

Investigation of the Antioxidant, Mechanical, and Antibacterial Properties of Hydroxypropyl Methylcellulose Films Containing Pomegranate Peel Extracts Obtained Using Different Solvents

Mahnaz Ghadimi-Yari¹, Somayeh Aziznia², Hamed Aziznia³

Original Article

Abstract

Background: Edible films incorporating natural bioactive compounds offer a novel approach to environmental preservation and extending food shelf life. This study aimed to investigate the effect of different extraction solvents (water, methanol, and ethanol) on the total phenolic content and antioxidant activity of pomegranate peel extract. Subsequently, an active film based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) was developed and evaluated.

Methods: The total phenolic content of the extracts was determined using the Folin-Ciocalteu method, and antioxidant activity was evaluated via the DPPH assay. The oxidative stability of soybean oil packaged with HPMC films containing three concentrations (200, 400, and 600 ppm) of the extracts was assessed over 60 days by measuring the peroxide value. Mechanical properties were analyzed using tensile testing, and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, and *Escherichia coli* was examined using the disc diffusion method. Data were analyzed by ANOVA followed by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

Findings: The methanolic extract exhibited the highest total phenolic content and antioxidant activity compared to the ethanolic and aqueous extracts. The film containing the methanolic extract demonstrated the greatest improvement in the oxidative stability of soybean oil, with the efficacy of the films in slowing oxidation increasing over time. Additionally, the film with the methanolic extract was the most effective treatment in inhibiting bacterial growth, particularly against *Staphylococcus aureus*. The incorporation of the extracts generally enhanced the flexibility of the HPMC films.

Conclusion: The hydroxypropyl methylcellulose film containing methanolic pomegranate peel extract, serving as active packaging with antioxidant and antimicrobial properties, has significant potential for application in the food industry.

Keywords: Edible film; Pomegranate peel extract; Hydroxypropyl methylcellulose; Antioxidant activity; Phenolic compounds; Antimicrobial activity

Citation: Ghadimi-Yari M, Aziznia S, Aziznia H. Investigation of the Antioxidant, Mechanical, and Antibacterial Properties of Hydroxypropyl Methylcellulose Films Containing Pomegranate Peel Extracts Obtained Using Different Solvents. J Health Syst Res 2026; 22(3): 431-40.

1- PhD Candidate, Nutrition and Food Security Research Center AND Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Food Science and Hygiene, School of Veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran

3- PhD, Department of Food Biotechnology AND Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

Corresponding Author: Somayeh Aziznia; Assistant Professor, Department of Food Science and Hygiene, School of Veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran; Email: s.aziznia@ilam.ac.ir

بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، مکانیکی و عملکرد ضد باکتریایی فیلم هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی عصاره پوست انار استخراج شده با حلال‌های مختلف

مهناز قدیمی یاری^۱، سمیه عزیزنیا^۲، حامد عزیزنیا^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بسته‌بندی‌های خوراکی حاوی ترکیبات زیست فعال طبیعی، رویکردی نوین برای حفظ محیط زیست و افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی هستند. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر نوع حلال استخراج (آب، متانول و اتانول) بر محتوای ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار و سپس ساخت و ارزیابی فیلم فعال بر پایه هیدروکسی پروپیل متیل سلولز انجام شد.

روش‌ها: ترکیبات فنولی کل در عصاره‌ها به روش فولین سیوکالتو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون ۲،۲-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) سنجیده شد. پایداری اکسیداتیو روغن سویای بسته‌بندی شده با فیلم‌های هیدروکسی متیل سلولز حاوی سه غلظت ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm از عصاره‌ها نیز طی ۶۰ روز با اندازه‌گیری عدد پراکسید ارزیابی گردید. ویژگی‌های مکانیکی با آزمون کشش و فعالیت ضد میکروبی علیه سه باکتری شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی* و *موریوم* و *اشریشیا کلی* به روش انتشار دیسک بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و مقایسه میانگین Duncan ($P < 0.05$) تحلیل گردید.

یافته‌ها: عصاره متانولی دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با عصاره اتانولی و آبی بود. فیلم حاوی عصاره متانولی بالاترین اثر را در بهبود پایداری اکسیداسیونی روغن سویا داشت و کارایی فیلم‌ها در کند کردن روند اکسیداسیون، با گذشت زمان افزایش نشان داد. فیلم حاوی متانول مؤثرترین تیمار در ممانعت از رشد باکتری‌ها (به ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس*) بود. به طور کلی، افزودن عصاره سبب افزایش انعطاف‌پذیری فیلم‌های هیدروکسی پروپیل متیل سلولز شد.

نتیجه‌گیری: فیلم هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی عصاره متانولی پوست انار به عنوان یک بسته‌بندی فعال با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی، می‌تواند پتانسیل بالایی برای کاربرد در صنعت غذا داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: فیلم خوراکی؛ عصاره پوست انار؛ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز؛ فعالیت آنتی‌اکسیدانی؛ ترکیبات فنولی؛ فعالیت آنتی‌میکروبی

ارجاع: قدیمی یاری مهناز، عزیزنیا سمیه، عزیزنیا حامد. بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، مکانیکی و عملکرد ضد باکتریایی فیلم هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی عصاره پوست انار استخراج شده با حلال‌های مختلف. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۴۰۵؛ ۲۲ (۳): ۴۴۰-۴۳۱

تاریخ چاپ: ۱۴۰۵/۷/۱۵

پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۱۲/۲۳

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۴/۸

متعددی وجود ترکیبات زیست‌فعال در پوست انار و نقش آن‌ها در خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد قارچی عصاره آن را مورد بررسی و تأیید قرار داده‌اند. وجود ترکیباتی همچون آلکالوئیدها، آنتوسیانین‌ها، آنتوسیانیدین‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، فنول‌ها، پروآنتوسیانیدین‌ها، استرول‌ها، تربین‌ها و زانتونوئیدها در پوست انار گزارش شده است (۸-۴).

توجه به محیط زیست و افزایش ایمنی مواد غذایی همواره یکی از دغدغه‌های محققان بوده است. استفاده از فیلم‌های خوراکی و به کارگیری ترکیبات زیست‌فعال طبیعی در آن‌ها از جمله رویکردهای جدید در حفظ محیط زیست و نگهداری مواد غذایی محسوب می‌شود (۹). یکی از رایج‌ترین مکانیسم‌های فساد مواد غذایی به خصوص محصولات چرب، اکسیداسیون است. اکسیداسیون عمده‌ترین دلیل فساد در روغن‌های خوراکی به شمار می‌رود و

مقدمه

استفاده بهینه از پسماند محصولات کشاورزی و کارخانه‌های صنایع غذایی علاوه بر کاهش مشکلات زیست محیطی، می‌تواند منجر به استخراج ترکیبات زیست‌فعال (Bioactive compounds) متنوعی از آن‌ها نیز شود (۱). ترکیبات زیست‌فعال، مواد طبیعی موجود در غذاها (به ویژه غذاهای گیاهی) هستند که فراتر از تغذیه پایه، بر فرایندهای زیستی بدن تأثیر می‌گذارد و برای سلامت مفید می‌باشد. این ترکیبات اغلب در مقادیر کم عمل می‌کند و خواصی مانند آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی دارند (۲). در کارخانه‌های فرآوری انار و محصولات آن، بخش زیادی از ضایعات (حدود ۳۰ تا ۶۰ درصد) را پوست میوه تشکیل می‌دهد. بنابراین، استفاده صنعتی و بهینه از این حجم وسیع از ضایعات ضروری به نظر می‌رسد (۳). پژوهش‌های

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات تغذیه و امنیت غذایی و گروه تغذیه جامعه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳- دکتری تخصصی، گروه بیوتکنولوژی مواد غذایی و پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

نویسنده مسؤول: سمیه عزیزنیا؛ استادیار، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

Email: s.aziznia@ilam.ac.ir

بهینه‌سازی مرحله استخراج و سپس ارزیابی چند بعدی عملکرد فیلم نهایی در شرایطی شبیه به واقعیت صنعت غذا پیرازند.

