تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/جلد ۲۰/ شماره ۷۱/پاییز و زمستان ۱۴۰۰/ص ۹۶-۸۵
سایت مجله: https://fooder.areeo.ac.ir

نوع مقاله: علمی-پژوهشی

مطالعه اثرهای ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین – نانوسلولز حاوی درصدهای مختلف کتیرا و اسانس‌های گاو زیره و کاکوتی کوهی بر برخی باکتری‌های بیماریزای غذازاد

کوثر عقبایی[۱]، علی خنجری[۱*]، افشین آخوندزاده بستی[۱]، محمد کاظم کوهی[۲]، نجمه مقیمی[۱]، نیما بالانی مقدم[۱]، رضا تیموری فرد[۱] و دامون بریری[۳]

۱- استادیار و دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران
۲- دانشیار،گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران
۳- دانشجو و دانش آموخته دکتری، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۱۷

چکیده

افزایش سلامت و زمان نگهداری مواد غذایی از مهمترین دغدغه‌های صنایع غذایی است. برای بهبود این امر می‌توان به استفاده از فیلم زیست‌تخریب‌پذیر روشی نوین در صنعت بسته بندی و ترکیب آن با تکنولوژی‌هایی همچون فناوری نانو و در کنار آنها به‌کارگیری مواد گیاهی طبیعی با ویژگی‌های ضد میکروبی اشاره کرد. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین - نانوسلولز حاوی اسانس گاوزیره (۰/۹، ۰/۶، ۰/۳ و صفر درصد حجمی-حجمی)، اسانس کاکوتی کوهی (۰/۹، ۰/۶، ۰/۳ و صفر درصد حجمی-حجمی) و کتیرا (غلظت صفر و ۱ درصد وزنی- حجمی)، تنها یا توام، است. به منظور اندازه گیری میزان فعالیت ضدباکتریایی این فیلم‌ها، روش انتشار دیسک به کار گرفته شد. در زمینه اثر ضد میکروبی فیلم‌ها مشخص گردید فیلم ژلاتین-نانوسلولز به تنهایی یا به همراه کتیرا یا به همراه ۰/۳ درصد اسانس کاکوتی کوهی بر هیچ یک از میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه اثری ندارد. همچنین بیشترین میزان هاله عدم رشد در موضوع فیلم‌های ژلاتین حاوی ۰/۹ درصد اسانس کاکوتی کوهی و ۰/۹ درصد اسانس گاوزیره مرتبط با *لیستریا مونوسیتوژنز* به میزان ۲۲/۲۲ میلی‌متر مشاهده گردید. بنابر یافته‌های این مطالعه، فیلم ژلاتین-نانوسلولز حاوی اسانس کاکوتی کوهی، اسانس گاوزیره و کتیرا با توجه به ویژگی‌های ضد میکروبی مطلوبشان می‌توانند در مواد غذایی مصرف شوند.

واژه‌های کلیدی

اسانس، نانوسلولز، فیلم ضد میکروبی، ژلاتین، کتیرا

مقدمه

تمایل مصرف کنندگان به استفاده از مواد غذایی بدون نگهدارنده یا حاوی نگهدارنده‌های طبیعی در سال‌های اخیر در کنار مخاطرات و

* نگارنده مسئول: Email: Khanjari@ut.ac.ir
http://doi: 10.22092/fooder.2020.125287.1201
© 2021,The Author(s). Published by Agricultural Engineering Research Institute. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مضرات بسته بندی‌های پلاستیکی و سنتی و کاهش ذخایر نفتی، موجب شده است رویکردها به تولید بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر با قابلیت خوراکی جلب شود تا آنجا که میزان تولید بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر از ۳/۴ درصد در سال به ۵/۴ درصد در سال افزایش یافته است. تحقیقات روی بسته بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر حاوی ترکیبات ضد میکروبی فراوان است (Ghanbarzade *et al.*, 2011; Aider, 2010; Tajkarimi *et al.*, 2010; Mohammadi Yazdi & Akbarishad, 2013; Shavisi *et al.*, 2018).

فیلم‌های خوراکی دارای خاصیت ضد میکروبی شامل ماتریکسی یکنواخت و قابل مصرف بر پایه ترکیباتی مانند پلی ساکارید، لیپید و پروتئین با توان جای‌دادن مواد ضد میکروبی در خود، ایده‌ای جدید در علم بسته‌بندی هستند و به صورت لایه‌ای نازک روی سطح مواد غذایی، برای محافظت از آنها، قرار می‌گیرند (Ekrami *et al.*, 2013; Petrou, *et al.*, 2012). ژلاتین از فراوری کلاژن درون پوست و استخوان جانوری به‌دست می‌آید و به سبب خوراکی بودن، ایجاد ویسکوزیته، داشتن قابلیت تشکیل ژل، شفافیت، الاستیسیته، قوام مناسب، نداشتن بوی نامطبوع و غیر سمی بودن پتانسیل خوبی برای تولید پایه ساخت فیلم خوراکی دارد (Nowzari *et al.*, 2013). در فناوری نانو، اندازه ترکیبات در محدوده ۱-۱۰۰ نانومتر می‌گردد که این کاهش اندازه می‌تواند موجب تولید موادی جدید با ویژگی‌ها، کارکردها و قابلیت‌های متفاوت شود (Afra *et al.*, 2013).

