

تعیین اثر بیوفیلیم‌های نانو پلی پروپیلن پوشش داده شده با کربوکسی متیل سلولز دارای اسانس‌های آویشن و دارچین بر زمان ماندگاری و اثر ضد میکروبی مواد غذایی

فاطمه تیمورپور<sup>۱\*</sup>، هانیه جعفری<sup>۲</sup>، آوین عزیز محمدی<sup>۳</sup>، پرگل عروجی<sup>۴</sup>

۱- دپارتمان زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران f.teimorpour@gmail.com

۲- دپارتمان زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، p.o.box14515-775، تهران، ایران

jafaryh8287@gmail.com

۳و۴- دپارتمان زیست شناسی، موسسه صنعت هسته ای کشور، تهران، ایران f.teimorpor@yahoo.com

## خلاصه

امروزه کاربرد پلیمرهای زیست تخریب پذیر به علت خصوصیات مطلوب آنها، به ویژه در زمینه بسته بندی مواد غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گوشت منبع مهم از پروتئین‌ها و مواد تغذیه‌ای با کیفیت بالا است. با این وجود، گوشت طی مدت نگهداری در یخچال و بیرون از آن دچار فساد می‌شود. پلیمرهای دارای ذرات نانو دارای خاصیت مانع‌کنندگی بالایی هستند به این علت که این ذرات قادرند مسیر پیچیده تری را جهت نفوذ سایر مولکول‌ها ایجاد کنند. در مطالعه حاضر فیلم‌های خوراکی بر پایه نانوپلی پروپیلن و کربوکسی متیل سلولز حاوی صفر، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ درصد اسانس آویشن و دارچین و ترکیب هر دو تهیه شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (انحلال پذیری در آب، قابلیت نفوذ بخار آب، پارامترهای رنگی و شفافیت، مقدار فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی) و همچنین فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری اشریشیا ای کولای و استافیلوکوکس اورئوس (روی گوشت نگهداری شده در دمای یخچال به مدت ۷ روز) و کیفیت حسی گوشت بسته بندی شده ارزیابی گردید. نتایج بررسی نشان داد به کارگیری اسانس آویشن و دارچین در داخل فیلم‌های حاصل از نانوپلی پروپیلن و کربوکسی متیل سلولز به طور معنی‌داری شاخص انحلال پذیری در آب، قابلیت نفوذ بخار آب را کاهش می‌دهد. افزایش اسانس آویشن و دارچین باعث افزایش معنی‌دار میزان ترکیبات فنولی و کاهش شاخص نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی ( $IC_{50}$ ) شد. نتایج ضد میکروبی نشان داد که رشد باکتری ای کولای و استافیلوکوکس اورئوس با افزایش غلظت اسانس‌ها کاهش معنی‌داری داشته است. بر مبنای نتایج به دست آمده از ارزیابی حسی گوشت بسته بندی شده با فیلم حاوی ۱۰ درصد اسانس آویشن و دارچین دارای بالاترین امتیاز حسی بودند.

**کلمات کلیدی:** نانوپلی پروپیلن، کربوکسی متیل سلولز، اسانس دارچین و آویشن، فیلم خوراکی

## ۱. مقدمه

این امروزه کاربرد پلیمرهای زیست تخریب پذیر به علت خصوصیات مطلوب آنها، به ویژه در زمینه بسته بندی مواد



غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گوشت منبع مهم از پروتئین‌ها و مواد تغذیه‌ای با کیفیت بالا است. با این وجود، گوشت طی مدت نگهداری در یخچال و بیرون از آن دچار فساد می‌شود. همچنین طی انبارمانی مشکلاتی از جمله کاهش وزن، افت کیفیت درونی در گوشت رخ می‌دهد که سبب زیان‌های اقتصادی بر صنعت طیور می‌گردد. یکی از مناسب‌ترین راهکارهای مورد استفاده جهت جلوگیری از افت کیفی گوشت استفاده از پوشش‌های خوراکی می‌باشد.

پلیمرهای دارای ذرات نانو دارای خاصیت ممانعت‌کنندگی بالایی هستند به این علت که این ذرات قادرند مسیر پیچیده‌تری را جهت نفوذ سایر مولکول‌ها ایجاد کنند. به عنوان مثال در ارتباط با محصولات حساس به اکسیژن نظیر روغن، حضور ترکیبات نانو در ماده بسته‌بندی سبب کاهش سرعت انتقال اکسیژن به داخل بسته‌بندی ماده غذایی می‌شود. در ارتباط با پلیمرهایی که خواص مکانیکی ضعیفی دارند، حضور ترکیبات نانو در ساختار ماده بسته‌بندی سبب بهبود خواص مکانیکی آنها شده و استحکام و مقاومت آنها را افزایش می‌دهد (Arora, 2010). از طرفی استفاده از ذرات نانو در ساختار بسته‌بندی ماده غذایی سبب بهبود مقاومت حرارتی شده و در مورد محصولاتی که نیاز به پرکردن داغ دارند، امکان انجام این عمل در دماهای بالاتر فراهم می‌شود. همچنین کاربرد ذرات نانو با هدف کاهش مواد پلیمری مصرفی نقش موثری در کاهش هزینه و انرژی صرف شده برای تولید خواهد داشت. بطور کلی می‌توان گفت بسته‌بندی‌های دارای ذرات نانو خواص مکانیکی، ممانعت‌کنندگی، حرارتی و خواص فیزیکوشیمیایی بهتری نسبت به بسته‌بندی‌های معمول دارند. بالطبع محصولات غذایی بسته‌بندی شده با این ترکیبات کیفیت خود را تا مدت زمان بیشتری حفظ کرده و زمان ماندگاری آنها افزایش خواهد یافت.

طی سال‌های اخیر استفاده از پلی‌ساکاریدها، به عنوان پوشش‌های خوراکی زیست تخریب‌پذیر افزایش یافته است. پلی‌ساکارید سلولز در بین گیاهان، فراوان‌ترین منبع آلی تجدیدپذیر می‌باشد. مشتقات سلولز از جمله متیل سلولز، هیدروکسی پروپیل سلولز، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، کربوکسی متیل سلولز و سلولز میکروکریستاله که دارای ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و کلونیدی منحصر به فردی هستند. از دهه‌ی ۱۹۸۰ میلادی برای تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. کربوکسی متیل سلولز (CMC) یکی از مشتقات مهم سلولز و مهم‌ترین پلی‌ساکاریدها جهت تهیه فیلم‌های بسته‌بندی می‌باشد که از توانایی تشکیل فیلم و حلالیت بالایی برخوردار است (El, 2016). فیلم‌های مبتنی بر کربوکسی متیل سلولز دارای استحکام مناسب، شفافیت، میزان حلالیت بالا در آب و مقاومت به چربی متناسبی می‌باشند (Ballesteros, 2018) ولی به دلیل حضور انواع گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل، این فیلم‌ها میزان جذب رطوبت بالایی را داشته و مانع خوبی در برابر آب و رطوبت نمی‌باشند (Vidal, 2020). برای غلبه بر این محدودیت‌ها و بهبود خصوصیات فیلم‌های تشکیل شده از پلیمرهای طبیعی، استفاده از نانوذرات و آماده سازی نانوکامپوزیت‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Fathi, 2018). کربوکسی متیل سلولز از طریق واکنش سلولز با هیدروکسید سدیم و اسید کلرواستیک تولید می‌شود. این ماده در گروه هیدروکلوئیدها قرار دارد و در صنایع غذایی به منزله معلق‌کننده یا عامل تعلیق سوسپانسیون‌ها در حد وسیعی استفاده می‌شود. این هیدروکلوئید در آب قابل حل اما در حلال‌های آلی انحلال‌ناپذیر است. کربوکسی متیل سلولز، ژل برگشت‌پذیری تولید می‌کند که ویسکوزیته آن با افزایش دما، کاهش می‌یابد. این هیدروکلوئید توانایی واکنش با پروتئین‌ها را دارد و می‌تواند خواص عملکردی آنها را تغییر دهد (Fatemi, 2005).

