



بررسی اثر ضد میکروبی فیلم ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات نقره و اسانس *Echinophora sibthorpiana* علیه باکتری های غذازاد

اعظم حق جو^۱، افشین آخوندزاده بستی^{۲*}، ژاله خوشخو^۳، علی خنجری^۴، مرجانه صداقتی^۵

- ۱- دانشجو دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
 - ۲- استاد، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
 - ۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
 - ۴- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
 - ۵- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- * نویسنده مسوول: افشین آخوندزاده، دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی - آدرس: تهران، خ دکتر قریب، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
تلفن تماس: ۰۹۱۲۱۴۸۴۹۴۴ ایمیل: aakhond@ut.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۱ خرداد ۱۴۰۵، بازنگری: ۲۱ خرداد ۱۴۰۵، پذیرش نهایی: ۲۲ خرداد ۱۴۰۵



10.22034/nfvm.2026.584390.1314

چکیده

آلودگی های میکروبی مواد غذایی از مهم ترین چالش های بهداشت عمومی محسوب می شوند و توسعه ی بسته بندی های زیست فعال با قابلیت مهار رشد میکروارگانیسم ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است. هدف این پژوهش، بررسی اثر ضد میکروبی فیلم های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات نقره و اسانس خوشاریزه (*Echinophora sibthorpiana*) علیه برخی باکتری های مهم غذازاد می باشد.

اسانس خوشاریزه به روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر استخراج و ترکیبات آن توسط GC-MS شناسایی شد. نانو ذرات نقره به روش زیستی سنتز گردیدند. فیلم های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات نقره (۰/۱۵ درصد) و اسانس خوشاریزه در غلظت های ۰/۳ و ۰/۶ درصد به روش ریخته گری محلول تهیه شدند. فعالیت ضد میکروبی فیلم ها علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* موربوم با استفاده از روش انتشار دیسک ارزیابی شد.

مهم ترین ترکیبات اسانس خوشاریزه Ocimene با ۲۶/۹۸ درصد، ۲،۳-Dimethyl-cyclohexa-1,3-diene با ۸/۴۸ درصد و Alpha-pinene با ۷/۹۹ درصد بودند.

فیلم پایه ی ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز فاقد اثر ضد میکروبی بود، اما افزودن نانو ذرات نقره موجب ایجاد فعالیت ضد میکروبی معنی دار شد. همچنین با افزایش غلظت اسانس خوشاریزه از ۰/۳ به ۰/۶ درصد، قطر هاله ی عدم رشد در تمامی باکتری های مورد بررسی به طور معنی داری افزایش یافت. بیش ترین اثر بازدارندگی در فیلم حاوی نانو ذرات نقره و ۰/۶ درصد اسانس مشاهده شد.

بررسی اثر ضد میکروبی فیلم ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات...

نتایج نشان داد که نانو ذرات نقره و اسانس خوش‌بویزه موجب افزایش فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز می‌شوند و می‌توانند گزینه‌ای بالقوه برای مطالعات تکمیلی در زمینه بسته‌بندی فعال مواد غذایی باشند.

واژگان کلیدی: اثر ضد میکروبی، بسته بندی، خوش‌بویزه، ژلاتین، کربوکسی متیل سلولز، نانو نقره

مقدمه

بیماری‌های غذازاد که یکی از مهمترین چالش‌های بهداشت عمومی در سطح جهان و در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته هستند، باعث مرگ حدود نیم میلیون نفر در سال می‌شوند (۱، ۲). لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی و سالمونلا تیفی، موربوم از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذازاد هستند (۳، ۴). در دهه‌های اخیر، دغدغه‌های مربوط به پایداری محیط زیست و اثرات زیان‌بار حاصل از انباشت بسته‌بندی‌های سنتزی مشتق از نفت، منجر به بازنگری در راهکارهای نگهداری مواد غذایی شده است؛ در این راستا، پوشش‌های خوراکی به‌عنوان جایگزینی مطلوب و سازگار با محیط زیست مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند (۵). استفاده از پوشش‌های خوراکی موجب بهبود خواص ارگانولپیک، افزایش مدت زمان نگهداری و کاهش آلودگی‌های زیست‌محصول مورد نظر می‌شود (۶، ۷). پلی‌ساکاریدهایی مثل سلولز و مشتقات آن، یکی از اساسی‌ترین پایه‌های تولید پوشش‌های خوراکی هستند. این ترکیبات چون به تنهایی فاقد بو و مزه‌ی خاص بوده و زیست‌تخریب هستند، جهت تولید پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸، ۹). کربوکسی متیل سلولز، قابل حل در آب بوده و پوشش‌های خوراکی مستحکمی که توانایی کنترل و مهار اکسیژن و متعاقب آن جلوگیری از اکسیداسیون و کمک به افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌شوند، تولید می‌کند (۱۰، ۱۱). همچنین ضعف در برابر بخار آب که به‌عنوان یکی از نقاط ضعف پوشش‌های خوراکی بر پایه‌ی کربوکسی متیل سلولز مطرح می‌شود، در شرایطی که با موادی مثل کیتوزان یا ژلاتین ترکیب شود، از بین می‌رود (۱۲). ژلاتین، یک پروتئین خطی با وزن مولکولی نسبتاً بالا (حدود ۴۰,۰۰۰ تا ۹۰,۰۰۰ دالتون)