صمغ کتیرا از گیاه گون به‌دست می‌آید که در شرایط اسیدی ویسکوزیته بالایی از خود نشان می‌دهد و حاوی مقداری پروتئین و سلولز است. با بهره‌گیری از ویژگی‌های صمغ‌ها مانند توانایی ایجاد ژل، ضخیم کنندگی و امولسیون کنندگی، می‌توان خصوصیات فیلم بسته بندی مورد استفاده در صنایع بسته بندی را بهبود بخشید (Mohammadifar *et al.*, 2009).

اسانس‌های گیاهی مایعات روغنی فرار و آروماتیکی هستند که به‌طور معمول با روش تقطیر از بخش‌های مختلف گیاهان استحصال می‌شوند. تاکنون در مطالعات مختلف ویژگی ضد میکروبی چندین اسانس‌های گیاهی تأیید و مشخص شده است میزان ترکیبات فنلی بیشترین تأثیر را بر خاصیت ضد میکروبی اسانس‌ها دارد (Tajkarimi, *et al.*, 2010). افزودن مقادیر بالای اسانس در مواد غذایی به‌صورت مستقیم، به سبب ایجاد تغییرات ارگانولپتیک، مطلوب نیست و از این رو برای جلوگیری از آثار نامطلوب می‌توان آنها را به فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی یا زیست‌تخریب‌پذیر اضافه کرد (Shavisi *et al.*, 2017).

کاکوتی‌کوهی گونه *clinopodioides* از جنس گیاه *Ziziphora* است و به نسبت وسیعی در استان های‌غربی کشور به ویژه کرمانشاه، کردستان، ایلام و لرستان یافت می‌شود (Behravan *et al.*, 2007). این گیاه و مشتقات آن در طب سنتی در رفع اختلالات دستگاه‌های قلبی- عروقی و گوارش و در درمان سرماخوردگی، افسردگی، سرفه، میگرن و تب کاربرد دارد. از ترکیبات مهمی که تا کنون در این اسانس شناسایی شده است می‌توان به Pulegone، 1,8-cineole، Limonene اشاره کرد (Aghajani *et al.*, 2008). گاوزیره با نام علمی *Polylophium involucratum* گیاهی است بومی ایرانی از خانواده چتریان که در شمال غرب ایران و ارتفاعات البرز شمالی می‌روید، همچون کاکوتی‌کوهی، از این گیاه

1- Disk Diffusion Assay

نیز برای درمان اختلالات گوارشی استفاده می‌شود (Jamil *et al.*, 1992). گاوزیره سرشار از اسانس با ترکیبات پی – منتال ۱، ۴-دیان-۷-آل، گاما-ترپینن، بتا-پنین و کومینالدهید است (Verdian Rizi & Hadjianakhoondi, 2007).

مصرف مواد غذایی آلوده به میکروارگانیسم‌های بیماریزا می‌تواند موجب ایجاد بیماری در مصرف کنندگان شود و در این بین از باکتری‌ها به عنوان یکی از مهمترین موارد آلوده کننده یاد می‌شود (Khanjari *et al.*, 2013). در این مطالعه، اثرهای ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین/ کتیرا حاوی اسانس‌های گاو زیره و کاکوتی‌کوهی بر برخی باکتری‌های بیماریزای غذازاد بررسی شده است، باکتری‌هایی مانند *سالمونلا تیفی موریوم*[1] (از خانواده انتروباکتریاسه، گرم منفی هوازی و بی هوازی اختیاری)، *اشریشیاکلی*[2] (باکتری گرم منفی، بی هوازی اختیاری، میله‌ای شکل و از خانواده انتروباکتریاسه)، *لیستریا مونوسیتوژنز*[3] (باکتری گرم مثبت، متحرک، غیر اسپورزا، کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی، بی هوازی و داخل سلولی اختیاری) و *باسیلوس سرئوس*[4] (باکتری گرم مثبت، اسپورزا، میله‌ای شکل بی‌هوازی اختیاری و متعلق به خانواده باسیلاسه‌آ).

