تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/جلد ۲۵ / شماره ۸۰/ بهار و تابستان/۱۴۰۵/ ص ۱۴۴ - ۱۳۵

سایت مجله: https://fooder.areeo.ac.ir

نوع مقاله: پژوهشی

بررسی عملکرد ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بسته‌بندی فعال مبتنی بر موسیلاژ حاصل از دانهٔ به

علیرضا قلی زاده قره قشلاق[۱]، علی خنجری[۲*]، ابوالفضل کامکار[۳]، علی میثاقی[۴]، امیرعلی انوار[۵]

[۱] دانشجو دکترا بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی ، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۲*] دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۳] استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۴] استاد تمام، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۵] دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه علوم تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۴

چکیده

با توجه به افزایش تقاضا برای بسته‌بندی‌های غذایی ایمن و طبیعی، توسعهٔ فیلم‌های فعال با خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی از منابع طبیعی به یک ضرورت در صنعت غذا تبدیل شده است. در این پژوهش، فیلم‌های بسته‌بندی فعال بر پایهٔ موسیلاژ دانهٔ به و نانوسلولز باکتریایی با غلظت‌های مختلف اسانس آویشن آذربایجانی (۰/۵ درصد، ۱ درصد و ۱/۵ درصد) طراحی و تولید شدند و خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ارزیابی شد. نتایج آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نشان داد که اسانس آویشن آذربایجانی بیشترین فعالیت ضدمیکروبی را علیه باکتری‌های گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* با MIC برابر ۰/۴۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر دارد، در حالی که باکتری‌های گرم‌منفی *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تایفی موریوم* مقاومت بیشتری (MIC=۰/۹ µl/ml) نشان دادند. مقدار MBC مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر ۰/۴۵ و برای *سالمونلا تایفی موریوم* برابر ۱/۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود. بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها نشان داد که افزودن اسانس موجب افزایش وابسته به غلظت قطر هالهٔ ممانعت می‌شود، به‌طوری‌که بیشترین اثر در غلظت ۱/۵ درصد و علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۷/۹ میلی متر) مشاهده شد. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز نشان داد که افزودن اسانس، توان مهار رادیکال آزاد را از ۱۳/۶۳ درصد (فیلم پایه) به ۵۱/۲۶ درصد در بالاترین غلظت اسانس افزایش داد. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که فیلم‌های حاوی اسانس آویشن آذربایجانی با برخورداری از خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه، پتانسیل مناسبی برای استفاده در بسته‌بندی فعال در صنایع غذایی دارند.

واژه‌های کلیدی: فیلم بسته‌بندی فعال، اسانس آویشن آذربایجانی، خاصیت ضدمیکروبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان و نگرانی‌های زیست‌محیطی ناشی از پسماندهای پلاستیکی، انگیزه‌ای فزاینده برای توسعه جایگزین‌های پایدار در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی ایجاد کرده است. در این میان، بسته‌بندی‌های فعال به عنوان نسلی نوین از بسته‌بندی‌ها، فراتر از سد فیزیکی عمل می‌کنند و به طور فعال با محتوای خود کیفیت و ایمنی مادهٔ غذایی را بهبود می‌بخشند و ماندگاری آن را افزایش می‌دهند. در بین انواع بسته‌بندی‌های فعال، فیلم‌ها و پوشش‌های زیستی استخراج شده از

نویسنده مسئول: Email: khanjari@ut.ac.ir

http://doi: 10.22092/fooder.2026.371459.1438

© 2026,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/). Which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و لیپیدها، به دلیل تجدیدپذیر بودن، تجزیه‌پذیری زیستی و سازگاری با محیط زیست توجهات بسیاری را به خود جلب کرده‌اند (Gaspar &Braga, 2023).

با این همه، بسیاری از فیلم‌های زیستی به تنهایی محدودیت‌هایی دارند از جمله ضعف خواص مکانیکی، فقدان خاصیت ضد میکروبی و فقدان آنتی‌اکسیدانی ذاتی کافی. از این رو، اصلاح و تقویت این فیلم‌ها با افزودن نانوذرات یا ترکیبات فعال زیستی به یک ضرورت در تحقیقات نوین تبدیل شده است (Periyasamy *et al*., 2025).