است که به‌دلیل زیست‌تخریب‌پذیری، فراوانی و هزینه‌ی پایین، به‌طور گسترده در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ژلاتین به‌عنوان یک عامل امولسیون‌کننده می‌تواند تشکیل امولسیون‌ها را تسهیل کند اما مشخص شده است، امولسیون‌ها اگر فقط بر پایه ژلاتین باشند، پایداری چندانی ندارند. ژلاتین یکی از مهم‌ترین پایه‌ها در تولید پوشش‌های خوراکی است که پوشش‌های تولید شده از آن، خاصیت بازدارندگی (سدکنندگی) خوبی در برابر گازها، ترکیبات فرار، روغن‌ها و اشعه‌ی فرابنفش از خود نشان داده‌اند (۱۳-۱۵). در قرن بیست‌ویکم تحقیقات فراوانی بر روی نانو ذرات فلزات انجام شده است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، نانو ذرات نقره می‌باشد، مطالعات صورت‌گرفته، فعالیت ضد میکروبی شدیدتر نانو ذرات نقره نسبت به خود نقره در ابعاد ماکروسکوپی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد سرطانی را نشان داده‌اند (۱۶-۱۸). نانو ذرات نقره از طریق تخریب غشاء سلول و پخش کردن یون به سمت میکروارگانیسم‌ها، خاصیت ضد میکروبی را به نمایش می‌گذارند (۱۹). نانوذرات نقره اگرچه به‌دلیل خواص ضد میکروبی قوی در بسته‌بندی مواد غذایی کاربرد گسترده‌ای دارند، اما یکی از مهم‌ترین چالش‌های آن‌ها مهاجرت یون‌های نقره یا خود نانو ذرات از بسته‌بندی به ماده‌ی غذایی است. این مهاجرت می‌تواند تحت تأثیر عواملی مانند نوع پلیمر، غلظت نانو ذرات، دما، زمان نگهداری و ماهیت ماده‌ی غذایی قرار گیرد. از دیدگاه ایمنی، مطالعات نشان داده‌اند که قرارگیری طولانی‌مدت در معرض مقادیر بالای نقره ممکن است منجر به تجمع آن در بافت‌های بدن و بروز اثرات سمی احتمالی شود. به همین دلیل، سازمان‌های نظارتی بر ضرورت ارزیابی دقیق مهاجرت و مطالعات سم‌شناسی پیش از تجاری‌سازی این نوع بسته‌بندی‌ها تأکید دارند. هرچند در بسیاری از پژوهش‌ها

میزان مهاجرت نقره کم‌تر از حدود مجاز گزارش شده است، اما همچنان نیاز به بررسی‌های بیش‌تر در شرایط واقعی نگهداری مواد غذایی وجود دارد (۲۰).

استفاده از اسانس و عصاره‌ی گیاهان در صنعت غذا و پوشش‌های خوراکی به‌علت دلایلی مثل ایمنی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطانی به طرز چشمگیری افزایش یافته است (۲۱). خوشاریزه با نام علمی (*Echinophora sibthorpiana*) گیاهی است علفی که در برخی نواحی مرکزی و شمال غربی ایران و همچنین مناطق مدیترانه‌ای رشد می‌کند. از نام‌های دیگر آن می‌توان به خوشاروزه، تیغ توراغ و کشندر اشاره کرد (۲۲). این گیاه که منبعی [۱] غنی از ترکیبات پلی فنولی است، اثرات ضد میکروبی قدرتمندی علیه طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و همچنین قارچ‌ها دارد. افزون بر این، پژوهش‌های متعدد نشان داده است که اسانس خوشاریزه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است؛ ویژگی که آن‌را به گزینه‌ای ایده‌آل برای بهره‌گیری در فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی تبدیل می‌کند (۲۳-۲۴). در این پژوهش، اثر ضد میکروبی فیلم ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات نقره و اسانس خوشاریزه بر برخی از باکتری‌های غذازاد مورد بررسی قرار گرفته است. البته باید توجه داشت، این مطالعه یک ارزیابی اولیه و آزمایشگاهی از فعالیت ضد میکروبی فیلم بوده و برای تأیید قابلیت کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی، انجام مطالعات تکمیلی ضروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس: اندام‌های هوایی (شامل برگ و ساقه) گیاه خوشاریزه با نام علمی *Echinophora sibthorpiana* از مناطق غربی ایران جمع‌آوری گردید. پس از تأیید گونه‌ی گیاهی توسط مؤسسه‌ی گیاه‌شناسی دانشگاه تهران، نمونه‌ها جهت انجام مراحل آزمایشگاهی به محل مربوطه انتقال یافتند. فرآیند استخراج اسانس با استفاده از روش تقطیر با آب و به وسیله

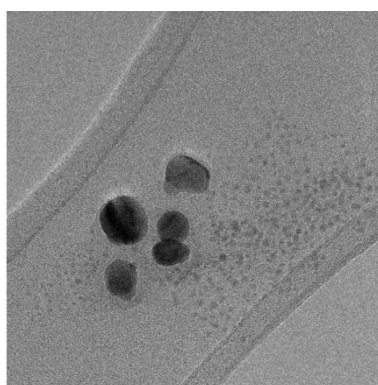
دستگاه کلونجر انجام شد. ۱۵۰ گرم از پودر اندام‌های هوایی گیاه به همراه ۲ لیتر آب مقطر در بالن دستگاه قرار گرفت و به مدت چهار ساعت تحت حرارت دهی مداوم قرار گرفت. در این فرآیند، اسانس گیاهی همراه با بخار آب به سمت مبرد هدایت شد. در نهایت، اسانس استخراج شده با استفاده از سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و پس از جداسازی اسانس زرد رنگ خالص، نمونه جهت حفظ کیفیت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۵).

آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس: بازده اسانس حاصل از مواد خشک شده با استفاده از کروماتوگرافی گازی و دستگاه Thermoquest 2000 (انگلستان) مورد بررسی قرار گرفت. کروماتوگراف به یک ستون موئینه DB5 با ابعاد ۳۰ متر $\times$ ۰.۲۵ میلی‌متر قطر داخلی و ضخامت لایه فیلم ۰.۲۵ میکرومتر مجهز بود. داده‌ها تحت دمای اولیه ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، نرخ افزایش دما ۲/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، دمای نهایی ۲۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و دمای تزریق‌کننده‌ی ۲۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد جمع‌آوری شدند. گاز حامل هلیوم بود و نسبت اسپلیت (Split Ratio) برابر با ۱:۲۰ در نظر گرفته شد. اسانس همچنین با استفاده از کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) دستگاه Thermoquest Finnigan (انگلستان) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و همان ستون موئینه و شرایط تحلیلی ذکرشده در بالا به کار گرفته شد. طیف‌سنج جرمی در مد یونش الکترونی (Electron Ionization, EI) با انرژی یونش ۷۰ الکترون‌ولت (eV) مورد استفاده قرار گرفت (۲۶).

تهیه و شناسایی نانوذرات نقره به روش زیستی: برای تهیه نانوذرات نقره، ابتدا اسانس خوشاریزه با نسبت ۱:۱۷۰ در استون رقیق شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول حاصل به آرامی به ۳۰ میلی‌لیتر محلول نیترات نقره با غلظت $10^{-4} \times 3$ میلی‌مول/لیتر افزوده شد و مخلوط تحت هم‌زدن مداوم روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد

بررسی اثر ضد میکروبی فیلم ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات...

کروی تا نیمه‌کروی هستند و اندازه‌ی آن‌ها به‌طور تقریبی در محدوده‌ی ۲۵ تا ۵۰ نانومتر قرار دارد. همچنین در برخی نواحی، تجمع محدود ذرات مشاهده شد که می‌تواند ناشی از ماهیت روش سنتز زیستی و خشک شدن نمونه روی گرید TEM باشد. این یافته‌ها تشکیل نانوذرات نقره را تأیید می‌کند؛ با این حال، برای شناسایی دقیق‌تر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات، انجام آزمون‌های تکمیلی مانند UV-Vis، DLS، FTIR یا XRD در مطالعات بعدی توصیه می‌شود.



و تحت هم‌زدن شدید حرارت داده شد. تغییر رنگ محلول به قهوه‌ای مایل به زرد به‌عنوان نشانه‌ی اولیه تشکیل نانوذرات نقره در نظر گرفته شد (۲۷).

برای بررسی مورفولوژی و اندازه‌ی نانوذرات نقره‌ی سنتز شده، از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل JEOL JEM-2100 استفاده شد. به این منظور، محلول نانوذرات رقیق شد و یک قطره از آن روی شبکه‌ی مسی پوشش‌دار با کربن قرار گرفت. پس از خشک شدن نمونه، تصویربرداری در ولتاژ کاری ۲۰۰ کیلوولت انجام شد. تصویر TEM نشان داد که نانوذرات نقره دارای مورفولوژی عمدتاً

شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نانوذرات نقره‌ی سنتز شده به روش زیستی با استفاده از اسانس *Echinophora sibthorpiana*. تصویر نشان‌دهنده‌ی تشکیل نانوذرات با مورفولوژی عمدتاً کروی تا نیمه‌کروی و تجمع محدود ذرات است. اندازه‌ی تقریبی نانوذرات در محدوده‌ی ۲۵ تا ۵۰ نانومتر مشاهده شد.

(۰/۳ و ۰/۶ درصد) و در نهایت نانو ذرات نقره (۰/۱۵ درصد) را افزوده و توسط هموژنایزر (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) به‌مدت زمان ۲ دقیقه هموژن خواهیم نمود. در نهایت محصول حاصله درون پلیت‌های شیشه‌ای (قطر ۱۰ سانتی متر) ریخته شد. پس از خشک شدن فیلم‌ها در دمای اتاق، فیلم‌ها را از قالب‌ها جدا کرده جهت مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفته شد (۲۸).