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس کاکوتی کوهی و گاو زیره

هر بار ۱۰۰ گرم از قسمت برگ گیاه کاکوتی کوهی و میوه گیاه گاوزیره، که به ترتیب از استان‌های کرمانشاه و مازندران جمع آوری شده بود، به دستگاه کلونجر منتقل و با روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد؛ رنگ اسانس استحصالی کاکوتی کوهی و گاوزیره به ترتیب زرد و آبی بود. اسانس به‌دست آمده در ظرف‌های شیشه‌ای تیره و در دمای یخچال تا زمان استفاده نگهداری شد. ترکیبات موجود در اسانس‌ها مطابق روش شرح داده شده توسط خنجری و همکاران در سال ۲۰۱۳، شناسایی شد (Khanjari *et al.*, 2013; European Pharmacopoeia, 1997).

تهیه فیلم ژلاتین / کتیرا

محلول ژلاتین حاوی ژلاتین (۶ گرم) و نانوسلولز (۱ گرم) با کتیرا (صفر و ۱ گرم ماده خشک کتیرا) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق روی همزن مغناطیسی تهیه شد. محلول به دست آمده در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه گرم و به‌طور متناوب هم‌زده شد. برای جلوگیری از ایجاد حباب و دناتوره شدن (واسرشتی) ژلاتین و همچنین خاصیت پلاستی سایزری، گلیسرول (۱/۵ درصد حجمی-حجمی) با هم‌زدن یکنواخت و آرام به محلول اضافه شد. tween80 به میزان ۰/۲۵ درصد محلول نیز به عنوان امولسیفایر، هنگامی که محلول تا دمای ۴۰ درجه سلسیوس خنک شد، اضافه گردید، غلظت‌های موردنظر اسانس‌های گیاه کاکوتی کوهی و گاو زیره (۰/۹، ۰/۶، ۰/۳ و صفر درصد حجمی) به محلول افزوده و محلول تشکیل دهنده فیلم در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه به خوبی هموژن شد. محلول آماده شده روی پلیت های شیشه‌ای ۱۲ سانتی متری پخش شد و پس از تبخیر آب در دمای اتاق، پس از ۳۶ ساعت فیلم‌های تهیه شده از قالب‌ها جدا گردید.

1- *Salmonella* spp
2- *Scherichia coli*
3- *Listeria monocytogenes*
4- *Bacillus cereus*

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده

چهار میکروارگانیسم *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC 19118، *باسیلوس سرئوس* ATCC 11778، *سالمونلا تیفی موریوم* ATCC 13311 و *اشریشیاکلی* O157:H7 ATCC 35218 در این مطالعه به‌کار گرفته‌شدند. میکروارگانیسم‌های مورد نظر در گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند.

آماده سازی کشت‌های باکتریایی

میکروارگانیسم‌هایی که درون میکرواپندورف و در دمای ۲۰- سلسیوس ذخیره شده بودند به ۱۰ میلی لیتر محیط آبگوشت قلب و مغز منتقل و دو بار متوالی به مدت ۱۸±۲ ساعت در ۳۵±۲ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. مقادیر مختلفی از کشت ۱۸ ساعته دوم به لوله‌های کووت حاوی ۴ میلی لیتر آبگوشت قلب و مغز استریل اضافه شد و جذب نوری آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. در هنگام رسیدن جذب نوری به ۰/۱ از محتویات لوله‌های کووت رقت‌های مختلف تهیه و کشت در پلیت برای شمارش باکتری‌ها در این جذب نوری دنبال شد (Basti *et al.*, 2014).

تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

از روش انتشار دیسک[1] برای تعیین میزان فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها استفاده شد. برای این کار، ۱۰۰ میکرولیتر کشت باکتری‌ها که حاوی ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی لیتر بود، به محیط مولر هینتون تلقیح گردید. دیسک‌هایی از فیلم‌های تهیه شده حاوی غلظت‌های موردنظر اسانس‌ها به قطر ۱۰ میلی‌متر، پس از پانچ شدن، در مرکز پلیت قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. قطر هاله روشن اطراف فیلم با عنوان ناحیه ممانعت از رشد با دو روش اندازه گیری با کولیس و استفاده از نرم افزار ImageJ 1.47 محاسبه گردید (Mihajilov-krstev, *et al.*, 2010).

آنالیز آماری

برای کلیه روش‌ها و بررسی‌های آماری مورد نظر این مطالعه از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. آنالیز آماری با آزمون واریانس یکطرفه به همراه تست تکمیلی توکی مقایسه تیمارها صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

در آنالیز اسانس کاکوتی کوهی معلوم شد بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مذکور از این قرارند: گرانیول (۲۰/۶۲ درصد)، کارواکرول (۱۸/۱۷ درصد) و آلفا ترپینول (۷/۴۹ درصد) (جدول ۴-۱). در جدول ۴-۲ نیز نشان داده شده است ترکیبات اصلی اسانس بذر گیاه گاوزیره عبارت‌اند از: متیل بنزوات (۴۹/۱۵ درصد) و لیمونن (۳۳/۰۸ درصد).

