

مقاله پژوهشی

## تقویت اثرات ضدباکتریایی فیلم‌های کامپوزیتی بر پایه ژلاتین استخراج شده از ضایعات ماهی کیلکا و صمغ زانتان با استفاده از روغن آنغوزه

سجاد عبدالهی<sup>۱</sup>، زینب رئوفی<sup>۱\*</sup>، محمد هادی فکور<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۰

### چکیده

امروزه استفاده از مواد طبیعی در ساختمان پانسمان زخم‌ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است که می‌تواند بر مشکلات جدی محیطی ناشی از مواد مصنوعی معمول غلبه کند. در این مطالعه، ابتدا ژلاتین از ضایعات ماهی کیلکای خزر استخراج و سپس برای ساخت فیلم‌های کامپوزیتی به صورت خالص (G) و در ترکیب با زانتان (GX) و روغن آنغوزه (GXA) استفاده شد. ویژگی‌های مکانیکی، درصد تورم و ساختار سطحی فیلم‌های ساخته شده بررسی شد. همچنین اثرات ضدباکتریایی و ضدبیوفیلمی فیلم‌های GX، G و GXA ارزیابی شد. بیشترین میزان مقاومت کششی مربوط به فیلم GX ( $37/30 \pm 0/59$  مگاپاسکال) و کمترین مقدار برای فیلم ژلاتین خالص ( $11/74 \pm 0/2$  مگاپاسکال) ثبت شد. برای شاخص کشیدگی در هنگام شکستن، بیشترین مقدار در فیلم GXA ( $54/87 \pm 0/21$  درصد) و کمترین در فیلم G ( $15/61 \pm 0/68$  درصد) اندازه‌گیری شد. بیشترین درصد تورم نیز برای فیلم GX به میزان  $300 \pm 15/3$  درصد ثبت شد. فیلم GXA بیشترین اثرات ضد میکروبی و ضدبیوفیلمی را نشان داد. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که فیلم ساخته شده از ژلاتین در ترکیب با زانتان و روغن آنغوزه ویژگی‌های مکانیکی و اثرات ضدباکتریایی ایده‌آلی را برای به کارگیری در ساختار پانسمان زخم دارد.

**واژگان کلیدی:** ژلاتین کیلکا، زانتان، روغن آنغوزه، فیلم کامپوزیتی، پانسمان زخم.

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران.

۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد هیدج، دانشگاه آزاد اسلامی، هیدج، ایران.

\* نویسنده مسئول: [Zeinabraoufi@bkatu.ac.ir](mailto:Zeinabraoufi@bkatu.ac.ir)

## مقدمه

بقیه پلیمرهای زیستی مانند کلاژن، خواص آنتی‌ژنی بسیار کمتری دارد. علاوه بر این، زنجیره‌های ژلاتین حاوی موتیف‌های آرژنین-گلیسین-آسپارتیک هستند که به عنوان عاملی مهم در ارتقای چسبندگی سلول هستند و با اضافه شدن در ساختار پلیمرها، باعث بهبود ویژگی‌های زیستی پلیمرهایی می‌شوند که فاقد این توالی چسبندگی هستند (Etxabide et al., 2017).

عوامل زیادی باعث شده است تا نیاز به کشف منبع جدیدی برای تولید ژلاتین شدیداً احساس شود. برای مثال این منبع باید مجاز با قوانین اسلامی، یهودی و هندوئی باشد (مسلمانان و یهودیان مجاز به مصرف محصولات گوشت خوک نیستند و هندوها مجاز به مصرف محصولات گاوی نیستند) (Karim and Bhat, 2013; Abd Elgadir et al., 2009b). علاوه بر دلایل مذهبی، ژلاتین ساخته شده از ماهی مزیت دیگری نسبت به ژلاتین ساخته شده از خوک و گاو دارد، این که ژلاتین ماهی تهدید انفسالوپاتی اسفنجی شکل گاوی (Bovine Spongiform Encephalopathy: BSE) را ایجاد نمی‌کند (Lin et al., 2017). بیماری است که بر سیستم عصبی مرکزی گاوها

پانسمان زخم‌ها در پزشکی، به عنوان پوششی موقت بر روی سطح زخم، نقش مهمی در مانع فیزیکی برای محافظت از زخم در برابر عفونت دارد. یک پانسمان ایده‌آل برای زخم باید رطوبت مطلوب را حفظ کرده، ترشح اضافی را جذب کند و به راحتی و بدون ضربه به زخم برداشته شود. در طی ده سال گذشته تلاش‌های زیادی برای توسعه پانسمان پیشرفته زخم انجام شده است. چندین ماده پانسمان مانند هیدروژل، کف، هیدروکلوئید و مواد پرکننده به عنوان پانسمان برای زخم و سوختگی توصیه شده است (Kamoun et al., 2015).

در میان پروتئین‌های طبیعی، ژلاتین را می‌توان یک انتخاب ایده‌آل برای تشکیل هیدروژل و یک ماده بسیار ارزشمند برای کاربردهای پزشکی به دلیل مزایای متعدد آن دانست (Malafaya et al., 2007; Santoro et al., 2014). اول، این پروتئین با ظرفیت تشکیل فیلم با کیفیت عالی، نسبتاً ارزان است. دوم، این ماده به صورت یک ماده «به طور کلی ایمن» (Generally Recognized as Safe: GRAS)، با زیست‌سازگاری و تجزیه زیستی عالی، توسط FDA شناخته شده است. سوم، به عنوان یک پروتئین دنا‌توره، ژلاتین نسبت به

تأثیر می‌گذارد و باعث تحلیل رفتن آن می‌شود (Detwiler and Rubenstein, 2000). مزیت دیگر استخراج ژلاتین از منابع آبی این است که معمولاً از ضایعات صنایع فرآوری آبیان تهیه می‌شود (Karim and Bhat, 2009a). صنعت ماهیگیری، محصولات جانبی زیادی دارد از جمله پوست، استخوان، باله، سر و پولک‌ها که برای مصرف کنندگان نامطلوب است و باعث کاهش بازده و درآمد تجارت ماهی می‌شود. همچنین، این محصولات جانبی ممکن است در سواحل قرار بگیرند و باعث آلودگی محیط زیست شوند (Wasswa et al., 2007; Alves et al., 2017). از این رو، ضایعات ماهی می‌تواند به عنوان منبع ارزشمند ژلاتین استفاده شود (Jamilah and Harvinder, 2002).

