تولید فیلم رنگی پکتین حاوی اسانس زنیان و رنگدانه بتاکاروتن و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی آن

افشار اصدق قزقاپان[1]، سجاد پیرسا[2*]، اصغر خسروشاهی اصل[3]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۳- استاد تمام گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
(تاریخ دریافت: ٩٧/٠٢/٠٤ تاریخ پذیرش: ٩٧/١١/٠٩)

چکیده

در این تحقیق از اسانس زنیان (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) و بتاکاروتن (۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) در فیلم حاوی پکتین مرکبات به منظور تغییر و تعیین خواص عملکردی فیلم‌ها استفاده شد. متغیرهای وابسته شامل رطوبت، ضخامت، نفوذپذیری، فنل کل، خاصیت آنتی اکسیدانی، شاخص‌های رنگی و خواص میکروبی بودند. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن اسانس زنیان و بتاکاروتن به طور معنی‌داری باعث کاهش مقدار رطوبت شد، به صورتیکه کمترین مقدار رطوبت مربوط به فیلم حاوی بیشترین مقدار اسانس و بتاکاروتن بود. ضخامت فیلم‌ها با افزودن اسانس زنیان افزایش و با افزودن بتاکاروتن به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. نفوذپذیری به بخار آب با افزودن اسانس و بتاکاروتن به ترتیب کاهش و افزایش یافت. افزودن اسانس و بتاکاروتن سبب افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها گشت. شاخص روشنایی در فیلم‌های حاوی اسانس افزایش یافت. افزودن بتاکاروتن تا ۰/۰۱۵ درصد باعث کاهش مقدار روشنایی شد، ولی در غلظت‌های بالاتر مقدار روشنایی سیر صعودی پیدا کرد، از طرفی دیگر شاخص زردی با افزودن بتاکاروتن افزایش و شاخص سفیدی کاهش یافت. اثر ضد میکروبی اسانس زنیان بر باکتری‌های *B. cereus* بیشتر از *E.coli* بود. با توجه به اینکه رنگدانه بتاکاروتن در شرایط مختلف محصولات غذایی تغییر رنگ می‌دهد، این فیلم می‌تواند در بسته بندی هوشمند محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژگان: فیلم زیست تخریب پذیر، اسانس زنیان، بتاکاروتن، خواص عملکردی

*مسئول مکاتبات: pirsa7@gmail.com

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر فیلم‌های خوراکی با توجه به دارا بودن مزایای بیشتر نسبت به مواد بسته بندی مصنوعی توجه بیشتری را سمت خود جلب کرده‌اند. ترکیبات مختلف ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می‌توانند توسط فیلم‌های خوراکی حمل شوند، که این شرایط می‌تواند موثرتر از مصرف مستقیم ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی در مواد غذایی باشد، در صورت استفاده از مواد ضد میکروبی در فیلم مهاجرت مواد فعال به مواد غذایی به صورت مداوم وجود خواهد داشت و در نتیجه مدت زمان نگهداری بیشتر می‌شود [۱]. مواد ضد باکتری موجود در فیلم‌های خوراکی می‌توانند آلودگی را با کاهش رشد میکروبی، طولانی کردن فاز تأخیر میکروارگانیسم مورد نظر یا غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها با تماس مستقیم با آنها کنترل کنند [۲].

پکتین ماده بیولوژیکی است و به عنوان یک پلیمر زیستی موثر در تولید فیلم‌های خوراکی استفاده می‌شود، که دلیل آن سازگاری با محیط زیست و غیر سمی بودن این ترکیب می‌باشد. اکثر فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی از جمله پکتین به عنوان مانعی در مقابل روغن‌ها، گازها و به عنوان حامل مواد فعال، از قبیل مواد ضد اکسیدکننده، ضد میکروب، رنگ‌ها و بوها عمل می‌کنند [۳]. در مطالعات متعددی گزارش شده است که پکتین به عنوان یک پلیمر زیستی به دلیل توانایی تشکیل ژل امکان ساخت فیلم‌های خوراکی را دارد. فیلم‌ها و پوشش‌های پکتین دارای مناطق کریستالی یا آمورف می‌باشند که برای حمل مواد ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی و ادغام شدن با آنها مناسب هستند [٤]. مطالعات قبلی نشان داده است که پکتین پتانسیل بالایی در ادغام با مواد افزودنی طبیعی، مانند عصاره انار [٥]، اسانس سینام‌آلدئید، پوره پاپایا [٦] و اسانس لیمو مکزیکی [۷] دارد.

استفاده از اسانس‌های روغنی به عنوان مواد نگهدارنده در مواد غذایی اغلب به دلیل ایجاد طعم و مزه محدود شده است، همچنین ممکن است استفاده از دوزهای ضد میکروبی بالاتر اثر معکوس داشته باشد [۸]، بنابراین برای جلوگیری از این مشکل بهترین رویکرد ادغام اسانس‌های طبیعی در فیلم‌های خوراکی است. پتانسیل ضد میکروبی اسانس‌ها به ترکیبات فنولیک مانند تیمول، کارواکرول، اوژینول و ترپنوئید مربوط است. یکی از اسانس‌های گیاهی مورد استفاده در فیلم‌های خوراکی اسانس زنیان می‌باشد، زنیان (*Carum copticum*) گیاه علفی یکساله و متعلق به خانواده چتریان است که در کشور ایران، مصر و هند رشد می‌کند [۹]. اسانس روغنی این گیاه (CCE[1]) دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده [۱۰] و اثر کشندگی روی قارچ‌ها و میکروارگانیسم‌ها [۱۱] دارد. این گیاه دارای ترکیبات تانن و فلاونوئیدی می‌باشد [۱۲].

یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها هستند، کاروتنوئیدها رنگدانه‌های طبیعی هستند که عمدتاً در میوه‌ها و سبزیجات زرد رنگ یافت می‌شوند. این ترکیبات هیدروکربن‌های ٤٠ کربنه با چندین پیوند دوگانه هستند [۱۳]. حضور مقدار کمی از کاروتنوئیدها در محصولات غذایی می‌تواند به جلوگیری از اکسیداسیون سریع لیپید موجود در مواد غذایی کمک کند [١٤]. بتاکاروتن یک ترکیب چربی‌دوست رایج در مواد غذایی بوده و نقش مهمی در محافظت از بدن در برابر بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان دارد، نقش اصلی این ترکیب در سلامت انسان به عنوان پیش‌ساز ویتامین A و خاصیت آنتی اکسیدانی آن می‌باشد [۱٥].

شن و کامدم (۲۰۱٥)، در بررسی خود دریافتند، اسانس استخراج شده از گیاهان به عنوان عوامل فعال می‌تواند در فیلم‌های فعال زیست تخریب‌پذیر به کار گرفته شود و همچنین ترکیب روغن‌ها با فیلم کیتوزان نه تنها باعث افزایش خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی می‌شوند بلکه باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب نیز می‌شوند [١٦]. آلدانا و همکاران (۲۰۱٥)، در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که استفاده از فیلم خوراکی پکتین حاوی اسانس لیمو مکزیکی پتانسیل بالایی در کنترل باکتری‌های پاتوژن خوراکی داشته و همچنین سازگاری بالایی با بسیاری از ماتریس‌های مواد غذایی دارد [۱۷]. لو و همکاران (۲۰۱٦)، از پکتین چغندر قند بعنوان پلی‌ساکاریدهای ثبات امولسیون بتاکاروتن استفاده کردند و براساس نتایج به دست آمده بهترین ثبات فیزیکی در امولسیون‌های تثبیت شده با لایه ثانویه پلی‌ساکارید پکتین چغندرقند رخ داده است. علاوه بر این امولسیون‌های ثانویه توانست بتاکاروتن را از تخریب تحت شرایط گرمایی و روشنایی محافظت کند، این کار شرایط را برای استفاده از بتاکاروتن در بسته‌بندی، محصولات غذایی و دارویی فراهم