میکروارگانیزم‌های مورد استفاده: چهار میکروارگانیزم لیستریا مونوسیتوزنز ATCC ۱۹۱۱۸، سالمونلا تیفی موریوم ATCC ۱۳۳۱۱، شریشیا کلی O1۵۷:H۷ ATCC ۳۵۲۱۸ و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۶۵۳۸ در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. میکروارگانیزم‌های مورد نظر در آزمایشگاه بهداشت مواد

تهیه فیلم ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی

نانو ذرات نقره و اسانس خوش‌بویزه: برای تهیه فیلم‌های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات نقره و اسانس خوش‌بویزه از روش ریخته‌گری محلول (solution casting method) استفاده شد، ۵ گرم ژلاتین را در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده (تحت حرارت ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) و به‌مدت ۲ ساعت به‌وسیله‌ی دستگاه همزن مغناطیسی تحت هم‌زدن شدید قرار داده شد. سپس کربوکسی متیل سلولز به محلول ژلاتین اضافه گردید و پس از آن گلیسرول به میزان ۲ درصد حجمی/حجمی به عنوان نرم کننده (پلاستی‌سایزر) افزوده شد. توئین ۸۰ (۰/۲۵ درصد محلول) به‌عنوان امولسی‌فایر و همچنین غلظت‌های موردنظر اسانس خوش‌بویزه

مرکز پلیت قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد (۲۹). قطر هاله‌ی روشن اطراف فیلم با عنوان ناحیه‌ی ممنعت از رشد به دو روش کولیس و استفاده از نرم افزار ImageJ محاسبه شد.

آنالیز آماری: آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۷ انجام شد. نتایج به‌دست آمده در آزمایش‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار در سه بار تکرار بیان شدند. داده‌های با تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) مقایسه شدند و تفاوت‌های معنی‌دار آماری بین مقادیر میانگین‌ها (در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار باشد) با استفاده از آزمون توکی تعیین گردید.

نتایج

نتایج آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس: Ocimene با ۲۶/۹۸ درصد ، ۲,۳-Dimethyl-cyclohexa-۱,۳-diene (۸/۴۸ درصد) و Alpha-pinene با ۷/۹۹ درصد به ترتیب سه ترکیب اصلی اسانس خوش‌بویزه آنالیز شده، بودند. نتایج کامل آنالیز نیز در جدول ۱ قابل مشاهده است.

غذایی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند. **آماده سازی کشت های باکتریایی:** میکروارگانسیم هایی که درون میکرواپندورف و در دمای ۲۰- درجه‌ی سلسیوس ذخیره شده بودند، به ۱۰ میلی لیتر محیط آبگوشت قلب و مغز منتقل و دو بار متوالی به مدت 18 ± 2 ساعت در دمای 35 ± 2 درجه‌ی سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. مقادیر مختلفی از کشت ۱۸ ساعته‌ی 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 شد و کشت در پلیت برای شمارش باکتری‌ها در این جذب نوری صورت گرفت.

تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها: از روش انتشار دیسک برای تعیین میزان فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها استفاده شد. برای این کار ۱۰۰ میکرولیتر کشت باکتری‌ها که حاوی 1×10^7 باکتری در هر میلی لیتر بود (10^7 CFU/ml)، به محیط مولر هینتون تلقیح گردید. دیسک‌هایی از فیلم‌های تهیه شده حاوی غلظت‌های مورد نظر اسانس‌ها به قطر ۱۰ میلی‌متر پس از جدا شدن، در

جدول ۱- ترکیبات اسانس *Echinophora sibthorpiana* بررسی شده در مطالعه به روش GC-MS

نام ترکیب	شاخص بازداري کواتس (KI)	میزان بر حسب درصد
Ocimene	۹۴۸	۲۶/۹۸
2,3-Dimethyl-cyclohexa-1,3-diene	۸۷۵	۸/۴۸
Alpha-pinene	۹۹۳	۷/۹۹
Gamma-dodecanolactone	۱۶۵۳	۶/۲۲
Nerolidol	۱۶۰۳	۵/۷۷
Nonacosane	۲۸۳۹	۴/۵۵
Beta-linalool	۱۰۱۲	۳/۷۴
2,5-Octadecadiynoic acid	۲۲۳۰	۳/۶۹
Caryophyllene	۱۵۲۴	۳/۴۲
Heptacosane	۲۶۴۹	۳/۲۹
Dihydropseudoionone	۱۵۱۲	۳/۱۲
Hexanal	۷۹۴	۲/۵۱
Benzopyran	۱۲۵۱	۱/۴۸
-	-	۸۱/۲۴

بررسی اثر ضد میکروبی فیلم ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات...

نانو ذرات نقره و اسانس خوشایزه در جدول ۲ نمایش داده شده است.

نتایج فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها: میانگین و انحراف معیار قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه در تماس با فیلم ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز حاوی

جدول ۲- قطر هاله‌ی عدم رشد (فعالیت ضد میکروبی) فیلم‌ها بر حسب میلی‌متر

ژلاتین : G ، کربوکسی متیل سلولز : CMC ، نانو ذرات نقره : SNP ، اسانس روغنی خوشایزه : Eo

حروف کوچک متفاوت، نشان دهنده تفاوت معنی دار در هر ردیف است ($P < 0.05$)

حروف بزرگ متفاوت، نشان دهنده تفاوت معنی دار در هر ستون است ($P < 0.05$)

