فصلنامه علمی ـ پژوهشی
دورهٔ ۵، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۵، صفحه ۱۲۳- ۱۳۵

ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم ژلاتین ماهی- آلژینات حاوی روغن ضروری مرزنجوش (*Origanum vulgare L.*)

سیده مرضیه کاظمی[1]، مسعود رضائی[2*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور

۲- استاد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور

دریافت: ۹۳/۱۱/۰۶ پذیرش: ۹۴/۰۹/۱۸

*نویسنده مسئول مقاله: rezai_ma@modares.ac.ir

چکیده:

خواص فیزیکی -مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی ژلاتین ماهی-آلژینات حاوی روغن ضروری مرزنجوش (*Origanum vulgare L.*) با تهیه فیلم‌هایی با ترکیب ۷۵٪ محلول ژلاتین ماهی و ۲۵٪ محلول آلژینات‌سدیم و افزودن غلظت‌های مختلف روغن مرزنجوش (۰/۵، ۱ و ۱/۵٪) بررسی شد. افزودن ۰/۵٪ روغن مرزنجوش، مقاومت کششی فیلم‌ها را ۲/۵٤MPa نسبت به تیمار شاهد بهبود بخشید. افزودن ۱/۵٪ روغن، مقاومت کششی و درصدازدیاد طول را به‌ترتیب ۳/۱٦MPa و ۱۵/۵۹٪ کاهش داد،و میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب، کدورت و ویسکوزیته فیلم‌ها نسبت به تیمار شاهد نیز کاهش معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) یافت. تصاویر سطحی میکروسکوپ الکترونی موید نتایج بدست آمده در این پژوهش بودند. اگرچه نتایج بیانگر بیشترین خاصیت ضدمیکروبی در فیلم حاوی ۱/۵٪ روغن مرزنجوش بود، اما فیلم ژلاتین ماهی-آلژینات حاوی غلظت‌های پایین روغن می‌تواند برای نگه‌داری مواد غذایی مناسب‌تر باشد.

کلید واژگان: روغن ضروری مرزنجوش، ویژگی‌های فیزیکی- مکانیکی، فعالیت ضدمیکروبی، فیلم ژلاتین ماهی- آلژینات

مقدمه

مشکلات زیست‌محیطی مواد مورد استفاده در صنعت بسته‌بندی به ویژه پلاستیک‌های سنتزی سبب شده تا فیلم‌های جدید زیست تخریب‌پذیر تهیه شده از منابع تجدیدپذیر به‌عنوان یک عامل مهم در کاهش اثرهای زیست‌محیطی زباله‌های پلاستیکی مورد توجه قرار گیرند

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

(Gómez-Guillén et al., 2009). ضمن اینکه این فیلم‌ها می‌توانند در ترکیب با مواد زیست‌فعال مانند عوامل ضدمیکروبی و ضداکسیداسیونی به افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی منجر شوند (Mehdizade et al., 2011).

از میان زیست‌بسپارها، ژلاتین یکی از بهترین موادی است که تاکنون برای تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به‌کار رفته است. ژلاتین زیست‌بسپاری از کلاژن مشتق شده است و با تشکیل فیلم‌ها و پوشش‌هایی با ویژگی ممانعتی مناسب در برابر گازها در رطوبت نسبی پایین، می‌تواند به‌عنوان مادهٔ بسته‌بندی زیستی به‌خوبی عمل کند (Baldwin and Hagenmaier, Pereda et al., 2011; 2012). از طرفی افزایش علاقه‌مندی در زمینهٔ جایگزینی فراورده‌های جنبی صنعت شیلات (Gómez-Guillén et al., 2009) و اعتقادات اجتماعی- فرهنگی و نگرانی در خصوص بیماری جنون گاوی باعث شده تا استفاده از ژلاتین ماهی افزایش یابد (Gómez-Chiou et al., 2008; Guillén et al., 2009).

یکی از دلایل محدودیت استفاده از ژلاتین ماهی به‌عنوان فیلم خوراکی خواص مکانیکی ضعیف آن است (Otoni et al.,2012; Bae et al., 2009) و از آنجایی که معمولاً فیلم‌های پلی‌ساکاریدی مانند سدیم آلژینات مقاومت کششی بهتری در مقایسه با فیلم‌های پروتئینی دارند (Wang et al., 2007) ترکیب نسبت‌های مختلف پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها می‌تواند به تولید فیلم‌هایی با ویژگی‌های مطلوب برای برآوردن نیازهای مصرف‌کنندگان منجر شود (Wang et al., 2010). از این‌رو برای داشتن فیلمی با خواص مطلوب‌تر می‌توان ژلاتین ماهی را با پلی‌ساکاریدی مانند آلژینات ترکیب کرد.

مقبولیت کاهش استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی در افزایش ماندگاری مواد غذایی و جستجوی مواد جایگزین از سوی صنعت و مصرف‌کنندگان (Oussalah et al., 2006) و همچنین عوارض جانبی احتمالی و تغییراتی که این ترکیبات می‌توانند در عطر و طعم مواد غذایی ایجاد کنند (Kuorwel et al., 2011)، باعث افزایش علاقه‌مندی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مانند روغن‌های ضروری در بسته‌بندی شده است. ترکیب عوامل ضدمیکروبی با فیلم‌ها باعث می‌شود که این عوامل به آرامی به سطح مادهٔ غذایی آزاد شده و اثر آنها برای مدت زمان طولانی‌تری باقی بماند (Benavides et al., 2012). از جمله روغن‌های ضروری مورد استفاده در صنایع غذایی مرزنجوش است که از دیرباز به‌عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی به‌کار می‌رود (Zivanovic et al., 2005) و به‌دلیل وجود ترکیبات فنلی همچون کارواکرول و تیمول دارای خاصیت ضدمیکروبی است (Castilho et al., 2012; Ahmad et al., 2012b).