1. *Carum Copticum* essential oil

کرد [۱۸]. کاظمی (۲۰۱٤)، نشان داد که دانه *C. copticum*، روغن و عصاره‌های آن و بعضی از ترکیبات فعال آن، به ویژه γ-terpinene و thymol، دارای اثرات ضد التهابی و فعالیت آنتی اکسیدانی است [۱۱]. اشرفی (۲۰۱۳)، دریافتند بیشترین ترکیبات اسانس زنیان به ترتیب شامل تیمول (٤٥ درصد)، پاراسمین (۲۵درصد) و گاماترپینین (۱۸درصد) می‌باشد [۱۹]. خنجری و همکاران (۲۰۱۷)، در مطالعه روی اثرات ضد میکروبی فیلم ژلاتین حاوی اسانس زنیان نشان دادند که فیلم مذکور بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اثر داشت ولی اثر آن روی باکتری گرم مثبت بیشتر بود [۲۰]. هدف از تحقیق حاضر تهیه فیلم پکتین حاوی اسانس زنیان و رنگدانه بتاکاروتن و بررسی خواص آنتی اکسیدانی، ویژگی‌های فیزیکی و میکروبی فیلم تهیه شده می‌باشد. با توجه به اینکه رنگدانه بتاکاروتن در شرایط مختلف محصولات غذایی تغییر رنگ می‌دهد، این فیلم می‌تواند در بسته بندی هوشمند محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد

دانه زنیان از شهرستان ارومیه تهیه گردید و استخراج اسانس از آن انجام گرفت. پکتین HMP پوست مرکبات و بتاکاروتن با کد ۲۲۰٤۰ از شرکت سیگما آلدریچ خریداری شد. سایر ترکیبات شیمیایی شامل متانول، کربنات سدیم، معرف فولین کالچو، کلروفرم، سولفات کلسیم، نیتریت کلسیم، گلیسرول، توئین۸۰ و رادیکال آزاد DPPH (روش احیاء رادیکال های آزاد) از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. محیط کشت آگار، باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیا کلای* از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران و سایر مواد شیمیایی از گرید آزمایشگاهی تهیه شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲- ۱- استخراج اسانس

برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب از دستگاه کلونجر به مدت ٤ ساعت استفاده شد، اسانس به دست آمده پس از خالص-سازی در دمای ٤ درجه سانتیگراد تا انجام آزمایشات در شیشه مات همراه با فویل آلومینیومی نگهداری شد [۱۱].

۲-۲-۲- اندازه‌گیری میزان فنل کل اسانس زنیان

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل از معرف فولین کالچو استفاده شد، ۰/۵ میلی گرم از نمونه اسانس با ۵ میلی لیتر از معرف فولین-کالچو (که با آب مقطر۱۰ برابر رقیق شده بود) و ٤ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم ۱مولار به خوبی مخلوط شد، مخلوط به مدت نیم ساعت در دمای اتاق قرار گرفت، سپس مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷٦۵ نانومتر قرائت شد [۲۱]. مقدار کل ترکیبات فنلی با استفاده از معادله خط رسم شد که R^2=۰/۹۹۲۲ و Y=۰/۰۰۸۷X+۰/۰٦٤۳ برمبنای اسید گالیک محاسبه شد.

۲-۲-۳- آماده سازی فیلم

فیلم پکتین با اندکی تغییرات طبق روش نیسار و همکاران (۲۰۱۸)، تهیه شد. برای آماده سازی فیلم، ۲ درصد وزنی/حجمی پکتین در ۱۰۰میلی لیتر آب دیونیزه به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد با همزن مغناطیسی مخلوط شد، پس از سرد شدن ٤۰ درصد وزنی/وزنی ماده خشک گلیسرول اضافه شد و محلول به مدت ۱۰ دقیقه با همزن مخلوط گشت به این ترتیب فیلم شاهد تهیه شد. برای تهیه فیلم‌های حاوی اسانس زنیان بعد از مخلوط شدن گلیسرول به محلول حاصل اسانس در غلظت‌های ۰/۲۵ و۰/۵ درصد وزنی/ حجمی ماده خشک پکتین به همراه ۵ درصد حجمی/حجمی ماده خشک، توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر اضافه سپس توسط همزن با دور۹۰۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه مخلوط شد. برای تهیه فیلم‌های حاوی بتاکاروتن ابتدا کریستال-های بتا در غلظت‌های ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ ۰درصد وزنی/ حجمی در ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و به حجم ۱۰۰میلی با آب مقطر رسیده به همراه ۵ درصد توئین طبق روش فوق با همزن با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۲دقیقه با پلیمر مخلوط شد، سپس بصورت محلول‌های ۲۵ میلی لیتری در پلیت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد ریخته و در طی ۷۲ ساعت خشک و در نهایت تا زمان انجام آزمایشات درون کیسه‌های زیپ‌دار نگهداری شد [۲۲، ۲۳].

۲-۳- آزمون‌ها

۲-۳-۱- اندازه‌گیری رطوبت فیلم

برای اندازه‌گیری رطوبت فیلم ابتدا نمونه فیلم وزن شد، سپس در آون در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت تا رسیدن

به وزن ثابت قرار داده شد و در نهایت رطوبت فیلم از رابطه زیر به دست آمد:

مقدار رطوبت = $M_1-M_2/M_1 \times 100$ (فرمول -۱)

که M_1 وزن اولیه نمونه و M_2 وزن نمونه پس از خشک شدن می‌باشد [۲۲].

۲-۳-۲- ضخامت

ضخامت فیلم‌ها با ریزسنج دستی با قدرت تفکیک ۰/۰۰۱ میلی‌متر به طور تصادفی در ۵ موقعیت تعیین و میانگین آن‌ها در محاسبات استفاده شد [۱۸].

۲-۳-۳- نفوذ پذیری بخار آب

نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب با روش شجاعی‌علی آبادی (۲۰۱۳)، اندازه‌گیری شد. برای این کار از ویال‌های مخصوصی با قطر ۲سانتیمتر و ارتفاع ٤/٥ سانتیمتر استفاده شد. ۳ گرم سولفات کلسیم داخل هر ویال قرار داده شد، سپس ویال‌ها با تمام محتویاتش وزن شده و در درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار گرفتند به مدت چهار روز هر چند ساعت یکبار وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد، منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل شده محاسبه گردید، از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر ویال به کل سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب ($WVTR^2$) به دست آمد. از تقسیم WVTR به اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم، نفوذپذیری به بخار آب (WVP^3) بدست آمد. بدلیل وجود سولفات کلسیم در داخل ویال، فشار بخار داخل ویال صفر در نظر گرفته شد. فشار بخار خارج فیلم نیز از حاصل ضرب رطوبت نسبی داخل دسیکاتور (۹۷ درصد) و فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به دست آمد. این آزمون در مورد هر کدام از نمونه ها سه بار تکرار شد.

$$WVP = S \times L / \Delta P \times A \times 3600$$ (فرمول-۲)

که در این رابطه WVP نفوذ پذیری به بخار آب (g/Pa.m.s)، S شیب خط (g/h)، A سطح (m^2)، L میانگین ضخامت (m)، ΔP گرادیان فشار جزئی بخار آب در دو طرف فیلم (Pa) و ۳٦۰۰ عدد ثابت برای تبدیل ساعت به ثانیه می‌باشد [۲٤].

۲-۳-٤- تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد فیلم ها

برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها از روش تعیین قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) به روش هارت (۲۰۱۰)، استفاده شد. در این آزمون ۰/۰۲۵ گرم از هر فیلم در ٤ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد، سپس محلول حاصل با ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH ۱ میلی‌مولار ترکیب شده پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در در دمای اتاق جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد [۲۵].