هدف از انجام پژوهش حاضر در مرحله اول، بررسی نوع حلال (سه حلال آبی، متانولی و اتانولی) بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی پوست انار بود. در مرحله دوم، فیلم HPMC حاوی عصاره‌های پوست انار استخراج شده با سه حلال مختلف، تهیه گردید و قابلیت ضد اکسایشی آن بر اکسیداسیون روغن سویا و نیز برخی ویژگی‌های رئولوژیکی و ضد میکروبی فیلم مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

مواد اولیه: انار از باغ اناری در منطقه غرب رودبار سیروان در استان ایلام تهیه گردید. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که منطقه کشت و شرایط اقلیمی-زراعی خاص آن، به دلیل ایجاد اثر ترکیبی با فاکتور ژنتیکی، می‌تواند بر میزان و نوع ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بخش‌های مختلف میوه انار از جمله پوست آن تأثیر بگذارد (۲۱). بنابراین، در تحقیق حاضر انارها فقط از یک منطقه جمع‌آوری گردید. روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان از یک منبع تجاری در ایران تهیه شد. کلیه ترکیبات شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده دارای درجه آزمایشگاهی بودند و از شرکت‌های Sigma-Aldrich (آمریکا)، Merck (آلمان) و دکتر مجللی از ایران خریداری گردید.

تهیه عصاره از پوست انار: ابتدا انارهای ترک خورده و آفتاب سوخته حذف شد و سایر انارها پس از شستشو، به صورت دستی دان و پوست و دانه‌ها تفکیک شدند. پوست‌ها در سایه خشک و سپس توسط آسیاب خانگی پودر گردید. پودر به دست آمده تا زمان مصرف در ظروف تیره رنگ و در یخچال نگهداری شد. جهت استخراج عصاره، از سوکسله و بر اساس روش Negi و همکاران با کمی اصلاحات استفاده شد (۱۳). از اتانول ۸۰ درصد، متانول ۸۰ درصد و آب به عنوان حلال استفاده گردید. ۵۰ گرم از پودر پوست انار با ۲۰۰ میلی‌لیتر از هر کدام از حلال‌ها به طور جداگانه عصاره‌گیری شد. عصاره‌گیری تا مرحله بی‌رنگ شدن عصاره ادامه یافت و در نهایت، عصاره‌ها به وسیله کاغذ صافی صاف و پس از سانتریفوژ، توسط دستگاه روتاری تحت خلأ در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ شد و تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری گردید.

تعیین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار به روش آزمون DPPH: $2,2\text{-diphenyl-1-picrylhydrazyl}$ (DPPH): جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی از روش Agourram و همکاران با اندکی تغییرات استفاده گردید (۱۴). ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره در غلظت‌های مختلف (۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به ۴ میلی‌لیتر از محلول متانولی $10^{-5} \times 6$ مولار رادیکال آزاد DPPH اضافه و پس از هم زدن، ۶۰ دقیقه در محلی تاریک و در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر طی سه تکرار با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Cecil 1021, UV/VIS Spectrophotometer) خوانده شد. یک نمونه حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر محلول متانول به همراه ۴ میلی‌لیتر DPPH به عنوان نمونه کنترل و حلال متانول برای صفر کردن دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. درصد مهار رادیکال‌های DPPH با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید که در آن Ac میزان جذب کنترل، As میزان جذب نمونه و I درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH می‌باشد.

نه تنها طعم غذا را تغییر می‌دهد، بلکه عمر نگهداری مواد غذایی را کاهش می‌دهد و محصولات جانبی مضر برای سلامت انسان را هم تولید می‌کند (۱۰). بسته‌بندی فعال حاوی آنتی‌اکسیدان، روش مؤثری برای مقابله با اکسیداسیون مواد غذایی مختلف می‌باشد. در این نوع بسته‌بندی، به جای افزودن مستقیم مقادیر بالایی از آنتی‌اکسیدان به داخل ماده غذایی، یک یا چند ترکیب آنتی‌اکسیدانی در درون پلیمر بسته‌بندی فرموله می‌شود و با رهایش آهسته در طول مدت زمان نگهداری، باعث کاهش فعالیت‌های اکسیداسیون و افزایش عمر ماندگاری ماده غذایی می‌گردد (۱۱). امروزه با توجه به اثبات تأثیر نامطلوب برخی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان و با توجه به تمایل روزافزون مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، تلاش برای جایگزینی افزودنی‌های سنتزی با محصولات طبیعی رو به گسترش است (۱۲).

در زمینه بهره‌گیری از پسماندهای کشاورزی مانند پوست انار برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال و کاربرد آن‌ها در توسعه سامانه‌های بسته‌بندی فعال، مطالعاتی انجام شده است. پژوهش‌های پیشین به خوبی اثربخشی عصاره پوست انار را به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قوی تأیید کرده‌اند (۱۵-۱۳). همچنین، تحقیقات متعددی بر تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بر پایه بیوپلیمرهای مختلف از جمله هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (Hydroxy propyl methyl cellulose) یا HPMC (۱۶) و ترکیب آن‌ها با عصاره‌های گیاهی مختلف (۱۷) متمرکز بوده‌اند. نتایج این مطالعات نشان داده‌اند که افزودن عصاره‌های طبیعی می‌تواند هم‌زمان موجب بهبود خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها شود و بر برخی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی آن‌ها تأثیر بگذارد (۱۸، ۱۷).

مشقات سلولز به دلیل زیست‌سازگاری، خوراکی بودن، غیر آلاینده بودن و صرفه اقتصادی، به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. HPMC از مشتقات غیر یونی سلولز است که قابلیت تولید فیلم‌های خوراکی شفاف، بی‌بو و بی‌مزه، مقاوم در برابر روغن و محلول‌های آبی را دارد و مورد تأیید سازمان غذا و دارو آمریکا (U.S. Food and Drug Administration یا FDA) نیز می‌باشد (۹).

فرایند استخراج، نخستین و تعیین‌کننده‌ترین مرحله در بازیابی ترکیبات ارزشمند از مواد اولیه طبیعی مانند پوست انار است. استخراج با حلال، متداول‌ترین روش برای تهیه عصاره از مواد گیاهی محسوب می‌شود که دلیل آن، سهولت استفاده، کارایی مناسب و قابلیت به کارگیری برای گیاهان مختلف می‌باشد (۱۹). بازده و کیفیت عصاره نهایی به شدت تحت تأثیر شاخص‌های متعددی از جمله نوع حلال مورد استفاده قرار دارد. انتخاب حلال مناسب بر اساس قطبیت، فراریت، ایمنی و هزینه، به طور مستقیم بر میزان و طیف ترکیبات استخراج شده (مانند ترکیبات فنولی) و در نتیجه، بر قدرت فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره تأثیر می‌گذارد (۲۰). با وجود گستردگی پژوهش‌ها، اغلب آن‌ها به بررسی اثر یک حلال خاص برای استخراج یا تمرکز بر یک ویژگی محدود از فیلم بسنده کرده‌اند. به عبارت دیگر، رویکردی مقایسه‌ای برای سنجش هم‌زمان تأثیر نوع حلال بر عملکرد نهایی فیلم در یک محیط غذایی واقعی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. همچنین، ارزیابی هم‌زمان تأثیر این عصاره‌ها بر مجموعه‌ای از خصوصیات کاربردی فیلم مانند خواص رئولوژیکی، ضد میکروبی و به ویژه کارایی عملی آن‌ها در افزایش ماندگاری یک ماده غذایی چرب، در تحقیقات پیشین کمتر مد نظر بوده است. این خلأ پژوهشی، لزوم انجام مطالعاتی را نشان می‌دهد که با نگاهی کاربردی، به