محققان آثار افزودن دی‌هیدرواستات سدیم و عصارهٔ رزماری بر روی فیلم کامپوزیت نشاسته- آلژینات سدیم (Yan et al., 2013)، عصارهٔ هستهٔ گریپ‌فروت بر روی فیلم کامپوزیت ژلاتین-پروتئین سبوس جو (Song et al., 2012)، روغن ضروری مرزنجوش بر فیلم کامپوزیت نشاسته-کیتوزان (Pelissari et al., 2009)، روغن ضروری علف لیمو بر روی فیلم کامپوزیت نشاستهٔ ساگو-آلژینات سدیم (Maizura et al., 2007) را بررسی کرده‌اند.

از آنجایی که مطالعات کمی پیرامون اثرهای افزودن روغن ضروری بر روی فیلم کامپوزیت پروتئینی- پلی‌ساکاریدی انجام شده است، بنابراین هدف از انجام این مطالعه تهیهٔ فیلم کامپوزیت ژلاتین ماهی-آلژینات سدیم غنی شده با روغن ضروری مرزنجوش و بررسی برخی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، میکروبی و نمای سطحی فیلم‌های حاصل است.

مواد و روش‌ها

شیوه اجرای پژوهش: ابتدا محلول فیلم ژلاتین ماهی به‌وسیلهٔ حل کردن ژلاتین پوست ماهیان سردابی (Sigma Alderich) به میزان ۳ درصد وزنی- حجمی در آب مقطر به مدت نیم ساعت در دمای اتاق و پس از آن در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه به‌وسیلهٔ هم‌زدن مکانیکی تهیه شد (Ahmad et al., 2012b) و محلول فیلم آلژینات سدیم (Science Limited Partnership High، تایلند) نیز با حل کردن ۱/۵ درصد وزنی- حجمی پودر آلژینات سدیم در آب مقطر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه (Benavides et al., 2012) تهیه گردید. در ادامه محلول‌های فیلم تهیه‌شده به نسبت‌های حجمی ۲۵:۷۵ (ژلاتین ماهی : سدیم آلژینات) ترکیب و به‌عنوان نرم‌کننده گلیسرول (Merck، آلمان) به‌نسبت ۰/۲۵ گرم به‌ازای ۱ گرم پلیمر به محلول‌ها اضافه شد. در مرحلهٔ بعد روغن ضروری مرزنجوش (شرکت Newdirection، انگلستان) با نسبت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد حجمی- حجمی به همراه توین ۸۰ (Merck، آلمان) به‌عنوان امولسیفایر(۰/۲۵ درصد حجمی- حجمی به‌ازای روغن ضروری) به محلول فیلم اضافه گردید و به‌مدت ۲ دقیقه با سرعت rpm ۱۳۵۰۰ همگن شدند. در ادامه محلول‌های فیلم داخل پلیت‌ها ریخته و داخل آون به‌مدت ۷۲ ساعت، در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. برای انجام آزمایش نفوذپذیری نسبت به بخار آب و آزمایش‌های مکانیکی فیلم‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت داخل دسیکاتور حاوی محلول نیترات منیزیم اشباع ($Mg(NO_3)_2$) قرار گرفتند.

توصیف فیلم‌ها

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی [1] (SEM)

برای بررسی ریزساختار فیلم‌های تولید شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Philips، هلند) استفاده شد. فیلم‌ها در ابعاد بسیار کوچک بریده و به کمک چسب نقره بر روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش‌دهنده- پاشنده (BAL-TEC، Leichtenstein) تا نقطهٔ بحرانی خشک شده و به‌مدت ۵ دقیقه با طلا پوشش داده شدند. تصویربرداری از نمونه‌ها به‌وسیلهٔ میکروسکوپ الکترونی روبشی با کاربری ۱۰ کیلووات و در بزرگنمایی ۲۵۰۰ انجام شد.

سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب (WVP) [2]

سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب براساس روش شماره E96 مصوب ASTM انجام شد (ASTM., 2010a). درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و سپس سطح سلول به‌وسیلهٔ فیلم پوشانده شد و سلول‌ها در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اختلاف فشار بخاری معادل $۲/۳۳۷\times۱۰^{۳}$ پاسکال ایجاد می‌کند.

تغییرات وزن سلول‌ها در بازهٔ زمانی ۸ ساعت با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سطح مقطع سلول‌ها ۰/۰۰۲۷۷ مترمربع بود. نرخ انتقال بخار آب با استفاده از رابطهٔ ۳-۱ محاسبه و به‌صورت گرم$^{-1}$متر$^{-1}$ ثانیه$^{-1}$پاسکال (g/msPa) گزارش شد.