نتایج فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه در تماس با فیلم‌های ژلاتین-نانوسلولز حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کاکوتی کوهی و اسانس گاوزیره و کتیرا در جدول ۵-۳ نمایش داده شده است همانگونه که از جدول پیداست، فیلم ژلاتین- نانوسلولز به تنهایی یا به همراه کتیرا یا به همراه ۰/۳ درصد اسانس کاکوتی کوهی اثری بر هیچ یک از میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه نداشت. اضافه کردن میزان ۰/۶ درصد اسانس کاکوتی کوهی به فیلم ژلاتین-نانوسلولز تنها و ژلاتین-نانوسلولز حاوی کتیرا سبب ایجاد هاله عدم رشد مرتبط با دو میکروارگانیسم گرم مثبت

(*باسیلوس سرئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز*) شد اگرچه هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم منفی (*اشریشیاکلی O157:H7* و *سالمونلا تیفی موریوم*) مورد مطالعه مشاهده نشد. با افزایش غلظت اسانس کاکوتی کوهی به ۰/۹ درصد در فیلم‌های مورد مطالعه، هاله عدم رشد مرتبط با تمامی میکروارگانیسم‌ها مشهود بود. همچنین، هاله عدم رشد ایجاد شده با فیلم‌های ژلاتین-نانوسلولز حاوی کتیرا به‌صورت غیر معنی‌دار ($p<0.05$) نسبت به فیلم‌های ژلاتین-نانوسلولز کمتر بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد افزودن ۰/۶ درصد اسانس گاوزیره به فیلم‌های مذکور موجبشده است هاله عدم رشد مرتبط با تمامی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه ایجاد شود. بیشترین میزان هاله عدم رشد مرتبط با فیلم‌های ژلاتین-نانوسلولز حاوی ۰/۹ درصد اسانس کاکوتی کوهی و ۰/۹ درصد اسانس گاوزیره در مورد *لیستریا مونوسیتوژنز* مشاهده شده‌است.

امروزه تولیدکنندگان مواد غذایی به دنبال هدف‌هایی مهم مانند بالابردن زمان نگهداری قفسه‌ای محصولاتشان هستند. در این میان، عواملی مانند تغییرات میکروبی، شیمیایی، آنزیمی و خصوصیات حسی می‌تواند این مدت زمان را دستخوش تغییراتی کند. از روش‌های نوین افزایش طول عمر مواد غذایی، به کارگیری مشتقات قابل استخراج گیاهان تحت عنوان اسانس‌ها و عصاره‌ها با خواص ضدمیکروبی در قالب فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است. از مهم‌ترین مزایای این روش باقی ماندن صورت ترکیبات ضدمیکروبی در یک غلظت بالا و برای مدت طولانی در سطح فرآورده است (Moradi *et al.*, 2012; Ojagh *et al.*, 2010).

در خصوص ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های مورد مطالعه، همان‌گونه که بیان شد بیشترین ترکیبات اسانس کاکوتی کوهی را گرانیول (۲۰/۶۲ درصد)، کارواکرول (۱۸/۱۷ درصد) و آلفا ترپینول (۷/۴۹ درصد) تشکیل می‌دهند (جدول ۴-۱). در اسانس گاوزیره متیل بنزوات (۴۹/۱۵ درصد) و لیمونن (۳۳/۰۸ درصد) ترکیبات اصلی اسانس تشخیص داده شده‌اند. باباخانلو و همکاران (Babakhanlou *et al.*, 1999) در تحقیقاتی ترکیبات تشکیل دهنده کاکوتی (*Z.tenuir*) را با اسانس‌گیری از قسمت‌های هوایی این گیاه، که در فصل بهار از تهران جمع آوری شده بود، این گونه گزارش کرده‌اند که بازده اسانس نسبت به وزن خشک گیاه ۸ درصد و ترکیبات اصلی شامل پولگون (۸۲/۶ درصد) لیمونن (۶/۸ درصد)، و ۱، ۸ – سینئول (۱/۹ درصد) است. بررسی‌های آقاجانی و همکاران (Aghajani *et al.*, 2008) روی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس کاکوتی کوهی نشان می‌دهد که کارواکرول (۸/۷ درصد) و تیمول (۵۳/۶ درصد) بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه کاکوتی کوهی هستند.