$$I(\%) = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

برای ارزیابی و مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی، از آنتی اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluene) یا به عنوان کنترل مثبت در غلظت‌های یکسان با عصاره استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی در عصاره‌های پوست انار: ترکیبات فنولی بر اساس روش Agourram و همکاران با استفاده از فولین سیوکالتیو در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار کل ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید در دامنه صفر تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. سپس جذب نوری نمونه‌های رقیق شده با جایگذاری جذب قرائت شده در معادله خطی منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر اساس میلی گرم هم‌ارز گالیک اسید در هر گرم از عصاره گزارش شد (۱۴).

تهیه فیلم‌های HPMC حاوی عصاره پوست انار: ۱۰ گرم پودر HPMC به تدریج و همراه با همزنی به ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۸۰ درجه سلسیوس افزوده شد و به مدت یک شب بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت تا محلولی شفاف حاصل گردد. سپس ۵ گرم گلیسرول و ۰/۵ گرم توئین ۸۰ (E433 به عنوان امولسیفایر) به آن اضافه گردید و جهت اختلاط کامل، ۳۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. سپس غلظت‌های مختلف عصاره (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm) به آن اضافه شد و به وسیله همزن‌ایزر با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه همگن شدند. بعد از هموژنیزاسیون به دلیل ورود حباب‌های هوا به محلول و تشکیل کف، از آن تحت خلأ در دمای اتاق برای تخلیه گاز محلول استفاده شد. سپس در دمای محیط به ظروف تفلون با ابعاد ۲۰ × ۱۰ سانتی‌متر انتقال داده شد و به مدت ۳۶ ساعت در آن با دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری گردید تا خشک شود. در نهایت، فیلم تشکیل و از ظرف جدا شد و تا زمان آزمایش در داخل پلاستیک‌های پرس شده فاقد تبادل هوایی و در یخچال با دمای ۵-۴ درجه سلسیوس نگهداری شد (۲۲).

بررسی تأثیر فیلم‌های HPMC حاوی عصاره پوست انار بر اکسیداسیون روغن سویا: جهت بررسی کارایی فیلم‌های حاوی عصاره در پایداری روغن سویا، فیلم‌هایی با سه غلظت مختلف از هر کدام از عصاره‌ها به شکل ظروف استوانه‌ای (برای شباهت بیشتر به ظروف معمول در نگهداری روغن‌ها) تهیه گردید. فیلم‌ها در دمای محیط و رطوبت نسبی ۵۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت از نظر رطوبتی تعدیل شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان درون آن‌ها ریخته شد. سپس درب استوانه‌ها کاملاً درزبندی گردید و به مدت ۶۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. هر ۱۵ روز یکبار، سه ویال از هر غلظت برداشته شد و پایداری اکسیداتیو نمونه‌ها با عدد پراکسید بر اساس روش استاندارد AOAC 965.33 اندازه‌گیری شد (۲۳). در این روش، مقدار مشخصی از نمونه روغن در محیط اسیدی حاوی متانول و اسید استیک حل شد و با محلول یدید پتاسیم واکنش داده شد. ید آزاد شده در اثر اکسیداسیون پراکسیدها، با استفاده از محلول تیوسولفات سدیم و معرف نشاسته به عنوان نشانگر تیتیر گردید. عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در هر کیلوگرم روغن (meq O₂/kg oil) محاسبه شد. روغن سویای تصفیه شده فاقد آنتی‌اکسیدان و روغن با دو سطح رایج ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT برای مقایسه بهتر نتایج در نظر گرفته شدند.

تعیین ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های HPMC حاوی عصاره پوست انار:

برای محاسبه ویژگی‌های مکانیکی از دستگاه آنالیز بافت STM (مدل STM 20) متصل به یک نمایشگر بر اساس روش تباری و همکاران با اندکی تغییرات استفاده شد (۲۲). قبل از انجام آزمایش‌های کشش، تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل شدند. فیلم‌ها به شکل مستطیل‌هایی با ابعاد ۱۰ × ۲/۵ سانتی‌متر با دو سر پهن (انتهای دمبلی شکل) برش داده شدند. فاصله بین دو گیره دستگاه ۵ سانتی‌متر و سرعت حرکت آن‌ها ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه تنظیم و از سلول بار ۵۰ نیوتنی استفاده شد. درصد کشش با دستگاه تعیین شد و مقاومت کششی فیلم‌ها بر اساس رابطه ۲ محاسبه گردید که در آن مقاومت کششی بر حسب مگا پاسکال، نیرو بر حسب نیوتن و ضخامت و عرض فیلم بر حسب متر می‌باشد.

$$\text{رابطه ۲} \quad \text{ضخامت فیلم} \times \text{عرض فیلم} / \text{حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن} = \text{مقاومت کششی}$$

بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های HPMC حاوی عصاره پوست انار:

برای تعیین خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از سه عصاره، از روش نفوذ ترکیب ضد میکروبی فیلم در محیط آگار استفاده شد. در این روش فیلم‌ها به صورت صفحه‌های دایره‌ای با قطر ۶ میلی‌متر بریده و به محیط کشت آگار مغذی که از قبل با ۱۰^۶-۱۰^۵ cfu/ml میکروارگانیزم از انواع *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923)، *سالمونلا تیفی موریوم* (ATCC 14028) و *اشریشیا کلی* (ATCC 25922) به طور جداگانه تلقیح شده بود، منتقل شدند. پس از آن پلیت‌های حاوی محیط کشت آلوده همراه با فیلم‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت بررسی میزان ممانعت‌کنندگی فیلم خوراکی از رشد میکروارگانیزم‌ها، قطر هاله‌های تشکیل شده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۱ میلی‌متر و پس از کسر قطر خود فیلم، تعیین گردید (۲۴).

در پژوهش حاضر کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل انجام شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌های کمی (عدد پراکسید، ترکیبات فنولی کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقاومت کششی، درصد ازدیاد طول و ویژگی‌های ضد میکروبی) به عنوان متغیرهای وابسته کمی در نظر گرفته شد. عوامل اصلی شامل نوع حلال (آبی، متانولی ۸۰ درصد و اتانولی ۸۰ درصد) و غلظت عصاره (در مرحله ساخت فیلم) به عنوان متغیرهای مستقل طبقه‌ای (فاکتوریل) لحاظ شد. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از آماره F آزمون ANOVA در سطح اطمینان ۹۵ درصد و سطح معنی‌داری ۵ درصد تجزیه و تحلیل گردید. در صورت مشاهده اختلاف معنی‌دار بین میانگین سطوح هر فاکتور، مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای Duncan انجام گرفت. کلیه در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ (IBM version 26, Armonk, NY Corporation) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

تعیین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مواد غذایی مختلف با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان، دیابت و چاقی در ارتباط است (۲۵). درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد در تیمارهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است. در بین عصاره‌ها، عصاره متانولی در تمام غلظت‌ها بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را (بر حسب درصد مهار رادیکال آزاد) از خود نشان داد و پایین‌ترین درصد برای عصاره آبی تعیین گردید.

