanocomposites containing different percentages of geranium essential oil.

نوع فیلم	L^*	a^*	b^*	ΔE	WI	YI
*ف - س ۳ درصد	۹۱/۰±۲۴/۰۶ ^a	۲/۰±۷۰۳/۰۳۱ ^a	۳/۰±۵۱/۰۱۵ ^a	۵/۰±۷/۰۱۸ ^a	۹۰/۰±۱۹/۰۴۳ ^a	۵/۰±۵/۰۲ ^a
**ف - س ۳ درصد - ژ ۱ درصد	۸۸/۰±۲۵/۰۳ ^b	۲/۰±۷/۰۴۶ ^a	۳/۰±۵۰۷/۰۴۵ ^a	۷/۰±۸۶/۰۴۵ ^b	۸۷/۰±۴۴/۰۳۷ ^b	۵/۰±۶۸/۰۷۳ ^b
ف - س ۳ درصد - ژ ۱/۵ درصد	۸۳/۰±۱۵/۰۴ ^c	۵/۰±۱۸/۰۳۲ ^b	۲/۰±۷۳/۰۴۶ ^b	۱۴/۰±۷/۰۴۸ ^c	۸۰/۰±۸۲/۰۴۵ ^c	۱۲/۰±۹۹/۰۷۹ ^c

a, b و c حروف کوچک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح (P≤۰/۰۵)

* فیلم پروتئینی - نانوسلولز باکتریایی ** فیلم پروتئینی - نانوسلولز باکتریایی - اسانس ژرانیوم

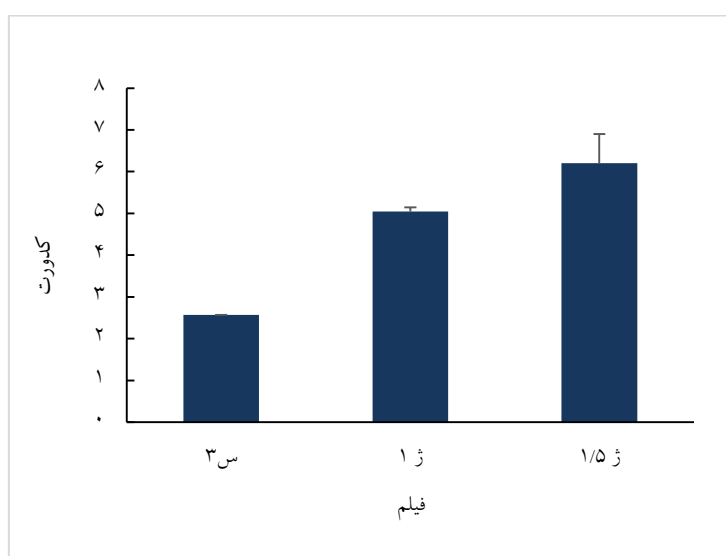
و در فیلم‌های حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم به ترتیب (۵/۰۴ و ۶/۲) بود که با نتایج پژوهش (۳۶) افزودن اسانس دارچین و میخک به فیلم کیتوزان- نشاسته همخوانی داشت. اختلاط فاز کوچک‌تر و

کدورت و نفوذپذیری نسبت به نور: میزان کدورت فیلم‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. افزودن اسانس به طور معنی‌دار ($P \leq 0/05$) سبب افزایش کدورت شد. میزان کدورت در فیلم فاقد اسانس ۲/۵۷

نور در طول موج‌های مختلف، به‌خصوص در ناحیه فرابنفش و طول موج‌های کم‌تر از ۳۵۰ نانومتر گردید. بیش‌ترین کاهش در میزان نفوذپذیری در فیلم حاوی ۱/۵ درصد اسانس مشاهده شد که با نتایج حاصل از پژوهش پیرامون افزودن اسانس دارچین به فیلم کیتوزان- پلی وینیل الکل (۳۴) و مطالعه پیرامون افزودن اسانس مرزه به فیلم آگار- سلولز (۳۹) همخوانی داشت.