یکی از پلیمرهای گرمانرم پرکاربرد و ارزان، پلی‌پروپیلن (PP) است. این پلیمر از چگالی بسیار پایین، پایداری شیمیایی خوب در برابر اسید و قلیا و نیز مقاومت عالی در برابر خستگی ناشی از خمش برخوردار است. با بهره‌گیری از این خواص ویژه، استفاده از PP در برخی از مصارف مانند کالاهای خانگی و نیز قطعات خودرو و صنایع هوافضا بسیار گسترش یافته است.

در انتخاب مواد ضد میکروبی برای بسته‌بندی مواد غذایی باید مواردی مانند نوع میکروارگانیسمی یا

میکروارگانسیم‌هایی که قرار است ماده غذایی در برابر آن محافظت شود و همچنین برهم کنش بین مواد پلیمری و ترکیبات ضد میکروبی بسته‌بندی و مواد غذایی درون بسته‌بندی در نظر گرفته شود (Han, 2003). از مواد ضد میکروبی طبیعی اسانس‌های گیاهان هستند که اثر نگهداری و پیشگیری از فساد مواد غذایی آنها از دوران باستان برای انسان به خوبی شناخته شده است (Burt, 2004). امروزه گیاهان دارویی از گیاهان مهم از نظر اقتصادی هستند که به صورت خام یا فراورده شده در طب سنتی و مدرن صنعتی استفاده می‌شوند. اعلام سازمان جهانی مبنی بر استفاده نکردن از رنگ‌ها و اسانس‌های سنتتیک و عوارض جانبی داروهای مصنوعی در سال‌های اخیر باعث رونق کشت و صنعت گیاهان دارویی شده است.

آویشن با نام علمی *Thymus vulgaris* از خانواده نعنائیان است که اسانس زرد رنگ آن حاوی ترکیباتی مانند تیمول، کارواکرول و ۱ و ۸ سینئول است. ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس کامل آویشن از هر یک از این ترکیبات به تنهایی بیشتر است که نشان دهنده خاصیت سینرژستی هر یک از این ترکیبات شیمیایی با یکدیگر است (Aghel et al., 2009; Bagamboula et al., 2004). این گیاه به وفور یافت شده و همچنین آن را در مراکز پرورشی گیاهان کشت می‌کنند. از اسانس آن در مواد غذایی استفاده می‌شود و علاوه بر کاربردهای درمانی و بهداشتی مصرف خوراکی نیز دارند. اسانس آویشن علاوه بر دارا بودن اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گسترده، دارای مصارف خوراکی نیز هستند که نشان دهنده کم بودن اثرات جانبی مصرف آن نسبت به سایر ترکیبات است و از آنجا که باکتری استفیلوکوکوس اروئوس نیز هم در عفونت‌ها و هم مسمومیت‌های غذایی اهمیت دارد، از این اسانس به طور کامل برای بررسی اثرات ضد میکروبی آن استفاده شد.

دارچین از تیره برگ بو، یک ترکیب طعم دهنده محبوب است که علاوه بر کاربرد طعم دهنده‌گی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و چلاته کننده فلزات است. از ترکیبات فنولیک و غیر فنولیک فرار دارچین که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند می‌توان به cinnamaldehyde که بخش اعظم (۷۵٪) اسانس آن را تشکیل می‌دهد و طعم و مزه شیرین دارچین به دلیل وجود این ماده است و نیز به ترکیباتی چون gamma-eugenol, terpinene, camphene و ۴-terpineol اشاره نمود (parthasarathy et al., 2008; Wu et al., 1994). همچنین برخی از ترکیبات فنولیک و غیر فنولیک غیر فرار دارچین که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند شامل cinnacassiol های A, C1, C2, corydin, epicatechin,  $\beta$ -sitosterol, syringic acid می‌باشند. این ترکیبات به عنوان عوامل احیا کننده یا به عنوان بی‌اثر کننده رادیکال‌های پراکسید عمل می‌کنند و از واکنش‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند (parthasarathy et al., 2008; Suhaj, 2006).

### ضرورت و اهمیت اجرای پژوهش :

در زندگی امروزی، پلیمرها بخشی جدایی ناپذیر از زندگی روزمره را تشکیل می‌دهند. تولید جهانی پلاستیک‌ها (ترموپلاستیک‌ها، ترموست‌ها، چسب‌ها، پوشش‌ها و الیاف PP) در سال ۲۰۱۷ تقریباً ۳۴۸ میلیون تن بود و در سال ۲۰۱۸ به ۳۵۹ میلیون تن رسید. تولیدکنندگان عمده عبارتند از آسیا (۵۱٪)، چین (۳۰٪)، اروپا (۱۷٪)، و آفریقا (۷٪) (Ghiafeh Shirzadi, 2022).

تقریباً ۹۵ تا ۹۹ درصد مواد پلاستیکی از منابع تجدید ناپذیر (پلاستیک‌های مصنوعی) از طریق صنایع پتروشیمی ساخته می‌شود. محصولات پلاستیکی مصنوعی به طور گسترده در زمینه‌های بسته‌بندی لوازم پزشکی، مصالح ساختمانی و مواد غذایی و غیره استفاده می‌شوند، اما پلاستیک مصنوعی نمی‌تواند در طبیعت تجزیه شود؛ بنابراین در نهایت منجر به افزایش ضایعات می‌شود. زباله مشکلات زیست محیطی و بهداشتی شدیدی ایجاد می‌کند. مقدار زیادی زباله پلاستیکی به اقیانوس‌ها و رودخانه‌ها ریخته می‌شود که به آبیان آسیب می‌رساند. سوزاندن منجر به انتشار گازهای مضر (دی‌اکسیدکربن، مونوکسیدکربن، کلر، فوران‌ها، آمین‌ها، دی‌اکسیدین و غیره) می‌شود که کیفیت هوا را کاهش و تهدید گرمایش جهانی را افزایش

می‌دهد و نگرانی بهداشتی ایجاد می‌کند. افزایش مشکلات برای دفع زباله و اثرات مضر بر محیط زیست و سلامت عمومی ناشی از تجزیه‌ناپذیری بسیاری از پلیمرهای مصنوعی، نگرانی‌ها را در سراسر جهان برای یافتن ماده‌ای جایگزین سازگار با محیط زیست افزایش داده است (Shaikh, 2021)

پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر به عنوان یک رویکرد جایگزین برای بسیاری از کاربردهای صنعتی برای کنترل خطر ناشی از پلاستیک غیرقابل تجزیه ظاهر شدند. طبق گفته‌ی انجمن آزمایش و مواد آمریکا (ASTM)، پلاستیک زیست تخریب‌پذیر پلاستیکی است که به دلیل عملکرد میکروارگانیسم‌های طبیعی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها تجزیه می‌شود (Kale, 2007).

امروزه کاربرد پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر به علت خصوصیات مطلوب آنها، به ویژه در زمینه بسته بندی مواد غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گوشت منبع مهم از پروتئین‌ها و مواد تغذیه‌ای با کیفیت بالا است. با این وجود، گوشت طی مدت‌های نگهداری در یخچال و بیرون از آن دچار فساد می‌شود. همچنین طی انبارمانی مشکلاتی از جمله کاهش وزن افت کیفیت درونی، در گوشت رخ می‌دهد که سبب زیان‌های اقتصادی بر صنعت طیور می‌گردد. متأسفانه بیشتر پلیمرهای سنتزی مورد استفاده در بسته بندی‌های میکروبی تجزیه‌ناپذیر هستند. با توجه به آلودگی محیط زیست ناشی از مواد پلاستیکی غیر قابل تجزیه، تولید فیلم‌های خوراکی و تجزیه‌پذیر، تولید فیلم‌های خوراکی و تجزیه‌پذیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این فیلم‌ها لایه خوراکی از پیش تهیه شده هستند که به عنوان بخشی از غذا همراه آن مصرف می‌شوند (Zhong et al., 2017; Feng et al., 2018).