جدول ۱. میانگین خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست انار استخراج شده با حلال‌های مختلف

غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)	میانگین درصد مهار عصاره متانولی (۸۰ درصد)	میانگین درصد مهار عصاره اتانولی (۸۰ درصد)	میانگین درصد مهار عصاره آبی	میانگین درصد مهار BHT
۵۰	$28/60 \pm 0/56^e$	$26/31 \pm 0/11^e$	$30/41 \pm 0/76^e$	$41/13 \pm 0/51^e$
۷۵	$40/02 \pm 0/68^d$	$37/36 \pm 0/06^d$	$36/57 \pm 0/58^d$	$53/73 \pm 1/18^d$
۱۰۰	$44/05 \pm 1/03^c$	$41/43 \pm 0/18^c$	$40/03 \pm 1/91^c$	$57/22 \pm 0/48^c$
۱۵۰	$77/45 \pm 1/09^b$	$79/15 \pm 0/80^b$	$74/73 \pm 0/05^b$	$96/46 \pm 0/06^b$
۲۰۰	$86/91 \pm 0/43^a$	$80/17 \pm 0/06^a$	$78/78 \pm 0/53^a$	$98/83 \pm 0/43^a$

حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف بین داده‌ها در هر ستون است.

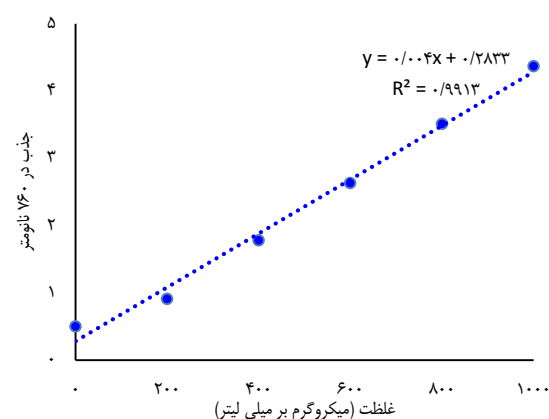
برای تمامی عصاره‌ها و آنتی اکسیدان سنتزی، قدرت آنتی رادیکالی وابسته به غلظت بود.

تعیین ترکیبات فنولی عصاره پوست انار: میانگین ترکیبات فنولی کل در عصاره‌های مختلف در جدول ۲ و منحنی استاندارد مورد استفاده برای محاسبه این مقادیر در شکل ۱ قابل مشاهده است. نتایج به دست آمده از استخراج ترکیبات فنولی نشان داد که نوع حلال بر میزان این ترکیبات تأثیر معنی داری داشته است. میانگین ترکیبات فنولی در عصاره‌های متانولی (۸۰ درصد)، اتانولی (۸۰ درصد) و آبی به ترتیب حدود $189/13$ ، $168/47$ و $144/20$ میلی گرم بر گرم عصاره، به دست آمد. بر اساس داده‌های جدول ۲، بیشترین میزان ترکیبات فنولیک در عصاره متانولی و کمترین میزان در عصاره آبی تعیین گردید. در پژوهش حاضر همخوانی بالایی بین میزان ترکیبات فنولی و خواص آنتی اکسیدانی عصاره‌ها مشاهده شد.

بررسی تأثیر فیلم‌های HPMC حاوی عصاره پوست انار بر اکسیداسیون روغن سویا: تغییرات عدد پراکسید تیمارهای مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. عدد پراکسید بیانگر محصولات اولیه اکسیداسیون است (۲۶). نتایج نشان داد که اثر روش استخراج، غلظت و زمان بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. لازم به ذکر است که میزان عدد پراکسید در روز صفر (زمان شروع گرم‌خانه‌گذاری)، $1/030$ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در هر کیلوگرم روغن بود. همانطور که نتایج نشان می‌دهد، عدد پراکسید تیمار شاهد به صورت معنی داری از سایر فیلم‌های حاوی عصاره بیشتر بود. در بین فیلم‌های حاوی عصاره نیز فیلم حاوی عصاره متانولی، بالاترین اثر را در بهبود پایداری اکسیداسیونی روغن سویا داشت. فیلم حاوی عصاره آبی نسبت به دو تیمار اتانولی و متانولی نتایج ضعیف‌تری را نشان داد.

تعیین ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های HPMC حاوی عصاره پوست انار: در جدول ۴ میانگین درصد کشش و مقاومت کششی فیلم‌های HPMC ارائه شده است. عصاره‌های الکلی باعث افزایش غیر معنی دار ($P > 0/05$) در استحکام کششی تیمارها شد و فیلم دارای عصاره آبی کاهش معنی داری ($P < 0/05$) در

این فاکتور ایجاد کرد. افزودن عصاره، درصد کشش هر سه تیمار را به طور معنی داری افزایش داد.



شکل ۱. منحنی استاندارد جذب غلظت‌های مختلف گالیک اسید در ۷۶۰ نانومتر

فعالیت ضد میکروبی فیلم HPMC حاوی عصاره پوست انار: نتایج فعالیت ضد میکروبی در جدول ۵ آورده شده است. نتایج نشان داد که تماس مستقیم فیلم‌های حاوی عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی بر روی رشد باکتری‌های مورد بررسی، تأثیر بازدارندگی داشته است. به طور کلی، در تمام عصاره‌ها اثر ضد میکروبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت/استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود و فیلم‌های حاوی عصاره اتانولی و آبی در بازدارندگی رشد *سالمونلا تیپی‌موریوم* تفاوت معنی داری نداشت. در مطالعات مختلف به تفاوت در حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اشاره شده است.

جدول ۲. میانگین میزان ترکیبات فنولیک در عصاره پوست انار استخراج شده با حلال‌های مختلف

نوع ماده	مقدار ترکیبات فنولیک در عصاره بر اساس نوع حلال (میلی گرم بر گرم عصاره)		
	آب	اتانول (۸۰ درصد)	متانول (۸۰ درصد)
عصاره پوست انار	۱۴۴/۲۰ ± ۰/۲۷ ^c	۱۶۸/۴۷ ± ۱/۶۹ ^b	۱۸۹/۱۳ ± ۰/۶۵ ^a

حروف غیر مشابه در سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۳. میانگین عدد پراکسید در فیلم‌های Hydroxy propyl methyl cellulose (HPMC) حاوی غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار

تیمار* (ppm)	روز [عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان پراکسید در هر کیلوگرم روغن)]	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
اتانولی - ۲۰۰		۱۱/۱۰±۰/۲۱ ^{c**}	۲۴/۱۴±۱/۱۵ ^{cb}	۳۰/۸۶±۱/۴۵ ^e	۳۴/۴۳±۱/۶۰ ^c
اتانولی - ۴۰۰		۱۰/۴۲±۰/۱۵ ^d	۲۲/۲۲±۰/۴۰ ^d	۲۸/۰۹±۰/۶۸ ^f	۳۲/۱۳±۰/۰۴ ^d
اتانولی - ۶۰۰		۹/۲۳±۰/۱۲ ^f	۲۱/۴۰±۰/۴۱ ^e	۲۵/۵۰±۱/۱۶ ^g	۳۰/۹۲±۰/۶۱ ^e
متانولی - ۲۰۰		۷/۸۲±۰/۰۵ ^g	۱۷/۲۳±۰/۳۵ ^f	۱۸/۰۶±۰/۷۰ ^h	۲۰/۵۸±۰/۳۲ ^f
متانولی - ۴۰۰		۷/۵۴±۰/۰۴ ^g	۱۶/۲۱±۰/۰۵ ^g	۱۷/۵۳±۰/۶۲ ⁱ	۱۸/۲۸±۰/۱۵ ^g
متانولی - ۶۰۰		۶/۱۰±۰/۱۷ ^h	۱۳/۴۰±۱/۰۳ ^h	۱۵/۹۷±۰/۸۱ ^j	۱۶/۴۵±۱/۲۱ ^h
آبی - ۲۰۰		۱۲/۹۸±۰/۹۳ ^b	۲۷/۱۲±۲/۸۶ ^b	۳۵/۱۱±۰/۴۱ ^b	۳۹/۱۵±۱/۴۸ ^b
آبی - ۴۰۰		۱۱/۰۲±۰/۶۴ ^c	۲۵/۴۲±۰/۳۱ ^b	۳۲/۴۲±۰/۲۸ ^c	۳۷/۸۳±۲/۰۳ ^{cb}
آبی - ۶۰۰		۱۰/۰۱±۰/۱۳ ^{ed}	۲۲/۸۲±۰/۷۴ ^{cd}	۳۱/۱۶±۰/۱۲ ^d	۳۴/۳۸±۱/۲۹ ^c
BHT - ۱۰۰		۲/۶۰±۰/۰۳ ⁱ	۴/۶۳±۰/۱۲ ⁱ	۶/۱۷±۰/۰۳ ^k	۱۳/۶۴±۰/۵۴ ⁱ
BHT - ۲۰۰		۲/۳۷±۰/۰۵ ^j	۳/۱۷±۰/۰۵ ^j	۵/۷۵±۰/۰۱ ^l	۱۱/۳۶±۰/۰۶ ^j
شاهد		۱۹/۸۲±۱/۱۰ ^a	۳۶/۰۶±۲/۶۵ ^a	۵۱/۵۴±۳/۰۷ ^a	۸۹/۳۸±۰/۵۵ ^a

*در ستون تیمارها، فیلم‌های تهیه شده با هر کدام از غلظت‌های مختلف (۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ ppm) از عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی نشان داده شده است. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در دو غلظت رایج (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) و نمونه شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان به کار گرفته شده است.
**حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین داده‌ها در هر ستون می‌باشد.

جدول ۴. مقایسه میانگین خواص مکانیکی فیلم Hydroxy propyl methyl cellulose (HPMC) حاوی عصاره پوست انار

فیلم	درصد کشش	مقاومت کششی (مگاپاسکال)
بدون عصاره	۲۲/۵۲±۲/۱۱ ^c	۲۷/۳۴±۱/۴۴ ^a
عصاره اتانولی (۸۰ درصد)	۲۶/۴۲±۰/۳۱ ^b	۲۸/۷۶±۱/۰۵ ^a
عصاره متانولی (۸۰ درصد)	۳۰/۵۶±۲/۷۵ ^a	۲۸/۴۲±۲/۳۵ ^a
عصاره آبی	۳۶/۳۰±۱/۰۵ ^b	۱۹/۵۴±۲/۵۱ ^b

حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین داده‌ها در هر ستون است.

بحث

پژوهش‌های بسیاری وجود ترکیبات زیست فعال در پوست انار را مورد بررسی و تأیید قرار داده‌اند. بیش از ۴۸ ترکیب شیمیایی از جمله آلکالوئیدها، آنتوسیانین‌ها،

آنتوسیانیدین‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، فنول‌ها، پروآنتوسیانیدین‌ها، استرول‌ها، ترین‌ها و زانتونوئیدها در پوست انار گزارش شده است (۴-۸). در مطالعه‌ای بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست انار استخراج شده با حلال‌های مختلف نشان داد که نوع حلال و غلظت عصاره تأثیر قابل توجهی بر این فعالیت داشت؛ به طوری که عصاره متانولی در بالاترین غلظت مورد آزمایش، بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داد (۱۳). همچنین، نتایج یک تحقیق طی مقایسه عملکرد حلال‌های مختلف شامل استون، متانول، اتانول، آب و اتیل استات نشان داد که عصاره استخراج شده با استون از خواص آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بوتیل هیدروکسی‌آنیزول (BHA) و بوتیل هیدروکسی‌تولون (BHT) برخوردار بوده است (۲۷).

زارع‌زاده و همکاران میزان قطبیت حلال‌ها و تأثیر آن بر استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدان را به عنوان عامل مؤثری بر قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی از حلال‌های متفاوت دانستند (۳). مشتاق و همکاران ترکیبات فنولیکی مانند آنتوسیانین، گالوتان‌ها، هیدروکسی بنزوئیک اسید، هیدروکسی سیانیک اسید و تانن‌های قابل هیدرولیز را در خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار مؤثر دانستند (۲۸).

جدول ۵. فعالیت ضد میکروبی فیلم Hydroxy propyl methyl cellulose (HPMC) حاوی عصاره پوست انار استخراج شده با حلال‌های مختلف

نوع عصاره	ناحیه بازدارندگی رشد (میلی‌متر)	سالمونلا تیفی موریوم	اشریشیا کلی	استافیلوکوکوس اورئوس
عصاره آبی		۵/۳۶ ± ۰/۶۱ ^b	۷/۳۳ ± ۰/۲۲ ^c	۱۳/۳۵ ± ۰/۴۲ ^c
عصاره اتانولی (۸۰ درصد)		۵/۳۴ ± ۰/۲۳ ^b	۸/۴۶ ± ۰/۲۳ ^b	۱۵/۰۳ ± ۱/۰۳ ^b
عصاره متانولی (۸۰ درصد)		۹/۵۲ ± ۰/۳۱ ^a	۱۲/۵۳ ± ۰/۴۲	۲۴/۱۸ ± ۰/۱۲ ^a

حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین داده‌ها در هر ستون است.

در فیلم نشاسته حاوی غلظت‌های مختلف عصاره گیاه گزنه توسط الماسی گزارش شده است (۳۵). او دریافت که عصاره گزنه بر روی روند تولید عدد پراکسید روغن سویا نقش دارد و در غلظت‌های بالاتر عصاره و زمان‌های طولانی‌تر، تأثیر بر کاهش روند اکسیداسیون، بیشتر بوده است (۳۳۵). در پژوهش دیگری، فیلم فعال حاوی غلظت‌های مختلف عصاره کنجاله کنجد طی ۶۰ روز نگهداری، باعث افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا شد و در زمان‌های طولانی‌تر و غلظت‌های بالاتر عصاره، فیلم فعال خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نشان داد و در کند کردن روند اکسیداسیون مؤثرتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی بوده است (۳۶).