در زمینه شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گاوزیره نیز مطالعات مختلفی صورت گرفته است برای مثال شفر و همکاران (Scheffer *et al.*, 1986) گزارش داده‌اند که سابنین (۱۲ درصد)، گاما ترپینن (۲۶ درصد)، پاراسیمن (۱۱ درصد)، و کومین آلدهید (۱۲ درصد) ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گاوزیره هستند. در تحقیقات وردیان ریزی و حاجی آخوندی (Verdian Rizi & Hadjiakhoondi, 2007) گفته شده است که بیشترین ترکیب تشکیل دهنده گاوزیره، لیمونن (به میزان ۶۰/۳۹ درصد) است. کاشی پز و نعمت الهی (Kashipaz & Nematollahi, 2005) نیز می‌گویند گاماترپینن

(۲۰/۷۱ درصد) و سابنین (۱۴/۸۶ درصد) ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس گاوزیره هستند. در مطالعه حاضر معلوم شده است که ۳۴/۷۲ درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گاوزیره لیمونن و مشتقات آن است. باید توجه داشت که ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها با فاکتورهای مانند فصل برداشت، نوع خاک، وضعیت آب و هوا در محل رویش، جنس گیاه، قسمتی از گیاه که برای اسانس‌گیری استفاده شده و سایر تفاوت‌ها تغییر می‌کند (Burt, 2004).

تحقیقات مختلف مشخص می‌کند به کارگیری نانوسلولز در مواد غذایی موجب بهبود طعم، بو، رنگ، بافت و ثبات موادغذایی و به کارگیری آن در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر موجب تقویت پلیمرها می‌شود. این ماده در کنار پایه‌ای ژلاتینی می‌تواند به خوبی مواد ضد میکروبی را در بافت فیلم‌ها نگه‌دارد (Nigrawal *et al*., 2012; Rebouillat & Pla, 2013; Zhou *et al*., 2012).

چودری و همکاران (Chaudhry *et al*., 2008) نشان دادند نانوسلولز به دلیل بالا بودن نسبت سطح به حجم آن قادر به ایجاد تبلور و فعالیت خواهد بود و مقاومت خوبی در برابر آنزیم‌های پروتئولیتیک، اسید و دمای بالا دارد.

مطالعات مختلف نشان می‌دهد تأثیر اسانس‌های روغنی بر باکتری‌های گرم مثبت، از تأثیر آنها بر باکتری‌های گرم منفی کمی بیشتر است. اگر چه تاثیرات متفاوت هر یک از اجزای اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به اثبات رسیده است.

نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر با نتایج بررسی‌های مهرابیان و همکاران (Mehrabian *et al*., 1997) مطابقت دارد. این محققان می‌گویند اثر ضد باکتریایی در اسانس کاکوتی به دلیل وجود پولگون[1] است و نیز اعلام کرده‌اند اثر مهارکنندگی عصاره کاکوتی کوهی روی باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* را مشاهده کرده‌اند. نتایج بررسی‌های این محققان نشان می‌دهد عصاره کاکوتی می‌تواند تا حدودی از رشد باکتری‌های گرم منفی *انتروباکترآئروژنز*[2]، *اشریشیاکلی*، *کلبسیلا اکسی توکا*، *سالمونلا تیفی*، *سالمونلا پاراتیفی* و *شیگلا دیزنتری* جلوگیری کند ولی بیشترین اثر را بر باکتری‌های گرم مثبت دارد.

تحقیقات روی اثرضدمیکروبی اسانس کاکوتی بومی ترکیه نتایج مشابهی به دست داده است. نشان داده‌شده است که اسانس کاکوتی می‌تواند از رشد باکتری‌های گرم منفی *اشریشیاکلی* و *انتروباکترآئروژنز* جلوگیری کند ولی اثری بر *سودوموناس آئروژینوزا* ندارد اما اثر قابل توجهی بر باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* دارد (Kivanc & Akguel , 1986).

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه با نتایج تحقیقات صالحی و همکاران (Salehi *et al*., 2005) همخوانی دارد؛ آن‌ها اثر بازدارنده اسانس کاکوتی کوهی را بر رشد باکتری‌های گرم منفی *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا نومونیا* و همچنین باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* نشان دادند و عدم فعالیت ضدمیکروبی اسانس کاکوتی کوهی در مقابل *سودوموناس آئروژینوزا* نیز در بررسی آنها مشاهده می‌شود.

در نتایج مطالعات آلپارسلان و همکاران (Alparslan *et al*., 2017)روی اثر ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین حاوی اسانس‌های پرتقال در میگو این گونه گفته شده است که بیشترین قطر هاله عدم

1- Pulegone
2- *Enterobacter aerogenes*

رشد مرتبط با فیلم ژلاتین حاوی اسانس مربوط است به *استافیلوکوکوس اورئوس* در حالییکه کمترین میزان هاله عدم رشد در *اشریشیاکلی* مشاهده شده است.