#### پیشینه تحقیق:

مهسا میرحسینی مقدم و همکاران در سال ۱۴۰۰ بر روی موضوع بررسی اثر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و ضد میکروبی فیلم پروتئین آب پنیر حاوی اسانس آویشن در بسته‌بندی نان پیتا تحقیق کردند. در این مطالعه، ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و خصوصیات مکانیکی فیلم‌ها و همچنین فعالیت ضد میکروبی علیه پنی‌سیلیوم کرایوزوموم\* و کیفیت حسی نان پیتا بسته‌بندی شده ارزیابی شد. آنها دریافتند که به کارگیری اسانس آویشن در داخل فیلم‌ها بر پایه پروتئین آب پنیر به طور معناداری ضخامت درصد ازدیاد طول و شاخص زردی فیلم‌ها را افزایش می‌دهند.

محمد مهدی سلطان دلال و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی موضوع ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس گیاهی آویشن شیرازی بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از مواد غذایی پژوهش کردند. در این مطالعه که به روش *In vitro* انجام شد، اثر ضد میکروبی به همراه حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) اسانس آویشن شیرازی بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به تتراسایکلین، اریترومایسین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و متی‌سیلین مورد بررسی قرار گرفت. آنها دریافتند که اسانس آویشن شیرازی بر استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به تتراسایکلین، اریترومایسین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و متی‌سیلین ایزوله شده از مواد غذایی اثرات خوبی دارد.

پرستو رضایی و روحا کسری کرمانشاهی در سال ۲۰۱۵ بر روی موضوع بررسی خاصیت ضد میکروبی نانو ذره و فیلم کیتوزان بر دوگونه از باکتری‌های بیماری‌زا با منشا غذایی مطالعه کردند. در این مطالعه ابتدا نانو ذرات و فیلم کیتوزان را ساخته و بعد از بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها به بررسی اثر ضد میکروبی آنها بر روی باکتری‌های بیماری‌زا با منشا غذایی که شامل *Staphylococcus aureus*، *Listeria monocytogenes* می‌باشد با روش‌های مختلف پرداخته شد. آنها دریافتند که با توجه به قابلیت تجزیه‌پذیری کیتوزان، از آنجا که خاصیت ضد میکروبی کیتوزان چه به صورت نانو ذره‌ای و یا چه به صورت فیلمی بر روی باکتری‌ها با منشا غذایی می‌توان پیشنهاد نمود که در بسته‌بندی‌های ضد میکروبی مواد غذایی استفاده شود.

\* *Penicillium chrysogenum*



عاطفه برومند و همکاران در سال ۱۳۹۲ بر روی موضوع بررسی اثر ضد میکروبی فیلم خوراکی کازئینی حاوی اسانس آویشن شیرازی بر سه میکروارگانیزم بیماریزای غذائی تحقیق کردند. در این مطالعه برای این کار ابتدا کمترین غلظت بازدارنده (MBC) و کمترین غلظت کشنده\* (MBC) اسانس آویشن شیرازی در ۶ سطح غلظتی ۲۵۰، ۱۲۵، ۲۰۰، ۴۰۰ ppm با استفاده از روش آزمایش رقت در محیط مایع برای هر یک از میکروارگانیزم‌های ذکر شده تعیین گردید. آنها دریافتند که اسانس آویشن شیرازی اگر چه بر هر سه باکتری موثر است، ولی بیشترین تاثیر آن بر استافیلوکوکوس اورئوس با MIC و MBC برابر با 250 ppm بود.

کریم نصرت الهی و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی موضوع بررسی تاثیر عصاره مرزه (*hortensis Satureja*) بر کیفیت و زمان ماندگاری گوشت مرغ نگهداری شده در یخچال پژوهش کردند. در این مطالعه قطعات گوشت مرغ به مدت ۲ ساعت در محلول‌های حاوی ۱، ۳، و ۵ درصد عصاره الکلی گیاهان مذکور قرار گرفته و آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی به منظور بررسی زمان ماندگاری گوشت مرغ، طی روزهای ۱، ۳، و ۵ انجام شد. آزمون‌های فیزیکوشیمیایی شامل اندازه‌گیری رنگ، pH و TBARS و تست‌های میکروبی شامل، اندازه‌گیری بار کلی میکروبی، شمارش کلی فرم‌ها و استافیلوکوکوس اورئوس بود. آنها دریافتند که عصاره الکلی مرزه، در افزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌ها تا ۲ روز کاملاً مؤثر بوده و چنین پیشنهاد می‌شود که برای نگهداری گوشت مرغ از این عصاره استفاده شود.

مینا فرهانی و همکاران در سال ۲۰۱۹ بر روی موضوع بررسی اثر ضد میکروبی اسانس مرزه (*L hortensis Satureja*) بر تعدادی از میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا و عامل فساد مطالعه کردند. در این مطالعه اسانس مرزه از شرکت داروسازی باربج اسانس خریداری شد. آنالیز شیمیایی اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی<sup>†</sup> و اسپکترومتری جرمی<sup>‡</sup> انجام شد. عملکرد ضد میکروبی اسانس با روش انتشار در آگار (دیسک و چاهک) و میکرودیالوشن بر طبق استاندارد CLSI تعیین گردید. آنها دریافتند که اسانس مرزه در روش انتشار در آگار نشان داد با کاهش غلظت اسانس، اثر بازدارندگی آن در همه‌ی سویه‌های مورد بررسی به طور مؤثری کاهش می‌یابد. لذا می‌توان از اسانس مرزه در صنایع غذایی و دارویی به عنوان یک ماده‌ی طبیعی ضد میکروبی استفاده نمود.

نسیم شایسی و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی موضوع مطالعه ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم پلی‌لاکتیک اسید حاوی اسانس کاکوتی کوهی، عصاره اتانولی بره موم و نانوذرات سلولز پژوهش کردند. در این مطالعه فیلم پلی‌لاکتیک اسید حاوی عصاره‌ی بره موم، اسانس کاکوتی کوهی، نانو ذرات سلولز به صورت جداگانه و ترکیبی است. ترکیبات تشکیل دهنده‌ی کاکوتی کوهی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی شناسای گردید. آنها دریافتند که فیلم پلی‌لاکتیک اسید حاوی عصاره کاموتی کوهی، نانوذرات سلولز و عصاره بره موم دارای خواص مکانیکی و فیزیکی مطلوبی است که می‌توان در بسته بندی مواد غذایی استفاده کرد.

طاهره بیضاوی و همکاران در سال ۲۰۲۰ بر روی موضوع تولید فیلم نانوکامپوزیتی تهیه شده از صمغ دانه به/ نانو کریستال سلولز و بررسی ویژگی‌های فیلم ترکیبی حاصل تحقیق کردند. در این مطالعه در مرحله اول موسیلاژ دانه به استخراج و سپس به همراه درصد‌های مختلف از نانوکریستال سلولز (۳، ۵، ۷ درصد) گلیسرول به عنوان پالستی‌سایزر<sup>§</sup> برای تولید فیلم نانوکامپوزیتی به روش قالب‌گیری مورد استفاده قرار گرفت. سپس خصوصیات فیزیکی، مکانیکی، ممانعت‌کنندگی، حرارتی و ساختاری فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. آنها دریافتند که نانوکامپوزیت‌های تولیدی در مطالعه حاضر به دلیل

\* Minimum Bacteriocidal Concentration

† Gas Chromatography

‡ Mass Spectrometry

§ plasticizers

خصوصیات فیزیکی مناسب، نفوذپذیری کم به بخار آب و ویژگی‌های مکانیکی مطلوب، قابلیت استفاده در کاربردهای بسته‌بندی را به خوبی دارا می‌باشند.