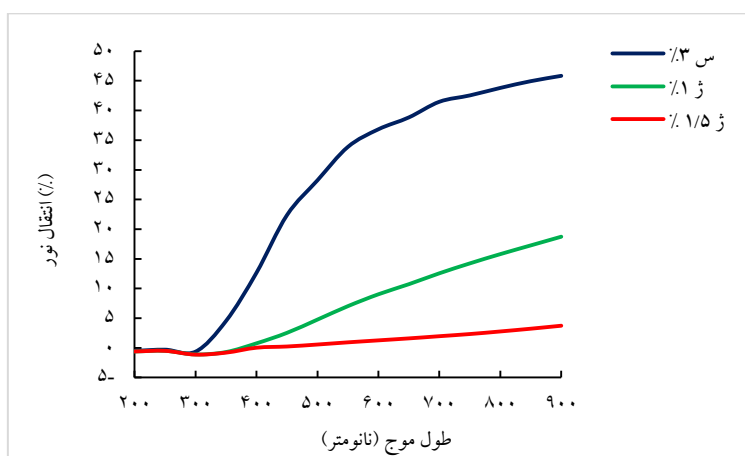
وابسته (اسانس) در فاز پیوسته، باعث کم شدن میزان شفافیت و افزایش میزان ماتی فیلم‌ها می‌شود که این پدیده مربوط به توزیع نور توسط قطرات چربی موجود در اسانس از میان شبکه فاز پیوسته فیلم می‌باشد (۴۹).

مقادیر نفوذپذیری فیلم‌های حاوی اسانس نسبت به نور در شکل ۲ نشان داده شده است. افزودن اسانس موجب کاهش نفوذپذیری نانوکامپوزیت‌ها به



شکل ۱- مقادیر کدورت. س ۳: نانوکامپوزیت حاوی ۳ درصد نانو سلولز، ژ ۱ درصد: نانوکامپوزیت حاوی ۱ درصد اسانس ژرانیوم، ژ ۱/۵ درصد: نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم.

Figure 1. Turbidity values.



شکل ۲- درصد انتقال نور. س ۳: فیلم حاوی ۳ درصد نانو سلولز، ژ ۱ درصد: نانوکامپوزیت حاوی ۱ درصد اسانس ژرانیوم، ژ ۱/۵ درصد: نانوکامپوزیت حاوی ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم.

Figure 2. Percentage of light transmission.

نتیجه‌گیری کلی

باکتری‌ها در دو تست دیسک و چاهک مربوط به استفاده از اسانس ژرانیوم بوده و بیش‌ترین تأثیر افزودن اسانس به نانوکامپوزیت مربوط به فیلم حاوی ۱/۵ درصد اسانس ژرانیوم بوده که سبب بهبود خواص مکانیکی و بیش‌ترین کاهش در میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها و کم‌ترین میزان رطوبت و حلالیت در فیلم‌ها در مقایسه با سایر نانوکامپوزیت‌ها بوده است. همچنین پیشنهاد می‌شود جهت بهبود خاصیت ضدباکتریایی فیلم‌ها، تأثیر دو یا چند اسانس به‌طور هم‌زمان و تأثیر آن بر رشد باکتری‌ها و ویژگی فیلم‌های پروتئین فانوس‌ماهی حاوی نانوسلولز مورد بررسی قرار گیرد.

در پژوهش حاضر خواص ضدباکتریایی اسانس‌های (هل، رازیانه، شوید، زنجبیل، ژرانیوم و درمنه) در برابر باکتری‌های (لیستریا مونوسیتوجنز، اش‌ریشیاکلا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) به‌منظور انتخاب بهترین اسانس از نظر بازدارندگی رشد باکتری‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. سپس اسانس با بیش‌ترین اثر بازدارندگی رشد جهت ایجاد خواص ضد میکروبی فیلم‌های تولیدی در سه سطح (۱، ۱/۵ و ۲ درصد) به محلول نانوکامپوزیت‌ها افزوده و تأثیر آن بر خواص فیزیکی، مکانیکی و ظاهری جهت تعیین بهترین سطح اسانس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، بیش‌ترین اثر بازدارندگی رشد در مقابل