ترکیب و خاصیت ضد باکتری اسانس کاکوتی در مطالعات چیت ساز و همکاران (Chitsaz *et al.*, 2007) نیز روی چندین گونه از باکتری‌ها بررسی و مشخص گردید که اسانس از رشد همه ارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد آزمایش جلوگیری کرده و بیشترین اثر را بر *سالمونلا تیفی موریوم* (با MIC 225 میکروگرم در میلی لیتر) داشته است.

در مطالعات وو و همکاران (Wu *et al.*, 2017) در خصوص اثرهای ضد میکروبی فیلم ژلاتین حاوی درصدهای مختلف اسانس دارچین بر جلوگیری از رشد *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* گفته شده فیلم مذکور حاوی غلظت ۱ درصد اسانس است و توان بیشتری برای ایجاد هاله عدم رشد در ارتباط با دو باکتری مذکوردارد. همچنین، قطر هاله عدم رشد مرتبط با *استافیلوکوکوس ارئوس* نسبت به قطر هاله عدم رشد مرتبط با *لیستریا* بیشتر بود.

کامکار و همکاران (Kamkar *et al.*, 2017) نشان دادند نمونه‌های مرغ بسته‌بندی‌شده با فیلم‌های کیتوزان حاوی درصدهای مختلف اسانس زیره سیاه، نسبت به نمونه‌های شاهد، مقادیر پایین‌تری از عوامل شیمیایی و میکروبی دارند ($p<0.05$). این محققان به‌طورکلی روند مثبت وابسته به دوز را با افزودن اسانس مشاهده کرده‌اند.

رافائل و همکاران (Raphaël *et al.*, 2017) مشخص کردند فیلم کیتوزان حاوی غلظت‌های پایین اسانس پونه کوهی و آویشن توانایی مهار رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشریشیاکلی* را دارد ولی در غلظت‌های مذکور از رشد باکتری‌های مفیدی مانند *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *انتروکوکوس فاسیوم* جلوگیری نمی‌کند.

شهبازی و شاویسی (Shahbazi & Shavisi, 2018) اثر ضد میکروبی فیلم‌های نانوکیتوزان حاوی اسانس نعنا فلفلی و عصاره‌های پوسته انار و هسته انگور را بر باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *اشریشیاکلی*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس ارئوس* و *سالمونلا تیفی موریوم* بررسی کردند. نتایج به دست آمده از این مطالعه حاضر با نتایج به‌دست آمده از مطالعات آن محققان همخوانی دارد که گفته‌اند بیشترین اثر ممانعت کنندگی بر باکتری‌های گرم مثبت و بیشترین هاله عدم رشد نیز در ارتباط با *لیستریا مونوسیتوژنز* مشاهده شده است.

نتیجه‌گیری

فیلم ژلاتین-نانوسلولز حاوی اسانس کاکوتی کوهی، اسانس گاوزیره و کتیرا دارای خواص ضد میکروبی مطلوبی است و با عنایت به ویژگی زیست‌تخریب‌پذیری آنها، در صورت استفاده از این فیلم‌ها در بسته بندی مواد غذایی، علاوه بر تضمین سلامت مواد غذایی می‌توانند در کاهش آلودگی محیط زیست نقش بسزایی داشته باشد. از این رو پیشنهاد می‌شود در زمینه بسته بندی مواد غذایی مختلف با این فیلم‌ها تحقیقات بیشتری صورت گیرد.

تعارض منافع

نویسندگان در خصوص انتشار مقالهٔ ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافعی تجاری در این راستا وجود ندارد.

مراجع

Afra, A., Alinia, S. and Yousefi, H. 2013. The effect of mixing time of dough suspension and cellulose nanofibers on reinforced paper properties that made, Journal of Science and Technology of Wood and Wood. 20(2): 151-160. (In Persian)

Aghajani, Z., Assadian, F., Masoudi, S., Chalabian, F., Esmaeili, A., Tabatabaei-Anaraki, M., and Rustaiyan, A. 2008. Chemical composition and in vitro antibacterial activities of the oil of *Ziziphora clinopodioides* and *Z. capitata* subsp. *capitata* from Iran. Chemistry of Natural Compounds. 44(3): 387-389.

Aider, M. 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. LWT - Food Science and Technology. 43, 837-842.

Alparslan, Y., Metin, C., Yapıcı, H. H., Baygar, T., Günlü, A. and Baygar, T. 2017. Combined effect of orange peel essential oil and gelatin coating on the quality and shelf life of shrimps. Journal of Food Safety and Food Quality. 68(3): 53–80.