سعید رنجبریان و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی موضوع تاثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال کازئینات سدیم حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ پژوهش کردند. در این مطالعه فیلم‌های تازه با فیلم و محلول‌های پوشش‌دهی کازئینات سدیم حاوی ۵ درصد اسانس دارچین و ۲/۵ و ۵ درصد نانوفیبر سلولز تیمار شده و در یخچال نگهداری شدند و در روزهای ۰، ۴، ۸ و ۱۲، آزمون‌های شیمیایی (TV،TBA،pH) و آزمون‌های میکروبی (TVC و PTC) و همچنین ارزیابی حسی (رنگ، بو و پذیرش کلی) بر روی آنها انجام شد. آنها دریافتند که نمونه‌های شاهد و پوشش‌دار فراتر از حد مجاز بود. میزان باکتری‌های سرما دوست نیز در نمونه‌های بسته‌بندی شده با پوشش نسبت به نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم افزایش معنی‌داری را نشان داد.

سویل تکلوی و همکاران در سال ۲۰۲۰ بر روی موضوع استفاده از اسانس شوید همراه با نانوذرات اکسید روی در ساختار پوشش فعال بر پایه کربوکسی متیل سلولز جهت افزایش عمرماندگاری میگو تحت شرایط یخچال مطالعه کردند. در این پژوهش تولید پوشش خوراکی فعال بر پایه کربوکسی متیل سلولز (CMC) حاوی نانوذرات اکسید روی (ZnO) (۲/۲۳ درصد) و اسانس شوید با سطوح صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد به عنوان نگهدارنده طبیعی به منظور افزایش ماندگاری میگو در طول ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال صورت گرفت. آنها دریافتند که استفاده از ۳ درصد اسانس شوید به عنوان نگهدارنده طبیعی همراه با نانوذرات ZnO در ساختار پوشش خوراکی فعال بر پایه CMC برای نگهداری میگو در دمای یخچال توصیه می‌شود.

## روش تحقیق

### کلیه تهیه بیوفیلم:

محلول آبی از کربوکسی متیل سلولز به همراه ۱ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌ها تهیه شد. به مدت ۳ ساعت در تماس با نانوپلی پروپیلن قرار داده شد تا کربوکسی متیل سلولز و عصاره‌ها کاملاً در بافت پلی پروپیلن آغشته شود. سپس خمیر تهیه شده در کف پتری دیش پخش شد تا لایه‌هایی با قطر یکسان از بیوفیلم را تولید کند. پتری دیش‌ها به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه قرار داده شد تا خشک شود.

### تعیین غلظت‌های موثر از مواد

برای بررسی تاثیر غلظت‌های متفاوت از هر ماده ابتدا غلظت‌های موثر کربوکسی متیل سلولز و نانوپلی پروپیلن (۷۵٪ و ۵۰٪ و ۲۵٪) از هر یک تهیه شد و خصوصیات فیزیک و شیمی ظاهری آنها بررسی شد. بعد از تعیین غلظت موثر تولید بیوفیلم از نانوپلی پروپیلن و کربوکسی متیل سلولز، عصاره‌های آویشن و دارچین در غلظت‌های (۰ و ۱٪ و ۲/۵٪ و ۵٪ و ۱۰٪) به آنها اضافه شد.

### آزمون قابلیت نفوذ بخار

در آزمون قابلیت نفوذ بخار، فنجان‌های نفوذناپذیر شیشه‌ای که از قبل با محلول اشباع نیترات منیزیم پر شده بودند تا رطوبت نسبی ۵۳٪ حفظ شود، با فیلم پوشانده شده و به آنها چسبانده شدند. فنجان‌ها در دسیکاتوری که حاوی کلرید کلسیم بدون آب بود و رطوبت نسبی ۷۵٪ را ایجاد می‌کرد، قرار گرفتند. سپس درون یک انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و فنجان‌ها در فواصل زمانی مشخصی از دسیکاتور خارج شده و با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن شدند و تغییر وزن در طول زمان بررسی شد و تغییرات وزن به عنوان متغیر وابسته و زمان به عنوان متغیر مستقل رسم شد. با تقسیم نرخ عبور

بخار آب بر اختلاف فشار در دو طرف فیلم، میزان نفوذ فیلم به بخار آب محاسبه شد. حاصلضرب میزان نفوذ در ضخامت فیلم، میزان نفوذپذیری فیلم به بخار آب را نشان داد. (Hosseini et al., 2013)

### آزمون انحلال پذیری:

در ابتدا، یک فیلم به ابعاد ۴ در ۴ سانتی متر مربع در آون با دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شده و تا رسیدن به وزن ثابت وزن سنجی می شود. سپس نمونه های خشک شده در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط ثابت همزده قرار می گیرند. پس از این مدت، قطعات فیلم با کاغذ صافی از آب جدا شده و پس از خشک شدن در آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس وزن سنجی می شوند. میزان انحلال پذیری براساس اختلاف وزن گزارش می شود (Taqi et al., 2011).

### آزمون شفافیت:

در ابتدا، نمونه های فیلم مستطیل شکل در داخل ظرف حاوی نیترات منیزیم قرار می گیرند و پس از تعادل رطوبت روی سل دستگاه اسپکتروفتومتر، با چسب نواری شفاف چسبانده و در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار می گیرند. مقدار مطلوب در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت می شود (Tunç and Duman, 2007).

### تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم ها

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم ها: ۲۵ میلی گرم از هر نمونه فیلم در ۵ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی همزده می شود و ۰/۱ میلی لیتر از محلول فیلم به ۳/۹ میلی لیتر محلول DPPH افزوده می شود. سپس لوله های آزمایشی به مدت ۶۰ دقیقه در اتاق تاریک نگهداری می شوند. میزان جذب نمونه در مقابل متانول خالص و در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود. درجه بی رنگ شدن این ترکیب نشان دهنده قدرت ضد اکسیدانی رادیکال آزاد توسط اسانس است. درصد مهار براساس مقدار جذب نمونه و جذب شاهد محاسبه می شود و براساس آن، IC50 نمونه ها محاسبه می شود (Shojaee-Aliabadi et al., 2013).

### تعیین میزان فنول کل

برای اندازه گیری مجموع ترکیبات فنولی، از معرف فولین سیوکالتیو استفاده شد. در این روش، ۲۵ میلی گرم از هر نمونه فیلم در ۵ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی همزده می شوند. سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول اسانس، ۷ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو به آن اضافه می شوند. این مخلوط به مدت ۸ دقیقه در دمای اتاق نگهداری می شود. سپس ۱/۵ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۲ درصد وزنی/حجمی به مخلوط اضافه شده و حجم نهایی با آب مقطر به ۱۰ میلی لیتر رسانده می شود. لوله های آزمایشی در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت نگهداری می شوند و سپس میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود. با توجه به مقدار جذب، میزان ترکیبات فنولی محاسبه می شود (Siripatrawan et al., 2010).

### خاصیت ضد میکروبی بیوفیلم تهیه شده

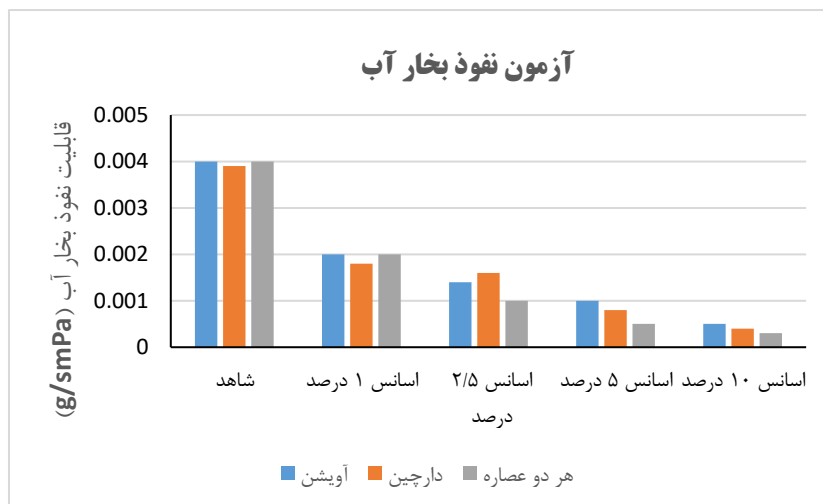
ابتدا، قطعات ۱ × ۱ سانتی متر از بیوفیلم روی محیط کشت نوترینت آگار قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه می شوند. در این روند، ابتدا یک کلنی از میکروبی های استافیلوکوکوس و اشیریشیا ای کولای به طور جداگانه روی محیط نوترینت آگار قرار داده می شود و با استفاده از لوپ در نزدیکی شعله، تلقیح می شوند. قطعات بیوفیلم روی پلیت آگار قرار می گیرند تا بیوفیلم در معرض میکروبی ها قرار بگیرد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، قطر هاله عدم رشد در پلیت ها اندازه گیری می شود. برای بررسی تأثیر زمان بر ماندگاری خاصیت ضد میکروبی، آزمون به ترتیب در هفته های اول، دوم، سوم و به همین ترتیب تا هفته ششم بعد از تهیه بیوفیلم، با ۳ تکرار انجام می شود و میانگین آنها گزارش گردید.