فیلم ساخته شده	سالمونلا تیفی موریوم	اشریشیا کلی	لیستریا مونوسیتوزنز	استافیلوکوکوس اورئوس
G+CMC	.aA	.aA	.aA	.aA
G+CMC+SNP	۱۰.۹۰±۰.۱۳aB	۱۳.۲۶±۰.۱۶bB	۱۵.۷۸±۰.۲۱cB	۱۶.۸۴±۰.۰۹dB
G+CMC+SNP+Eo/۰.۳	۱۳.۱۹±۰.۱۳aC	۱۵.۷۶±۰.۱۱bC	۱۹.۵۱±۰.۴۰cC	۱۹.۵۴±۰.۳۰cC
G+CMC+SNP+Eo/۰.۶	۱۵.۸۰±۰.۰۲aD	۱۷.۲۰±۰.۱۸bD	۲۴.۰۳±۰.۲۴cD	۲۲.۸۳±۰.۱۱dD

ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات نقره، مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله‌ی رشد به اندازه‌ی $۰.۰۹۱۶.۸۴ \pm$ میلی‌متر و کم‌ترین به سالمونلا تیفی موریوم با هاله‌ای به قطر $۰.۱۳۱۰.۹۰ \pm$ میلی‌متر اختصاص داشت. با افزودن اسانس خوشایزه با غلظت ۰/۳ درصد به فیلم ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات نقره، اثر ضد میکروبی بر روی تمامی میکروارگانیسم‌های مورد

از جدول ۲ نتیجه‌گیری می‌شود که فیلم ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز به تنهایی اثر ضد میکروبی از خود نشان نداده است. با افزودن ذرات نانو نقره به فیلم ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز، اثر ضد میکروبی روی تمامی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$) که این تغییر در گرم مثبت‌ها بیش‌تر از گرم منفی‌ها بود. بیش‌ترین اثر ضد میکروبی فیلم

بررسی به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). بیش‌ترین و کم‌ترین افزایش قطر هاله‌ی عدم رشد به ترتیب در برابر لیستریا مونوسیتوزنز با 3.73 ± 0.19 میلی‌متر و سالمونلا تیفی موریوم با 2.29 میلی‌متر دیده شد اما همچنان بیش‌ترین میزان اثر ضد میکروبی روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ($0.3019.54 \pm$ میلی‌متر) و کم‌ترین مربوط به سالمونلا تیفی موریوم ($0.1313.19 \pm$ میلی‌متر) بود. با افزایش غلظت اسانس خوشاریزه به $0/6$ درصد مجدداً قطر هاله‌ی عدم رشد در تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). کم‌ترین و بیش‌ترین تغییر در اثر ضد میکروبی با افزایش غلظت اسانس خوشاریزه از $0/3$ درصد به $0/6$ درصد به ترتیب در اشیریشیا کلی و لیستریا مونوسیتوزنز مشاهده شد. بیش‌ترین قطر هاله‌ی عدم رشد در فیلم ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو نقره و اسانس خوشاریزه $0/6$ درصد، مربوط به لیستریا مونوسیتوزنز و کم‌ترین مربوط به سالمونلا تیفی موریوم بود. به‌طور کلی، فیلم‌های ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز دارای کم‌ترین اثر ضد میکروبی (فاقد اثر ضد میکروبی) و فیلم‌های ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو نقره و اسانس خوشاریزه $0/6$ درصد، بیش‌ترین اثر را بین تیمارها از خود نشان دادند.

بحث و نتیجه‌گیری

بیش‌ترین ترکیبات موجود در اسانس خوشاریزه مورد بررسی توسط هاشمی و همکاران (۲۰۱۳) به‌ترتیب Ocimene ($26/51$ درصد)، ۲,۳-Dimethyl-cyclohexa-۱,۳-diene ($9/87$ درصد) و Alpha-pinene با $7/69$ درصد بودند. همچنین در مطالعه‌ی اصغری و همکاران (۲۰۰۷) نیز بیش‌ترین ترکیب تشکیل دهنده‌ی اسانس خوشاریزه مربوط به trans- β -Ocimene بود، که هر دو مورد با نتایج حاصل شده از مطالعه‌ی صورت گرفته مطابقت داشت (۳۱، ۳۰). حسن پور اقدم (۲۰۰۹) نیز در مطالعه‌ی خود (Z)- β -ocimene را با $38/9$ درصد، فراوان‌ترین ترکیب