1 Scanning Electron Microscopy
2 Water Vapor Permeability

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

نفوذپذیری نسبت به بخار آب

$$= \frac{\text{ضخامت فیلم} \times \text{تغییرات وزن سلول}}{\text{اختلاف فشار بخار آب بین فضای داخل دسیکاتور و درون سلول} \times \text{زمان} \times \text{سطح مقطع سلول}}$$

سنجش رنگ سطحی و شفافیت فیلم‌ها

برای سنجش ویژگی‌های رنگی فیلم‌ها از شاخص‌های رنگی CIELAB(۱۹۷۶) و دستگاه رنگ‌سنج مدل BYK Bardner ساخت آمریکا استفاده شد. نمونه‌های فیلم به‌منظور سنجش رنگ بر روی کاشی استاندارد سفید رنگ قرار داده شدند و شاخص‌های L^*، b^*، a^* (a^* قرمز/ سبز، b^* زرد/ آبی و L^*روشنایی) به‌وسیلهٔ دستگاه مشخص و ثبت شدند. برای محاسبه اختلاف رنگ نمونه‌ها (ΔE^*_{ab}) و شاخص سفیدی (WI[3]) داده‌های به‌دست آمده برای سه عامل فوق مربوط به مرجع (L^*= ۶۳/۹۴، a^*= -۰/۸۸، b^*=۰/۶۵) و نیز سه عامل L^*، b^*، a^* مربوط به هر نمونه در روابط ذیل قرار داده شد.

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2]^{1/2}$$
$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

برای سنجش میزان کدورت فیلم‌ها، ابتدا فیلم‌ها به ابعاد ۹×۴۰ میلی‌متر در درون سلول‌های اسپکتوفتومتری قرار گرفت و میزان جذب نور در طول موج ۶۰۰ نانومتر به‌وسیلهٔ اسپکتوفتومتر (4802 UV/VIS Double Beam, China) اندازه‌گیری شد و در رابطهٔ زیر قرار گرفت (Núñez-Flores et al., 2013).

ضخامت فیلم (میلی‌متر)/ جذب در ۶۰۰ نانومتر = کدورت

سنجش ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها

برای تعیین ویژگی‌های مکانیکی با استفاده از دستگاه تجزیه بافت (TVT-300 XP, Perten, Sweden)، نمونه‌های فیلم در ابعاد ۲/۴۵ ×۱۰cm[2] برش داده شدند. برای انجام اندازه‌گیری‌ها فاصلهٔ بین دو فک ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها۵۰ میلی‌متر بر دقیقه و میزان کشش ۹۹ درصد بود. عواملی نظیر میزان مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول براساس استاندارد شماره D 882-10 مصوب ASTM اندازه گیری شدند (ASTM., 2010b).

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

(فاصله بین دو فک)/(۱۰۰× ازدیاد طول در نقطهٔ شکست) = درصد ازدیاد طول

سنجش ویسکوزیته

اندازه‌گیری ویسکوزیته محلول‌های فیلم با استفاده از ویسکومتر دیجیتالی (LV DV-II+P, Brookfield, USA) در سرعت‌های مختلف (۶، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و۱۰۰ rpm) و با اسپیندل شماره S-۳۱ در دمای ۳۰ °C انجام شد. برای انجام آزمایش، محلول فیلم در محفظهٔ نمونه ریخته شد و اسپیندل به‌مدت ۷ دقیقه به‌منظور رسیدن به تعادل گرمایی بین محلول و اسپیندل، در محلول فیلم در حالت چرخش مداوم غوطه‌ور بود و سپس ویسکوزیتهٔ ثبت شده به‌وسیلهٔ دستگاه قرائت و به‌عنوان ویسکوزیته نهایی ثبت شد (Al-Hassan et al., 2012).

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها

برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های خوراکی از روش نفوذ مادهٔ ضدمیکروبی در محیط آگاردار استفاده شد. به این منظور ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از هر یک از گونه‌های

3 Whiteness index

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

باکتریـایی *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Listeria monocytogenes* و *Bacillus cereus* کـه در محیط کشت BHI حاوی گلیسرول نگهداری می‌شدند، بـه لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محـیط کشـت BHI اضـافه و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا تعداد باکتری‌ها به میزان کافی افزایش یابند. پس از آن برای جدا کردن محیط کشت، محیط حاوی بـاکتری‌هـا در ٦۰۰۰rpm به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایـت عمل رقیق کردن با سرم فیزیولوژی و با استفاده از دسـتگاه اسپکتوفتومتر تعداد باکتری‌ها به 10^{8} CFU/ml رسانده شد. به این صورت که میزان جذب مایع حاوی بـاکتری در٦۰۰ نانومتر، ۰/۱–۰/۰۸ معادل10^{8} CFU/ml بـود. بـرای کشـت سطحی بـاکتری‌هـا رقیـق‌سـازی تـا رسـیدن بارباکتریـایی به 10^{6} CFU/ml انجام شد. دیسک‌ها در شرایط استریل بـر روی محیط کشت تریپتون سوی آگار قرار داده شدند. پیش از قرارگیری دیسک‌های فیلم بر روی سطح محیط کشـت، عمل کشت سطحی باکتری به‌صورت چمنی بـا اسـتفاده از سـواپ (۰/۱ میلـی‌لیتـر) از کشـت مـایع حـاوی 1×10^{6}CFU/ml باکتری روی محیط‌هـا انجـام شـد. بـرای سنجش خواص ضدمیکروبی فـیلم‌هـا، دیسـک‌هـای فـیلم حاوی روغن ضروری بـا قطـر ۱۰ میلـی‌متـر روی سـطح محیط کشت قرار داده شدند. در نهایت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گـراد بـه‌مـدت ۲٤ سـاعت گرمخانـه‌گـذاری شـدند (Seydim and Sarikus, 2006). قطر هاله‌های تشکیل شده اندازه‌گیری و اختلاف مساحت هاله‌هـای تشـکیل شـده از مساحت دیسک‌ها به‌عنوان شاخص فعالیت ضـدمیکروبـی فیلم‌ها در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری

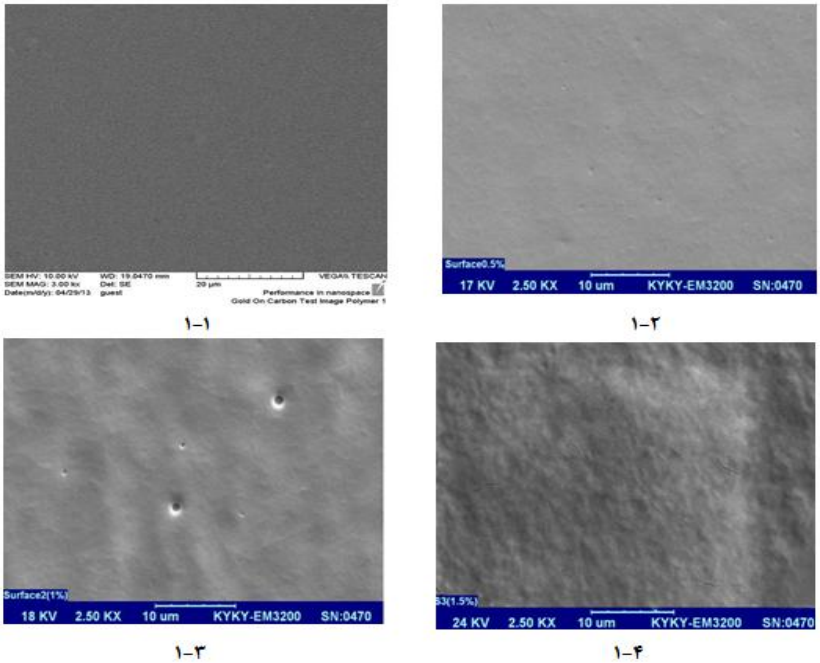
تجزیه و تحلیل داده‌ها بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار SPSS ۱٦ انجام شد. برای مقایسه عوامل عنوان شـده و نیـز بررسـی معناداری در سطوح مختلـف روغـن ضـروری، از آزمـون آنـالیز واریـانس یـک طرفـه (ANOVA) و بـرای مقایسـه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. سطح معنـاداری در خصوص تمامی عوامل بررسی شـده ۰/۰۵ ($p \leq$۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

نتایج

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM): شـکل ۱ تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نمای سطحی فـیلم‌هـای حاوی درصدهای مختلف روغن ضروری را نشان می‌دهد. نمای سطحی فیلم با افزودن روغن ضروری در سـطح ۰/۵ درصد تفاوت زیادی با فیلم شاهد نشـان نـداد و فـیلم‌هـا دارای سطحی صاف و بدون تـرک بودنـد. بـا افـزودن ۱٪ درصد روغن ضروری منافذی در نمـای سـطحی فـیلم‌هـا مشاهده شد و افزایش روغن ضروری تا سطح ۱/۵ درصـد باعث ایجاد ترک و ناهمگنی در ساختار فیلم شد.

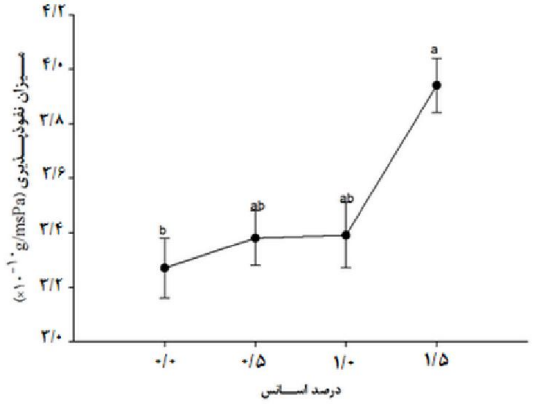
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]



شکل ۱ تصاویر سطحی میکروسکوپ الکترونی از فیلم‌های حاوی روغن ضروری مرزنجوش: ۱) فیلم بدون روغن ضروری، ۲) فیلم حاوی ۰/۵ درصد روغن ضروری، ۳) فیلم حاوی ۱ درصد روغن ضروری، ٤) فیلم حاوی ۱/۵ درصد روغن ضروری

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP): نتایج تأثیر افزودن سطوح مختلف روغن ضروری بر نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم مرکب ژلاتین/آلژینات در شکل ۲ نشان داده شده است. افزودن روغن ضروری مرزنجوش تا سطح ۱/۵ درصد منجر به افزایش میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب از $۳/۲۷\times۱۰^{-۱۰}$ g/msPa در فیلم مرکب بدون روغن ضروری به $۳/۹۳\times۱۰^{-۱۰}$ g/msPa شد. میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد روغن ضروری اختلاف معناداری با فیلم شاهد و فیلم حاوی ۱/۵ درصد روغن ضروری نداشت.

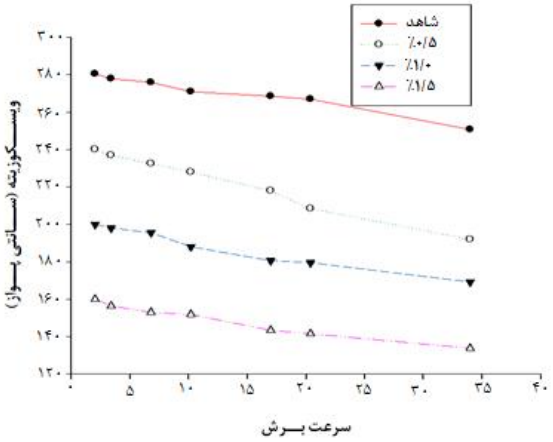


شکل ۲ نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم‌های حاوی روغن ضروری مرزنجوش

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

ویسکوزیته: با افزایش درصد روغن ضروری میزان ویسکوزیته به‌صورت چشمگیری کاهش یافت (شکل ۳). همچنین در محلول‌های فیلم با افزایش سرعت برشی میزان ویسکوزیته روند کاهشی را نشان داد.