موسیلاژ دانهٔ به پلی‌ساکاریدی است طبیعی با ویژگی‌های منحصر به فرد که آن را به‌گزینه‌ای امیدوارکننده برای تولید فیلم‌های زیستی تبدیل کرده است. این هیدروکلوئید قابلیت تشکیل فیلم را دارد، شفاف و بی‌خطر است. با این حال، فیلم‌های حاصل از موسیلاژ اغلب از نظر استحکام مکانیکی نیاز به بهبود دارند. برای غلبه بر این چالش، نانوسلولز باکتریایی به عنوان ماده‌ای تقویت‌کنندهٔ ایده‌آل مطرح می‌شود. نانوسلولز باکتریایی به دلیل دارا بودن شبکهٔ سه‌بعدی از نانوالیاف بلورین، استحکام کششی بسیار بالا، زیست‌سازگاری و شفافیت، می‌تواند به طور قابل توجهی خواص فیزیکی و مکانیکی پایهٔ پلیمری موسیلاژ را ارتقا دهد (Rabti *et al*., 2024).

درطراحی بسته بندی‌ها، اگرچه ماتریس پایدار و مستحکم ضروری است، اما هستهٔ اصلی بسته‌بندی فعال وجود ترکیباتی با عملکرد بیولوژیک است. در این راستا، استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان ترکیبات طبیعی ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بسیار استقبال شده است (Ju *et al*., 2019). اسانس آویشن آذربایجانی (*Thymus migricus*) به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی عمده مانند تیمول و کارواکرول، قدرت مهارکنندگی قابل توجهی در برابر طیف وسیعی از باکتری‌ها دارد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بسیار قوی است (Başer *et al*., 2002). انتظار می‌رود گنجاندن این اسانس در شبکهٔ کامپوزیتی موسیلاژ-نانوسلولز، منجر به ایجاد پوششی فعال با پتانسیل عملکردی بالا شود.

بر این اساس، هدف از این مطالعه تولید فیلم‌های کامپوزیتی بر پایهٔ موسیلاژ دانهٔ به، نانوسلولز باکتریایی و اسانس آویشن آذربایجانی و ارزیابی پتانسیل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنهاست. بررسی سیستماتیک فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها در برابر پاتوژن‌های مرتبط با مواد غذایی و سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها هستهٔ اصلی این پژوهش را تشکیل می‌دهد. این مطالعه بر شناسایی و بهینه‌سازی ویژگی‌های عملکردی ذاتی فیلم متمرکز شده است تا پتانسیل آن را به عنوان مادهٔ بسته‌بندی فعال مؤثر نشان دهد.

مواد و روش‌ها

مواد

دانه‌های به از میوه‌های به برداشت‌شده از استان آذربایجان غربی (ایران) تهیه شدند. نانوسلولز باکتریایی توسط شرکت نانو نوین پلیمر(مازندران، ایران) تأمین گردید. گیاه آویشن (*Thymus migricus* L.) از نواحی کوهستانی استان آذربایجان غربی جمع‌آوری شد و گونهٔ گیاهی آن را متخصصان گیاهان دارویی دانشگاه تهران شناسایی و تأیید کردند. اسانس آویشن آذربایجانی با استفاده از روش تقطیر با بخار آب استخراج و تا زمان استفاده در ظروف تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

گلیسرول به عنوان نرم‌کننده (plasticizer) از شرکت Sigma-Aldrich (ایالات متحده آمریکا) تهیه گردید.

محیط‌های کشت باکتریایی شامل Brain Heart Infusion (BHI) broth و Müller-Hinton Agar (MHA) از شرکت Merck (مرک، آلمان) تهیه شدند. دیگر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده (از جمله توئین ۸۰ و اتانول) از شرکت‌های Merck (آلمان) و Quelab (کانادا) با گرید آزمایشگاهی تهیه شدند.

سویه‌های باکتریایی مورد استفاده شامل دو گونه گرم‌مثبت (*Listeria monocytogenes* ATCC 19117 و

Staphylococcus aureus ATCC 25923) و دو گونه گرم‌منفی (*Salmonella typhimurium* ATCC 14028) و (*Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 بودند که از مجموعه کشت‌های استاندارد دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند.

تولید فیلم‌های بسته بندی

ابتدا موسیلاژ دانهٔ به با خیساندن دانه‌ها در آب مقطر (نسبت ۱ به ۲۵ وزنی/حجمی) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد استخراج و پس از صاف‌کردن و خشک‌سازی در آون (۴۵ درجه سانتی‌گراد) به‌صورت پودر ذخیره‌سازی شد. پس از آن، فیلم‌ها به روش ریخت‌گری حلال (solvent casting) تهیه شدند. برای این منظور، محلول فیلم‌ساز شامل ۱ درصد موسیلاژ دانه به و ۱ درصد نانوسلولز باکتریایی (Bacterial Nanocellulose (BNC)) در آب مقطر تهیه و به مدت ۵ ساعت در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) روی همزن مغناطیسی هم‌زده شد. گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده با غلظت ۴ درصد (وزنی/حجمی) افزوده شد و هم‌زدن برای ۳ ساعت دیگر ادامه یافت.