### آزمون حسی:

برای ارزیابی حسی، شاخص‌هایی مانند طعم و مزه، بو و پذیرش کلی از روش هدونیک ۵ امتیازی با کمک ۵ داور آموزش دیده استفاده گردید و امتیاز بندی کلی حاصل از مجموع امتیازات داده شده به شاخص‌های حسی (در سطوح ارزیابی یک تا پنج: ۱: خیلی ضعیف، ۲: ضعیف، ۳: متوسط، ۴: خوب، ۵: خیلی خوب) صورت گرفت (Lawless and Heymann, 2010).

### نتیجه‌گیری

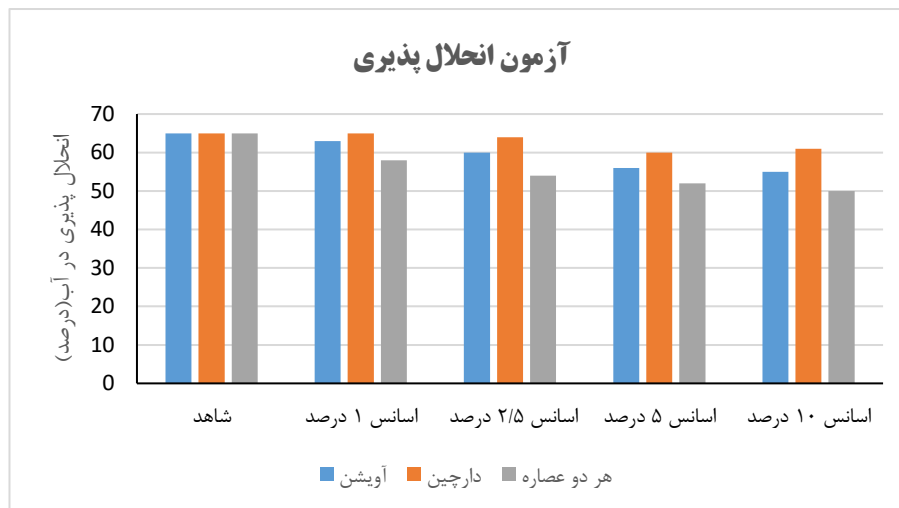
با توجه به اینکه مقاله مشابهی برای استفاده همزمان از ماده نانوپلی‌پروپیلن و کربوکسی متیل سلولز یافت نشد، تعیین غلظت این مواد یکی از چالش‌های مهم اجرای طرح بود که بدین منظور غلظت‌های موثر کربوکسی متیل سلولز و نانوپلی پروپیلن (۰.۷۵٪ و ۰.۵۰٪ و ۰.۲۵٪) از هر یک تهیه شد و خصوصیات فیزیک و شیمی ظاهری آنها بررسی شد. نتایج مشاهده و تست کشش و انسجام بافت حاصل در غلظت‌های متفاوت نشان داد که بیوفیلیم با نسبت‌های برابر از کربوکسی متیل سلولز و نانوپلی پروپیلن در کنار عصاره‌ها می‌تواند بهترین نتیجه را در تولید بیوفیلیم داشته باشد.



نمودار ۱: آزمون نفوذ بخار در بیوفیلیم تهیه شده

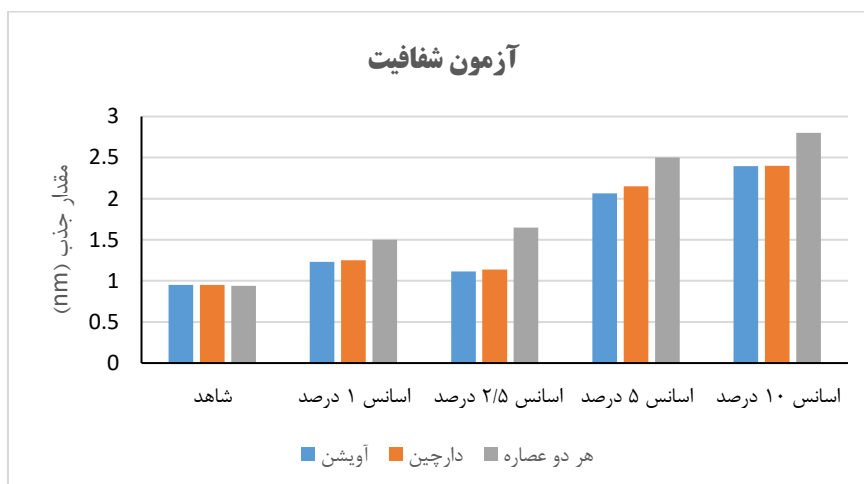


قابلیت نفوذ بخار آب یکی از مهمترین پارامترهای ارزیابی فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی و زیست تخریب پذیر است که ویژگی ممانعت کنندگی فیلم‌ها را در مقابل بخار آب نشان می‌دهد (Bagamboula et al., 2004). نتایج نشان می‌دهد که افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن و دارچین در فرمولاسیون فیلم‌های خوراکی بر پایه نانوپلی‌پروپیلن و کربوکسی متیل سلولز میزان نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب را به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش خواهد داد. به همین دلیل بالاترین شاخص نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب مربوط به تیمار شاهد و کمترین قابلیت مربوط به فیلم حاوی ترکیب ۱۰ درصد از هر اسانس است. قابلیت نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی وابسته به وجود ترکیبات آب دوست و آب گریز و برهم کنش آنها در ماتریس فیلم است (McHugh and Krochta, 1994). اسانس‌ها مانند ترکیبات روغنی به دلیل ماهیت آب‌گریزی خود باعث بهبود ویژگی‌های ممانعت کنندگی پلیمر در برابر آب می‌شوند. فاز چربی باعث افزایش فاکتور انحنا و پیچ و خم برای انتقال آب می‌شود که به دنبال آن فاصله عبور مولکول‌های آب از طریق ماتریس فیلم افزایش می‌یابد (Peng and Li, 2014). نتایج این کار تحقیقی نشان داد که استفاده از این دو اسانس به دلیل ایجاد قابلیت آب‌گریزی در فیلم، قابلیت نفوذ بخار آب فیلم را کاهش می‌دهد.