شکل ۳ تغییرات ویسکوزیته محلول‌های فیلم حاوی روغن ضروری مرزنجوش

رنگ سطحی و شفافیت فیلم‌ها: نتایج مربوط به ویژگی‌های بصری فیلم‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد که افزایش میزان روغن ضروری باعث افزایش معنادار ($p \leq ۰/۰۵$) در میزان اختلاف رنگ فیلم‌ها و کاهش شاخص سفیدی فیلم‌ها می‌شود. کدورت فیلم‌های حاوی روغن ضروری به‌صورت معناداری افزایش یافت و از ۰/٦٦ در فیلم بدون روغن ضروری به ۳/۸٦ در فیلم حاوی ۱/۵ درصد روغن ضروری رسید.

ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها: در جدول ۱ اثر روغن ضروری مرزنجوش در سطوح مختلف بر روی خواص مکانیکی فیلم‌ها مشاهده می‌شود. افزودن روغن ضروری در سطح ۰/۵ درصد افزایش معناداری ($p \leq ۰/۰۵$) را در میزان مقاومت کششی فیلم‌ها نشان داد. ولی با افزایش میزان روغن ضروری در سطوح بالاتر کاهش میزان مقاومت کششی مشاهده شد، اگرچه این میزان کاهش در فیلم‌های حاوی ۱ درصد در مقایسه با تیمار شاهد معنادار نبود ($p > ۰/۰۵$)، ولی در سطح ۱/۵ درصد کاهش مقاومت کششی معنادار بود به گونه‌ای که از ۸/۲۱ MPa به MPa ۵/۰۵ کاهش یافت. میزان افزایش طول در فیلم‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد روغن ضروری اختلاف معناداری با فیلم‌های شاهد نشان نداد، اما با افزایش روغن ضروری به میزان ۱/۵ درصد کاهش معناداری در درصد افزایش طول فیلم‌ها نسبت به فیلم‌های بدون روغن ضروری مشاهده شد.

جدول ۱ برخی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های حاوی روغن ضروری مرزنجوش

درصد روغن ضروری	مقاومت کششی (MPa)	افزایش طول (درصد)	اختلاف رنگ (ΔE^*_{ab})	شاخص سفیدی (WI)	کدورت
۰/۰	۸/۲۱ ± ۱/۷۰^{b}	٦۹/۱۷ ± ۵/٤۰^{a}	٤/۲۱ ± ۰/۰۳^{d}	۹۰/۷۳ ± ۰/۲۰^{a}	۰/٦٦ ± ۰/۰۰^{d}
۰/۵	۱۰/۷۵ ± ۱/٦٤^{a}	٦٦/٤٤ ± ۳/۲۷^{a}	٤/٦۰ ± ۰/۱۷^{c}	۸۹/۵۵ ± ۰/۱۰^{b}	۱/۱۳ ± ۰/۰۱^{c}

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

درصد روغن ضروری	مقاومت کششی (MPa)	افزایش طول (درصد)	اختلاف رنگ (ΔE^*_{ab})	شاخص سفیدی (WI)	کدورت
۱/۰	۷/۳۵ ± ۰/۶۲[b]	۶۹/۰۴ ± ۵/۰۶[a]	۱۶/۳۵ ± ۰/۳۳[b]	۷۸/۲۷ ± ۰/۴۳[c]	۲/۶۲ ± ۰/۰۴[b]
۱/۵	۵/۰۵ ± ۰/۷۷[c]	۵۳/۵۸ ± ۳/۲۷[b]	۲۴/۲۴ ± ۰/۱۳[a]	۷۰/۱۵ ± ۰/۱۷[d]	۳/۶۸ ± ۰/۰۱[a]

[a-d] حروف کوچک در هر ستون، نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بین تیمارها در سطح $p \leq ۰/۰۵$ است.

خواص ضدمیکروبی فیلم‌ها: فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های حاوی روغن ضروری مرزنجوش (جدول۲) نشان داد که فیلم‌های حاوی ۰/۵ درصد روغن ضروری تنها در برابر *S. aureus*، خاصیت بازدارندگی معناداری ($p \leq ۰/۰۵$) داشتند و در برابر سایر باکتری‌ها فعالیت بازدارندگی از خود نشان ندادند. با افزایش میزان روغن ضروری قطر هاله بازدارندگی نیز به‌صورت معناداری ($p \leq ۰/۰۵$) افزایش یافت. هیچ‌گونه فعالیت بازدارندگی در برابر باکتری *E.coli* در دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد روغن ضروری مشاهده نشد، در حالی‌که در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت معناداری از رشد باکتری جلوگیری کرد. فیلم‌های حاوی روغن ضروری بیشترین فعالیت بازدارندگی را در برابر باکتری‌های گرم مثبت *S.aureus* نشان دادند.