موجود در اسانس خوشاریزه تعیین کرد (۳۲). اما نتایج مطالعه‌ی شادور و مرادخانی (۲۰۲۲) γ -Decalactone را با $21/30$ درصد، عمده‌ترین ترکیب اسانس خوشاریزه نشان داد که با توجه به تفاوت بین گونه‌های *Echinophora platyloba* و *Echinophora sibthorpiana* قابل توجه و منطقی می‌باشد (۳۳). در پژوهش‌های لی و همکاران (۲۰۲۰)، کلارک و همکاران (۲۰۱۶)، پوشش‌های ژلاتینی به تنهایی هیچ اثر ضد میکروبی از خود نشان ندادند (۳۴-۳۵) اما در بررسی میری و همکاران (۲۰۲۳)، ژلاتین اثر ضد میکروبی بسیار خفیفی در برابر گونه‌های مورد بررسی داشت (۳۶). گلباشی و علیزاده بهبهانی (۲۰۲۶) و رضانی و همکاران (۲۰۲۴) نیز به اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره اشاره کردند که کاملاً با مطالعه‌ی صورت گرفته هماهنگی داشت (۳۶-۳۷). این اثر ضد میکروبی بیش‌تر بر روی باکتری‌های گرم‌مثبت مشاهده گردید. اصغری و همکاران (۲۰۰۷) بیان داشتند که اسانس خوشاریزه دارای فعالیت ضد میکروبی با طیف اثر گسترده علیه تمام میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش، از جمله باکتری‌های گرم‌مثبت، گرم‌منفی و قارچ‌ها است (۳۱). پيله‌ور و حسینی (۲۰۱۳)، جیانگ و همکاران (۲۰۱۷)، ساعی دهکردی و همکاران (۲۰۱۱)، هاشمی و همکاران (۲۰۱۳) و جنابی و همکاران (۲۰۲۴) همگی به اتفاق اثر ضد میکروبی قوی‌تر اسانس خوشاریزه را علیه باکتری‌های گرم‌مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی به ثبت رساندن و ذکر کردند با افزایش غلظت اسانس، اثر ضد میکروبی تقویت می‌گردد (۳۹، ۴۰، ۴۱، ۴۰، ۴۲). اثر ضد میکروبی نانونقره و اسانس خوشاریزه احتمالاً ناشی از اثرات هم‌زمان بر ساختار و عملکرد سلول میکروبی است. نانو ذرات نقره با اتصال به سطح سلول و آزادسازی یون‌های نقره، موجب افزایش نفوذپذیری غشاء، اختلال در فعالیت آنزیم‌های حیاتی و القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود که در نهایت به آسیب پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA منجر می‌گردد (۴۳). از سوی دیگر، ترکیبات تریپنی موجود

بررسی اثر ضد میکروبی فیلم ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی نانو ذرات...

در اسانس خوشاریزه با نفوذ در لایه فسفولیپیدی غشاء، سبب تخریب یکپارچگی غشای سلولی، نشت محتویات داخل سلول و اختلال در متابولیسم می‌شوند. استفاده‌ی هم‌زمان از نانو نقره و اسانس می‌تواند اثر هم‌افزایی ایجاد کند؛ به‌طوری‌که افزایش نفوذپذیری غشاء توسط اسانس، ورود نانو نقره را تسهیل کرده و شدت آسیب اکسیداتیو و مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را افزایش می‌دهد (۲۳، ۲۴).

نتایج این مطالعه نشان داد که فیلم پایه ژلاتین-کربوکسی‌متیل‌سلولز به‌تنهایی فاقد فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی در برابر میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش بود. افزودن نانوذرات نقره به این ماتریس پلیمری موجب افزایش معنی‌دار فعالیت ضد میکروبی شد و اضافه کردن اسانس خوشاریزه نیز این اثر را تقویت کرد. همچنین با افزایش غلظت اسانس خوشاریزه از ۰/۳ به ۰/۶ درصد،

قطر هاله عدم رشد در تمامی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی افزایش یافت. بیشترین فعالیت بازدارندگی در فیلم حاوی نانوذرات نقره و ۰/۶ درصد اسانس خوشاریزه مشاهده شد. به‌طور کلی، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که ترکیب نانوذرات نقره و اسانس خوشاریزه می‌تواند فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های ژلاتین-کربوکسی‌متیل‌سلولز را در شرایط آزمایشگاهی افزایش دهد. با این حال، برای تأیید قابلیت کاربرد این فیلم‌ها در بسته‌بندی فعال مواد غذایی، انجام مطالعات تکمیلی شامل بررسی ویژگی‌های مکانیکی، فیزیکی، سدکنندگی، پایداری، مهاجرت نقره، ایمنی و ارزیابی عملکرد آن‌ها در ماده‌ی غذایی واقعی ضروری است.

تعارض منافع

نگارندگان این مقاله اعلام می‌دارند که در رابطه با نگارش و چاپ مقاله، هیچ گونه تعارض منفعی وجود ندارد.