متاسفانه، مواد مبتنی بر ژلاتین به دلیل حساسیت زیاد به رطوبت، خواص مکانیکی ضعیف و همچنین پایداری حرارتی پایین، در مقایسه با فرآورده‌های نفتی محدودیت‌های عمده‌ای دارند (Bigi et al., 2002; Limpisophon et al., 2009). تلاش‌های بسیاری مانند آمیختگی (Guerrero et al., 2011)، اتصال متقابل (De Carvalho and Grosso, 2004) و ترکیب با خاک رس

نانو (Mu et al., 2013) برای اصلاح خواص ضعیف ژلاتین صورت گرفته است. صمغ زانتان یک هتروپلی ساکارید خارج سلولی است که با تخمیر هوای غوطه‌ور از یک محیط کشت خالص باکتری *Xanthomonas campestris* تولید می‌شود. امروزه، این ماده به دلیل توانایی ایجاد محلول‌هایی با ویسکوزیته بالا در غلظت‌های کم و تجزیه زیستی، به طور گسترده‌ای در طیف وسیعی از محصولات، از جمله مواد غذایی، دارویی و آرایشی استفاده می‌شود (Soares et al., 2005; Fitzpatrick et al., 2013). گزارش شده است که می‌توان از ترکیب ژلاتین با صمغ زانتان برای تولید ژل‌هایی با خواص مختلف بافتی، رئولوژیکی و مکانیکی استفاده کرد که از این طریق، محتوای قند و رطوبت این ژل‌ها تغییر می‌یابد و تنظیم می‌شود (Altay and Gunasekaran, 2013).

گیاه *Ferula assa-foetida* یا آنغوزه یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس *Ferula* است که بومی مناطق مرکزی آسیا، بویژه ایران و افغانستان است. *F. assa-foetida* اغلب به عنوان منبع اصلی آسافتیدا (Asafetida) محسوب می‌شود که یک اولئوصمغ رزینی به دست آمده از ترشحات ریشه‌های این گیاه است. آسافتیدا به صورت بومی به عنوان آنغوزه در

(*Clupeonella caspia*) استفاده شد. پوست و استخوان ماهی قبل از شروع استخراج ۱ تا ۳ روز در یخچال نگهداری شد. نمونه پوست و استخوان به ترتیب توسط چاقو و مخلوط‌کن برداشته شد. گوشت باقی مانده به صورت دستی برداشته شد و پوست ماهی با آب شیر شسته شد. پوست به قطعات کوچک (۱/۱×۰/۱ سانتی‌متر) بریده شد. گوشت متصل شده به نمونه‌های استخوانی، با استفاده از چاقو تراشیده و قبل از قطعه قطعه شدن، با خیساندن در آب گرم (۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه)، چربی‌زدایی شد. پوست ماهی آماده شده و استخوان در کیسه‌های پلی‌اتیلن بسته‌بندی و پیش از استخراج ژلاتین در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. استخراج ژلاتین با استفاده از روش Jongjareonrak و همکاران (۲۰۰۶) با برخی اصلاحات انجام شد. قبل از استخراج ژلاتین، پوست و استخوان‌ها (به طور جداگانه) در محلول ۰/۰۲۵ نرمال NaOH با نسبت ۱:۱۰ (وزنی- حجمی) غوطه‌ور شدند تا پروتئین‌ها و رنگدانه‌های غیر کلاژنی با ۲ ساعت هم زدن مداوم در دمای اتاق (۲۸-۳۰ درجه سانتی‌گراد) از بین برده شوند. محلول قلیایی دو بار در هر ساعت تغییر یافت. باقی مانده با آب روان تا رسیدن به یک pH خنثی (۷-۶/۵)،

ایران شناخته می‌شود (Iranshahy and Iranshahi, 2011). در طب سنتی از این ماده به عنوان دارویی برای بیماری‌های مختلف مانند برونشیت، آسم، سیاه سرفه، درد معده، نفخ شکم، انگل‌های روده‌ای، ضعف در سیستم گوارش و آنفولانزا استفاده می‌شود (Mahendra and Bisht, 2012). بخش‌های اصلی این ماده شامل رزین (۶۴-۴۰ درصد)، صمغ (۲۵ درصد) و روغن‌های فرار (۱۷-۱۰ درصد) است (Kajimoto et al., 1989). روغن این ماده فعالیت ضدقارچی و ضدباکتریایی قابل ملاحظه‌ای را حتی در برابر باکتری‌های مقاوم به متی‌سیلین، از خود نشان داده است (Zomorodian et al., 2018).

در این مطالعه فیلم‌های ترکیبی با استفاده از ژلاتین ماهی و صمغ زانتان ساخته شد و برای تقویت اثرات ضد میکروبی، روغن آنغوزه به ساختار فیلم‌ها اضافه شد و توانایی بالقوه این فیلم‌ها به عنوان پوشش زخم با اثرات ضدباکتریایی و ضدبیوفیلم، مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### استخراج ژلاتین از ضایعات ماهی

برای استخراج ژلاتین از ماهی کیلکای خزر

همکارانش (۲۰۱۶) با تغییراتی استفاده شد. برای تهیه فیلم ژلاتین خالص (G)، محلول ژلاتین (۱۰ درصد وزنی- حجمی) با حل شدن پودر ژلاتین در آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه، تهیه و سپس با هم زدن مداوم در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت‌دهی شد. گلیسرول به عنوان نرم کننده با غلظت ۲۰ درصد وزنی (بر اساس وزن ژلاتین خشک) اضافه شد. محلول صمغ زانتان (۱ درصد وزنی) به محلول ژلاتین اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد با هم زدن مداوم مخلوط شد (فیلم ژلاتین و صمغ زانتان (GX)). برای آماده‌سازی فیلم ژلاتین- زانتان- روغن آنگوزه (GXA)، به محلول صمغ زانتان به میزان ۶ درصد وزنی روغن آنگوزه اضافه شد و با دور ۱۰۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه با شیکر همزده شد و در انتها به منظور حذف کف‌های ایجاد شده در مخلوط، نمونه‌ها در حمام اولتراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. مخلوط‌های به دست آمده برای ساخت فیلم‌های مورد نظر، روی ظروف تفلونی پتری دیش (قطر ۹ سانتی‌متر) ریخته و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. این فیلم‌ها قبل از اندازه‌گیری در دستگاه

شسته شدند. پس از آن باقی مانده‌ها با محلول ۲ مولار اسید سولفوریک به نسبت ۱:۱۰ (وزنی- حجمی) مخلوط شدند تا مواد کلاژنی در ماتریس پوست ماهی به مدت ۲ ساعت هم زدن مداوم در دمای اتاق متورم شود. نمونه‌ها با آب مقطر تا رسیدن به pH تقریباً خنثی یا pH اسیدی ضعیف شسته شدند. ژلاتین پوست و استخوان ماهی در آب مقطر با نسبت ۱:۱۰ (وزنی- حجمی) به ترتیب در دمای ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب به مدت سه ساعت با هم زدن مداوم استخراج شد. عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دو لایه پارچه صافی فیلتر شدند. مایع فیلتر شده به مدت ۳۶ ساعت در کوره هوای گرم در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. بازده (R) ژلاتین استخراج شده با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Mirzapour Kouhdasht et al., 2018).