جدول ۲ فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها در آزمایش دیسک

درصد روغن ضروری	*S.aureus* هاله بازدارندگی (mm^2)	*B.cereus* هاله‌بازدارندگی (mm^2)	*E.coli* هاله بازدارندگی (mm^2)	*L.monocytogenes* هاله بازدارندگی (mm^2)
۰/۰	۰[d]	۰[c]	۰[b]	۰[b]
۰/۵	۲۶/۳۷ ± ۰/۲۵[c]	۰[c]	۰[b]	۰[b]
۱/۰	۱۱۷/۰۲ ± ۰/۹۵[b]	۳۰/۹۶ ± ۰/۰۸[b]	۰[b]	۱۷/۲۰ ± ۰/۵[c]
۱/۵	۱۶۴/۰۶ ± ۰/۸۹[a]	۸۷/۷۲ ± ۰/۶۴[a]	۵۷/۳۴ ± ۱/۰۳[a]	۶۵/۱۰ ± ۰/۲۱[a]

[a-d] حروف کوچک در هر ستون، نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بین تیمارها در سطح $p \leq ۰/۰۵$ است.

بحث

در تصاویر سطحی از فیلم‌ها وجود منافذ در غلظت ۱ درصد می‌تواند در نتیجهٔ تبخیر روغن ضروری در طی فرایند خشک شدن فیلم (Sánchez-González et al., 2011a) باشد و وجود ترک و ناهمواری می‌تواند به‌دلیل برهم خوردن ساختار فیلم در اثر روغن ضروری باشد که مشاهده چنین نتیجه‌ای از ویژگی‌های بارز اضافه کردن روغن ضروری در نسبت‌های بالا به فیلم است (Ahmad et al., 2012a). اثر مشابهی با اضافه کردن روغن ضروری علف لیمو به فیلم مرکب نشاسته ساگو-آلژینات مشاهده شد (Maizura et al., 2007). بهبود مقاومت کششی در درصد پایین روغن ضروری می‌تواند به این دلیل باشد که روغن ضروری در سطح مناسب از طریق تعامل بین زنجیره‌های پروتئینی باعث تقویت بستر فیلم شود (Ahmad et al., 2012a). اما افزودن درصد بالای روغن ضروری به فیلم اغلب به ایجاد ساختاری ناهمگن در آن منجر می‌گردد (Ahmad et al., 2012a) که این امر موجب کاهش مقاومت مکانیکی فیلم‌ها می‌شود. در مطالعهٔ Jouki و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده شد با افزایش میزان روغن ضروری مرزنجوش در فیلم لعاب دانه میوه به، درصد

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

ازدیاد طول نیز کاهش یافت که علت آن را ناهمگنی ایجاد شده در ساختار فیلم به‌دلیل غلظت‌های بالای روغن ضروری عنوان کرده است. همچنین زمانی که میزان روغن ضروری افزایش می‌یابد، روغن ضروری جایگزین گلیسرول می‌شود که می‌تواند دلیلی برای کاهش میزان افزایش طول باشد (Jouki et al., 2013). تصویر میکروسکوپ الکترونی از نمای سطحی فیلم حاوی ۱/۵ درصد روغن ضروری مرزنجوش مؤیدی بر نتایج حاصل است.

نفوذپذیری نسبت به بخار آب عاملی مهم در درک تغییر رطوبت بین پوشش محصول و محیط اطراف است (Sánchez-González et al., 2011b). در تصاویر میکروسکوپ الکترونی به‌روشنی مشاهده می‌شود، فیلم‌های حاوی ۱/۵ درصد روغن ضروری مرزنجوش سطحی ناهمگن داشته و ترک‌هایی در ساختار فیلم‌ها وجود دارد که می‌تواند دلیلی برای افزایش میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب باشد. از آنجایی‌که روغن‌های ضروری در دمای اتاق معمولاً به‌صورت مایع هستند با حضور در ساختار فیلم به‌راحتی می‌توانند تغییر شکل داده و باعث انعطاف‌پذیری و تحرک زنجیره‌های مولکولی شوند (Fabra et al., 2008) در نتیجهٔ تحرک بیشتر، انتقال مولکول‌های آب از طریق فیلم تسهیل می‌شود (Rodríguez et al., 2006). علاوه بر آن، این افزایش در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب به‌دلیل ساختار ناهمگن فیلم و ایجاد ترک در ساختار فیلم‌های حاوی ۱/۵ درصد روغن ضروری است که در تصاویر میکروسکوپ الکترونی به‌روشنی قابل مشاهده است. اثرهای مشابهی در افزودن روغن ضروری رزماری به فیلم مرکب نشاسته-آلژینات و علف لیمو به فیلم ژلاتین ماهی گزارش شده است (Yan et al., 2013; Ahmad et al., 2012a).

افزودن روغن ضروری باعث کاهش کیفیت ظاهری فیلم‌ها شد. افزودن روغن ضروری مرزنجوش به فیلم ژلاتین ماهی تون باعث افزایش میزان کدورت گردید (Gómez-Estaca et al., 2009). اضافه کردن روغن ضروری علف لیمو به فیلم ژلاتین ماهی و نیز افزودن روغن ضروری مرزنجوش به فیلم آلژینات منجر به افزایش اختلاف رنگ (ΔE^*_{ab}) فیلم‌ها شد (Ahmad et al., 2012a; Benavides et al., 2012). این اثر احتمالاً به‌دلیل افزایش بازتاب‌های منتشر شده در نتیجهٔ پراکندگی نور در قطره‌های چربی است که هر دو شدت پراکندگی نور و شاخص سفیدی فیلم را کاهش می‌دهد (Ghasemlou et al., 2013).