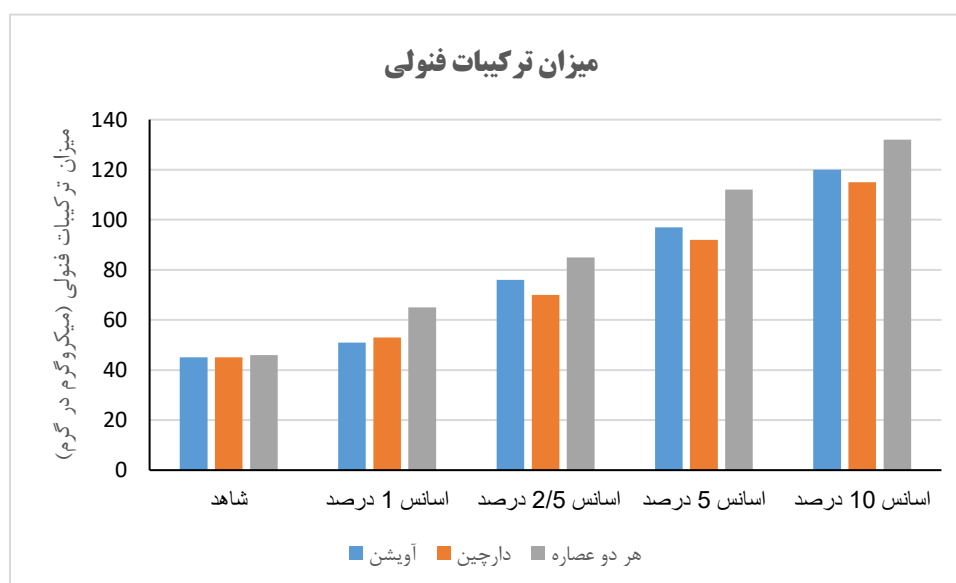
#### نمودار ۲: آزمون انحلال پذیری در بیوفیلم تهیه شده

نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد افزایش درصد اسانس از هر دو عصاره در فرمولاسیون فیلم‌های خوراکی میزان انحلال‌پذیری در آب را به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش می‌دهد و از این رو تیمار شاهد به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) در مقایسه با سایر تیمارها دارای بالاترین انحلال‌پذیری در آب و فیلم‌های خوراکی حاوی ۱۰ درصد از هر دو عصاره دارای پایین‌ترین میزان انحلال‌پذیری در آب است. احتمالاً به دلیل ماهیت آب‌گریزی اسانس‌ها خاصیت آب‌گریزی سطحی فیلم‌ها افزایش می‌یابد و از طرفی هم بین ترکیبات اسانس با گروه‌های هیدروکسیل پلیمر واکنش و تشکیل کمپلکس صورت می‌گیرد که همه این عوامل میزان انحلال‌پذیری فیلم‌ها را در آب کاهش خواهند داد. (Ojagh et al., 2010). نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های دیگر محققان نیز مطابقت دارد. پردا و همکاران (Pereda et al., 2010) گزارش دادند که با به کارگیری سدیم قابلیت انحلال فیلم در آب کاهش می‌یابد.



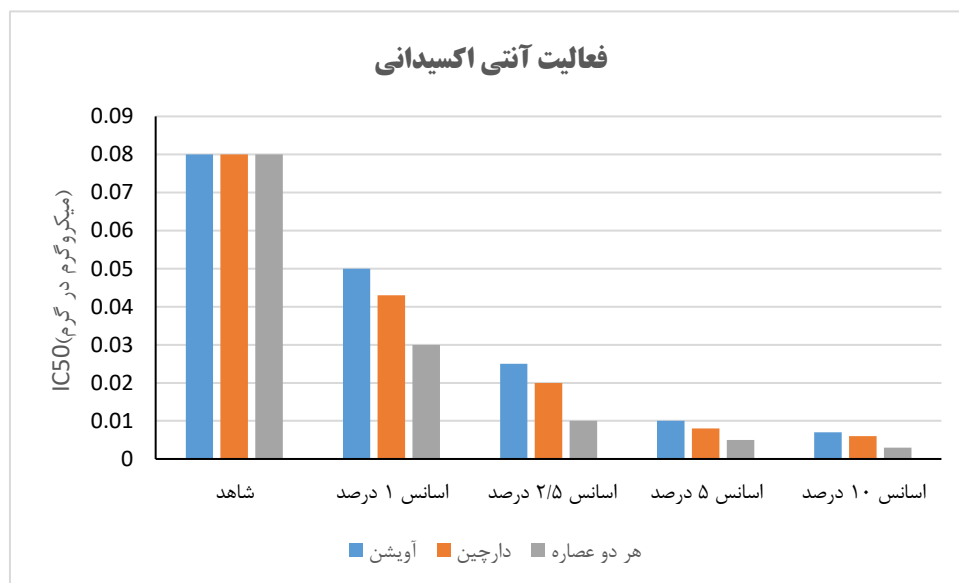
### نمودار ۳: آزمون شفافیت در بیوفیلم تهیه شده

هنگامی که فیلم‌ها به عنوان پوشش به منظور روکش کردن مواد غذایی استفاده می‌شوند، کدورت فیلم یکی از ویژگی‌های مهم آن محسوب می‌شود. ویژگی‌های بصری فیلم‌ها از قبیل شفافیت و رنگ و درخشندگی آنها می‌تواند قابلیت پذیرش و حتی کیفیت ماده غذایی را تحت تاثیر قرار دهد (Taqi et al., 2013). نتایج حاصل مشخص می‌کند که افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن و دارچین از صفر به ۱۰ درصد به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) شاخص روشنایی را کاهش می‌دهد. این نتایج با یافته‌های محققان دیگر نیز مطابقت دارد. تای و همکاران (Tai et al., 2011) گزارش دادند که افزایش غلظت روغن زیتون و اسیداولئیک در ساختار فیلم خوراکی تهیه شده از آلومین سفیده تخم مرغ موجب افزایش کدورت و کاهش شفافیت فیلم حاصل می‌شود.



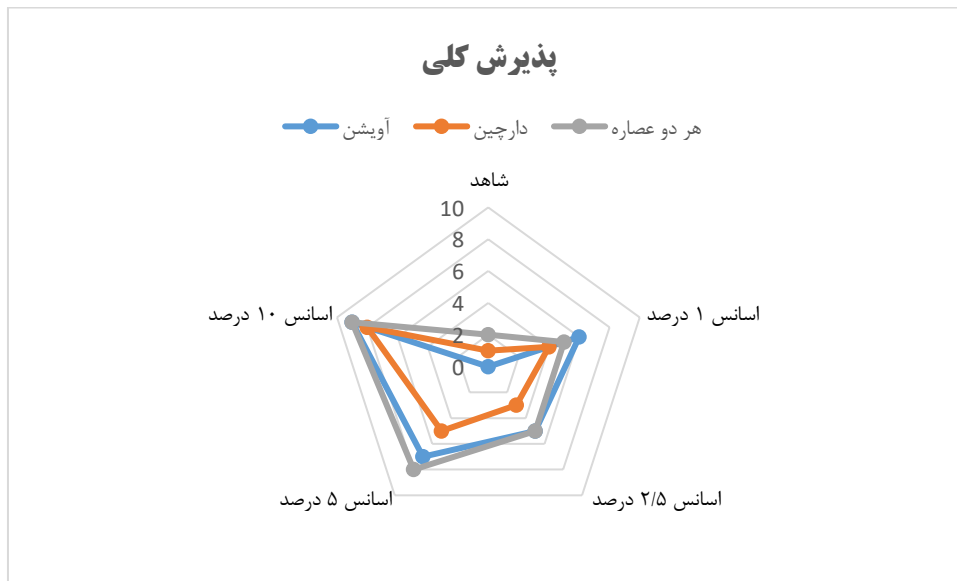
### نمودار ۴: آزمون میزان ترکیبات فنولی در بیوفیلم تهیه شده

نتایج به دست آمده از این پژوهش مشخص می‌کند با افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن و دارچین در فرمولاسیون فیلم خوراکی بر پایه نانوپلی پروپیلن و کربوکسی متیل سلولز به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) میزان ترکیبات فنولی را افزایش می‌دهد. به همین دلیل بالاترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به تیمار ۱۰ درصد اسانس آویشن و دارچین است. اسانس آویشن غنی از ترکیبات مانند تیمول، کارواکرول، لینالول، آلفا- ترپینول و ۱-۸ سینئول است (Lee et al., 2005). بنابراین افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن و دارچین در فرمولاسیون فیلم خوراکی سبب افزایش میزان ترکیبات فنولی در این ماتریس خواهد شد. این یافته‌ها با یافته‌های دیگر محققان در مطالعات دیگر مطابقت دارد. مرادی و همکاران (Moradi et al., 2012)، اسانس آویشن را در فرمولاسیون فیلم خوراکی بر پایه پروتئین زئین ارزیابی و مشخص کردند که افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن در ساختار فیلم‌های تولید شده منجر به افزایش میزان ترکیبات فنولی فیلم‌ها می‌شود.