رابطه ۱:

$$R(\%) = (M_D / M_S) \times 100$$

M<sub>D</sub>: توده ژلاتین خشک (گرم)؛ M<sub>S</sub>: توده پوست یا استخوان تمیز (گرم).

تهیه فیلم بر پایه ژلاتین ماهی

برای ساخت فیلم‌ها از روش Hazirah و

ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۵۰ درصد رطوبت نسبی ذخیره شدند.

### اندازه‌گیری مقاومت کششی و کشیدگی در هنگام شکستن

با تحلیل دو متغیر مقاومت کششی (Tensile Strength: TS) و کشیدگی در هنگام شکستن (Elongation at Break: )، ویژگی‌های مکانیکی هر نمونه فیلم بر طبق روش ASTM (۲۰۰۲) با روش استاندارد D 882-02 با یک دستگاه سنجش مقاومت کششی (Bengshin, DBBP-100) کره جنوبی) اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به صورت نوارهای مستطیلی  $۲/۵ \times ۱۰$  سانتی‌متر اندازه‌گیری و برش داده شدند. جداسازی گریپ اولیه بر ۵۰ میلی‌متر ست شد و سرعت متقاطع ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه بود. اندازه‌گیری‌ها برای هر نمونه ۵ بار انجام شد.

### تورم فیلم‌ها

درصد تورم فیلم‌ها با تعیین میزان جذب آب با توجه به روش توضیح داده شده توسط Lavorgna و همکارانش (۲۰۱۰) ارزیابی شد. نمونه‌های فیلم (۲ × ۲ سانتی‌متر)، ۲۴ ساعت توسط سیلیکا ژل، خشک و سپس قطعات برای

تعیین جرم خشک، وزن شدند. نمونه‌های توزین شده در لیوان‌های بسته حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر (pH ۷)، معلق و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. تورم نمونه‌ها با اندازه‌گیری دوره‌ای افزایش وزن آنها تا زمان تعادل ارزیابی شد. قبل از توزین، سطح مرطوب این فیلم‌ها به آرامی با یک کاغذ صافی رطوبت‌گیری شد. این روش برای هر نمونه سه بار تکرار شد تا تکرارپذیری آن تایید شود. درصد تورم (S) هر نمونه از رابطه ۲ محاسبه شد (Torabi Ardekani et al., 2019).

رابطه ۲:

$$S (\%) = [(F_{sw} - F_{dw}) / F_{dw}] \times 100$$

$F_{sw}$ : وزن فیلم متورم (گرم)؛  $F_{dw}$ : وزن فیلم خشک.

**عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی**  
فیلم‌های آماده شده با استفاده از طلا پوشانیده شد و با بزرگنمایی ۴۰۰۰ برابر از شکل سطحی آن با ولتاژ ۱۵-۱۲ ولت با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM Quanta 200, FEI، آمریکا) عکس‌برداری شد.

### بررسی فعالیت ضدباکتریایی

فعالیت ضدباکتریایی‌های فیلم با روش آگار انتشار دیسک بررسی شد. ۴ گونه باکتری

بنفش سطح آنها استریل شد. ویال‌های شیشه‌ای درپوش پیچی با ۵ میلی لیتر نوترینت برات اتوکلاو شدند. سپس فیلم‌های بریده شده استریل، بر روی دهانه این ویال‌ها قرار گرفت و لبه‌های آن با پارافیلیم مهر و موم شد. به این ترتیب دهانه با فیلم‌های کامپوزیتی پوشانده شد. دهانه ویال شاهد باز مانده بود. تمام ویال‌ها در دمای اتاق در قفسه آزمایشگاه انکوبه شدند. ویال‌ها پس از ۷ روز انکوباسیون مشاهده شدند و ۱۰۰ میکرولیتر از نوترینت برات از هر ویال با استفاده از میله شیشه‌ای L شکل روی پتری دیش‌های حاوی نوترینت آگار کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد (Augustine et al., 2015).

#### خواص آنتی‌بیوفیلیم فیلم‌های GX، G و GXA

##### کشت بیوفیلیم *Acinetobacter baumannii*

سوسپانسیون باکتری *A. baumannii* (OD<sub>600</sub> ≈ ۰/۵) به همراه آب قلیایی پپتون و ۳ درصد نمک NaCl به صورت یکنواختی با نسبت ۲۰:۱ (حجمی - حجمی) مخلوط شدند. فیلم‌های کامپوزیتی (۵×۵×۰/۵ سانتی‌متری) در ۳ میلی‌لیتر از تلقیحات رقیق شده غوطه‌ور و در مدت زمان مشخصی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

شامل سویه‌های استاندارد و بیماری‌زای *Staphylococcus*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa aureus* برای بررسی مورد استفاده قرار گرفتند. تمام سویه‌های استاندارد از گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان هدیه گرفته شد. سویه‌های بیماری‌زا نیز از بخش عفونی بیمارستان امام خمینی اهواز تهیه شد.

سوسپانسیون حاوی  $5 \times 10^8$  CFU/mL کلنی این باکتری‌ها آماده و بر روی سطح پلیت مولر هینتون آگار کشت داده شد. نمونه‌های فیلم به صورت یک دیسک گرد برش داده شدند، بر روی سطح پلیت‌های مولر هینتون آگار قرار داده شدند و متعاقباً در ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از زمان انکوباسیون، قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اطراف نمونه‌های فیلم، با سه تکرار اندازه‌گیری و میانگین آن گزارش شد.

#### ویژگی‌های سد میکروبی فیلم‌های کامپوزیتی

##### GXA و GX، G

فیلم‌های ساخته شده به دایره‌هایی با قطر ۲×۲ سانتی‌متر برش داده شدند و با تیمار اتانول ۷۰ درصد و به دنبال آن تابش اشعه ماورای

F<sub>sw</sub>: وزن فیلم متورم (گرم)؛ F<sub>DW</sub>: وزن فیلم خشک.