سپس، اسانس آویشن آذربایجانی (TMEO) در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد (حجمی/حجمی) به محلول افزوده شد و توین ۸۰ (۰/۲ درصد) به‌عنوان سورفکتانت برای یکنواختی پخش اسانس استفاده گردید. محلول حاصل به مدت ۲ دقیقه در سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه با هوموژنایزر (Wisd, Korea) همگن شد. در پایان، ۶۰ میلی‌لیتر از محلول آماده‌شده درون پلیت‌های شیشه‌ای با قطر ۱۰۰ میلی‌متر ریخته شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق خشک گردید. پس از خشک شدن کامل، فیلم‌ها به‌آرامی از سطح پلیت جدا و تا زمان آزمون‌ها در محیط خنک و خشک نگهداری شدند (Jouki *et al*., 2014, Bagri *et al*., 2025).

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن

فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن آذربایجانی علیه چهار پاتوژن غذایی شامل دو باکتری گرم‌مثبت (*لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) و دو باکتری گرم‌منفی (*سالمونلا تایفی موریوم* و *اشریشیا کلی*) ارزیابی گردید. سلول‌های باکتریایی پس از کشت داده‌شدن در محیط کشت مایع BHI ، به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. دانسیتهٔ نوری سوسپانسیون باکتریایی در طول موج ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company, Ivyland, PA) روی ۰/۱ تنظیم گردید که معادل تقریبی 10^8 کلنی/ میلی لیتر است. سوسپانسیون‌های حاصل در آب پپتون ۰/۱ درصد (وزنی/حجمی) رقیق شدند تا به تعداد سلول زنده حدود 10^7 کلنی/ میلی لیتر برسند. مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی به هر لولهٔ یونیورسال درپیچ دار اضافه شد. محلول‌های اسانس آویشن آذربایجانی با استفاده از Tween 80 (مرک، آلمان) و آب مقطر تهیه شدند، به طوری که با افزودن ۰/۲ میلی‌لیتر از هر محلول به لوله های یونیورسال حاوی محیط کشت مایع و باکتری مورد آزمون، غلظت‌های نهایی حاصل شد. لوله های یونیورسال در انکوباتور شیکردار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۴۰ دور در دقیقه انکوبه شدند.

پس از ۲۴ ساعت، کمترین غلظتی که در آن هیچ کدورتی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) در نظر گرفته شد. پس از تعیین MIC، برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)، مقدار۰/۱ میلی‌لیتر از محتویات لوله‌هایی که پس از زمان انکوباسیون شفاف باقی مانده و هیچ کدورتی در آنها مشاهده نشده بود، روی پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار آبگوشت قلب و مغز کشت داده شد.

پس از ۲۴-۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای مناسب، رشد یا عدم رشد باکتری‌ها ارزیابی گردید و اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Chikezie, 2017). کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار اجرا شد.

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها

فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های بسته‌بندی فعال بر پایهٔ موسیلاژ دانهٔ به و نانوسلولز به روش انتشار در آگار[1] و بر اساس پروتکل‌های استاندارد ارزیابی شد (Gómez-Estaca *et al.*, 2010). پاتوژن‌های غذایی مورد آزمون شامل دو باکتری گرم‌مثبت (*لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) و دو باکتری گرم‌منفی (*سالمونلا تایفی موریوم* و *اشریشیا کلی*) بودند.

در این روش، قطر هالهٔ ممانعت از رشد برای هر یک از باکتری‌ها مورد آزمون اندازه‌گیری گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل فیلم‌های خالص (به عنوان گروه کنترل) و فیلم‌های حاوی ۰/۵ درصد، ۱ درصد و ۱/۵ درصد اسانس آویشن آذربایجانی بودند.

برای اجرای آزمون، سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر-هینتون آگار (MHA) به‌طور یکنواخت با سوسپانسیون استاندارد هر باکتریایی کشت داده شد. قطعات دیسک‌مانند از فیلم‌های تولیدشده با قطر ۱۰ میلی‌متر در مرکز پلیت‌ها روی سطح محیط کشت قرار گرفتند.

پلیت‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، قطر هاله‌های ممانعت از رشد (شامل قطر دیسک فیلم) با استفاده از نرم‌افزار ImageJ (نسخهٔ ۱/۵۴) اندازه‌گیری و ثبت شد (Bargh *et al.*, 2025).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها با استفاده از آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH ارزیابی گردید. مقدار ۲۵ میلی‌گرم از هر نمونه فیلم در ۳ میلی‌لیتر اتانول حل و به مدت ۵ دقیقه هم‌زده شد. پس از آن، ۲/۸ میلی‌لیتر از محلول حاصل با ۲ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق نگهداری شد. جذب نوری مخلوط‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مرئی-فرابنفش (Perkin Elmer, LAMBDA 365, USA) اندازه‌گیری شد. کلیهٔ آزمایش‌ها در سه تکرار اجرا گردید.