در مطالعه حاضر، تیمارهای حاوی عصاره در مقایسه با فیلم بدون عصاره از درصد کشش بالاتر برخوردار بودند و عصاره آبی باعث کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) در استحکام کششی فیلم‌ها شد. در فیلم‌های سلولزی، باندهای هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل، در پایداری ساختار فیلم نقش دارند. با افزودن عصاره پوست انار، برهم‌کنش‌های درون مولکولی بین گروه‌های هیدروکسیل سلولز و ترکیبات عصاره ایجاد می‌شود و بنابراین، باندهای هیدروژنی اصلی (Original hydrogen bonds) بین زنجیره‌های سلولز با باندهای هیدروژنی جدید بین اجزای عصاره و مولکول‌های سلولز جایگزین گردید و توانست بر روی استحکام و انعطاف‌پذیری فیلم‌ها تأثیر بگذارد (۳۷). تفاوت در ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های مختلف در تحقیق حاضر، نشان دهنده تفاوت در ترکیب اجزای عصاره‌های مختلف می‌باشد. مهدی‌زاده و همکاران گزارش کردند که استفاده از عصاره پوست انار در فیلم نشاسته-کیتوزان، تأثیر معنی‌داری بر استحکام کششی و درصد کشش فیلم‌ها نداشته است (۳۸). افزایش استحکام کششی بیوپلیمرها پس از افزودن عصاره درخت سرو به فیلم HPMC، به برهم‌کنش‌های هیدروفوبی و باندهای هیدروژنی بین ماتریکس بیوپلیمر و اجزای مختلف عصاره نسبت داده شده است (۳۴). Hu و همکاران به این نتیجه رسیدند که افزودن ۱/۵ درصد عصاره پوست انار به فیلم‌های پلی‌اتیلن، استحکام کششی را تغییر نداد و درصد کشش را به طور معنی‌داری افزایش داد. آن‌ها وجود ترکیبات با وزن مولکولی پایین در عصاره و نفوذ بیشتر آن‌ها در فضاهای ریز موجود در ساختار پلیمر و ایفای نقشی شبیه به نرم‌کننده‌ها را عامل این تفاوت عنوان کردند (۳۹).

در پژوهش حاضر، فیلم‌های حاوی عصاره متانولی پوست انار بیشترین فعالیت بازدارندگی را در برابر هر سه باکتری مورد آزمون داشت و پس از آن به ترتیب فیلم‌های حاوی عصاره اتانولی و آبی قرار داشتند. این ترتیب کارایی، با نتایج اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل (جدول ۲) همسو بوده است. این امر می‌تواند نشان دهنده نقش ترکیبات فنولی در مکانیسم ضد میکروبی فیلم‌ها باشد. ترکیبات فنولی با مهار آنزیم‌های خاص قادر هستند بر روی نفوذپذیری غشای سلولی تأثیر بگذارند و نقش ضد میکروبی خود را اعمال نمایند (۴۰). فعالیت ضد میکروبی فنول‌ها از طریق اختلال در غشای باکتریایی، علاوه بر تغییر در ترکیب و نفوذپذیری غشا، می‌تواند با مکانیسم‌هایی همچون ایجاد استرس اکسیداتیو، مهار تنفس و تداخل در فرایندهای انتقال یونی حاصل شود. اثربخشی این ترکیبات به نوع و غلظت ترکیبات فنولی، روش استخراج، حلال مورد استفاده و سایر عوامل متغیر بستگی دارد. ترکیبات فنولی موجود در پوست انار متنوع هستند و شامل فنول‌های با وزن مولکولی کم تا متوسط (مانند آنتوسیانین‌ها، گالاتانین‌ها، اسید هیدروکسی سینیامیک و اسید هیدروکسی بنزوئیک) و

نتایج مطالعات نشان داده است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان فقط به وجود ویتامین‌های C، E و بتاکاروتن نسبت داده نمی‌شود، بلکه به مقدار زیادی به وجود اجزای دیگر همچون پلی‌فنول‌ها نیز وابسته است. ترکیبات فنولیک اغلب چند کاره هستند و می‌توانند به عنوان عوامل کاهنده رادیکال‌های آزاد، شلات‌کننده فلزات و فرونشاندن اکسیژن یگانه عمل نمایند و در پایداری اکسایشی ایفای نقش مهمی ایفا کنند. تحقیقات نشان داده است که غذاهای غنی از ترکیبات فنولیک با برخی خصوصیات فیزیولوژیک مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد جهش، بازدارنده اکسیداسیون لیپوپروکسیدان، تجمع پلاکت‌ها و فعالیت ضد التهابی ارتباط دارد (۳۱-۲۹). در پژوهشی همبستگی بالا بین میزان ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار گزارش شد که در آن با بررسی عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های مختلف، مشخص گردید که حلالیت ترکیبات فنولی پوست انار مانند ال‌جی‌تان‌ها (Ellagitannins) و ال‌جیک اسید (Ellagic acid) در متانول نسبت به حلال‌های اتانول، استون و اتیل اتر بیشتر می‌باشد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد جهش بالاتر این تیمار به غلظت بالاتر ترکیبات فنولیک در آن نسبت داده شد (۱۳). در مطالعه‌ای تأثیر تیمارهای آنزیمی، فیزیکی و شیمیایی بر روی میزان استخراج ال‌جی‌تان و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که با افزایش میزان استخراج این ترکیب فنولی، خواص آنتی‌اکسیدانی افزایش معنی‌داری پیدا کرد (۳۲). جوانی سراجی و همکاران از هشت حلال شامل آب گرم و سرد، استون، اتانول و متانول خالص و اتانول، متانول و استون ۵۰ درصد با روش‌های خیساندن، امواج فراصوت و ترکیب این دو روش برای عصاره‌گیری پوست انار استفاده کردند و به این نتیجه دست یافتند که عصاره اتانولی به روش خیساندن بالاترین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ترکیبات فنولیک را در مقایسه با سایر تیمارها داشته است (۳۳). ارتباط بین افزایش میزان ترکیبات فنولی و افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در تحقیقات مذکور در راستای نتایج حاصل از پژوهش حاضر بوده است. آن‌ها نشان دادند که تفاوت در روش استخراج، نوع حلال و درصد خلوص آن می‌تواند بر میزان و نوع ترکیبات استخراج شده از پوست انار تأثیرگذار باشد (۳۳، ۳۲). آذرپژوه و همکاران تفاوت در قطبیت حلال‌ها را در استخراج ترکیبات فنولی مؤثر دانستند. اتانول و متانول، قطبیت کمتری نسبت به آب دارند و متانول نیز قطبیت کمتری نسبت به اتانول دارد. این امر منجر به تخریب بیشتر دیواره سلولی و افزایش استخراج پلی‌فنول‌ها و آنتوسیانین‌ها می‌شود. متانول به دلیل قطبیت مناسب خود، می‌تواند کارایی بالایی در استخراج فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی از پوست انار داشته باشد (۱۹).

در مطالعه حاضر، تأثیر عصاره متانولی در کاهش روند اکسیداسیون روغن سویا با نتایج میزان ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی این تیمار در مقایسه با فیلم‌های حاوی عصاره اتانولی و آبی که پیش‌تر به آن اشاره گردید، همخوانی داشت. رحیمی و همکاران نقش فیلم‌های HPMC حاوی عصاره دانه سرو در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن زیتون را به ترکیبات فنولی عصاره نسبت داده‌اند (۳۴). نتایج جدول ۳ در تحقیق حاضر نشان داد که اختلاف عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی عصاره و نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان با گذشت زمان بیشتر شده است. این امر نشان می‌دهد که نفوذ روغن به درون ماتریکس پلیمر و انتشار مواد مؤثر آنتی‌اکسیدان از پلیمر به درون روغن و همچنین، کارایی فیلم‌ها در کند کردن روند اکسیداسیون، با گذشت زمان افزایش یافته است. نتایج مشابهی

ویژگی‌های حسی (رنگ، بو و طعم) مواد غذایی و نیز میزان مهاجرت احتمالی ترکیبات فعال از فیلم به ماده غذایی در تحقیق حاضر ارزیابی نشد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فیلم HPMC حاوی عصاره متانولی پوست انار، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالاتری نسبت به فیلم‌های حاوی عصاره‌های آبی و اتانولی می‌باشد. مقادیر بالاتر ترکیبات فنولی در عصاره متانولی، در بهبود پایداری اکسیداسیونی روغن سویا (با کاهش معنی‌دار عدد پراکسید) و افزایش خاصیت ضد باکتریایی فیلم‌ها نقش داشته است. با توجه به این یافته‌ها، استفاده از این فیلم‌های زیست‌فعال می‌تواند به عنوان یک راهکار مؤثر در بهبود کیفیت و ماندگاری مواد غذایی به ویژه مواد چرب، مورد توجه قرار گیرد و جایگزین امیدبخشی برای بسته‌بندی‌های سنتی محسوب شود.