### تحلیل‌های آماری

تجزیه و تحلیل آماری ویژگی‌های فیلم‌ها، با فیلم‌های جداگانه تهیه شده در سه تکرار اندازه‌گیری شد. برای تعیین اختلاف معنی‌دار بین عوامل و سطوح از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون توکی در سطح ۹۵ درصد ( $P < 0/05$ ) در نرم‌افزار SPSS 20 استفاده شد. رسم نمودار نیز در نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 انجام شد. همه داده‌ها به عنوان میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده‌اند.

### نتایج و بحث

#### بازده استخراج ژلاتین

بازده استخراج ژلاتین در پوست ماهی کیلکا  $1/90 \pm 34/37$  درصد و برای استخوان  $1/42 \pm 21/08$  درصد به دست آمد که در مقایسه با بازده ژلاتین استخراجی از پوست ماهی ماکرل آبی *Scomber australasicus* (Irwindi et al., 2009) (۶۷/۸۲ درصد) که نزدیک‌ترین گونه از لحاظ رده‌بندی به کیلکاماهیان است، درصد کمتری را به خود اختصاص داده است.

#### بررسی چسبندگی بیوفیلم‌های *Acinetobacter baumannii* بر روی فیلم‌های GX.G و GX.A

پس از قرارگیری فیلم‌ها در سوسپانسیون باکتری *A. baumannii* برای مدت زمان معین، فیلم‌های کامپوزیت با بیوفیلم به لوله‌های سانتریفیوژ استریل دیگری منتقل و سه بار با ۱ میلی‌لیتر محلول استریل ۰/۸۵ درصد از نمک NaCl برای حذف باکتری‌های آزاد شسته شدند. بیوفیلم با ۱ میلی‌لیتر رنگ کریستال ویوله ۰/۲ درصد (وزنی-وزنی) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق رنگ‌آمیزی شد و سه بار با یک میلی‌لیتر محلول NaCl استریل ۰/۸۵ درصد شسته شد تا رنگ اضافی حذف شود. سپس، بیوفیلم‌های رنگ‌آمیزی شده در اسید استیک ۳۳ درصد در حمام سونیکه به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. OD<sub>600</sub> (تراکم نوری در ۶۰۰ نانومتر) برای محلول فوق توسط دستگاه خوانش الایزا در صفحات میکروتیتر ۹۶ چاهکی ثبت شد. نمونه نایلون معمولی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. درصد مهار (I) تشکیل بیوفیلم برای هر فیلم با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (Liu et al., 2021).

رابطه ۳:

$$I (\%) = [(OD_C - OD_S) / OD_C] \times 100$$



(EAB) برای فیلم‌های بر پایه ژلاتین در جدول ۱ آورده شده است. بیشترین میزان مقاومت کششی مربوط به فیلم GX (ترکیب ژلاتین و صمغ زانتان) ( $37/30 \pm 0/59$  مگاپاسکال) و کمترین مقدار برای فیلم G (ژلاتین خالص) ( $11/74 \pm 0/2$  مگاپاسکال) بود ( $P < 0/05$ ). مقادیر کشیدگی در هنگام شکستن نیز به ترتیب بیشترین مقدار در فیلم GX (ترکیب ژلاتین، صمغ زانتان و روغن آنگوزه) و کمترین برای فیلم G اندازه‌گیری شد.

فیلم‌های ژلاتین خالص ماهی، با وجود داشتن برخی مزیت‌ها، معایبی نیز دارد که یکی از مهم‌ترین آنها مقاومت مکانیکی ضعیف و کشش کم است که استفاده از آنها را در فیلم‌های کامپوزیتی محدود می‌کند (Karim and Bhat, 2009a). موارد یاد شده، کمتر بودن مقادیر شاخص‌های مکانیکی را در فیلم G

علاوه بر این، بازده ژلاتین پوست ماهی بالاتر از استخوان ماهی بود. تفاوت در درصد بازده ژلاتین در میان گونه‌های ماهی بسته به محتوای پروتئین (کلاژن)، ترکیبات پوست و استخوان و پیش تیمارهای استخراج در بازده استخراج ژلاتین ماهی متغیر است. روش‌های استخراج نیز از جمله عوامل نامبرده موثر بر این بازده هستند و گزارش‌های بسیاری نیز در این باره وجود دارد (Gomez-Guillen et al., 2002; Jamilah and Harvinder, 2002; Muyonga et al., 2004; Jongjareonrak et al., 2006). روش استخراج، نوع ماهی و شدت تیمار، سرنوشت ژلاتین تولید شده را تعیین می‌کند (Tinrat and Sila-Asna, 2017).

مقاومت کششی و کشیدگی در هنگام شکستن ویژگی‌های مکانیکی شامل میزان مقاومت کششی (TS) و کشیدگی در هنگام شکستن

جدول ۱: ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های ساخته شده در مطالعه حاضر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

نوع فیلم	مقاومت کششی (مگاپاسکال)	کشیدگی در هنگام شکستن (درصد)
G	$11/74 \pm 0/20$	$15/61 \pm 0/68$
GX	$37/30 \pm 0/59$	$23/04 \pm 0/45$
GXA	$27/81 \pm 0/33$	$54/87 \pm 0/21$

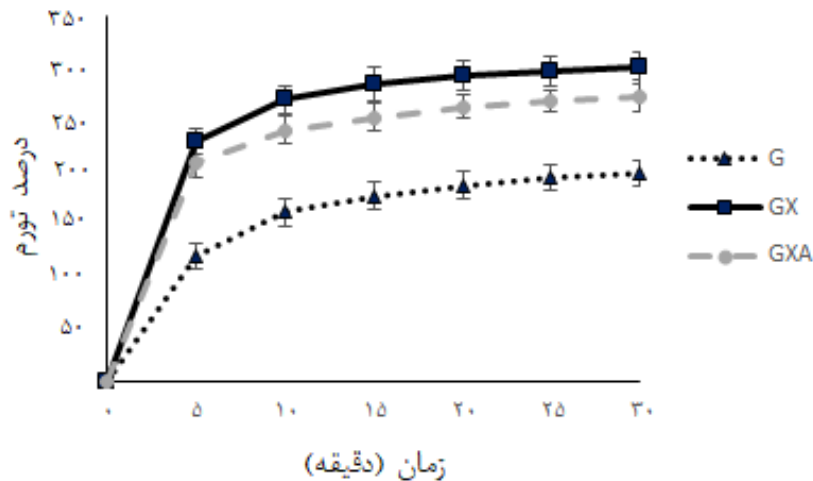
G: فیلم ژلاتین خالص؛ GX: فیلم ترکیبی ژلاتین و صمغ زانتان؛ GXA: فیلم ترکیبی ژلاتین، صمغ زانتان و روغن آنگوزه.