۲-۳-۵- اندازه گیری خصوصیات رنگی

میزان رنگ براساس پارامتر هانتر لب بر حسب L* (روشنایی – تیرگی)، a* (قرمز – سبز) و b* (زرد – آبی) توسط دستگاه رنگ‌سنج (RGB-1002) به دست آمد. اختلاف رنگ کلی (دلتا E)، اندیس زردی[4] (YI) و اندیس سفیدی (WI^5) به صورت زیر محاسبه شد:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}$$ (فرمول-۳)

$$YI = \frac{142/86\, b}{L}$$ (فرمول-٤)

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5}$$ (فرمول-۵)

۳-۲-٦- تعیین فعالیت ضد میکروبی

اثر ضد میکروبی فیلم پکتین حاوی اسانس زنیان با استفاده از روش انتشار دیسک بر اساس روش جاهد و همکاران (۲۰۱۷)، روی دو گونه از باکتری‌های *E. coli* O157:H7 (ATCC 25922), and *B. cereus* (PTCC 1154) تهیه شده از آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه صنایع غذایی ارومیه انجام شد. فیلم‌ها به دیسک‌های به قطر ٦ میلیمتر با دستگاه پانچ برش داده شد و روی پلیت مخصوص مولر هینتون آگار که سطح آن با یک دهم میلی لیتر ماده تلقیح شده حاوی 10^5-10^6 CFU/ML از باکتری مورد آزمایش، قرار گرفت. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور باقی مانده، سپس

2. Water Vapor Permeability Rate
3. Water Vapor Permeability
4. Yellowness Index
5. Whiteness Index

ناحیه ممانعت از رشد به صورت هاله شفاف اطراف فیلم‌ها با کولیس دیجیتال بر حسب میلی‌متر اندازه گیری شد [۲۶، ۲۷].

۲-۳-۷- طرح آماری

در تحقیق انجام شده بهینه‌سازی فرمولاسیون فیلم در قالب طرح مرکب مرکزی چرخش‌پذیر در سه سطح و پنج تکرار در نقطه مرکزی برای دو متغیر مستقل اسانس زنیان و بتاکاروتن انجام گرفت. در جدول ۱، متغیرهای مستقل، کد و سطوح مربوطه آن‌ها آورده شده است. رطوبت، ضخامت، نفوذپذیری به بخار آب، خاصیت آنتی اکسیدانی و شاخص‌های رنگی به عنوان متغیرهای وابسته که تحت تأثیر متغیرهای مستقل قرار می‌گیرند، انتخاب شدند. داده‌های حاصل از طرح مرکب مرکزی برای خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و خصوصیات رنگی به ترتیب در جدول ۲ و جدول ۳ آورده شده است. آنالیز داده‌ها (در سطح ۹۹درصد و ۹۵درصد) و رسم نمودارها توسط نرم افزار Design Expert 7.0.0 انجام گردید.

Table 1 Independent variables and their contents

Independent variables	Experimental and coded values		
	-1	0	1
A*	0	0.25	0.5
B	0	0.015	0.03

*A and B, is amount of *Carum copticum* essence and Beta carotene, respectively.

Table 2 List of Experiments in the CCD and the Responses of each Run

Run	Independent Variables		Response			
	CCE (%W/V)	Beta carotene (%W/V)	Moisture (%)	Thickness (mm)	WVP	RSA* (%)
1	0	0	21.21	0.12	0.00088	7.1
2	0.25	0	19.64	0.139	0.0008	10.6
3	0.5	0	18.6	0.148	0.9912	23.3
4	0	0.015	17.94	0.123	0.0006	53
5	0	0.03	17.17	0.112	0.00073	64.2
6	0.25	0.015	19.2	0.126	0.000827	83.3
7	0.25	0.03	19.04	0.118	0.00067	43
8	0.5	0.015	17.8	0.131	0.00096	51.7
9	0.5	0.03	17.33	0.122	0.0006	53.6
10	0.25	0.015	19.64	0.121	0.000794	40.1
11	0.25	0.015	19.58	0.119	0.000683	28.9
12	0.25	0.015	19.8	0.128	0.000735	33
13	0.25	0.015	18.96	0.123	0.0008	29.8

*RSA: Radical Scavenging Activity

Table 3 List of Experiments in the CCD and the Responses of each Run

Run	Independent Variables		Response					
	CCE (%W/V)	Beta carotene (%W/V)	L*	a*	b*	ΔE	YI	WI
1	0	0	90.11	-4.18	4.19	6.78	6.64	88.47
2	0.25	0	88.79	-5.11	7.54	89.25	12.13	85.55
3	0.5	0	88.12	-5.79	10.17	88.89	16.48	83.32
4	0	0.015	69.93	30.79	84.63	114.01	172.89	5.055
5	0	0.03	65.85	38.82	81.27	111.57	176.31	3.67
6	0.25	0.015	71.27	27.31	89.21	117.4	178.82	2.37
7	0.25	0.03	68.47	34.71	83.64	113.52	174.5	4.11
8	0.5	0.015	70.51	29.54	86.07	115.11	174.38	4.34
9	0.5	0.03	67.71	35.96	76.19	108.08	160.75	9.77
10	0.25	0.015	70.1	28.68	90.1	129.08	170.89	2.55
11	0.25	0.015	69.8	27.5	92.08	128.09	172.09	3.16
12	0.25	0.015	71.56	27.12	90.67	110.76	179.67	2.23
13	0.25	0.015	70.23	26.84	91.34	123.45	181.69	2.32

Table 4 Some characteristics of the constructed models for responses

Response	Regression equation	Model Summary
Moisture	Moisture Content= $-150.75B+18.84A^2$	R-sq=0.82 R-sq(adj)=0.69
Thickness	Thickness= 0.04A-0.311B-1.2AB	R-sq=0.86 R-sq(adj)=0.82
WVP	WVP= 0.00083A-0.0022B-0.03AB	R-sq=0.73 R-sq(adj)=0.64
RSA	RSA= $3260.53B-1786.67AB+230.86A^2-49425B^2$	R-sq=0.94 R-sq(adj)=0.9
L*	L*= $-1837.9B+256.6AB+3504.5B^2$	R-sq=0.99 R-sq(adj)= 0.99
a*	a*= $-19.04A+3178.9B+32.95A^2-59133.9B^2$	R-sq=0.99 R-sq(adj)= 0.99
b*	b*= $8458.5B-737.33AB-64.48A^2-194624B^2$	R-sq=0.99 R-sq(adj)= 0.99
ΔE	Delta E= $255.6A+6778.6B-5706.4AB-123491B^2$	R-sq=0.88 R-sq(adj)=0.8
YI	YI= $16842.1B-1693.7AB-370878B^2$	R-sq=0.99 R-sq(adj)= 0.99
WI	WI= $-8447.8B+749.8AB+29.37A^2+186535.4B^2$	R-sq=0.99 R-sq(adj)= 0.99

۳- نتایج و بحث

۳-۱- رطوبت

معادله خط مربوط به متغیر رطوبت در جدول ٤ آورده شده است. اثر درجه دوم اسانس زنیان و اثر خطی بتاکاروتن روی رطوبت معنی‌دار بود. همانطور که در شکل ۱ مشاهده میشود، با افزایش مقدار بتاکاروتن مقدار رطوبت در فیلم کاهش یافت به طوریکه کمترین مقدار رطوبت در بیشترین مقدار بتاکاروتن بدست آمد، که علت آن احتمالاً به دلیل ماهیت هیدروفوبیک بتاکاروتن و تعامل آن با گروه‌های هیدروکسیل پکتین تحت تاثیر توئین۸۰ بود که توانست تعامل گروه‌های هیدروکسیل با مولکول‌های آب را به دلیل دسترسی کمتر به آنها محدود کند، نتایج مشابه توسط هری و

همکاران (۲۰۱۸)، برای فیلم‌های کیتوزان حاوی بتاکاروتن بدست آمد [۲۸]. نیسار و همکاران (۲۰۱۸)، با اضافه کردن اسانس میخک به پکتین اعلام کردند که فیلم مقاوم به رطوبت تشکیل شد [۲۲].