فعالیت مهار رادیکال آزاد بر اساس درصد مهار با استفاده از رابطهٔ زیر محاسبه شد:

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) = [جذب شاهد / (جذب شاهد - جذب نمونه)] × ۱۰۰

که در آن جذب شاهد مربوط به محلول DPPH بدون نمونه و جذب نمونه مربوط به فیلم حاوی اسانس است (Sheerzad *et al.*, 2023).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیهٔ آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل اجرا گردید و داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 27 for Windows, SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) تجزیه و تحلیل آماری شدند. از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) برای بررسی تفاوت بین میانگین گروه‌ها استفاده شد و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار، از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه‌های زوجی استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند. در این مطالعه، سطوح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ ($p< ۰/۰۵$) به عنوان تفاوت آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد (Iranmanesh *et al.*, 2024).

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس آویشن آذربایجانی علیه چهار باکتری بیماری‌زای غذایی در نمودار ۱ ارائه شده است. اسانس آویشن آذربایجانی بیشترین اثر ضدمیکروبی را بر باکتری‌های گرم‌مثبت نشان داد، به‌طوری‌که کمترین MIC برابر ۰/۴۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* مشاهده شد. در مقابل، باکتری‌های گرم‌منفی مانند *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تایفی موریوم* نسبت به اسانس

[1] Disk diffusion

مقاومت بیشتری نشان دادند و MIC آن‌ها برابر ۰/۹ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود.

نتیجه MBC نیز نشان داد که بالاترین غلظت کشندگی مربوط به *سالمونلا تایفی موریوم* با مقدار ۱/۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود، در حالی که پایین‌ترین مقدار (۰/۴۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) برای *استافیلوکوکوس اورئوس* ثبت شد

نتایج این مطالعه به روشنی نشان داد که افزودن اسانس آویشن آذربایجانی به فیلم پایه موسیلاژ دانهٔ به و نانوسلولز باکتریایی، موجب ایجاد خاصیت ضدمیکروبی وابسته به غلظت می‌شود. با افزایش غلظت اسانس از ۰/۵ درصد به ۱/۵ درصد، قطر هالهٔ ممانعت در برابر تمامی باکتری‌های مورد مطالعه به طور معناداری افزایش یافت. بیشترین اثر ضد میکروبی در غلظت ۱/۵ درصد اسانس و علیه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله ۱۷/۹ میلی‌متر مشاهده شد. به طور کلی، باکتری‌های گرم مثبت شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* با میانگین قطر هاله به ترتیب ۱۷/۹ و ۱۶/۹ میلی‌متر در غلظت ۱/۵ درصد اسانس، حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی از خود نشان دادند. در میان باکتری‌های گرم منفی، *سالمونلا تایفی موریوم* بیشترین مقاومت را داشت، به طوری که در غلظت ۰/۵ درصد اسانس هیچ هاله ممانعتی مشاهده نشد، اما با افزایش غلظت اسانس به ۱ و ۱/۵درصد، به ترتیب هاله‌هایی به قطر ۱۲/۷و ۱۴/۶ میلی‌متر ایجاد شد (جدول ۱).

جدول ۱. فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های بسته‌بندی (میانگین ± انحراف معیار)

Table 1- Antimicrobial activity of packaging films (Mean ± Standard Deviation).

Film / Bacteria	Quince Seed Mucilage-Bacterial Nanocellulose	Quince Seed Mucilage-Bacterial Nanocellulose + 0.5% *Thymus migricus* essential oil	Quince Seed Mucilage-Bacterial Nanocellulose + 1% *Thymus migricus* essential oil	Quince Seed Mucilage-Bacterial Nanocellulose + 1.5% *Thymus migricus* essential oil
Staphylococcus aureus	**0.0 ^{aA}**	**13.5 ± 0.4 ^{bA}**	**14.9 ± 0.2 ^{cA}**	**17.9 ± 0.7 ^{dA}**
Listeria monocytogenes	**0.0 ^{aA}**	**12.8 ± 0.5 ^{bA}**	**15.1 ± 0.4 ^{cA}**	**16.9 ± 0.3 ^{dA}**
Escherichia coli	**0.0 ^{aA}**	**11.6 ± 0.3 ^{bB}**	**13.7 ± 0.3 ^{cB}**	**15.0 ± 0.5 ^{dB}**
***Salmonella* Typhimurium**	**0.0 ^{aA}**	**0.0 ^{aC}**	**12.7 ± 0.6 ^{bB}**	**14.6 ± 0.4 ^{bB}**

- Different lowercase letters indicate a significant difference within each row.
- Different uppercase letters indicate a significant difference within each column.