به منظور ارایه ارزیابی جامع‌تر از مکانیسم مهار اکسیداسیون، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده شاخص‌های تکمیلی اکسیداسیون چربی‌ها همچون عدد آنیزیدین و یا عدد تیوباربیتوریک اسید نیز مورد سنجش قرار گیرد. این اقدام می‌تواند تصویر کامل‌تری از پتانسیل محافظتی این فیلم‌ها در مراحل مختلف فساد اکسیداتیو ارایه دهد.

از آنجایی که آزمون‌های تحقیق حاضر در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی انجام شد، پیشنهاد می‌گردد در پژوهش‌های آینده کارایی عملی این فیلم بر روی یک محصول غذایی، عمر نگهداری آن در شرایط انبار معمولی و همچنین، تأثیر آن بر ویژگی‌های ظاهری و کیفی مانند رنگ، بو و طعم غذا بررسی شود. تمرکز بر امکان تولید در مقیاس بزرگ‌تر، بررسی صرفه اقتصادی و سازگاری فیلم با طیف وسیع‌تری از مواد غذایی، می‌تواند گام مؤثری به منظور کاهش فاصله بین تحقیق پایه و کاربردی‌سازی صنعتی این فن‌آوری باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با شماره ۱۴۰۴۱۳۳ و کد اخلاق IR.MUI.PHANUT.REC.1404.102. مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله از تمامی همکارانی که در انجام این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

همچنین، فنول‌های با وزن مولکولی بالا (مانند الاجی تانن‌ها، استرهای گالانگیل و پروآنتوسیانیدین‌ها) می‌باشند (۴۱). به دلیل ساختارهای شیمیایی خاص، ترکیبات فنولی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی هستند. با توجه به نتایج بخش‌های پیشین (جدول ۱ و ۲) و این بخش، به نظر می‌رسد که عصاره متانولی به دلیل قطبیت مناسب خود، قادر به استخراج کارآمدتر طیف وسیع‌تری از این ترکیبات فنولی بوده است. این امر منجر به غلظت بالاتر ترکیبات مؤثره و در نتیجه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی برتر آن در مقایسه با عصاره‌های اتانولی و آبی شده است. از سوی دیگر، عصاره اتانولی اگرچه ترکیبات مشابهی را استخراج می‌کند، اما ممکن است بازده کمتری برای برخی زیرگروه‌های خاص داشته باشد. عصاره آبی نیز به طور عمده ترکیبات با قطبیت بسیار بالا را استخراج می‌کند که ممکن است سهم کمتری در فعالیت‌های مورد اندازه‌گیری داشته باشند. بنابراین، تفاوت در نوع و میزان ترکیبات فنولی استخراج شده توسط هر حلال، توجیه‌کننده اختلاف در فعالیت‌های ضد میکروبی مشاهده شده میان تیمارها است.

باکتری گرم مثبت /*استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین باکتری در همه تیمارها بود و با بزرگ‌ترین هاله عدم رشد (۲۴/۱۸ میلی‌متر) در عصاره متانولی در مقایسه با عصاره‌های اتانولی و آبی (به ترتیب با ۱۵/۰۳ و ۱۳/۳۵ میلی‌متر) ایجاد شد. باکتری‌های گرم منفی /*شریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* مقاومت بیشتری نشان دادند. تفاوت در ساختار غشای سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و همچنین، سرعت و میزان انحلال‌پذیری ماده ضد میکروبی در قسمت لیپیدی غشای سلولی، در مقاومت این سلول‌ها نقش اساسی دارد (۴۱، ۳۴).

در مطالعه حاضر با به کارگیری یک رویکرد چند وجهی، تولید و ارزیابی یک فیلم فعال با عملکرد دوگانه آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی مورد بررسی قرار گرفت. از نقاط قوت تحقیق حاضر می‌توان به بهینه‌سازی مرحله استخراج برای انتخاب مؤثرترین عصاره و ارزیابی هم‌زمان خواص عملکردی و فیزیکی مکانیکی فیلم اشاره کرد. این یافته‌ها می‌تواند پایه علمی مناسبی را برای کاربرد این فیلم در بسته‌بندی مواد غذایی چرب فراهم نماید.

با وجود نقاط قوت ذکر شده، پژوهش حاضر با محدودیت‌هایی نیز همراه بود که باید در تفسیر نتایج و طراحی مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد. از جمله مهم‌ترین این محدودیت‌ها می‌توان به انجام آزمون‌ها فقط در شرایط آزمایشگاهی (*In vitro*) و عدم بررسی کارایی فیلم بر روی یک محصول غذایی واقعی در طول دوره نگهداری اشاره کرد. همچنین، تأثیر فیلم بر

References

- Sharaei P, Azarpazhouh E. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of aqueous pomegranate peel extract under laboratory and food conditions. *Innovations in Food Science and Technology*. 2019; 11(42): 52-66. [In Persian].
- Abdelmaksoud TG, Younis MI, Altemimi AB, Tlay RH, Ali Hassan N. Bioactive Compounds of Plant-Based Food: Extraction, Isolation, Identification, Characteristics, and Emerging Applications. *Food Science & Nutrition*. 2025; 13(6): e70351.
- Zare Zadeh Mehrizi R, Emamjomeh Z, Shahedi Baghkhanda M, Loni E, Akhavan H, Biabani J. Quantitative and qualitative identification of anthocyanins in pomegranate peel extract. *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 2015; 12(49): 31-40. [In Persian].
- Maphetu N, Unuofin JO, Masuku NP, Olisah C, Lebelo SL. Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A review. *Biomed Pharmacother*. 2022; 153: 113256.