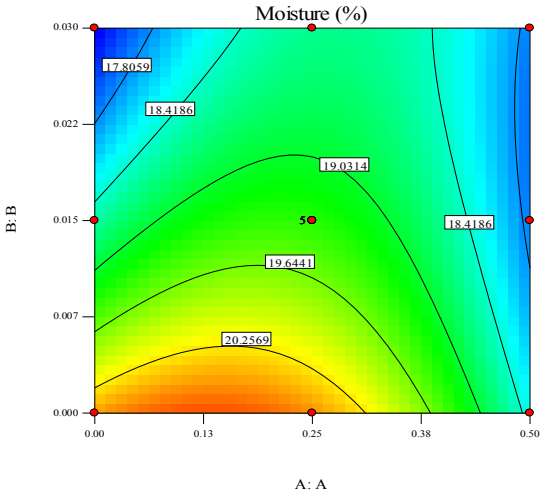


Fig 1 Countor plot of Moisture content in films based on 2 variables

اسانس زنیان تا ۰/۲۵ درصد روی رطوبت اثر معنی‌داری ایجاد نکرد ولی در مقادیر بالاتر از ۰/۲۵ باعث کاهش مقدار رطوبت در فیلم شد، که دلیل کاهش مقدار رطوبت، ناشی از افزایش مقدار اسانس روغنی زنیان (ترکیبات فنولی و آبگریز) و برقراری پیوندهای بیشتر به کمک توین ۸۰ با ماتریس پلیمر پکتین بود. در نهایت کمترین مقدار رطوبت در فیلم حاوی بیشترین مقدار زنیان و بتاکاروتن گزارش شد.این مشاهدات همچنین با داده‌های گزارش شده توسط یان و همکاران (۲۰۱۵) هم‌خوانی داشت [۲۹].

۳-۲- ضخامت

اثر خطی اسانس زنیان و بتاکاروتن و اثر برهمکنش آنها روی ضخامت معنی‌دار بود. افزودن اسانس زنیان در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد باعث افزایش معنی‌دار ضخامت فیلم‌ها نسبت به نمونه شاهد گشت ($p<۰/۰۱$). به طوریکه بیشترین ضخامت مربوط به فیلم حاوی ۰/۵ درصد اسانس زنیان بود، که علت آن افزایش میزان مواد جامد محلول در فیلم حاوی اسانس بود و همچنین نحوه قرارگیری مولکول‌های اسانس و توئین ۸۰ نیز در افزایش ضخامت فیلم موثر بود و در غلظت بالاتر اسانس بافتی فشرده‌تر ایجاد شد، که توانست سبب افزایش ضخامت شود. نتایج داده‌های ما با گزارش‌های نیسار و همکاران (۲۰۱۸) و نوراجیت و همکاران، (۲۰۱۰) مطابقت داشت [۲۲، ۳۰]. در محلول‌های حاوی امولسیون‌های بتاکاروتن که جهت تهیه فیلم استفاده شد به دلیل کاهش اندازه ذرات در طی تهیه امولسیون سبب کاهش ضخامت در فیلم شد، دلیل دیگر تمایل بیشتر بتاکاروتن غیر قطبی به سمت عوامل سطحی (توئین ۸۰) بود که سبب کاهش کشش سطحی و کاهش نیروی بینابینی و پخش شدن بهتر ذرات بتاکاروتن در فیلم شد. در مقادیر بالای بتاکاروتن زنیان به شدت کمتری باعث افزایش ضخامت فیلم شد، شدت پخش شدن بالای بتاکاروتن و طرز قرارگیری ذرات بتاکاروتن در مقایسه با اسانس سبب کاهش ضخامت در فیلم‌های حاوی مقادیر بالاتر بتاکاروتن شد و از اثر افزایش زیاد ضخامت توسط اسانس جلوگیری کرد (شکل ۲).

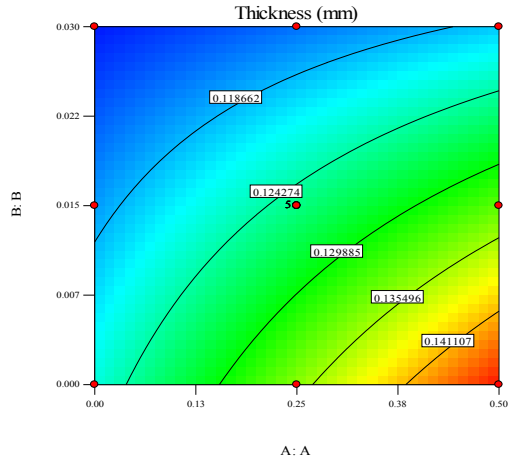


Fig 2 Countor plot of Thickness in films based on 2 variables

۳-۳- نفوذپذیری به بخار آب

میزان نفوذپذیری بخار آب در فیلم های خوراکی با نوع کاربرد آن مرتبط است به طوری که هر ماده غذایی را نمیتوان با یک پلیمر یکسان بسته بندی نمود. همانطور که در معادلات جدول ٤ آورده شده است، اثر خطی اسانس زنیان و بتاکاروتن و همچنین برهمکنش آنها رو نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها معنی‌دار شد. افزایش مقدار بتاکاروتن باعث کاهش معنی‌دار مقدار نفوذپذیری به بخار آب شد که علت آن احتمالا به افزایش تراکم و کاهش تخلخل فیلم‌ها با پر کردن حفره‌های ایجاد شده در پلیمر بود.

اسانس زنیان در مقادیر پایین بتاکاروتن باعث افزایش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها شد، که دلیل این افزایش را میتوان به کاهش فشردگی و ایجاد یک شبکه متخلخل با تعدادی حفره و شکاف نسبت داد، ولی در مقادیر بالای بتاکاروتن، اسانس زنیان اثری روی نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها نداشت که علت آن را به افزایش تراکم و کاهش تخلخل فیلم‌ها با پر کردن حفره‌های ایجاد شده در پلیمر میتوان نسبت داد. نتایج بدست آمده از این مطالعه با پژوهش سوخته‌زاری و همکاران (۲۰۱۷)، که از عصاره گیاه تشنه‌داری در نانوالیاف سلولز به کار برده بودند، مطابقت دارد [۳۱]. آتارس و همکاران (۲۰۱۱)، در بررسی افزودن اسانس زنجبیل به فیلم خوراکی واکنش‌های مختلفی را مشاهده کردند به این صورت که در دماهای پایین، اسانس زنجبیل اثر ممانعت کنندگی مناسبی در مقابل بخار آب داشت، اما با افزایش دما به بیش از ۳۰°C اثر آن ضعیف شد، که دلیل آن را حرکت فاز روغنی اسانس به سطح و ایجاد ساختاری ناهمگون در فیلم نسبت دادند [۳۲]. بررسی سایر تحقیقات نشان میدهد که نفوذپذیری به بخار آب میتواند تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف مانند دما و رطوبت قرار گرفته و بسته به نوع پلیمر و نیز افزودن اسانس‌های مختلف نتایج مختلفی به همراه داشته باشد.