نتایج حاصل از سنجش ویسکوزیته با مطالعه Sánchez-gonzález و همکاران (2010) روی محلول کیتوزان حاوی روغن ضروری برگاموت همخوانی داشت؛ این محققان عنوان کرده‌اند توضیح روشنی دربارهٔ دلیل چگونگی اثر روغن در امولسیون‌های آب و اینکه چرا وقتی غلظت مرحلهٔ پراکنده افزایش می‌یابد، ویسکوزیته معمولاً افزایش می‌یابد، وجود ندارد. با این‌حال، افزایش ویسکوزیته می‌تواند به‌دلیل تغییر در پیوندهای شکل گرفته بین دو پلیمر و افزایش تحرک زنجیره‌های مولکولی، در نتیجهٔ حضور روغن ضروری در محلول فیلم باشد. از آنجایی‌که آب‌گریزی یکی از ویژگی‌های مهم روغن‌های ضروری و ترکیبات آنها است، این ویژگی توانایی نفوذ آنها را در قسمت‌های حاوی لیپید غشای سلول باکتری امکان‌پذیر می‌کند و با اخلال در ساختار غشای سلول باعث نفوذپذیری آنها شوند. پس از آن نشت یون‌ها و سایر محتویات سلول رخ داده و به مرگ سلول منجر می‌شود. علاوه بر آن ترکیبات روغن ضروری می‌توانند روی پروتئین‌های سلولی موجود در غشای سیتوپلاسمی نیز اثر

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

بگذارند (Burt., 2007). چنانچه مشاهده شد، بیشترین مقاومت در برابر روغن ضروری در باکتری گرم منفی *E.coli* مشاهده شد که این مقاومت در برابر روغن‌های ضروری به‌دلیل نقش حفاظتی غشای لیپوپلی ساکارید دیوارهٔ سلولی‌شان یا پروتئین‌های غشای بیرونی است (Zivanovic et al., 2005). در مطالعاتی که به بررسی خواص ضدمیکروبی روغن ضروری مرزنجوش در فیلم‌هایی نظیر آلژینات، پروتئین تریتیکال و کیتوزان – نشاسته معطوف شده‌اند (Aguirre et al., 2013 ;Benavides et al., 2012 ;Pelissari et al., 2009)، فیلم‌ها نتایج تقریباً مشابه آنچه در این تحقیق حاصل شد در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی نشان دادند، به این ترتیب که کمترین تأثیر را روی باکتری‌های گرم منفی *Salmonella enteritidis*، *Pseudomonas aeruginosa* و E.coli، *Salmonella enteritidis* و *E.coli* مشاهده شده است.

نتیجه‌گیری کلی

افزودن ۰/۵ درصد روغن ضروری مرزنجوش به فیلم خوراکی ژلاتین ماهی–آلژینات مقاومت کششی را بهبود بخشید. افزایش غلظت روغن ضروری موجب نامطلوب شدن خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها شد، به گونه‌ای که در فیلم‌های حاوی ۱/۵ درصد روغن ضروری مرزنجوش مقاومت کششی، درصد افزایش طول، کدورت و میزان نفوذپذیری افزایش یافت که تصاویر سطحی میکروسکوپ الکترونی مؤید نتایج حاصل است. اگر چه بیشترین فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها در بالاترین غلظت روغن ضروری (۱/۵ درصد) مشاهده شد، اما نتایج نشان دادند که فیلم ژلاتین ماهی–آلژینات حاوی غلظت‌های پایین روغن ضروری با وجود فعالیت ضدمیکروبی کمتر به‌دلیل خواص مکانیکی و فیزیکی بهتر فیلم برای استفاده در نگهداری مواد غذایی مناسب‌تر باشند.

منابع

Aguirre, A., Borneo, R. and León, A. 2013. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience,* 1**,** 2-9.

Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T. and Agustini, T. W. 2012a. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids,* 28**,** 189-199.

Ahmad, M., Benjakul, S., Sumpavalpol, P. and Nirmal, N. P. 2012b. Quality changes of sea bass slices wrapped with gelatin film incorporated with lemongrass essential oil. *International Journal of Food Microbiology,* 155**,** 171-178.

Al-Hassan, A. and Norziah, M. 2012. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26(1),108-117.

ASTM 2010b. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. *Designation: E96M – 10,* Annual book of ASTM, American Society for Testing and Material. Philadelphia, PA.

ASTM 2010a. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-10). *Philadelphia, PA, USA.*

Bae, H.J., Park, H.J., Hong, S.I., Byun, Y.J., Darby, D.O., Kimmel, R.M., Whiteside, W.S. 2009. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite films. *LWT-Food Science and Technology*, 42,1179-86.

Baldwin, E. A. and Hagenmaier, R. D. 2012. *Edible coatings and films to improve food quality*, CRC PressI Llc.

Benavides, S., Villalobos-Carvajal, R. and Reyes, J. 2012. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering,* 110**,** 232-239.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

mechanical properties of partially hydrolyzed sago starch–alginate edible film containing lemongrass oil. *Journal of food science,* 72**,** C324-C330.

Mehdizadeh, T., Oromiehie, A. R., Tajik, H. and Razavi Rohani, S. M. 2011. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing pomegranate peel extract. *Urmia Medical Journal*, 23(3), 315-323. [Abstract in English]

Núñez-Flores, R., Giménez, B., Fernández-Martín, F., López-Caballero, M.E., Montero, M.P. and Gómez-Guillén, M.C. 2013. Physical and functional characterization of active fish gelatin films incorporated with lignin. *Food Hydrocolloids*, 30, 163-172.