درباره افزایش روغن میخک به فیلم ژلاتینی مطابقت داشت.

#### تورم فیلم‌ها

یک فیلم پوششی ایده‌آل برای کاربرد در پانسمان زخم باید دارای ظرفیت تورم کافی برای مقاومت در برابر تجمع ترشحات زخم و در نتیجه جلوگیری از التهاب در طی روند بهبود زخم باشد. بنابراین، خواص تورم فیلم‌های ساخته شده در این مطالعه، برای ارزیابی ظرفیت آنها در جذب مایع ترشحات زخم بررسی شد. نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری شاخص تورم در فواصل زمانی مشخص برای هر فیلم، در شکل ۱ نمایش داده شده است. نتایج نشان داد که تمام فیلم‌های ترکیبی می‌توانند در طی ارزیابی ۳۰ دقیقه پایدار باشند و در ۵ دقیقه خیساندن اولیه به سرعت آب را جذب کنند. پس از ۱۰ دقیقه خیساندن، جذب آب نمونه‌ها به تعادل رسید. میزان جذب آب در فیلم ژلاتین خالص  $12 \pm 200$  درصد اندازه‌گیری شد و به ترتیب به مقادیر  $3/15 \pm 300$  و  $5/15 \pm 273$  درصد برای فیلم‌های GX و GXA افزایش یافت.

نسبت به فیلم‌های ترکیبی GX و GXA در مطالعه حاضر توجه می‌کند. افزایش در میزان مقاومت کششی و کشیدگی در هنگام شکستن در فیلم GX نسبت به فیلم G، می‌تواند به دلیل اثر متقابل بین صمغ زانتان و ژلاتین باشد که باعث اصلاح و تقویت ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های ژلاتین می‌شود. با وجود مطالعات مختلفی که در مورد استفاده از ژلاتین ماهی در فیلم‌های کامپوزیتی در ترکیب با مواد افزودنی مختلف انجام شده است، فعل و انفعال بین ژلاتین و صمغ‌های مختلف طبیعی در اصلاح ویژگی‌های حرارتی و مکانیکی ژلاتین اخیراً مورد توجه و بررسی قرار گرفته است (Binsi et al., 2017). در مقابل افزودن روغن در فیلم GXA باعث کاهش مقدار TS و افزایش EAB نسبت به فیلم GX شد. اضافه کردن روغن باعث کاهش اثر متقابل زنجیره‌های پلیمر- پلیمری می‌شود و بازوی منعطفی در فیلم ایجاد می‌کند که باعث کاهش TS و افزایش EAB می‌شود (Ahmed et al., 2016). نتایج بررسی ویژگی‌های مکانیکی به دست آمده از افزودن روغن به فیلم‌های کامپوزیتی در مطالعه حاضر با مطالعات Ahmed و همکارانش (۲۰۲۰)



شکل ۱: درصد تورم اندازه‌گیری شده برای فیلم‌های G (ژلاتین خالص)، GX (ترکیب ژلاتین و صمغ زانتان) و GXA (ترکیب ژلاتین، صمغ زانتان و روغن آنگوزه) در فواصل زمانی منظم (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

پلی‌ساکاریدها با افزودن صمغ زانتان به ژلاتین توجه می‌شود که با نتایج مطالعات Shaw (۲۰۱۶) مطابقت دارد.

در فیلم GXA، کاهش شاخص تورم مشاهده شد که شبیه نتایج مطالعات Galus و Kadzinska (۲۰۱۶) بود که در آن افزودن روغن باعث کاهش این شاخص شده بود. زیرا انتظار می‌رود ترکیبات آبدوست، تورم فیلم را افزایش دهند، در حالی که ترکیبات آب‌گریز باعث کاهش در میزان این شاخص خواهند شد.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی فیلم‌ها تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از فیلم‌ها در شکل ۲ نشان داده شده

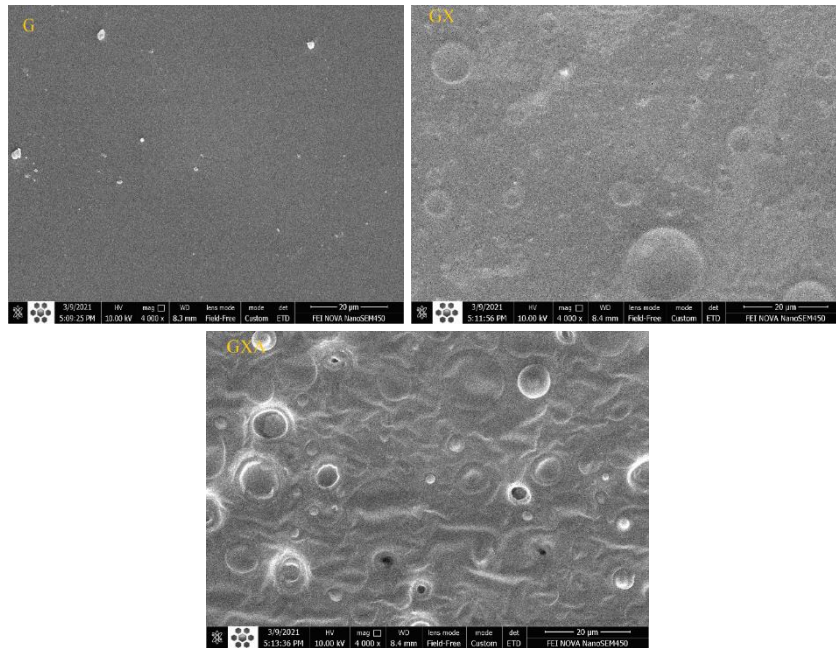
میزان تورم در فیلم‌های GX با افزودن زانتان نسبت به فیلم G افزایش یافت، اما با افزودن روغن به ترکیبات موجود در فیلم GXA کاهش یافت. در شرایط خنثی، گروه‌های کربوکسیل و آمین به شکل ملکول دو قطبی حضور داشتند. این امر منجر به وجود شبکه ژلاتین به عنوان یک ساختار پلیمری خنثی می‌شود. از این رو، تورم ماتریس‌ها عمدتاً به جذب مولکول‌های آب توسط فاز پلی‌ساکارید بستگی دارد. این پدیده منجر به تفاوت قابل توجهی در جذب مولکول‌های آب با تغییر در محتوای پلی‌ساکارید شد. در مطالعه حاضر، افزایش تورم فیلم‌ها با افزایش مقدار