5. Gaharwar SS, Kumar A, Mandavgane SA, Rahagude R, Gokhale S, Yadav K, Borua AP. Valorization of Punica granatum (pomegranate) peels: a case study of circular bioeconomy. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2024; 14(6): 7707-24.
6. Srivastava N, Kumar A, Shinde SV, Singh AP, Shanker K. Circular bioeconomy approach for the recovery of polyphenols and dietary fibres from orange pomace waste. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2025 1; 45: 102038.
7. Faria GM, Silva EK. Towards zero waste in pomegranate juice by-products: Biomass valorization beyond phenolic compound recovery and development of bioactive pectin-based edible coatings. *Journal of Cleaner Production*. 2025; 524: 146480.
8. Soleimanzadeh A, Mizani S, Mirzaei G, Bavarsad ET, Farhoodi M, Esfandiari Z, Rostami M. Recent advances in characterizing the physical and functional properties of active packaging films containing pomegranate peel. *Food Chemistry: X*. 2024; 22: 101416.
9. Akhtar MJ, Jacquot M, Jasniewski J, Jacquot C, Imran M, Jamshidian M, et al. Antioxidant capacity and light-aging study of HPMC films functionalized with natural plant extract. *Carbohydr Polym*. 2012; 89(4): 1150-8.
10. Sun G, Chi W, Xu S, Wang L. Developing a simultaneously antioxidant and pH-responsive κ-carrageenan/hydroxypropyl methylcellulose film blended with *Prunus maackii* extract. *Int J Biol Macromol*. 2020; 155: 1393-400.
11. Almasi H, Ghanbarzadeh B, Dehghannya J, Entezami AA, Khosrowshahi Asl A. Development of a novel controlled-release nanocomposite based on poly (lactic acid) to increase the oxidative stability of soybean oil. *Food Addit Contam - Part A*. 2014; 31(9): 1586-97.
12. Jalali-zand, F., Goli, M. The study on the antioxidant effect of microencapsulated sodium selenite by solvent evaporation during one-year soybean oil storage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 2020; 16(5): 669-85. [In Persian].
13. Negi PS, Jayaprakasha GK, Jena BS. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chem*. 2003; 80(3): 393-7.
14. Agourram A, Ghirardello D, Rantsiou K, Zeppa G, Belviso S, Romane A, et al. Phenolic content, antioxidant potential, and antimicrobial activities of fruit and vegetable by-product extracts. *Int J Food Prop*. 2013; 16(5): 1092-104.
15. Noreen S, Hashmi B, Aja PM, Atoki AV. Phytochemicals and pharmacology of pomegranate (*Punica granatum* L.): nutraceutical benefits and industrial applications: a review. *Frontiers in Nutrition*. 2025; 12: 1528897.
16. Du J, Zhu Q, Guo J, Gu J, Guo J, Wu Y, Ren L, Yang S, Jiang J. Preparation and characterization of edible films from gelatin and hydroxypropyl methyl cellulose/sodium carboxymethyl cellulose. *Heliyon*. 2025; 11(1).
17. Kong I, Lamudji IG, Angkow KJ, Insani RM, Mas MA, Pui LP. Application of edible film with Asian plant extracts as an innovative food packaging: a review. *Coatings*. 2023; 13(2): 245.
18. Mehrabi A, Biglari Khoshmaram N, Khedmati Marsa H, Ahmadi Z, Mahmoodi R. A Review on the Application of Plant Extracts and Essential Oils in Controlling the Spoilage of Fatty Foods during 2006-2021 in Iran. Paper presented at: The 7th International Conference on Food Science, Organic Agriculture and Food Security; 2021; Iran.
19. Azarpazhooh E, Zomorodi S, Sharayei P. Investigation of biochemical properties and antifungal activity of pomegranate peel extract using different solvents. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 2025; 22(162): 223.
20. Azmir J, Zaidul IS, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, Jahurul MH, Ghafoor K, Norulaini NA, Omar AK. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*. 2013; 117(4): 426-36.
21. Tavakoli MM, Rezadoost H, Ebrahimi SN, Vazifeshenas MR, Mirjalili MH. Introduction of the Peel of Iranian Pomegranate as a Potential Natural Additive in Food by Phytochemical-based Characterization of Different Genotypes. *Iranian Food Science & Technology Research Journal*. 2024; 19(6): 95-109.
22. Tabari F, Rezaei M, Aryaee P, Abdullahi M. Evaluation of some Physical and Mechanical Properties of Carboxymethyl cellulose/ Tragacanth Edible Film. *Iran Food Sci Technol Res J*. 2016; 12(1): 88-97. [In Persian].
23. AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.
24. Ghasemi P, Alizadeh Behbahani B, Noshad M. Evaluation of antimicrobial activity of *Urtica dioica* leaf aqueous extract against a number of Gram-positive and Gram-negative bacteria "in vitro". *Food Science and Technology (Iran)*. 2024; 21(154): 173-83. [In Persian].

25. Manzari Tavakoli M, Rezadoost H, Nejad Ebrahimi S, Vazifeshenas MR, Mirjalili MH. Introduction of the Peel of Iranian Pomegranate as a Potential Natural Additive in Food by Phytochemical-based Characterization of Different Genotypes. *Iran Food Sci Technol Res J*. 2024; 19(6): 95-109.
26. Salmanian S, Sadeghi Mahoonak A, Aalami M, Ghorbani M. Antioxidant activity of hawthorn fruit extract in stabilization of soybean oil. *Food Industry Research*. 2013; 23(2):199-209. [In Persian].
27. Yasoubi P, Barzegar M, Sahari MA, Azizi MH. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extracts. *J Agric Sci Technol*. 2007; 9: 35-42.
28. Mushtaq M, Gani A, Gani A, Punoo HA, Masoodi FA. Use of pomegranate peel extract incorporated zein film with improved properties for prolonged shelf life of fresh Himalayan cheese (Kalari/kradi). *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2018; 48(2017): 25-32.
29. Alfaro S. Antioxidant activity and phytoactive compounds related to biological effects present in native southern Chilean plants: A review. *JCCHEMS*. 2025; 69(2): 6115-28.
30. Khadivi A, Rezaghali M, Shams M. Phytochemical properties and bioactive compounds of pomegranate (*Punica granatum* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2024; 99(6): 639-52.
31. Saad AM, Mohammed DM, Alkafaas SS, Ghosh S, Negm SH, Salem HM, Fahmy MA, Semary HE, Ibrahim EH, AbuQamar SF, El-Tarabily KA. Dietary polyphenols and human health: sources, biological activities, nutritional and immunological aspects, and bioavailability—a comprehensive review. *Frontiers in immunology*. 2025; 16: 1653378.
32. Kushwaha SC, Bera MB, Kumar P. Extraction of polyphenols from fresh pomegranate peel using response surface methodology. *Asian J Chem*. 2015; 27(12): 4320–6.
33. Javani-Seraji S, Bazargani-Gilani B, Aghajani N. Influence of extraction techniques on the efficiency of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts in oxidative stability of edible oils. *Food Sci Nutr*. 2023; 11(5): 2344-55.
34. Rhimi W, Boulila A, Gheribi R, Khwaldia K. Development, characterization and application of hydroxypropylmethylcellulose films enriched with cypress seed extract. *RSC Adv*. 2018; 8(42): 23615-22.
35. Almasi H. Comparison of the effect of direct addition of extract and the use of antioxidant active film containing nettle leaf extract on oxidative stability of soybean oil. *Food Industry Research Journal*. 2016; 26(3): 411-427. [In Persian].
36. Almasi H, Fathi N. Preparation of Antioxidant Active Film Based on Sesame Protein Isolate Containing Ethanol Extract of Sesame Meal and Investigation of Its Effect on Increasing Oxidative Stability of Soybean Oil. *Food Res (Iran)*. 2021; 31(2): 133-53. [In Persian].
37. Nemazifard M, Kavoosi G, Marzban Z, Ezedi N. Physical, mechanical, water binding, and antioxidant properties of cellulose dispersions and cellulose film incorporated with pomegranate seed extract. *Int J Food Prop*. 2017; 20(2): 1501-14.
38. Mehdizadeh T, Tajik H, Langroodi AM, Molaei R, Mahmoudian A. Chitosan-starch film containing pomegranate peel extract and *Thymus kotschyanus* essential oil can prolong the shelf life of beef. *Meat Sci*. 2020; 163(May 2019): 108073.
39. Hu S, Wang H, Han W, Ma Y, Shao Z, Li L. Development of double-layer active films containing pomegranate peel extract for the application of pork packaging. *Journal of Food Process Engineering*. 2017; 40(2): e12388.
40. Amiri S, Rajabi M. An overview of the application of natural antimicrobial compounds from plant, animal and microbial origin in foods. *FSCT* 2021; 18(119) :143-56. [In Persian].
41. Baniasadi H, Fathi Z, Lizundia E, Cruz CD, Abidnejad R, Fazeli M, Tammela P, Kontturi E, Lipponen J, Niskanen J. Development and characterization of pomegranate peel extract-infused carboxymethyl cellulose composite films for functional, sustainable food packaging. *Food Hydrocolloids*. 2025; 158: 110525.