Otoni, C.G., Avena-Bustillos, R.J., Chiou, B.S., Bilbao-Sainz, C., Bechtel, P.J., McHugh, T.H. 2012. Ultraviolet-B Radiation Induced Cross-linking Improves Physical Properties of Cold-and Warm-Water Fish Gelatin Gels and Films, *Journal of food science*.77, E215-E23.

Oussalah, M., Caillet, S., Phane, ST, Phansalimi, RI, Saucier, L. and Lacroix, M. 2006. Antimicrobial Effects of Alginate-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle. *Journal of Food Protection,* 69**,** 2364-2369.

Pelissari, F. M., Grossmnn, M. V., Yamashita, F. and Pineda, E. A. G. 2009. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch−chitosan films incorporated with oregano essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 57**,** 7499-7504.

Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A. and Martucci, J. F. 2011. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids,* 25**,** 1372-1381.

Rodríguez, M., Oses, J., Ziani, K. and Mate, J. I. 2006. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Research International,* 39**,** 840-846.

Sánchez-González, L., Pastor, C., Vargas, M., Chiralt, A., González-Martínez, C. and Cháfer, M. 2011a. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot

Burt, S. A. 2007. Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food.

Castilho, P. C., Savluchinske-Feio, S., Weinhold, T. S. and Gouveia, S. C. 2012. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. *Food Control,* 23**,** 552-558.

Chiou, B.-S., Avena-Bustillos, R. J., Bechtel, P. J., Jafri, H., Narayan, R., Iman, S. H., Glenn, G. M. and Orts, W. J. 2008. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. *European polymer journal,* 44**,** 3748-3753.

Fabra, M. J., Talens, P. and Chiralt, A. 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering,* 85**,** 393-400.

Ghasemlou, M., Aliheydari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M. J. and Khaksar, R. 2013. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate polymers,* 98**,** 1117-1126.

Gómez-Estaca, J., Montero, P., Fernándes-Martín, F., Alemán, A. and Gómez-Gullen, M. C. 2009. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. *Food Hydrocolloids,* 23**,** 1334-1341.

Gómez-Gullen, M. C., Perez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Gimenez, B. and Montero, P. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology,* 20**,** 3-16.

Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. and Koocheki, A. 2013. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids,* 36**,** 9-19.

Kuorwel, K. K., Cran, M. J., Sonneveld, K., Miltz, J. and Bigger, S. W. 2011. Essential Oils and Their Principal Constituents as Antimicrobial Agents for Synthetic Packaging Films. *Journal of Food Science,* 76**,** R164-R177.

Maizura, M., Fazilah, A., Norziah, M. and Karim, A. 2007. Antibacterial activity and

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

gelatin and sodium alginate. *Journal of Food Engineering,* 96**,** 199-207.

Wang, L. Z., Liu, L., Holmes, J., Kerry, J.F. and Kerry J. P. 2007. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science & Technology*, 42, 1128-1138.

Wu, J., Ge, S., Liu, H., Wang, S., Chen, S., Wang, J., Li, J. and Zhang, Q. 2014. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, *2(1),* 7-16.

Yan, Q., Zhang, J., Dong, H., Hou, H. and Guo, P. 2013. Properties and antimicrobial activities of starch–sodium alginate composite films incorporated with sodium dehydroacetate or rosemary extract. *Journal of Applied Polymer Science,* 127**,** 1951-1958.

Zivanovic, S., Chi, S. and Draghon, A. F. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Science,* 70**,** M45-M51.

essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biology and Technology,* 60**,** 57-63.

Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A. and Cháfer, M. 2011b. Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. *Food Engineering Reviews,* 3**,** 1-16.

Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A. and González-Martínez, C.2010. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate polymers*, 82(2),277-283.

Seydim, A. and Sarikus, G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food research international,* 39**,** 639-644.

Song, H. Y., Shin, Y. J. and Song, K. B. 2012. Preparation of a barley bran protein-gelatin composite film containing grapefruit seed extract and its application in salmon packaging. *Journal of Food Engineering,* 113**,** 541-547.

Wang, L., Auty, M. A. and Kerry, J. P. 2010. Physical assessment of composite biodegradable films manufactured using whey protein isolate,

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 5, No. 2, Summer 2016

Physical-mechanical and antimicrobial properties of fish gelatin-alginate films incorporated with oregano *(Origanum vulgare L.)* essential oil

Seyede Marzieh Kazemi [1], Masoud Rezaei [*2]

1- M.Sc. Graduated student, Department of Seafood processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Iran, Noor

2- Professor, Department of Seafood processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Iran, Noor

Received: 26.01.2015 Accepted: 09.12.2015
*Corresponding author: rezai_ma@modares.ac.ir

Abstract:

The antimicrobial and physico-mechanical properties of fish gelatin-alginate film incorporated with oregano (*Origanum vulgare L.*) essential oil (OEO) were assessed. The blended films were prepared with 75% fish gelatin and 25% sodium alginate and OEO (0, 0.5, 1.0, 1.5%) was added to the film solutions. Results showed that adding 0.5% OEO into films improved tensile strength about 2.54 MPa compared to the control films. The incorporation of 1.5% essential oil decreased tensile strength and the elongation percentage by 3.16 MPa and 15.59%, respectively; water vapor permeability, viscosity and opacity also significantly declined ($P < 0.05$). Scanning electron microscopy (SEM) of the surface of the film confirmed these results. Although 1.5% OEO-films showed higher antimicrobial activity, fish gelatin-alginate films incorporated with lower level of OEO can be can be more appropriate for food preservationl.

Keywords: Oregano essential oil, Physico-mechanical properties, Antimicrobial activity, Fish gelatin-alginate film

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.7.4]