Babakhanlou, M., Mirza, M., Sefidkan, F., Ahmadi, L., Barazande, M., Asgari, F. 1999. Investigation of constituent Components of *Z.clinopodoioides* L. essential oil. Researche Journal of Medical Plants. NO. 2, 103-114. (In Persian)

Basti, A.A., Mashak, Z., Khanjari, A., Rezaei, A., Mohammadkhan, F., Taheri, M.A., Faghih Fard, P. and Tayar, N. 2014. The study on the effects of garlic essential oil on growth curve and TDH toxin production of *Vibrio parahaemolyticus*. Journal of Medical Plants. 2 (50):156-62. (In Persian)

Behravan, J., Ramezani, M., Hassanzadeh, M., Eskandari, M., Kasaian, J. and Sabeti, Z. 2007. Composition, antimycotic and antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 10(4): 339-345.

Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food –a review. International Journal of Food Microbiology. 94(3): 223-253.

Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L. and Watkins, R. 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. Food Additives and Contaminants. 25(3): 241-258.

Chitsaz, M., Pergar, A., Naseri, M., Kamalinajad, M., Bazargan, M., Mansouri, S. and Ansari, F. 2007. Composition of the essential oil and antibacterial activity of alcoholic extract and oil of *Ziziphora clinopodiodes*. Lamon selected bacteria. Daneshvar Journal. 14(68): 15-22.

Ekrami, M. and Emam-djome, Z. 2013. Preparation and characterization of biodegradable nanocomposite films of saloop / cellulose Nanowhisker .Journal of Nanotechnology Research. (In Persian)

European Pharmacopoeia. 1997. 3rd. Ed., Royal Society of Medicine Press, Strasbourg.

Ghanbarzade, B., Pezeshki najaf abadi, A. and Almasi, H. 2011. Active films in food packaging. Quarterly Journal of Food Science & Technology. 8(31): 134-123.

Jamil, R., Ahmad, M., Saeed, M.A., Younas, M. and Bhatty, M. K. 1992.Antioxidative activity of the essential oils of Umbelliferae family of Pakistan. PartIV. Antioxidative activity of Bunium cylindricum (Bioss. & Hoh). Drude and Bunium persicum (Bioss). Journal of the Chemical Society of Pakistani. 4, 6-72.

Kamkar, A., Khanjari, A., Oladi, M. and Molaee Aghaee, E. 2017. Effect of packaging with chitosan film containing Bunium persicum L. essential oil on chemical and microbial properties of chicken fillet. Journal of Fasa University of Medical Science. 7 (1):104-115 .(In Persian)

Kashipaz, S. and Nematollahi, F. 2015. Volatile constituents of Polylophium Involucratum, a wild plant grown in Iran, extracted by HS-SPME. International Journal of Biosciences (IJB). 6(6): 68-71.

Khalil, H. A., Bhat, A. and Yusra, A. I. 2012. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: a review. Carbohydrate Polymers. 87(2): 963-979.

Khanjari, A., Misaghi, A., Basti, A.A., Esmaeili, H., Cherghi, N., Partovi, R., Mohammadian, M.R. and Choobkar, N. 2013. Effects of *Zataria multiflora Boiss*. essential oil, nisin, pH and temperature on *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 43996 and its thermostable direct hemolysin production. Journal of Food Safety. 33(3):340-7.

Kivanc, M. and Akgül, A. 1986. Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. Flavour and Fragrance Journal. 1, 175-179.

Lv, F., Liang, H., Yuan, Q. and Li, C. 2011. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. Food Research International. 44, 3057-3064.

Mehrabian, S., Mollabashi, Z. and Majd, A. 1997. Evaluation of the antimicrobial effect of three species of Mint plant (*zataria, garden sage* and mint) on 15 species of intestinal pathogen bacteria and food poisoning factor. Journal of Science. 8(1): 1-11. (In Persian)

Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., Kitić, D., Stojanović-Radić, Z. and Zlatković, B. 2010. Antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains. Archives of Biological Sciences. 62(1): 159-166.

Mohammadifar, M.A., Zargaran, A. and Balaghi, B. 2009. Comparison of some chemical compositions and rheological characteristics of Iranian traceous gum from two species of

Astragalus: *A. rahensis, A. floccosus*. Journal of Nutrition Sciences and Food Technology of Iran. 3(4): 9-17.

Mohammadi Yazdi, S. and AkbariShad, S. 2013. Biodegradable Packaging. Nano Technology. 189(4): 25-27.

Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S. M. R., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J. and Hadian, M. 2012. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora Boiss* essential oil and grape seed extract. LWT-Food Science and Technology. 46(2): 477-484.

Nigrawal, A., Prajapati, S. and Chand, N. 2012. Mechanical and thermal properties of nano-cellulose obtained from sisal fiber reinforced polyvinyl alcohol (PVA) bio-composites. J. Sci. Res. Rev. 1(3): 40-50.