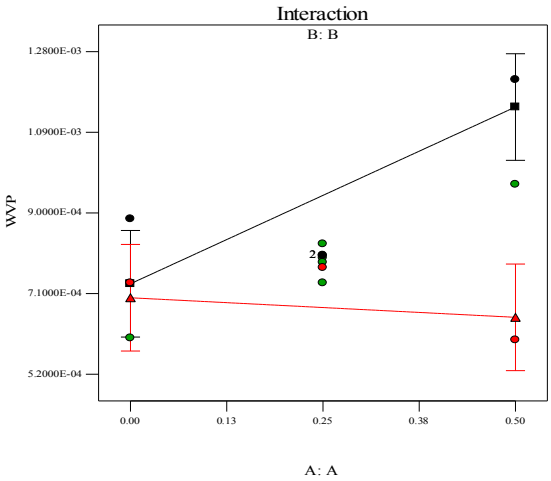


Fig 3 Interaction plot of WVP in films based on 2 variables

۳-٤- مقدار ترکیبات فنولیک کل و خواص آنتی اکسیدانی

اسانس روغنی زنیان دارای ترکیبات فنولیک نسبتاً بالایی می‌باشد، به طوریکه مقدار ترکیبات فنولیک کل برای اسانس زنیان ۲۹۰/٤۲۵ میلی‌گرم گالیک اسید گزارش شد و که این عدد نشان‌دهنده قدرت آنتی اکسیدانی مناسب این گیاه می‌باشد. نتایج مشابهی توسط یی و همکاران (۲۰۱٤)، گزارش شد [۳۳]. از طرفی دیگر وجود ترکیباتی مانند تیمول، گاماترپن و آلفاپینن به خصوص تیمول عامل اصلی فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشند که ۸۰-۵۰ درصد ترکیبات فنولیک را به خود اختصاص داده اند [۱۱].ترکیب آنتی اکسیدان‌ها در مواد بسته بندی مواد غذایی برای کنترل اکسیداسیون مولکولهای چربی و رنگدانه‌ها به حفظ کیفیت محصولات غذایی کمک می‌کنند. رنگ بنفش رادیکال‌های DPPH در محلول پس از واکنش با ماده مورد نظر به رنگ بی رنگ یا زرد کمرنگ تبدیل می‌شود [۲۲]. در این بررسی با افزودن رنگدانه بتا کاروتن به فیلم پکتین ظرفیت آنتی اکسیدانی به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ٤). بتاکاروتن یک ترکیب هیدروکربنی تتراترپنی است که از واحدهای ایزوپرن تشکیل شده است و دارای پیوندهای دوگانه مزدوج می‌باشد که بر خاصیت آنتی اکسیدانی آن اثر دارد. دو مکانیسم عمده که باعث ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی بتاکاروتن می‌شود: شامل گرفتن انرژی از اکسیژن یگانه و غیر فعال کردن آن و اضافه شدن رادیکال آزاد به زنجیره پلی‌انی بتا کاروتن و جلوگیری از واکنش رادیکال‌های آزاد با همدیگر به خصوص رادیکال آزاد پراکسیل (تری کلرو متیل پروکسیل) است، همچنین بتاکاروتن باعث غیر فعال شدن ترکیبات حساس کننده (sensitizer) که در تولید رادیکال آزاد و اکسیژن یگانه نقش دارند، می‌شود [۳٤]، پس بدیهی است که افزودن بتاکاروتن میتواند باعث افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های تهیه شده گردد. نتایج بدست آمده از این پژوهش با نتایج هری و همکاران (۲۰۱۸) که از بتاکاروتن در فیلم کیتوزان استفاده کرده بودند همخوانی دارد در پژوهش آنها با افزایش مقدار بتاکاروتن در فیلم ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلم افزایش یافت [۲۸]. از طرفی دیگر در کمترین و بیشترین مقدار بتاکاروتن افزایش مقدار زنیان تا ۰/۰۲۵ درصد روی ظرفیت آنتی اکسیدانی اثر معنی‌داری نداشت ولی بالاتر از ۰/۰۲۵ درصد اسانس زنیان باعث افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها شد.

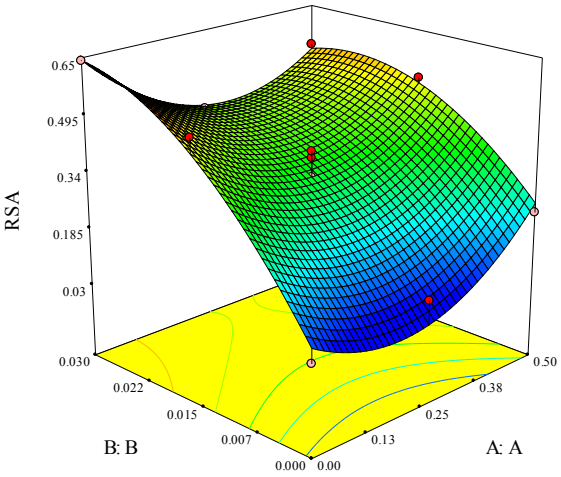


Fig 4 Response Surface for the effect of *Carum copticum* essense and Beta carotene on RSA

۳-۵- تغییرات رنگی

مشخصات رنگی فیلم‌های خوراکی از عوامل مهم در انتخاب محصول توسط مشتری است و به نوع ترکیبات به کار رفته و فرآیند ساخت بستگی دارد. مقایسه تغییرات رنگی در جدول ٤ نشان داد که اثر خطی افزودن اسانس و بتاکاروتن باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رنگی نسبت به نمونه شاهد گشت. نتایج حاصل از پارامتر روشنایی (L) نشان داد که مقدار اسانس زنیان اثر معنی‌داری روی روشنایی ایجاد نکرد. همانطور که در شکل ۵a مشاهده میشود، افزایش مقدار بتا کاروتن تا ۰/۱۵ درصد با شدت بیشتری باعث کاهش شفافیت فیلم شد، ولی از ۰/۰۱۵ تا ۰/۰۳ درصد بتاکاروتن روی شفافیت اثر معنی‌داری نداشت و میزان شفافیت در فیلم ثابت گشت.

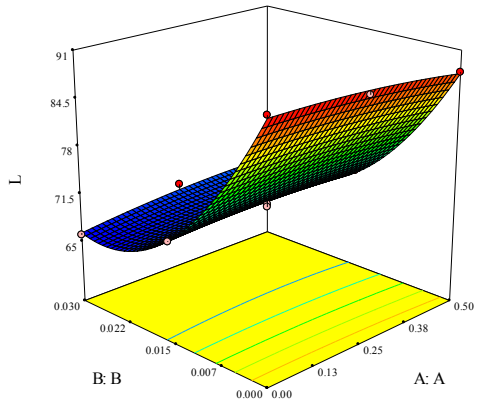
مقدار شاخص قرمزی (a^*) تحت تأثیر معنی‌دار اثر خطی و درجه دوم اسانس زنیان و بتاکاروتن قرار گرفت. همانطور که در شکل ۵b نیز آورده شده است، اسانس زنیان تا ۰/۲۵ درصد باعث کاهش مقدار a و بالاتر از ۰/۲۵ باعث افزایش مقدار a گشت که دلیل آن میتواند به پراکندگی نور ناشی از توزیع ذرات چربی در طول فرایند خشک کردن مربوط باشد. مقدار شاخص قرمزی با اضافه شدن بتاکاروتن تا ۰/۱۵ درصد با شیب تندی افزایش یافت بیشتر از این مقدار پارامتر قرمزی ثابت شد.

با افزایش مقدار بتاکاروتن تا ۰/۰۱۵ مقدار شاخص زردی به شدت افزایش پیدا کرد ولی با بیشتر شدن مقدار بتاکاروتن اثر معکوس ایجاد شد. در مقادیر بالاتر بتاکاروتن زنیان ابتدا باعث افزایش مقدار زردی و سپس به دلیل داشتن اثر درجه دوم باعث کاهش مقدار b^* گشت.