نتایج به‌دست آمده از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس آویشن آذربایجانی علیه چهار باکتری بیماری‌زای غذایی نشان‌دهندهٔ پتانسیل بسیار بالای این اسانس به عنوان عامل ضدمیکروبی طبیعی است. مطابق یافته‌ها، اسانس آویشن آذربایجانی عملکرد قوی‌تری علیه باکتری‌های گرم‌مثبت شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* داشت، به‌طوری‌که کمترین میزان MIC برای این دو باکتری گزارش شد (شکل ۱). این نتیجه با ساختار دیوارهٔ سلولی باکتری‌های گرم‌مثبت سازگار است؛ زیرا این باکتری‌ها دارای لایهٔ ضخیم پپتیدوگلیکان هستند که نفوذپذیری بیشتری نسبت به ترکیبات فنولی هیدروفوبیک مانند تیمول و

کارواکرول دارد. در مقابل، حضور لایهٔ بیرونی لیپوپلی‌ساکاریدی (LPS) در باکتری‌های گرم‌منفی مانند *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تایفی موریوم* می‌تواند به‌عنوان سد فیزیکی عمل کند و نفوذ مواد فعال زیستی را کاهش دهد؛ این امر MIC بالاتر (۰/۹ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) را توجیه می‌کند (Burt, 2004, Sheerzad *et al*., 2023).

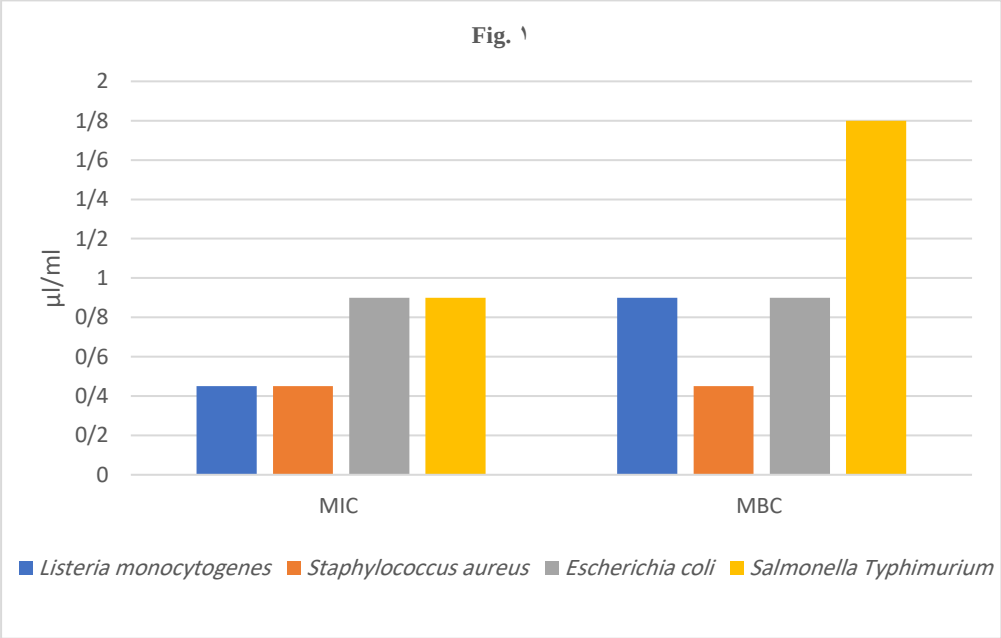
از نظر MBC نیز الگوی مشابهی مشاهده شد. کمترین مقدار MBC برابر ۰/۴۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر برای *استافیلوکوکوس اورئوس*گزارش شد که نشان‌دهنده حساسیت بالای این باکتری است (شکل۱). در مقابل، *سالمونلا تایفی موریوم* مقاوم‌ترین سویه بود و بیشترین MBCرا با مقدار ۱/۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر نشان داد. چنین یافته‌هایی پیش‌تر نیز در مطالعات مربوط به اسانس‌های سرشار از ترکیبات فنولی گزارش شده است که بیانگر نقش تعیین‌کننده تفاوت‌های ساختاری بین باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی در پاسخ به عوامل ضدمیکروبی طبیعی است (Ezzaky *et al*., 2023).

نتایج آزمون انتشار در آگار نیز به‌خوبی یافته‌های MIC و MBC را تأیید می‌کند. افزودن اسانس آویشن آذربایجانی به فیلم‌های ترکیبی موسیلاژ دانهٔ به و نانوسلولز باکتریایی باعث ایجاد خاصیت ضدمیکروبی وابسته به غلظت در فیلم‌های تولیدی شده است. با افزایش غلظت اسانس از ۰/۵ تا ۱/۵ درصد ، قطر هالهٔ ممانعت علیه تمامی باکتری‌ها به طور معناداری افزایش یافت. بیشترین اثر ضدمیکروبی در غلظت ۱.۵ درصد و علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*(با قطر هاله ۱۷/۹ میلی‌متر) مشاهده شد که بار دیگر حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم‌مثبت را نشان می‌دهد. این موضوع را می‌توان به پایداری بیشتر ترکیبات فنولی در ماتریس بیوپلیمری و آزادسازی تدریجی آنها نسبت داد که موجب افزایش کارایی ضدمیکروبی در غلظت‌های بالاتر می‌شود (Bargh *et al*., 2025).