مشاهده شد که وجود این تخلخل‌ها در ماتریس ژلاتینی می‌تواند مربوط به تبخیر روغن در هنگام خشک شدن باشد (Ahmed et al., 2020). همچنین وجود قطرات روغن به دلیل مهاجرت آنها در سطح و محصور شدن آنها در شبکه پلی‌ساکاریدی باعث افزایش حفره‌ها در سطح فیلم‌هایی است که روغن در ساختار پلی‌ساکاریدی الحاق شده است که ناشی از آب‌گریزی قطرات روغن نیز است (Amalraj et al., 2020). Li و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که محصورسازی روغن زردچوبه در فیلم‌های کیتوسان، ناهمگنی و زبری این فیلم‌ها را افزایش می‌دهد. به همین ترتیب، Abdollahi و همکاران (۲۰۱۹) در هنگام کپسوله شدن روغن مرزه در فیلم بیوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولز و آگار نیز همین رفتار را گزارش کردند. در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده است که ترکیب روغن‌ها در فیلم‌های مختلف باعث افزایش درشتی و حفرات سطح فیلم‌ها شده است (Acevedo-Fani et al., 2015; Xue et al., 2019).

است. میکروگراف‌ها در این شکل نشان می‌دهد که سطح فیلم‌های ژلاتینی ترکیبی با زانتان و روغن (GX و GXA) همگن است، اگرچه منافذی در بالای هر سیستم مشاهده می‌شود که نشان دهنده سازگاری خوب دو پلیمر ژلاتین و زانتان در این فیلم‌ها است. در حالی که در سطح فیلم G چنین منافذی دیده نمی‌شود.

در مطالعات Nuvoli و همکارانش (۲۰۲۱) نیز با افزودن صمغ از نوع تارا به فیلم ژلاتینی منافذی در فیلم به وجود آمد که در عکس‌های ثبت شده از SEM مشهود بود. همچنین در مطالعه دیگری از Amalraj و همکارانش (۲۰۲۰)، فیلم‌های حاصل از ترکیب سه پلیمر کیتوسان، پلی‌وینیل الکل و صمغ عربی با ریزساختار صاف در سطح با حفره‌ها گزارش شد که سازگاری خوب این پلی‌ساکاریدها را ثابت می‌کرد. احتمالاً وجود این حفره‌ها ناشی از حباب‌های هوایی است که در فرآیند ریختن فیلم‌ها در قالب‌ها به وجود می‌آیند (Mathew and Abraham, 2008).

با اضافه شدن روغن آنغوزه در فیلم GXA حفره‌های بسیار بیشتری نسبت به فیلم GX



شکل ۲: تصاویر SEM از فیلم‌های ساخته شده در مطالعه حاضر. G: ژلاتین خالص؛ GX: ترکیب ژلاتین و صمغ زانتان؛ GXA: ترکیب ژلاتین، صمغ زانتان و روغن آنگوزه.

فیلم GXA استفاده شده است، این پدیده می‌تواند ناشی از مهار چسبندگی باکتری‌ها در نتیجه آب‌گریز بودن سطح و بنابراین تولید کمتر آگزوپلی ساکاریدها و مواد غذایی مورد نیاز باکتری‌های تشکیل دهنده بیوفیلم باشد (Xu et al., 2018).

بر اساس نتایج اندازه‌گیری شده، هیچ تفاوت معناداری در تشکیل بیوفیلم در فیلم G و GX نسبت به نمونه شاهد مشاهده نشد. در حالی که فیلم GXA، ۳۱ درصد مهار تشکیل بیوفیلم را نشان داد. کاهش پیوست و

ارزیابی فعالیت ضدبیوفیلم باکتریایی در فیلم‌های کامپوزیتی G، GX و GXA

در بررسی جدا شدن بیوفیلم و عدم چسبندگی باکتری در حضور فیلم‌های ترکیبی در شرایط آزمایشگاهی در صفحه‌های ۹۶ چاهکی، کاهش قابل توجهی در بیوفیلم باکتریایی در فیلم GXA نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد که می‌تواند نشانه توانایی این فیلم در از بین بردن باکتری‌ها و تداخل در تکثیر میکروبی باشد. علاوه بر ویژگی‌های ضدباکتریایی ثابت شده برای روغن آنگوزه که در

قطر هاله تشکیل شده در اطراف هر فیلم در باکتری‌های گرم منفی شامل *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* مثبت *Staphylococcus aureus* در جدول ۲ مقایسه شده است. بر اساس این جدول، کمترین قطر هاله مهاری در اطراف فیلم‌های ژلاتین خالص و بیشترین آن در اطراف فیلم‌های حاوی زانتان و روغن آنگوزه (فیلم GX) اندازه‌گیری شد ( $P < 0.05$ ).

چسبندگی سلول را می‌توان از نظر عدم توانایی تکثیر سلول‌های میکروبی و به دلیل مرگ سلول توضیح داد (Herrera et al., 2000).

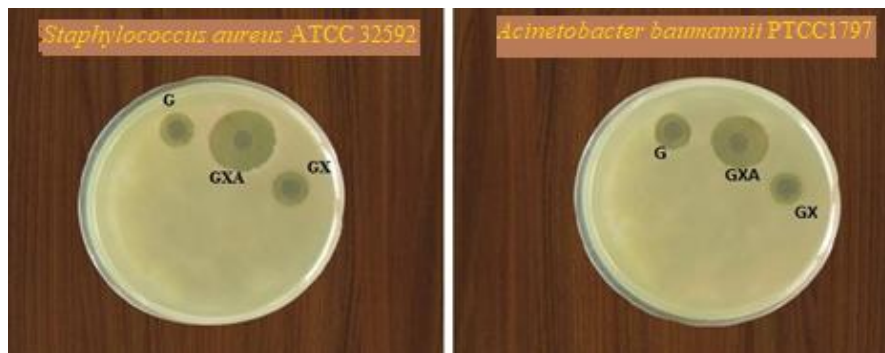
بررسی اثرات ضدباکتریایی و ویژگی‌های سد میکروبی فیلم‌های کامپوزیتی G، GX و GXA هر نوع پانسمان زخم، جراحی یا غیره، مانعی در برابر آلودگی محیط ایجاد می‌کند و خطر عفونت را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، استفاده از پانسمان‌ها به همراه مزایای بالقوه اضافی مانند خواص ضد میکروبی، کارایی آنها را افزایش می‌دهد.