References

1. **Barzegar Mohammadi K, Khanjari A, Akhondzadeh Basti A, Madani SA, Fayazfar S.** The hygienic assessment of Tehran universities food courts in 2023. *Food Eng Res.* 2025;24(2):15-22.[In Persian].
2. **World Health Organization.** Food safety [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2024
3. **Tauxe RV.** Emerging foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol.* 2002;78(1-2):31-41.
4. **Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, et al.** Food-borne diseases: the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Int J Food Microbiol.* 2010;139(Suppl 1):S3-S15.
5. **Shahidi F, John JA.** Oxidation and protection of nuts and nut oils. In: Shahidi F, editor. *Tree nuts and health.* Cambridge: Woodhead Publishing; 2010. p. 274-305.
6. **Coma V.** Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Sci.* 2008;78(1-2):90-103.
7. **Hernández H, Claramount D, Kučerová I, Banout J.** The effects of modified blanching and oregano essential oil on drying kinetics and sensory attributes of dried meat. *J Food Process Preserv.* 2017;41(5):e13141.
8. **Shahnia M, Khaksar R.** Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration methods of essential oils against pathogenic bacteria. *Iran J Nutr Sci Food Technol.* 2013;7(5):949-955.[In Persian].
9. **Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A, Cháfer M.** Use of essential oils in bioactive edible coatings. *Food Eng Rev.* 2011;3(1):1-16.
10. **Zhang Y, Liu P, Feng X.** Characterization and enhancement of carboxymethyl cellulose edible films: a comprehensive review. *Int J Biol Macromol.* 2024;234:127582.
11. **Mekonnen T, Mussone P, Bressler D.** Advancements in carboxymethyl cellulose-based films for food packaging applications. *Carbohydr Polym.* 2023;297:120066.
12. **Yoo S, Krochta JM.** Whey protein-polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. *J Sci Food Agric.* 2011;91(14):2628-2636.
13. **Djagny VB, Wang Z, Xu S.** Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2001;41(6):481-492.
14. **Lobo L.** Coalescence during emulsification of gelatin on rupture and coalescence. *J Colloid Interface Sci.* 2002;254:165-174.
15. **Dickinson E, Lopez G.** Comparison of the emulsifying properties of fish gelatin and commercial milk proteins. *J Food Sci.* 2001;66(1):87-92.
16. **Rajan R, Chandran K, Harper SL, Yun SI, Kalaichelvan PT.** Plant extract synthesized silver nanoparticles: an ongoing source of novel biocompatible materials. *Ind Crops Prod.* 2015;70:356-373.
17. **Kumar S, Basumatary IB, Sudhani HPK, Bajpai VK, Chen L, Shukla S, et al.** Plant extract mediated silver nanoparticles and their applications as antimicrobials and in sustainable food packaging: a state-of-the-art review. *Trends Food Sci Technol.* 2021;112:651-666.
18. **Firoozi S, Jamzad M, Yari M.** Biologically synthesized silver nanoparticles by aqueous extract of *Satureja intermedia* C.A. Mey and evaluation of total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity. *J Nanostruct Chem.* 2016;6:357-364.
19. **Lok CN, Ho CM, Chen R, He QY, Yu WY, Sun H, et al.** Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J Proteome Res.* 2006;5(4):916-924.
20. **Morais LO, Macedo EV, Granjeiro JM, Delgado IF.** Critical evaluation of migration studies of silver nanoparticles present in food packaging: a systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2020;60(18):3083-3102.
21. **Deng W, Liu K, Cao S, Sun J, Zhong B, Chun J.** Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation. *Molecules.* 2020;25(1):217.
22. **Avijgan M, Saadat M, Nilforoushzadeh MA, Hafizi M.** Antifungal effect of *Echinophora platyloba* extract on some common dermatophytes. *J Herb Drugs.* 2006;5(18):10-16.
23. **Pilevar Z, Martirosyan D, Ranaei V, Taghizadeh M, Balasjin N, Ferdousi R, et al.** Biological activities, chemical and bioactive compounds of *Echinophora platyloba* DC: a systematic review. *Bioact Compd Health Dis.* 2024;7(1):1-25.
24. **Şahin O, Kanbolat Ş, Çolak NU, Badem M, Subaş T, Şener SÖ, et al.** Investigation of antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Echinophora chrysantha*: microwave-assisted hydrodistillation and SPME analysis of its essential oils. *Chem Biodivers.* 2025;22(2):e202401366.
25. **Ferhat MA, Meklati BY, Smadja J, Chemat F.**