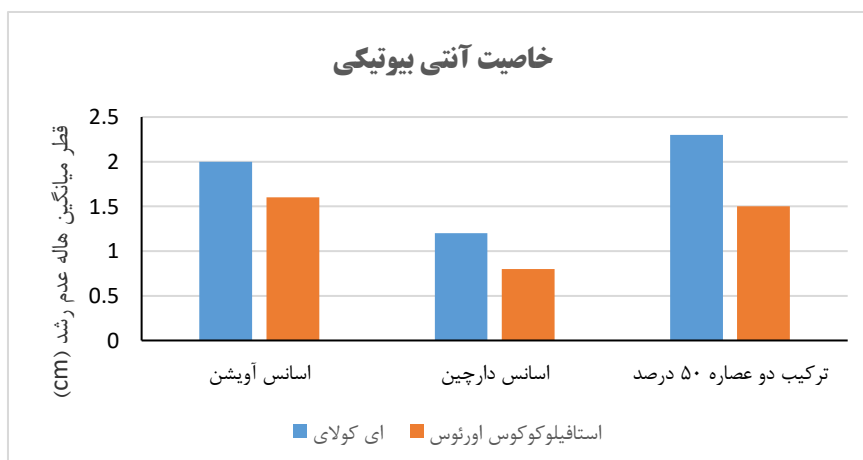
#### نمودار ۵: آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بیوفیلم تهیه شده

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش مشخص شد که افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن و دارچین در ساختار بیوفیلم به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) منجر به کاهش شاخص  $IC_{50}$  یا افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها می‌شود. بالاترین شاخص  $IC_{50}$  مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان آن در تیمار حاوی ۱۰ درصد از ترکیب اسانس‌ها مشاهده می‌شود. ترکیبات فنولی موجود گیاهان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند که عمدتاً به دلیل ویژگی‌های احیا کنندگی آنها است که این ویژگی شامل مهار رادیکال‌های آزاد، قابلیت هیدروژن دهنده و قابلیت خاموش کنندگی اکسیژن یگانه است (Mayachiew & Devahastin, 2010). قابلیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن در ارتباط با ترکیباتی مانند تیمول، کارواکرول، گاما-ترپینین، تیمول متیل اتر و کارواکرول متیل اتر است (Lee et al., 2005). بنابراین افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن در فرمولاسیون فیلم سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط این فیلم‌ها خواهد شد. داشی‌پور و همکاران (Dashipour et al., 2015) با مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس آویشن گزارش دادند که افزایش درصد اسانس آویشن منجر به افزایش میزان ترکیبات فنولی، افزایش قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها می‌شود.

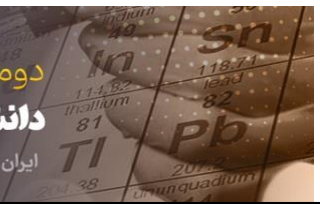


#### نمودار ۶: نتایج اسانس آویشن و دارچین روی پذیرش کلی

براساس نتایج به دست آمده مشخص شد که افزایش درصد به کارگیری اسانس آویشن و دارچین در فرمولاسیون فیلم و به کارگیری آن برای بسته بندی گوشت سبب افزایش امتیاز حسی نمونه ها می شود. به طوری که تیمار حاوی ۱۰ درصد از هر دو اسانس در مقایسه با دیگر تیمارها ویژگی های حسی مطلوبی را به دست آورده است. به همین دلیل دارای بالاترین امتیاز پذیرش کلی است. احتمالاً ترکیبات معطر فرار موجود در اسانس آویشن طی دوره نگهداری از ساختار بیوفیلم آزاد شده اند که موجب شده تا امتیاز حسی طعم و بو متناسب با افزایش غلظت اسانس در ساختار فیلم افزایش یابند و در نهایت به افزایش پذیرش کلی شود.



#### نمودار ۷: آزمون آنتی بیوگرام در بیوفیلم تهیه شده



مطالعات حاصل از بررسی آزمایش آنتی‌بیوگرام اسانس‌های آویشن و دارچین نشان داد که با ترکیب دو اسانس با هم تاثیر خاصیت آنتی‌بیوتیکی و هاله عدم رشد افزایش می‌یابد. به این ترتیب نتایج نشان می‌دهد که کمترین خاصیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به اسانس آویشن بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و بیشترین خاصیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به ترکیب دو اسانس بر روی باکتری ای کولای بود. همچنین اسانس آویشن در مقایسه با اسانس دارچین خاصیت آنتی‌بیوتیکی قوی‌تر دارد.

## بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی فیلم تجزیه‌پذیر بر پایه نانولی پروپیلن و کربوکسی متیل سلولز در بسته‌بندی گوشت بررسی شد. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که افزودن اسانس دارچین و آویشن به فیلم تجزیه‌پذیر سبب کاهش انحلال پذیری در آب، قابلیت نفوذ بخار آب می‌شود. همچنین افزایش غلظت اسانس‌ها در بیوفیلم تجزیه‌پذیر سبب افزایش میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این فیلم‌ها شد. طی بررسی نتایج این پژوهش با افزایش مقادیر اسانس آویشن و دارچین کاهش رشد باکتری‌های اشریشیا ای کولای و استافیلوکوکوس شده و زمان ماندگاری گوشت به طور متوسط از ۴ روز به سی روز افزایش یافت. نتایج حسی نیز مشخص کرد که نمونه بسته‌بندی شده حاوی ۱۰ درصد اسانس آویشن و دارچین دارای بالاترین امتیاز حسی نسبت به سایر تیمارها کسب کرده است.

## مراجع

- برومند، عاطفه، حامدی، منوچهر، امام جمعه، زهرا، رضوی، سید هادی. (۱۳۹۲). بررسی اثر ضد میکروبی فیلم خوراکی کازئینی حاوی اسانس آویشن شیرازی بر سه میکروارگانیسم بیماری‌زای غذائی. مجله علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۰ (۴۱): ۱۳-۲۱
- بیضاوی، انصاری، & دانش. (۲۰۲۰). تولید فیلم نانوکامپوزیتی تهیه شده از صمغ دانه به/ نانو کریستال سلولز و بررسی ویژگی‌های فیلم ترکیبی حاصل. علوم غذایی و تغذیه، ۱۷ (پاییز ۹۹)، ۹۳-۱۰۸.
- تکلی، سویل، مستقیم، تکتیم، & شهریاری. (۲۰۲۰). استفاده از اسانس شوید همراه با نانوذرات اکسید روی در ساختار پوشش فعال برپایه کربوکسی متیل سلولز جهت افزایش عمرماندگاری میگو تحت شرایط یخچال. علوم غذایی و تغذیه، ۱۷ (پاییز ۹۹)، ۴۹-۶۶.
- رضائی، پرستو & کسری کرمانشاهی، روحا. (۲۰۱۵). بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذره و فیلم کیتوزان بر دو گونه از باکتری‌های بیماری‌زا با منشا غذا. علوم غذایی و تغذیه، ۱۲ (تابستان ۹۴)، ۵-۱۲.
- رنجبریان، سعید، رضازاد باری، محمود، الماسی، هادی، ... & صابر. (۲۰۱۷). تاثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال کازئینات سدیم حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۴ (۷۱)، ۱۷۱-۱۸۴.
- سلطان دلال، بیات، منصور، یزدی، آقا امیری، قربانزاده مشکانی، ... & شجاعی سعدی. (۲۰۱۲). ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس گیاهی آویشن شیرازی بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از مواد غذایی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، ۱۷ (۲)، ۲۱-۲۹.
- شایسی، خنجری، آخوندزاده بستی، افشین، میتاچی، شهبازی، & تیموری فرد. (۲۰۱۸). مطالعه ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم پلی لاکتیک اسید حاوی اسانس کاکوتی کوهی، عصاره اتانولی بر موم و نانوذرات سلولز. تحقیقات مهندسی صنایع غذایی، ۱۷ (۲)، ۱۵-۲۸.
- فراهانی، شهیدی، فخری، & طباطبائی یزدی. (۲۰۱۹). بررسی اثر ضد میکروبی اسانس مرزه. *L hortensis Satureja* بر

- تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماریزا و عامل فساد. علوم و صنایع غذایی ایران-انجمن علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۵.
- میرحسینی مقدم، شریفان، انوشه، & سیدین اردبیلی. (۲۰۲۲). بررسی اثر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و ضد میکروبی فیلم تجزیه پذیر بر پایه ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی اسانس آویشن در بسته بندی نان پیتا. تحقیقات مهندسی صنایع غذایی، ۲۰(۲)، ۱۸۹-۲۰۶.
- نصرت الهی، کریم، برزگر، حسن، جوینده، & قربانی. (۲۰۱۸). بررسی تاثیر عصاره مرزه (*Satureja hortensis*) بر کیفیت و زمان ماندگاری گوشت مرغ نگهداری شده در یخچال. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۵(۸۲)، ۱۶۷-۱۷۶.
- Aghel, N., Moghimipour, E., & Abdolghani, A. (۲۰۰۹). Characterization of an anti-dermatophyte cream from *Zataria multiflora* Boiss. *Hamdard Medicus*, ۵۲(۲), ۳۸-۴۷
- Achachlouei, B. F., & Zahedi, Y. (۲۰۱۸). Fabrication and characterization of CMC-based nanocomposites reinforced with sodium montmorillonite and TiO<sub>2</sub> nanomaterials. *Carbohydrate polymers*, ۱۹۹, ۴۱۵-۴۲۵
- Arora, A., & Padua, G. W. (۲۰۱۰). Nanocomposites in food packaging. *Journal of Food science*, ۷۵(۱), R۴۳-R.۴۹
- Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., & Debevere, J. (۲۰۰۴). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food microbiology*, ۲۱(۱), ۳۳-۴۲
- Ballesteros, L. F., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (۲۰۱۸). Production and physicochemical properties of carboxymethyl cellulose films enriched with spent coffee grounds polysaccharides. *International journal of biological macromolecules*, ۱۰۶, ۶۴۷-۶۵۵
- Burt, S. (۲۰۰۴). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, ۹۴(۳), ۲۲۳-۲۵۳
- Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K., ... & Khaksar, R. (۲۰۱۵). Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. *International journal of biological macromolecules*, ۷۲, ۶۰۶-۶۱۳
- El Fewaty, N. H., El Sayed, A. M., & Hafez, R. S. (۲۰۱۶). Synthesis, structural and optical properties of tin oxide nanoparticles and its CMC/PEG-PVA nanocomposite films. *Polymer Science Series A*, ۵۸, ۱۰۰۴-۱۰۱۶
- Fatemi, H. (۲۰۰۵). *Food Science Chemistry*. Sahami Company Pub. Tehran. Iran (in Persian).
- Feng, Z., Wu, G., Liu, C., Li, D., Jiang, B., & Zhang, X. (۲۰۱۸). Edible coating based on whey protein isolate nanofibrils for antioxidation and inhibition of product browning. *Food Hydrocolloids*, ۷۹, ۱۷۹-۱۸۸
- Ghiafeh Shirzadi, A., & Sedaghat, N. (۲۰۲۲). An Overview of the Packaging of Synthetic Biodegradable Plastics.
- Han, J. H. (۲۰۰۳). Antimicrobial food packaging. *Novel food packaging techniques*, ۸, ۵۰-۷۰
- Hosseini, M. H., Razavi, S. H., & Mousavi, M. A. (۲۰۰۹). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of food processing and preservation*, ۳۳(۶), ۷۲۷-۷۴۳
- Kale, G., Kijchavengkul, T., Auras, R., Rubino, M., Selke, S. E., & Singh, S. P. (۲۰۰۷). Compostability of bioplastic packaging materials: an overview. *Macromolecular bioscience*, ۷(۳), ۲۵۵-۲۷۷
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (۲۰۱۰). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Springer Science & Business Media.
- Lee, S. J., Umamo, K., Shibamoto, T., & Lee, K. G. (۲۰۰۵). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food chemistry*, ۹۱(۱), ۱۳۱-۱۳۷

- Mayachiew, P., & Devahastin, S. (۲۰۱۰). Effects of drying methods and conditions on release characteristics of edible chitosan films enriched with Indian gooseberry extract. *Food Chemistry*, ۱۱۸(۳), ۵۹۴-۶۰۱
- McHUGH, T. H., Aujard, J. F., & Krochta, J. M. (۱۹۹۴). Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *Journal of food science*, ۵۹(۲), ۴۱۶-۴۱۹
- Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S. M. R., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., & Hadian, M. (۲۰۱۲). Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT-Food Science and Technology*, ۴۶(۲), ۴۷۷-۴۸۴
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (۲۰۱۰). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food chemistry*, ۱۲۲(۱), ۱۶۱-۱۶۶
- Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., & Zachariah, T. J. (Eds.). (۲۰۰۸). *Chemistry of spices*. Cabi.
- Peng, Y., & Li, Y. (۲۰۱۴). Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, ۳۶, ۲۸۷-۲۹۳
- Pereda, M., Aranguren, M. I., & Marcovich, N. E. (۲۰۱۰). Caseinate films modified with tung oil. *Food hydrocolloids*, ۲۴(۸), ۸۰۰-۸۰۸
- Shaikh, S., Yaqoob, M., & Aggarwal, P. (۲۰۲۱). An overview of biodegradable packaging in food industry. *Current Research in Food Science*, ۴, ۵۰۳-۵۲۰
- Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M., ... and Khaksar, R. ۲۰۱۳. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-carrageenan films containing Satureja hortensis essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*. ۵۲, ۱۱۶-۱۲۴
- Siripatrawan, U. and Harte, B. R. ۲۰۱۰. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*. ۲۴(۸): ۷۷۰-۷۷۵
- Suhaj, M. (۲۰۰۶). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of food composition and analysis*, ۱۹(۶-۷), ۵۳۱-۵۳۷
- Taqi, A., Askar, K. A., Nagy, K., Mutihac, L., & Stamatina, L. (۲۰۱۱). Effect of different concentrations of olive oil and oleic acid on the mechanical properties of albumen (egg white) edible films. *African Journal of Biotechnology*, ۱۰(۶۰), ۱۲۹۶۳-۱۲۹۷۲
- Tunç, S., & Duman, O. (۲۰۰۷). Thermodynamic properties and moisture adsorption isotherms of cottonseed protein isolate and different forms of cottonseed samples. *Journal of Food Engineering*, ۸۱(۱), ۱۳۳-۱۴۳
- Vidal, O. L., Tsukui, A., Garrett, R., Rocha-Leão, M. H. M., Carvalho, C. W. P., Freitas, S. P., ... & Ferreira, M. S. L. (۲۰۲۰). Production of bioactive films of carboxymethyl cellulose enriched with green coffee oil and its residues. *International journal of biological macromolecules*, ۱۴۶, ۷۳۰-۷۳۸
- Wu, J. J., & Yang, J. S. (۱۹۹۴). Effects of gamma irradiation on the Volatile Compounds of ginger Rhizome (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of agricultural and food chemistry*, ۴۲(۱۱), ۲۵۷۴-۲۵۷۷
- Zhong, T., Liang, Y., Jiang, S., Yang, L., Shi, Y., Guo, S., & Zhang, C. (۲۰۱۷). Physical, antioxidant and antimicrobial properties of modified peanut protein isolate based films incorporating thymol. *RSC advances*, ۷(۶۶), ۴۱۶۱۰-۴۱۶۱۸