جدول ۲: اثر ضدباکتریایی فیلم‌های کامپوزیتی G، GX و GXA بر روی سویه‌های بیمارستانی و استاندارد باکتری‌های مختلف (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

نام باکتری	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)		
	دیسک GX	دیسک GX	دیسک G
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	۱±۱۳ <sup>b</sup>	۱±۹ <sup>a</sup>	۱±۹ <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	۲±۱۲ <sup>a</sup>	۲±۱۰ <sup>a</sup>	۱±۹ <sup>a</sup>
ATCC13048 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	۱±۱۲ <sup>b</sup>	۱±۹ <sup>a</sup>	۰±۹ <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	۲±۱۱ <sup>a</sup>	۰±۹ <sup>a</sup>	۱±۱۰ <sup>a</sup>
<i>Acinetobacter baumannii</i> PTCC1797	۱±۱۲ <sup>a</sup>	۳±۱۱ <sup>a</sup>	۱±۱۰ <sup>a</sup>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	۲±۱۲ <sup>a</sup>	۱±۱۰ <sup>a</sup>	۲±۹ <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 32592	۰±۱۵ <sup>b</sup>	۲±۱۱ <sup>a</sup>	۱±۹ <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱±۱۴ <sup>b</sup>	۲±۱۰ <sup>a</sup>	۲±۱۰ <sup>a</sup>

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین فیلم‌ها است ( $P < 0.05$ ).  
G: ژلاتین خالص؛ GX: ترکیب ژلاتین و صمغ زانتان؛ GXA: ترکیب ژلاتین، صمغ زانتان و روغن آنگوزه.

علت افزایش معنادار قطر هاله مهارى اطراف فيلم GX (۱۱±۲ تا ۱۵±۰) نسبت به فيلم‌هاى G (۹±۰ تا ۱۰±۲) و GX (۹±۰ تا ۱۱±۳)، به علت اثرات ضدباکتریایی روغن آنغوزه است که ناشی از حضور ترکیبات گوگردی مانند (Z)-1-Propenyl Sec-butyl و Disulfide (E)-1-Propenyl Sec-butyl و Disulfide در این روغن است (Zomorodian et al., 2018). به همین ترتیب، مطالعات قبلی فعالیت ضد میکروبی روغن‌های دارای محتوای بالای ترکیبات گوگردی را گزارش کرده‌اند (Iranshahi et al., 2008; Kavooosi and Rowshan, 2013; Divya et al., 2014). مشاهده شده است که غشای سلول‌های باکتریایی در حضور این روغن آسیب می‌بینند (Divya et al., 2014). همچنین هاله مهارى در اطراف باکتری گرم مثبت *S. aureus* بیشتر از باکتری‌های گرم منفی در اطراف فيلم GX تشکیل شد ( $P < 0.05$ ; شکل ۳). می‌توان گفت که بر اساس نتایج مطالعات Zomorodian و همکارانش در سال ۲۰۱۸، روغن آنغوزه بر باکتری‌های گرم مثبت تاثیر بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی داشته است. تفاوت بین اثر روغن بر باکتری‌های گرم منفی و مثبت ممکن است مربوط به حضور لایه پلی‌ساکاریدی با بارهای منفی در دیواره سلولی باکتری گرم منفی باشد که از انتشار مواد تشکیل دهنده روغن به غشای سلولی در غلظت‌های پایین ممانعت می‌کند (Zomorodian et al., 2018).



شکل ۳: تشکیل هاله مهارى اطراف فيلم‌هاى G (ژلاتین خالص)، GX (ترکیب ژلاتین و صمغ زانتان) و GXA (ترکیب ژلاتین، صمغ زانتان و روغن آنغوزه) در باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* ATCC32592 و باکتری گرم منفی *Acinetobacter baumannii* PTCC1797

روغن علاوه بر خواص ضد میکروبی توانستند سد میکروبی قوی را در فیلم‌های به دست آمده ایجاد کنند.

به کارگیری ژلاتین استخراجی از ضایعات ماهی کیلکا علاوه بر صرفه اقتصادی و پالایش محیط زیست، در ساخت فیلم‌های کامپوزیتی بویژه پانسمان زخم گزینه مناسبی است زیرا محدودیت‌های مذهبی ندارد و از لحاظ بهداشتی نسبت به ژلاتین گاوی از امنیت بالاتری برخوردار است. به علاوه با افزودن زانتان به این فیلم‌ها، ویژگی‌های مکانیکی آنها در این جهت بهبود یافت و با ترکیب روغن آنگوزه فعالیت ضد میکروبی، ضد بیوفیلمی و سد میکروبی این فیلم‌ها بسیار تقویت شد که برای استفاده در پانسمان زخم‌ها ایده‌آل به نظر می‌رسد.

خواص سد میکروبی فیلم‌های کامپوزیتی در این مطالعه، برای بررسی سطح نفوذ میکروارگانیسم‌های محیطی از طریق غشاها مورد بررسی قرار گرفت. ویال‌های درپوش پیچ که با G، GX و GXA پوشانده شده بودند، هیچ تغییر قابل مشاهده‌ای در کدورت نشان ندادند، در حالی که ویال شاهد مقدار بسیار قابل توجهی کدورت ایجاد کرد. با بررسی محیط نوترینت برات از ویال‌های مختلف که روی محیط آگار مغذی استریل پخش شده بود، پس از ۲۴ ساعت انکوبه شدن، در پتری دیش با تلقیح از ویال‌های شاهد، رشد متراکم میکروارگانیسم‌ها مشاهده شد. از ویال‌های تحت پوشش ژلاتین خالص دو کلنی میکروبی مشاهده شد و فیلم‌های GX و GXA رشد میکروبی نشان ندادند. می‌توان گفت که افزودن زانتان و



## منابع

- Abd Elgadir M., Mirghani M.E. and Adam A. 2013.** Fish gelatin and its applications in selected pharmaceutical aspects as alternative source to pork gelatin. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11: 73–79.
- Abdollahi M., Damirchi S., Shafafi M., Rezaei M. and Ariaii P. 2019.** Carboxymethyl cellulose-agar biocomposite film activated with summer savory essential oil as an antimicrobial agent. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126: 561–568.
- Acevedo-Fani A., Salvia-Trujillo L., Rojas-Grau M.A. and Martin-Bellos O. 2015.** Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 47: 168–177.
- Ahmed J., Mulla M., Joseph A., Ejaz M. and Maniruzzaman M. 2020.** Zinc oxide/clove essential oil incorporated type B gelatin nanocomposite formulations: A proof-of-concept study for 3D printing applications. *Food Hydrocolloids*, 98: 1–7 (105256).
- Ahmed J., Mulla M.Z. and Arfat Y.A. 2016.** Thermo-mechanical, structural characterization and antibacterial performance of solvent casted polylactide/cinnamon oil composite films. *Food Control*, 69: 196–204.
- Altay F. and Gunasekaran S. 2013.** Gelling properties of gelatin-xanthan gum systems with high levels of co-solutes. *Journal of Food Engineering*, 118: 289–295.
- Alves A.L., Marques A.L., Martins E., Silva T.H. and Reis R.L. 2017.** Cosmetic potential of marine fish skin collagen. *Cosmetics*, 4: 1–16 (39).
- Amalraj A., Haponiuk J.T., Thomas S. and Gopi S. 2020.** Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151: 366–375.
- Augustine R., Kalarikkal N. and Thomas S. 2015.** An in vitro method for the determination of microbial barrier property (MBP) of porous polymeric membranes for skin substitute and wound dressing applications. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12: 12–19.
- Bigi A., Cojazzi G., Panzavolta S., Roveri N. and Rubini K. 2002.** Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23: 4827–4832.