- An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *J Chromatogr A*. 2006;1112(1-2):121-126.
26. El-Nashar HA, Eldehna WM, Al-Rashood ST, Alharbi A, Eskandrani RO, Aly SH. GC/MS analysis of essential oil and enzyme inhibitory activities of *Syzygium cumini* grown in Egypt: chemical characterization and molecular docking studies. *Molecules*. 2021;26(22):6984.
 27. Maciel MVOB, Almeida AR, Machado MH, Melo APZ, Rosa CG, Freitas DZ, *et al.* *Syzygium aromaticum* L. (clove) essential oil as a reducing agent for the green synthesis of silver nanoparticles. *Open J Appl Sci*. 2019;9(2):45-54.
 28. Ediyilyam S, George B, Shankar SS, Dennis TT, Waclawek S, Černík M, *et al.* Chitosan/gelatin/silver nanoparticles composite films for biodegradable food packaging applications. *Polymers (Basel)*. 2021;13(11):1680.
 29. Hematizad I, Khanjari A, Akhondzadeh Basti A, Karabagias IK, Noori N, Ghadami F, *et al.* In vitro antibacterial activity of gelatin-nanochitosan films incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and its influence on microbial, chemical and sensorial properties of chicken breast meat during refrigerated storage. *Food Packag Shelf Life*. 2021;30:100751.
 30. Hashemi M, Ehsani A, Jazani NH, Aliakbarlu J, Mahmoudi R. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of essential oil and methanol extract of *Echinophora platyloba* DC against some food-borne pathogenic bacteria. *Vet Res Forum*. 2013;4(2):123-127.
 31. Asghari G, Abedi D, Jalali M, Farsi S. Antimicrobial activities and phytochemical composition of *Echinophora platyloba* DC essential oils from Isfahan. *J Essent Oil Bear Plants*. 2007;10(1):76-82.
 32. Hassanpouraghdam MB, Shalamzari MS, Sepehri N. GC/MS analysis of *Echinophora platyloba* DC essential oil from northwest Iran: a potential source of (Z)- β -ocimene and α -phellandrene. *Chemija*. 2009;20(2):120-123.
 33. Soleimani Shadvar M, Moradkhani S. Chemical composition of the essential oils and antioxidant capacity evaluation of *Echinophora platyloba* DC and *Falcaria vulgaris* Bernh growing in Hamadan province of Iran. *J Med Plants*. 2022;21(83):19-34.
 34. Li X, Zhang Y, Gao Y, *et al.* Gelatin films incorporated with thymol nanoemulsions: physical properties and antimicrobial activities. *Int J Biol Macromol*. 2020;150:161-168.
 35. Clarke D, Tyuftin AA, Cruz-Romero MC, Bolton D, Fanning S, Kerry JP. Incorporation of commercially derived antimicrobials into gelatin-based films and assessment of their antimicrobial activity and impact on physical film properties. *Food Control*. 2016;64:202-211.
 36. Miri P, Hosseini M, Saifi T. Characterization of physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of gelatin edible films containing oregano essence. *Food Process Preserv J*. 2023;15(1):57-74.
 37. Golbashy M, Alizadeh Behbahani B. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of dill leaves and evaluation of its antibacterial activity. *J Food Sci Technol (Iran)*. 2026;23(172):62-71.
 38. Ramezani E, Yoosefi M, Eghbali S, Shafaei E, Tavakoli Kareshk A. Investigating the antibacterial effects of synthesized silver nanoparticles using *Lycium ruthenicum* extract. *Pars J Med Sci*. 2024;22(2):24-35.
 39. Pilevar Z, Hosseini H. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of *Echinophora platyloba* DC. *J Pharm Nutr Sci*. 2013;3(4):270-283.
 40. Jiang B, Zhang Y, Wang X, *et al.* Antibacterial activity and action mechanism of *Echinops ritro* L. essential oil against foodborne pathogenic bacteria. *J Essent Oil Bear Plants*. 2017;20(5):1172-1183.
 41. Saei-Dehkordi SS, Tajik H, Moradi M, Khalighi-Sigaroodi F. Chemical composition and antioxidative activity of *Echinophora platyloba* DC essential oil and its interaction with natural antimicrobials against food-borne pathogens and spoilage organisms. *J Food Sci*. 2012;77(11):M631-M637.
 42. Jenabi M, Neyriz Naghadehi M, Mashak Z. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of gelatin/chitosan film activated with nanoemulsion of *Echinophora platyloba* extract against in vitro foodborne pathogens. *J Vet Microbiol*. 2024;20(1):117-127.
 43. Rodrigues AS, Figueiredo R, Silva C, *et al.* Antimicrobial mechanisms of silver nanoparticles and their biomedical applications. *Front Microbiol*. 2024;15:1440065.



Evaluation of the Antimicrobial Effect of Gelatin–Carboxymethyl Cellulose Film Containing Silver Nanoparticles and *Echinophora sibthorpiana* Essential Oil Against Foodborne Bacteria

Azam Haghjoo¹; Afshin Akhoondzadeh Basti*²; Zhaleh Khoshkhoo³; Ali Khanjari⁴,
Marjaneh Sedaghati⁵

1- PhD Candidate, Department of Food Science and Technology, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

3- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4- Associate Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

5- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

* **Corresponding author:** Afshin Akhoondzadeh

PhD in Food hygiene – Address: Faculty of Veterinary medicine of Tehran University, Gharib Street, Tehran

Tel: [09121484944](tel:09121484944) Email: aakhond@ut.ac.ir

Receive: June 01, 2026; Revise: June 11, 2026; Accept: June 12, 2026

 10.22034/nfvm.2026.584390.1314

Abstract

Microbial contamination of foods is one of the major public health challenges worldwide, and the development of bioactive packaging systems capable of inhibiting microbial growth has attracted considerable attention. This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of gelatin–carboxymethyl cellulose films incorporated with silver nanoparticles and *Echinophora sibthorpiana* essential oil against selected foodborne pathogenic bacteria.

The essential oil was extracted by hydrodistillation using a clevenger apparatus, and its chemical composition was characterized by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). Silver nanoparticles were synthesized through a green synthesis approach. gelatin–carboxymethyl cellulose films containing silver nanoparticles (0.015%) and *Echinophora sibthorpiana* essential oil at concentrations of 0.3% and 0.6% were prepared using the solvent-casting method. Antimicrobial activity was evaluated against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, and *Salmonella Typhimurium* using the disk diffusion assay.

The major constituents of the essential oil were Ocimene (26.98%), 2,3-Dimethyl-cyclohexa-1,3-diene (8.48%), and α -Pinene (7.99%). The gelatin–carboxymethyl cellulose film without active additives exhibited no antimicrobial activity. However, incorporation of silver nanoparticles significantly enhanced the antimicrobial properties of the films. Furthermore, increasing the concentration of *Echinophora sibthorpiana* essential oil from 0.3% to 0.6% resulted in a significant increase in the inhibition zone diameter against all tested microorganisms. The strongest antimicrobial activity was observed for films containing silver nanoparticles and 0.6% essential oil.

The results demonstrated that silver nanoparticles and *Echinophora sibthorpiana* essential oil enhanced the antimicrobial activity of gelatin–carboxymethyl cellulose films. These bioactive films could serve as a promising alternative for active food packaging applications and for improving antimicrobial properties.

Keywords: Antimicrobial activity, Carboxymethyl cellulose, *Echinophora sibthorpiana*, Gelatin, Packaging, Silver nanoparticles