Nowzari, F., Shábanpour, B. and Ojagh, S. M. 2013. Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry. 141(3): 1667-1672.

Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Hashemi, 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, 161-166.

Petrou, S., Tsiraki, m., Giatrako, V. and Savvaidis, L. 2012. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. Food Microbiology. 156(3): 264-271.

Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S. H. and Hosseini, S. M. H. 2015. Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with *Zataria multiflora Boiss*. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. LWT-Food Science and Technology. 64(2): 898-904.

Raphaël, K. J. and Meimandipour, A. 2017. Antimicrobial activity of chitosan film forming solution enriched with essential oils; an in Vitro Assay. Iranian Journal of Biotechnology. 15(2): 111.

Rebouillat, S. and Pla, F. 2013. State of the art manufacturing and engineering of nanocellulose: a review of available data and industrial applications. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 4(2): 165, 24 pages.

Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhar, F., Nejad-Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M. 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioidies*. Subsp. rigida (Boiss.) Rech. f. from Iran. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 28(10): 1892-1896.

Scheffer, J. J. C., Schoenmakers, M., Schripsema, J., Svendsen, A. B., Posthumus, M. A. and Aynehchi, Y. 1986. Composition of the Essential Oil of Polylophium involucratum. Planta medica. 52(06): 532:53.

Shahbazi, Y. and Shavisi, N. 2018. Characterization of active nanochitosan film containing natural preservative agents. Nanomedicine Research Journal. 3(2): 109-116.

Shavisi, N., Khanjari, A., Basti A. A., Misaghi, A., Shahbazi, Y., Teimourifard, R. 2018. Study on physicomechanical properties of polylactic acid film incorporated with *ziziphora clinopodioides* essential oil, propolis ethanolic extract and cellulose nanoparticle. Food Engineering Research. 17 (65): 15-28.

Tajkarimi, M., Ibrahim, S. A. and Cliver, D. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control. 21(9): 1199-1218.

Verdian Rizi, M. R. and Hadjiakhoondi, A. 2007. Chemicals constituents and larvicidal activity of the essential oil of Polylophium involvucratum (Pall.) Boiss (Apiaceae). Journal of Plant Sciences. 2, 575-578.

Wu, J., Sun, X., Guo, X., Ge, S. and Zhang, Q. 2017. Physicochemical properties, antimicrobial activity and oil release of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil. Aquaculture and Fisheries. 2(4): 185-192.

Zhou, Y., Fu, S., Zheng, L. and Zhan, H. 2012. Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly (vinyl alcohol) nanocomposite films. Express Polymer Letters. 6(10): 794-804.

Food Engineering Research/Vol.20/No.71/Autumn & Winter 2021/P: 85-96
Journal Home page: https://fooder.areeo.ac.ir/
Original Research

Study on the Antimicrobial Effects of Gelatin / Tragacanth Containing *Polylophium Involucratum* and *Ziziphora Cliniopodiodes* Essential Oils on Some Foodborne Pathogen Bacteria

K. Oghbayi, A. Khanjari*, A. Akhoundzadeh- Basti, M. K. Kouhi, N. Moghimi, N. Balani- Moghadam, R. Teymorfard and D. Bariri

* Corresponding Author: Associate Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran.
Email: Khanjari@ut.ac.ir
Received: 10 February 2019, Accepted: 9 October 2019

Abstract

Food safety and shelf life are the most important concerns of the food industry. Using biodegradable materials as a new method in the packaging industry and combining it with technologies such as nanotechnology and the use of natural herbal materials with antimicrobial properties can improve these terms. The present study was carried out to evaluate the antimicrobial properties of gelatin-Nano cellulose films containing different concentrations of *Polylophium involucratum* essential oil (PIE) (0, 0.3, 0.6, and 0.9% v/v), *Ziziphora clinopodioides* essential oil (ZME) (0, 0.3, 0.6, and 0.9% v/v), and tragacanth gum (0 and 1% w/v). The antimicrobial activity of films was evaluated by the disk diffusion method. Antimicrobial results of films revealed that pure gelatin or gelatin/tragacanth films or gelatin/tragacanth films containing 0.3%v/v of ZME did not show any inhibitory effects on tested microorganisms. The maximum inhibition zone was observed for gelatin films containing a combination of 0.9% of both essential oils that created a 22.22 mm inhibition zone for listeria monocytogenes. In this study, the inhibition zone was increased with an increasing concentration of EO, but this was not significant for all concentrations of the four tested microorganisms. According to the findings of this study, gelatin-nanocelulose film containing the ZME, PIE, and Tragacanth can be used in food because of its desired antimicrobial properties.

Keywords: Essential oil, Nano cellulose, Antimicrobial film, Gelatin, Tragacanth