منابع

1. Sun, X., Guo, X., Ji, M., Wu, J., Zhu, W., Wang, J., Cheng, C., Chen, L., & Zhang, Q. (2019). Preservative effects of fish gelatin coating enriched with CUR/ β CD emulsion on grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during storage at 4 C. *Food Chemistry*, 272, 643-652.
2. Laein, S. S., Khanzadi, S., Hashemi, M., Gheybi, F., & Azizzadeh, M. (2022). Peppermint essential oil-loaded solid lipid nanoparticle in gelatin coating: Characterization and antibacterial activity against foodborne pathogen inoculated on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during refrigerated storage. *Journal of food science*, 87 (7), 2920-2931.
3. Cao, L., Si, J. Y., Liu, Y., Sun, H., Jin, W., Li, Z., Zhao, X. H., & Le Pan, R. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. *Food Chemistry*, 115 (3), 801-805.
4. Tajkarimi, M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21 (9), 1199-1218.
5. Bhowmik, S., Agyei, D., & Ali, A. (2022). Bioactive chitosan and essential oils in sustainable active food packaging: Recent trends, mechanisms, and applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100962.
6. Wang, J., Euring, M., Ostendorf, K., & Zhang, K. (2022). Biobased materials for food packaging. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 7 (1), 1-13.
7. Ferreira, A. R., Alves, V. D., & Coelho, I. M. (2016). Polysaccharide-based membranes in food packaging applications. *Membranes*, 6 (2), 22.
8. Atarés, L., & Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 51-62.
9. Shetta, A., Kegere, J., & Mamdouh, W. (2019). Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *International journal of biological macromolecules*, 126, 731-742.
10. Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the

- antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 134, 103580.
11. Sharma, S., Barkauskaite, S., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2021). Essential oils as additives in active food packaging. *Food Chemistry*, 343, 128403.
 12. Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2019). The inhibitory effect of plant essential oils on foodborne pathogenic bacteria in food. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59 (20), 3281-3292.
 13. Noori, S., Zeynali, F., & Almasi, H. (2018). Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control*, 84, 312-320.
 14. Hu, J., Zhang, Y., Xiao, Z., & Wang, X. (2018). Preparation and properties of cinnamon-thyme-ginger composite essential oil nanocapsules. *Industrial Crops and Products*, 122, 85-92.
 15. Boukhatem, M. N., Kameli, A., Ferhat, M. A., Saidi, F., & Mekarnia, M. (2013). Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. *Libyan Journal of Medicine*, 8 (1).
 16. Boukhris, M., Bouaziz, M., Feki, I., Jemai, H., El Feki, A., & Sayadi, S. (2012). Hypoglycemic and antioxidant effects of leaf essential oil of *Pelargonium graveolens* L'Hér. in alloxan induced diabetic rats. *Lipids in health and disease*, 11, 1-10.
 17. Burits, M., Asres, K., & Bucar, F. (2001). The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytotherapy Research*, 15 (2), 103-108.
 18. Singh, G., Maurya, S., De Lampasona, M., & Catalan, C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food Control*, 17 (9), 745-752.
 19. Ruberto, G., Baratta, M. T., Deans, S. G., & Dorman, H. D. (2000). Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta medica*, 66 (08), 687-693.
 20. Soyulu, S., Yigitbas, H., Soyulu, E., & Kurt, Ş. (2007). Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of applied microbiology*, 103 (4), 1021-1030.
 21. Lo Cantore, P., Iacobellis, N. S., De Marco, A., Capasso, F., & Senatore, F. (2004). Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare* (Miller) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52 (26), 7862-7866.
 22. Ozliman, S., Yaldiz, G., Camlica, M., & Ozsoy, N. (2021). Chemical components of essential oils and biological activities of the aqueous extract of *Anethum graveolens* L. grown under inorganic and organic conditions. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8 (1), 1-16.
 23. Chahal, K., Monika, K. D., & Singh, R. (2016). Antifungal potential of dill seed essential oil and its constituents. *Indian Journal of Ecology*, 43 (2), 903-906.
 24. Latifa, E., Dalila, B., Mounyr, B., Wessal, O., & Amal, E. (2016). Antioxidant activity of aqueous seed extract of *Anethum graveolens* L. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*, 7 (3), 1219-1223.
 25. Kaur, N., Chahal, K. K., Kumar, A., Singh, R., & Bhardwaj, U. (2019). Antioxidant activity of *Anethum graveolens* L. essential oil constituents and their chemical analogues. *Journal of food biochemistry*, 43 (4), e12782.
 26. Rasool, N., Saeed, Z., Pervaiz, M., Ali, F., Younas, U., Bashir, R., Bukhari, S. M., Jelani, S., & Sikandar, R. (2022). Evaluation of essential oil extracted from ginger, cinnamon and lemon for therapeutic and biological activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 102470.