در میان باکتری‌های گرم‌منفی، *سالمونلا تایفی موریوم* مقاوم‌ترین سویه بود به‌طوری‌که در غلظت ۰/۵ درصد اسانس هیچ هالهٔ ممانعتی ایجاد نشد. با این حال، در غلظت‌های ۱ درصد و ۱/۵ درصد هاله‌هایی به‌ترتیب با قطر ۱۲/۷ و ۱۴/۶ میلی‌متر تشکیل شد. این تفاوت عملکرد، علاوه بر ساختار دیوارهٔ سلولی، می‌تواند به تفاوت در نفوذپذیری غشای خارجی و مکانیسم‌های مقاومت ذاتی مانند پمپ‌های دفعی (efflux pumps) مربوط باشد (Li *et al*., 2015).

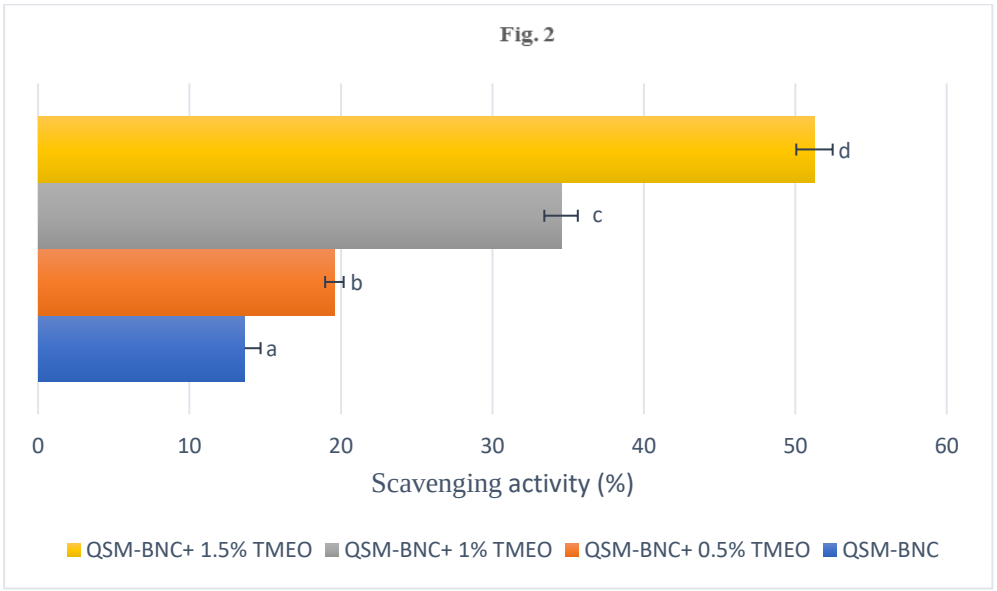
بر اساس نتایج آزمون DPPH ، افزودن اسانس آویشن آذربایجانی به فیلم پایه تأثیر چشمگیری در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته است. در حالی که فیلم پایه تنها ۱۳/۶۳ درصد توانایی مهار رادیکال آزاد را نشان می‌داد، این مقدار با افزودن اسانس به طور قابل توجهی بهبود یافت. توان مهار رادیکال آزاد در فیلم حاوی ۰/۵ درصد اسانس به ۱۹/۵۶درصد، در فیلم حاوی ۱ درصد اسانس به ۳۴/۵۳درصد و در فیلم حاوی ۱/۵ درصد اسانس به ۵۱/۲۶ درصد رسید (شکل ۲). این افزایش قابل توجه در فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نقش مؤثر ترکیبات فنولی موجود در اسانس آویشن آذربایجانی همچون تیمول و کارواکرول است که توانایی اهدای هیدروژن و پایدارسازی رادیکال‌ها را دارند (Mutlu-Ingok *et al*., 2021). علاوه بر این، حضور موسیلاژ دانهٔ به به‌عنوان ماتریس هیدروکلوئیدی می‌تواند رهایش پایدار ترکیبات فنولی را تسهیل و قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم نهایی را تقویت کند (Codina *et al*., 2024).