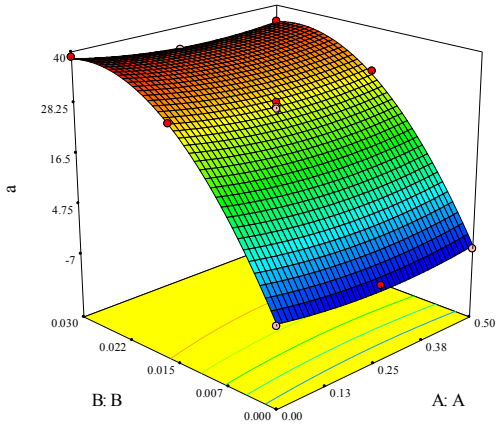
همانطور که در شکل ۵d مشاهده می‌شود، اختلاف رنگ کلی فیلم‌ها با اضافه کردن بتاکاروتن تا ۰/۰۱۵ درصد سیر صعودی داشت که ناشی از کاهش میزان روشنایی نمونه‌های فیلم بود، ولی در مقادیر بالاتر تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد که نشان از پیدا کردن ساختار یکنواخت‌تر بود، از طرفی دیگر در مقادیر پایین بتاکاروتن با افزایش اسانس اختلاف رنگ افزایش یافت ولی در مقادیر بالای بتاکاروتن اثر زنیان روی اختلاف رنگ غیر معنی‌دار بود که دلیل آن ناشی از وجود مقدار بالای بتاکاروتن که توانست اثر اسانس زنیان در افزایش ΔE را خنثی کند.

اسانس زنیان روی شاخص زردی نمونه‌های فیلم تهیه شده اثر معنی‌داری نداشت، ولی مقدار بتا کاروتن روی این پارامتر معنی-دار بود. همانطور که در شکل ۵e نیز مشاهده میشود با افزایش مقدار بتاکاروتن تا ۰/۰۱۵ درصد مقدار شاخص زردی نمونه‌ها به شدت افزایش یافت ولی با افزایش بتا کاروتن از ۰/۰۱۵ تا ۰/۰۳ درصد به دلیل همگن‌تر شدن و افزایش یکنواختی، تراکم بیشتر و تمایل به برقراری برهمکنش‌های بیشتر میزان شاخص زردی فیلم-ها کاهش پیدا کرد.

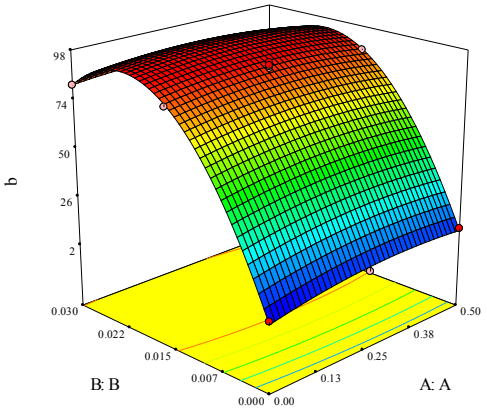
مقدار بتاکاروتن روی شاخص سفیدی فیلم‌های تهیه شده اثر معنی‌داری داشت به این صورت که با افزایش مقدار بتاکاروتن تا ۰/۰۱۵ درصد شاخص سفیدی به شدت کاهش یافت ولی با بیشتر شدن مقدار بتاکاروتن اثر آن روی شاخص سفیدی نیز معنی‌داری خود را از دست داد. رنگدانه بتاکاروتن به دلیل دارا بودن شدت رنگ زیاد و خاصیت آب‌گریزی باعث تغییراتی در خواص ظاهری فیلم‌های فعال شد. در بررسی مهدی‌زاده و همکاران (۱۳۹۱)، افزودن عصاره پوست انار به فیلم کیتوزان شاخص‌های شفافیت و سفیدی کاهش و اختلاف رنگ کلی و اندیس زردی افزایش یافت [۳۵]، اختلاف در پارامترهای رنگ میتواند ناشی از رنگ بتاکاروتن یا لیپیدها باشد. تغییرات مشابه در پارامترهای رنگ توسط بناویدز و همکاران (۲۰۱۲)، پس از اضافه کردن روغن اسانس پسته به فیلم های مبتنی بر آلژینات مشاهده شد [۳٦].



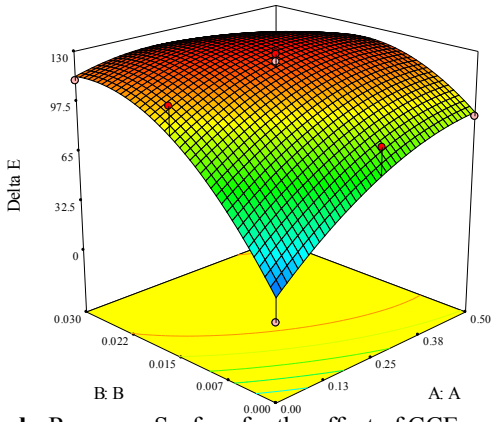
a- Response Surface for the effect of CCE and Beta carotene on L



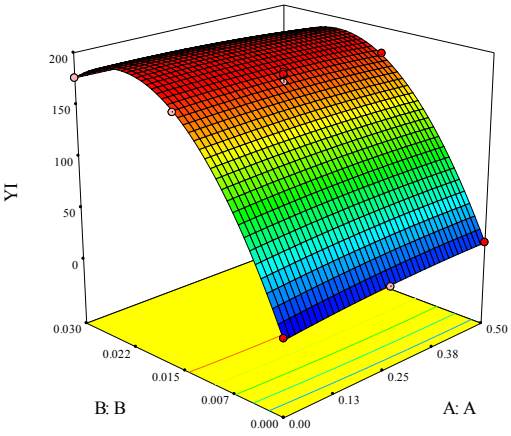
b- Response Surface for the effect of CCE and Beta carotene on a*



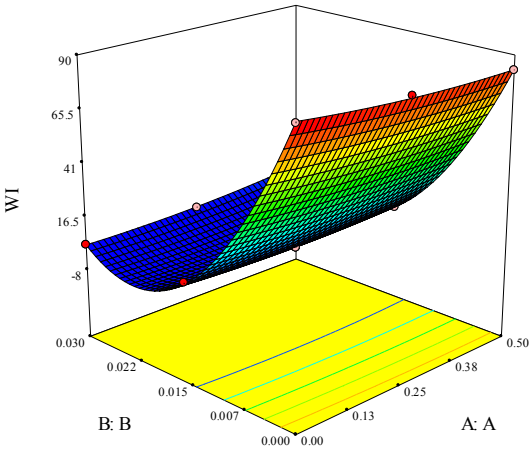
c- Response Surface for the effect of CCE and Beta carotene on b*