27. Rahimi Babasheikhali, S., Rahgozar, S., & Mohammadi, M. (2019). Ginger extract has anti-leukemia and anti-drug resistant effects on malignant cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 145, 1987-1998.
28. Mesomo, M. C., Corazza, M. L., Ndiaye, P. M., Dalla Santa, O. R., Cardozo, L., & de Paula Scheer, A. (2013). Supercritical CO₂ extracts and essential oil of ginger (*Zingiber officinale* R.): Chemical composition and antibacterial activity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 80, 44-49.
29. Simon-Brown, K., Solval, K. M., Chotiko, A., Alfaro, L., Reyes, V., Liu, C., Dzandu, B., Kyereh, E., Barnaby, A. G., & Thompson, I. (2016). Microencapsulation of ginger (*Zingiber officinale*) extract by spray drying technology. *LWT*, 70, 119-125.
30. Rakmai, J., Cheirsilp, B., Mejuto, J. C., Torrado-Agrasar, A., & Simal-Gándara, J. (2017). Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Food Hydrocolloids*, 65, 157-164.
31. Noumi, E., Snoussi, M., Alreshidi, M. M., Rekha, P. D., Saptami, K., Caputo, L., De Martino, L., Souza, L. F., Msaada, K., & Mancini, E. (2018). Chemical and biological evaluation of essential oils from cardamom species. *Molecules*, 23 (11), 2818.
32. Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M., & Warkentin, T. D. (2020). Botany, traditional uses, phytochemistry and biological activities of cardamom [*Elettaria cardamomum* (L.) Maton]—A critical review. *Journal of ethnopharmacology*, 246, 112244.
33. Atlar, G. C., Kutlu, G., & Tornuk, F. (2024). Design and characterization of chitosan-based films incorporated with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for active packaging. *International journal of biological macromolecules*, 254, 127732.
34. Pan, Q., Zhou, C., Yang, Z., Wang, C., He, Z., Liu, Y., Song, S., Chen, Y., Xie, M., & Li, P. (2023). Preparation and characterization of functionalized chitosan/polyvinyl alcohol composite films incorporated with cinnamon essential oil as an active packaging material. *International journal of biological macromolecules*, 235, 123914.
35. Zheng, K., Zhang, J., Yang, F., Wang, W., Li, W., & Qin, C. (2022). Properties and biological activity of chitosan-coix seed starch films incorporated with nano zinc oxide and *Artemisia annua* essential oil for pork preservation. *LWT*, 164, 113665.
36. Choo, K. W., Lin, M., & Mustapha, A. (2021). Chitosan/acetylated starch composite films incorporated with essential oils: Physicochemical and antimicrobial properties. *Food Bioscience*, 43, 101287.
37. Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Gardrat, C., Rezaei, M. R., Hashemi, M., Le Coz, C., & Coma, V. (2017). Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. *Food Hydrocolloids*, 70, 36-45.
38. Alexandre, E. M. C., Lourenço, R. V., Bittante, A. M. Q. B., Moraes, I. C. F., & do Amaral Sobral, P. J. (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.
39. Atef, M., Rezaei, M., & Behrooz, R. (2015). Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. *Food Hydrocolloids*, 45, 150-157.
40. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122 (1), 161-166.
41. ASTM. (1995). Annual Book of American Standard Testing Methods. pp. 719-725.

42. Tunc, S., Angellier, H., Cahyana, Y., Chalier, P., Gontard, N., & Gastaldi, E. (2007). Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. *Journal of Membrane Science*, 289 (1), 159-168.
43. De Moraes Crizel, T., de Oliveira Rios, A., Alves, V. D., Bandarra, N., Moldão-Martins, M., & Flôres, S. H. (2018). Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. *Food Hydrocolloids*, 74, 139-150.
44. ASTM. (1996). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-91. Annual book of ASTM, American Society for Testing and Material. Philadelphia.
45. Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 111 (2), 343-350.
46. Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., Gómez-Guillén, M., López-Caballero, M., & Montero, P. (2009). Antimicrobial activity of composite edible films based on fish gelatin and chitosan incorporated with clove essential oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18 (1-2), 46-52.
47. Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2008). Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85 (3), 393-400.
48. Rodríguez, A., Carriles, N., Cruz, J. M., & Aubourg, S. P. (2008). Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5 C). *LWT-Food Science and Technology*, 41 (9), 1726-1732.
49. Ghasemlou, M., Aliheidari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M. J., & Khaksar, R. (2013). Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate polymers*, 98 (1): 1117-1126.