نتایج مطالعهٔ حاضر حاکی از آن است که فرمولاسیون فیلم‌های بر پایهٔ موسیلاژ دانهٔ به و نانوسلولز باکتریایی حاوی اسانس آویشن آذربایجانی می‌تواند به‌عنوان یک سیستم بسته‌بندی فعال با خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه عمل کند. این فیلم‌ها پتانسیل بالایی برای کاهش آلودگی‌های میکروبی و افزایش ماندگاری مواد غذایی، به‌ویژه محصولات حساس به فساد میکروبی و اکسیداتیو نشان می‌دهند.



شکل ۱. مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) اسانس آویشن

Figure 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values of Thyme essential oil



شکل ۲: فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH فیلم‌های بسته‌بندی. ترکیبات فیلم شامل نمونG شاهد QSM-BNC (موسیلاژ دانهٔ به – نانوسلولز باکتریایی) و تیمارهای حاوی اسانس آویشن با مقادیر مختلف شامل QSM-BNC حاوی ۰/۵ درصد اسانس، QSM-BNC حاوی ۱ درصد اسانس و QSM-BNC حاوی ۱/۵ درصد اسانس است. نتایج به صورت میانگین به همراه انحراف معیار (n=3) گزارش شده و وجود حروف متفاوت در بالای میله‌های نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد (P <۰/۰۵) است.

Figure 2. DPPH free radical scavenging activity of the packaging films. Film compositions: QSM-BNC (Quince Seed Musilage- Bacterial Nanocellulose, control), QSM-BNC+ 0.5% TMEO (Quince Seed Musilage- Bacterial Nanocellulose + 0.5% *Thymus migricus* essential oil), QSM-BNC+ 1% TMEO (Quince Seed Musilage- Bacterial Nanocellulose + 1% *Thymus migricus* essential oil), QSM-BNC+ 1.5% TMEO (Quince Seed Musilage- Bacterial Nanocellulose + 1.5% *Thymus migricus* essential oil). Results are presented as mean ± standard deviation (n=3). Different letters indicate significant differences (P< 0.05).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس آویشن آذربایجانی عاملی طبیعی مؤثر برای بهبود عملکرد ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های بسته‌بندی بر پایهٔ موسیلاژ دانهٔ به و نانوسلولز باکتریایی است. فعالیت قوی‌تر اسانس علیه باکتری‌های گرم‌مثبت و افزایش معنادار اندازهٔ هالهٔ ممانعت با بالا رفتن غلظت اسانس، بیانگر توانایی بالای آن در کنترل رشد میکروارگانیسم‌های مسبب فساد غذایی است. از سوی دیگر، افزایش قابل توجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها در حضور اسانس نشان‌دهندهٔ نقش مؤثر ترکیبات فنولی آویشن در مهار رادیکال‌های آزاد و تقویت ویژگی‌های محافظتی فیلم است. در مجموع، فیلم‌های حاوی ۱/۵درصد اسانس، بهترین عملکرد را از نظر ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی ارائه دادند و می‌توانند به‌عنوان گزینه‌ای کارآمد در تولید بسته‌بندی‌های فعال مبتنی بر منابع طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیر به‌کار روند. بنابراین، کاربرد این فیلم‌ها می‌تواند به افزایش ماندگاری مواد غذایی، کاهش وابستگی به نگه‌دارنده‌های شیمیایی و بهبود ایمنی غذایی کمک کند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله صمیمانه از معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به دلیل حمایت‌های ارزشمندشان در اجرای این پژوهش تشکر می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان در زمینه انتشار مقاله ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار جعل داده ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده اند و منافعی تجاری در این راستا ندارند

منابع

Bagri, F., Pircherghi, G., Imani, M., Riahi, Z., Douraghi, M. and Rhim, J.-W. 2025. Active packaging film based on quince seed mucilage/alginate integrated with biosilica nanoparticles containing oak extract for extending the shelf life of meat. Food Packag. Shelf Life. 48: 101466.

Bargh, A. H., Noori, N., Basti, A. A., Khanjari, A., Gandomi, H. and Khorrami, R. 2025. Multifunctional Polylactic Acid-Tragacanth Gum Films Containing Shirazi Thyme Essential Oil (*Zataria multiflora* Boiss): A Structural and Functional Evaluation for Active Packaging. Appl. Food Res. 101454.

Başer, K. H. C., Demirci, B., Kirimer, N. E., Satil, F. and Tümen, G. 2002. The essential oils of *Thymus migricus* and *T. fedtschenkoi* var. *handelii* from Turkey. Flavour Fragr. J. 17: 41-45.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.

Chikezie, I. O. 2017. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. Afr. J. Microbiol. *Res*. 11: 977-980.

Codina, M. C., González, E. J., Molina, A., Carmona, M. and Berruga, M. I. 2024. Bio-based films from quince by-products: A sustainable alternative for biodegradable food packaging. Food Hydrocolloids. 157: 110395.