d- Response Surface for the effect of CCE and Beta carotene on Delta E



e- Response Surface for the effect of CCE and Beta carotene on YI



f- Response Surface for the effect of CCE and Beta carotene on WI

Fig 5 Response Surface for the effect of CCE and Beata carotene in color indexes

۳-۶- فعالیت ضد میکروبی

گیاهان میتوانند ترکیبات مختلف ضد میکروبی تولید کنند تا خود را از حملات زیستی محافظت کنند که برای مقاومت در برابر عفونت‌های میکروبی حائز اهمیت است [۳۷]. فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های پکتین که توسط اسانس زنیان در برابر باکتری-های *E. coli* و *B. cereus* تشکیل شده است در شکل ۶ نشان داده شده است. فیلم پکتین خالص به عنوان نمونه شاهد برای بررسی اثر ضد میکروبی پکتین بدون افزودنی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه شاهد (فیلم پکتین) هیچ گونه اثر ضد میکروبی در برابر دو باکتری بیماریزا نشان نداد که نشان دهنده نبود خواص ضد میکروبی در پکتین بود. با افزایش غلظت اسانس زنیان قطر ناحیه ممانعت از رشد به طور قابل توجهی برای دو گونه مورد آزمایش افزایش یافت. نتایج مشابهی توسط نیسار و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است. عوامل مختلفی بر فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های فعال اثر می‌گذارند که این عوامل شامل ماهیت اسانس، نوع باکتری، خصوصیات ماتریکس فیلم، روش و شرایط تولید فیلم‌ها می‌باشد [۳۸]. خواص ضد میکروبی بالای فیلم‌های حاوی اسانس عمدتاً مربوط به دی ترپن‌ها به خصوص کارواکرول بود، که مقدار زیادی از این ترکیبات در اسانس روغنی زنیان وجود داشت. با افزودن ۰/۲۵ درصد اسانس فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها کاهش یافت (جدول۵). نتایج به دست آمده نشان داد اثر اسانس زنیان بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود، که با نتایج حسینی و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی مهار *L. monocytogenes* در فیلم خوراکی حاوی اسانس آویشن مطابقت داشت [۳۹]. عوامل ضد میکروبی اثر بیشتری بر باکتری-های گرم مثبت داشتند، دلیل اصلی این تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت بود. در باکتری‌های گرم مثبت، مولکول اصلی دیواره سلولی پپتید وگلیکان و مقدار کمی پروتئین است. دیواره سلولی باکتریهای گرم منفی دارای ساختار پیچیده‌تر همراه با پلی‌ساکاریدهای مختلف، پروتئین‌ها و پپتیدوگلیکان بر پایه چربی است [۴۰]، باکتری های گرم منفی حاوی یک غشای هیدروفیلی اضافی است که با مولکول‌های لیپوپلی ساکارید خاصی تعبیه شده است که به عنوان یک مانع در برابر ترکیبات هیدروفیلی عمل میکند، که باعث کاهش نفوذ ترکیبات هیدروفیلی از طریق غشای سلولی میشود. به علت عدم وجود غشای بیرونی اضافی در باکتری‌هاای گرم مثبت عوامل ضدمیکروبی راحت‌تر نفوذ میکنند، نتایج مشابهی نیز توسط فیشر و فیلیپس (۲۰۰۶)، نشان داده شده است [۴۱].

Table 5 Antimicrobial activity of pectin films incorporated with *Carum copticum* essence (CCE)

Films	Inhibitory zone (mm)	
	B.cereus	*E. coli*
Blank	6^{c}	6^{c}
Pectin+CCE 0.25%	7.37 ± 0.27^{b}	7.09 ± 0.32^{b}
Pectin+CCE 0.5%	9.57 ± 0.09^{a}	7.69 ± 0.14^{a}

Different letters in the same column indicate signifcant differences ($P < 0.05$).

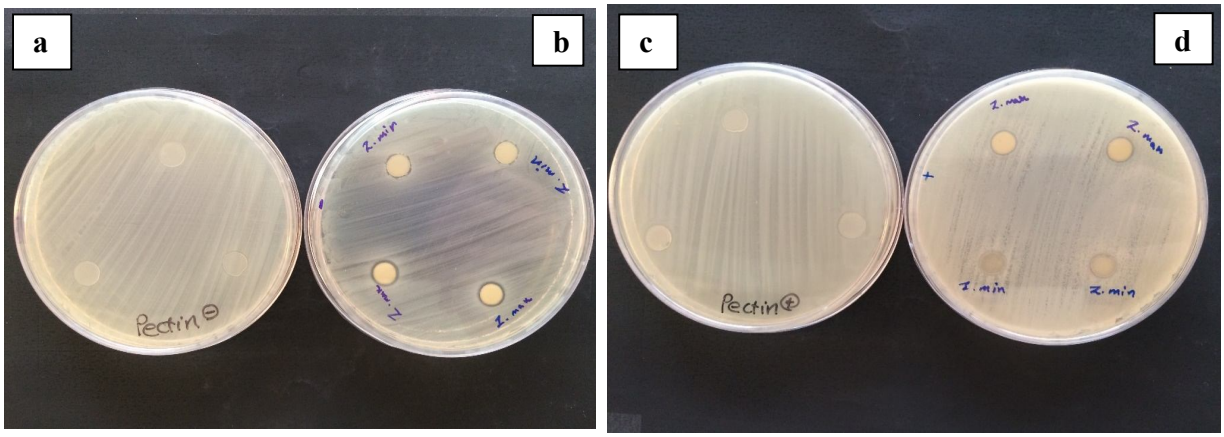


Fig 6 Inhibitory effects of pectin film (a) and pectin-CCE films on the growth of *E. coli* (b), Inhibitory effects of pectin film (c) and pectin-CCE films on the growth of *B. cereus* (d).

٤- نتیجه‌گیری کلی

به علت مشکلات پلیمرهای نفتی در آلودگی محیط زیست، فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر بر پایه پلیمرهای طبیعی جایگزین مناسبی برای این بسته‌بندی‌ها به شمار می‌آیند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که اثر همزمان اسانس زنیان و بتاکاروتن با پلیمر پکتین تأثیر قابل توجهی در رطوبت، ضخامت، نفوذپذیری به بخار آب، خواص آنتی اکسیدانی و شاخص‌های رنگی داشت. فیلم‌های تهیه شده از اسانس زنیان و بتاکاروتن بیشتر ماهیت هیدروفوبی نشان داد، که با کاهش مقدار رطوبت و نفوذپذیری (در بتاکاروتن) این ویژگی در آنها تأیید شد، از لحاظ خصوصیات رنگی افزودن اسانس و غلظت بالای بتاکاروتن باعث کاهش روشنایی گشت و تغییرات رنگ این فیلم‌ها در مقایسه با فیلم شاهد تغییرات چشمگیری داشت، به خصوص بتاکاروتن بیشترین تأثیر را بر شاخص‌های رنگی داشت. برای بررسی اثرات فیلم‌های پکتین حاوی اسانس زنیان بر کیفیت و ایمنی محصولات غذایی بویژه محصولاتی که دارای حساسیت بالای اکسیداتیو و میکروبی هستند، باید تحقیقات بیشتری انجام شود.

٥- منابع

[1] Peng, Y., Li, Y. 2014, Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films, Food Hydrocolloids, 36: 287-293.

[2] Nonsee, K., Supitchaya, C., Thawien, W. 2011, Antimicrobial activity and the properties of edible hydroxypropyl methylcellulose based films incorporated with encapsulated clove (Eugenia caryophyllata Thunb.) oil, Int. Food Res. J, 18:1531-1541.

[3] Krochta, J. 2002, Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities, Protein-based films and coatings, 1-41.

[4] Ahmad, M., Benjakul, A., Prodpran, T., Agustini, T. 2012, Physico-mechanical andantimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils, Food Hydrocolloids, 28: 189-199.

[5] Azeredo, H., Morrugares-Carmona, R., Wellner, N., Cross, K., Bajka, B., Waldron, K. 2016, Development of pectin films with pomegranate juice and citric acid, Food chem, 198: 101-106.

[6] Otoni, C., Moura, M., Aouada, F., Camilloto, G., Cruz, R., Lorevice, M., Soares, N., Mattoso, L. 2014, Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films, Food Hydrocolloids, 41:188-194.

[7] Sánchez Aldana, D., Andrade-Ochoa, S., Aguilar, C., Contreras-Esquivel, C., Nevárez-Moorillón, G. 2015, Antibacterial activity of pectic-based edible films incorporated with Mexican lime essential oil, Food Cont, 50: 07-912.

[8] Kanatt, S.,Chander, R., Sharma, A. 2008, Chitosan and mint mixture: A newpreservative for meat and meat products, Food Chemistry, 107: 845–852.

[9] Khajeh, M., Yamani, Y., Seiken, F., Bahramifar, N. 2004, Comparison of essential oil composition of Carum copticum obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydro distillation methods, Food Chemistry.

[10] Nickavar, B., Abolhasani, F. A. 2009, Screening of antioxidant properties ofseven Umbelliferae fruits from Iran, Pakistan Journal of Pharmaceutical Science, 30-35.