Ezzaky, Y., Elmoslih, A., Silva, B. N., Bonilla-Luque, O. M., Possas, A., Valero, A., Cadavez, V., Gonzales-Barron, U. and Achemchem, F. 2023. In vitro antimicrobial activity of extracts and essential oils of Cinnamomum, Salvia, and Mentha spp. against foodborne pathogens: A meta-analysis study. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 22: 4516-4536.

Gaspar, M. C. and Braga, M. E. 2023. Edible films and coatings based on agrifood residues: a new trend in the food packaging research. Curr. Opin. Food Sci. 50: 101006.

Gómez-Estaca, J., De Lacey, A. L., López-Caballero, M., Gómez-Guillén, M. D. C. and Montero, P. 2010. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiol. 27: 889-896.

Iranmanesh, M., Kamkar, A., Misaghi, A., Gandomi, H., Saremnazhad, S. and Khorrami, R. 2024. The Impact of Enzyme Type, Temperature, and Grinding Roller Interval on Barley Malt-Based Beverages. J. Hum. Environ. Health Promot. 10: 238-247.

Jouki, M., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T. and Koocheki, A. 2014. Optimization of extraction, antioxidant activity and functional properties of quince seed mucilage by RSM. Int. J. Biol. Macromol. 66: 113-124.

Ju, J., Chen, X., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H. and Yao, W. 2019. Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. Trends Food Sci. Technol. 92: 22-32.

Li, X.-Z., Plésiat, P. and Nikaido, H. 2015. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. Clin. Microbiol. Rev. 28: 337-418.

Mutlu-Ingok, A., Catalkaya, G., Capanoglu, E. and Karbancioglu-Guler, F. 2021. Antioxidant and antimicrobial activities of fennel, ginger, oregano and thyme essential oils. Food Front. 2: 508-518.

Periyasamy, T., Asrafali, S. P. and Lee, J. 2025. Recent Advances in Functional Biopolymer Films with Antimicrobial and Antioxidant Properties for Enhanced Food Packaging. Polymers. 17: 1257.

Rabti, R., Kazemeini, H. and Golestan, L. 2024. Investigating the effect of Quince seed mucilage film reinforced with carboxymethyl cellulose containing ginger essential oil on the microbial, physicochemical and sensory characteristics of turkey meat. Arch. Razi Inst. 79: 1353.

Sheerzad, S., Khanjari, A., Gandomi, H., Basti, A. A. and Khorrami, R. 2023. In vitro Antimicrobial and Antioxidant Properties of Edible Coating Enriched with *Cinnamomum verum* Essential Oil. J. Nutr. Fasting Health. 11(4).

Food Engineering Research/Vol.25/No. 80/ Spring& Summer 2026/P:135-144

Journal Home page: https://fooder.areeo.ac.ir

Original Research

Investigation of the antimicrobial and antioxidant performance of active packaging based on quince seed mucilage

Alireza Qolizadeh Qare Qeshlagh, Ali Khanjari*, Abolfazl Kamkar, Ali Misaghi, Amirali Anvar

***Corresponding Author:** Associate Professor, Department Food hygiene and Quality control, Faculty of Veterinary medicine, Tehran University, Tehran, Iran
Email: khanjari@ut.ac.ir
Received: 18 November 2025 **Accepted**: 23 February 2026
http://doi: 10.22092/fooder.2026.371459.1438

Abstract

Due to the growing demand for safe and natural food packaging, the development of active films with antimicrobial and antioxidant properties derived from natural sources has become essential in the food industry. In this study, active packaging films based on quince seed mucilage and bacterial nanocellulose, enriched with different concentrations of *Thymus migricus* essential oil (0.5%, 1%, and 1.5%), were designed and produced, and their antimicrobial and antioxidant properties were evaluated. The results of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) tests showed that *Thymus migricus* essential oil exhibited the highest antimicrobial activity against the Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, with an MIC of 0.45 µL/mL. In contrast, the Gram-negative bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimuriumshowed greater resistance (MIC = 0.9 µL/mL). Furthermore, the MBC values were 0.45 µL/mL for *Staphylococcus aureus* and 1.8 µL/mL for *Salmonella* Typhimurium. Evaluation of the antimicrobial activity of the films demonstrated that the addition of essential oil led to a concentration-dependent increase in the inhibition zone diameter, with the highest effect observed at 1.5% concentration against *Staphylococcus aureus* (17.9 mm). The assessment of antioxidant activity also revealed that incorporating the essential oil increased the free radical scavenging capacity from 13.63% (base film) to 51.26% at the highest concentration. Overall, the findings indicate that films containing *Thymus migricus* essential oil, with significant antimicrobial and antioxidant properties, have strong potential for use as active packaging in the food industry.

Keywords: Active packaging film, *Thymus migricus* essential oil, Antimicrobial property, Antioxidant activity

© 2026,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/). Which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.