[11] Kazemi, M. 2014, Chemical composition, antimicrobial, antioxidant andanti-inflammatory activity of carum copticum Journal of Essential Oil Bearing Plants oil, 17: 1040–1045

[12] Salehi surmaghi, MH. 2009, Medicinal plants and phytotherapy,1nd ed.donyaye aghzieh, pp:378-81

[13] Failla, M., Huo, T., Thakkar, S. 2007, In vitro screening of relative bioaccessibility of carotenoids from foods, In 10th Asian Congress of Nutrition, Taipei, Taiwan: HEC Press, Healthy Eating Club Pty Ltd, 200-203.

[14] Schroeder, W.A., Johnston, E.A., 1995. Sinet oxygen and peroxyl radicals regulate carotenoid biosynthesis in Phaffia rhodoxyma. J. Biol. Chem, 270: 18374– 18379

[15] Chu, B., Ichikawa, S., Kanafusa, S., Nakajima, M. 2007, Preparation of protein stabilized b-carotene Nano dispersions by

hortensis essential oil, International Journal of Biological Macromolecules, 116-124.
[25] Harte, R. 2010, Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract, Food Hydrocolloids, 770-775.
[26] Jahed, E., Alizadeh Khaledabad, M., Almasi, H., Hasanzadeh, H. 2017, Physicochemical properties of Carum copticum essential oilloadedchitosan films containing organic nanoreinforcements. Carbohydrate Polymers, 164: 325–338.
[27] Erdohan, ZÖ., Çam, B., Turhan, KN. 2013, Characterizationof antimicrobial polylactic acid based films. J Food Eng, 119: 308-315.
[28] Hari, N., Francis, S., Alakananda, G., Rajendran, N., Ananthakrishnan. N, 2018, Synthesis, characterization and biological evaluation of chitosan film incorporated with β-Carotene loaded starch nanocrystals, Food Packaging and Shelf Life, 16: 69-76.
[29] Yuan, G., Lv, H., Yang, B., Chen, X, Sun. 2017, Physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of chitosan films containing carvacrol and pomegranate peel extract, Molecules 20: 11034-11045
[30] Norajit, K., Kim, K., Ryu, G. 2010, Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract, J. Food Eng, 98: 377-384.
[31] Sukhtezar, SH., Almasi, H., Pirsa, S., Zandi, M., Pirouzifard, M. 2017, Development of bacterial cellulose based slow-release active films by incorporation of Scrophularia striata Boiss. Extract, Carbohydrate Polymer, 1-31.
[32] Atarés, L., Pérez-Masiá, R., Chiralt, A. 2011, The role of some antioxidants in the hpmc film properties and lipid protection in coated toasted almonds, J. Food Eng, 104: 649-656.
[33] Yi, J., Lam, T.I., Yokoyama, W., Cheng, L.W., Zhong, F. 2014, Beta-carotene encapsulated in food protein nanoparticles reduces peroxyl radical oxidation in Caco-2 cells, Food Hydrocolloids, 43: 31-40.
[34] Stahl, W., Sies, H. 2003, Antioxidant activity of carotenoids, Molecular Aspects of Medicine, 24: 345-351.
[35] Mehdizadeh, T., Tajik, H, Razavi, M. 1391, Evaluation of Antibacterial, Antioxidant and emulsification evaporation method. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1052-1063.
[16] Shen, Z., Kamdem, D. 2015, Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils, Int. J. Biol. Macromol, 289-296.
[17] Aldana D., Andrade-Ochoa S., Aguilar C.N., Contreras-Esquivel J.C., Nevárez-Moorillón G.V. 2015, Antibacterial activity of pectic-based edible films incorporated with Mexican lime essential oil, Food Control, 907-912.
[18] F Liu, D Wang, C Sun, Y Gao. 2016, Influence of polysaccharides on the physicochemical properties of lactoferrinepolyphenol conjugates coated b-carotene emulsions, Food Hydrocolloids, 661-669.
[19] Ashrafi Tamai , T. Z. 2013, Chemical Composition and Anti-candida Activity of Trachyspermum ammi Essential Oil on Azoles Resistant Candida albicans Isolates from Oral Cavity of HIV+ Patients, medicinal Plants, 137-149.
[20] Khanjari, A. J. 2017, Antimicrobial activity of poly lactic acid films incorporated with Trachyspermum ammi essential oil and ethanolic extract of propolis on the growth of some bacterial foodborne pathogens, Iranian Journal of Medical Microbiology, 44-51.
[21] Dorman, HJD., Peltoketo, A., Hiltunen, R.,Tikkanen, MJ. 2003, Characterization of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs, J. Food Chem, 255-262.
[22] Nisar, T., Wang, Z., Yang,X., Tian, Y., Iqbal, M., Guo, Y. 2018, Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties, International Journal of Biological Macromolecules, 106: 670-680.
[23] Duoxia, X. 2014, Influence of whey protein–beet pectin conjugate on the properties and digestibility of b-carotene emulsion during in vitro digestion, Food Chemistry, 374–379.
[24] ShojaeeAliabadi, S. H. 2013, Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-carrageenan films containing Satureja

Optical Characteristics of Edible Film Starch-Chitosan Nanocomposite Containing Alcoholic Pineapple Peel Outlet, Urmia Medical Journal, 3: 315-323.

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

[37] Lin, Y., Labbe, R., Shetty, K. 2004, Inhibition of Listeria monocytogenes in fish and meat systems by use of oregano and cranberry phytochemical synergies, Applied and Environmental Microbiology, 9: 5672-5678.

[38] Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., Abdollahi, M. 2014, Antimicrobialactivity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oilsagainst three common foodborne pathogens, Food Control, 36: 1–7.

[39] Hosseini, M., Razavi, S., Mousavi, M. 2009, Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils, J. Food Process Pres, 33: 727-743.

[40] Siripatrawan, U., Harte, B. 2010, Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract, Food Hydrocolloids, 24: 770-775.

[41]] Fisher, K., Phillips, C. 2006, The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of Campylobacter jejuni, Escherichia coli O157,Listeria monocytogenes, Bacillus cereus and Staphylococcus aureus in vitro and in food systems, J. of Appl. Microb, 101:1232-1240.

Preparation of colored pectin film containing *Carum copticum* Essential oil and Beta-Carotene Pigment and investigation of its physicochemical and antimicrobial properties

Asdagh, A. [1*], Pirsa, S. [1], Khosrowshahi Asl, A. [1]

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

(Received: 2018/04/24 Accepted:2019/01/29)

In this research, the *Carum copticum* essential oil (0.25, 0.5 %) and beta-carotene (0.015, 0.03 %) were used in film containing citrus pectin to modify and determine the functional properties of the films. The dependent variables included moisture content, thickness, water vapor permeability, antioxidant properties, color indexes and microbial properties. The results showed that adding *Carum copticum* essential oil and beta-carotene reduced the amount of moisture significantly, the lowest moisture was in the film that contained the highest amount of essential oil and beta-carotene. The thickness of the films decreased significantly with the addition of essential oil and beta-carotene. The water vapor permeability decreased and increased by adding essential oil and beta-carotene, respectively. Addition *of Carum copticum* essential oil and beta-carotene increased the antioxidant properties of the films. The lightness index increased in films containing *Carum copticum* essential oil. Addition of β-carotene up to 0.015% reduced the amount of lightness, but at higher concentrations, the lightness increased significantly, the yellowness index was increased but whiteness index was decreased by adding beta-carotene. The antimicrobial effect of *Carum copticum* essential oil on *B. cereus* was more than *E. coli*. Due to the fact that the beta-carotene pigment changes the color of food products in different conditions, the films will be used in intelligent packaging of food products.

Keywords: Biodegradable film, *Carum copticum* essential oil, Beta-carotene, Functional properties

[*] Corresponding Author E-Mail Address: pirsa7@gmail.com