- Binsi P., Nayak N., Sarkar P., Joshy C., Ninan G. Ravishankar C. 2017.** Gelation and thermal characteristics of microwave extracted fish gelatin–natural gum composite gels. *Journal of Food Science and Technology*, 54: 518–530.
- De Carvalho R. and Grosso C. 2004.** Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids*, 18: 717–726.
- Detwiler L.A. and Rubenstein R. 2000.** Bovine spongiform encephalopathy: An overview. *American Society for Artificial Internal Organs Journal*, 46: 73–79.
- Divya K., Ramalakshmi K., Murthy P.S. and Rao L.J.M. 2014.** Volatile oils from *Ferula asafoetida* varieties and their antimicrobial activity. *LWT-Food Science and Technology*, 59: 774–779.
- Etxabide A., Vairo C., Santos-Vizcaino E., Guerrero P., Pedraz J.L., Igartua M., De La Caba K. and Hernandez R.M. 2017.** Ultra thin hydro-films based on lactose-crosslinked fish gelatin for wound healing applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 530: 455–467.
- Fitzpatrick P., Meadows J., Ratcliffe I. and Williams P.A. 2013.** Control of the properties of xanthan/glucomannan mixed gels by varying xanthan fine structure. *Carbohydrate Polymers*, 92: 1018–1025.
- Galus S. and Kadzinska J. 2016.** Moisture sensitivity, optical, mechanical and structural properties of whey protein-based edible films incorporated with rapeseed oil. *Food Technology and Biotechnology*, 54: 78–89.
- Gomez-Guillen M.C., Turnay J., Fernandez-Diaz M., Ulmo N., Lizarbe M.A. and Montero P. 2002.** Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16: 25–34.
- Guerrero P., Stefani P., Ruseckaite R. and De La Caba K. 2011.** Functional properties of films based on soy protein isolate and gelatin processed by compression molding. *Journal of Food Engineering*, 105: 65–72.
- Hazirah M.N., Isa M. and Sarbon N. 2016.** Effect of xanthan gum on the physical and mechanical properties of gelatin-carboxymethyl cellulose film blends. *Food Packaging and Shelf Life*, 9: 55–63.
- Herrera P., Burghardt R. and Phillips T. 2000.** Adsorption of *Salmonella enteritidis* by cetylpyridinium-exchanged montmorillonite clays. *Veterinary Microbiology*, 74: 259–272.

- Iranshahi M., Fata A., Emami B., Shahri B.M.J. and Bazzaz B.S.F. 2008.** In vitro antifungal activity of polysulfides-rich essential oil of *Ferula latisecta* fruits against human pathogenic dermatophytes. *Natural Product Communications*, 3(9): 1543–1546.
- Iranshahi M. and Iranshahi M. 2011.** Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafoetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin)- A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 1–10.
- Irwandi J., Faridayanti S., Mohamed E., Hamzah M., Torla H. and Che Man Y. 2009.** Extraction and characterization of gelatin from different marine fish species in Malaysia. *International Food Research Journal*, 16: 381–389.
- Jamilah B. and Harvinder K. 2002.** Properties of gelatins from skins of fish-black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry*, 77: 81–84.
- Jongjareonrak A., Benjakul S., Visessanguan W. and Tanaka M. 2006.** Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: Chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. *Food Hydrocolloids*, 20: 1216–1222.
- Kajimoto T., Yahiro K. and Nohara T. 1989.** Sesquiterpenoid and disulphide derivatives from *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry*, 28: 1761–1763.
- Kamoun E.A., Kenawy E.R.S., Tamer T.M., El-Meligy M.A. and Eldin M.S.M. 2015.** Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation. *Arabian Journal of Chemistry*, 8: 38–47.
- Karim A. and Bhat R. 2009a.** Extraction and characterization of gelatin from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Food Hydrocolloids*, 23: 563–576.
- Karim A. and Bhat R. 2009b.** Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23: 563–576.
- Kavoosi G. and Rowshan V. 2013.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil obtained from *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin: Effect of collection time. *Food Chemistry*, 138: 2180–2187.
- Lavorgna M., Piscitelli F., Mangiacapra P. and Buonocore G.G. 2010.** Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 82: 291–298.

- Li Z., Lin S., An S., Liu L., Hu Y. and Wan L. 2019.** Preparation, characterization and anti-aflatoxigenic activity of chitosan packaging films incorporated with turmeric essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131: 420–434.
- Limpisophon K., Tanaka M., Weng W., Abe S. and Osako K. 2009.** Characterization of gelatin films prepared from under-utilized blue shark (*Prionace glauca*) skin. *Food Hydrocolloids*, 23: 1993–2000.
- Lin L., Regenstein J.M., Lv S., Lu J. and Jiang S. 2017.** An overview of gelatin derived from aquatic animals: Properties and modification. *Trends in Food Science and Technology*, 68: 102–112.
- Mahendra P. and Bisht S. 2012.** Ferula *asafoetida*: Traditional uses and pharmacological activity. *Pharmacognosy Reviews*, 6(12): 141–146.
- Malafaya P.B., Silva G.A. and Reis R.L. 2007.** Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59: 207–233.
- Mathew S. and Abraham T.E. 2008.** Characterisation of ferulic acid incorporated starch–chitosan blend films. *Food Hydrocolloids*, 22: 826–835.
- Mirzapour Kouhdasht A., Moosavi Nasab M. and Aminlari M. 2018.** Investigation of characteristics of gelatin produced from common carp (*Cyprinus carpio*) wastes by enzymatic hydrolysis. *Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 13(1): 105–113.
- Mu C., Li X., Zhao Y., Zhang H., Wang L. and Li D. 2013.** Freezing/thawing effects on the exfoliation of montmorillonite in gelatin- based bionanocomposite. *Journal of Applied Polymer Science*, 128: 3141–3148.
- Muyonga J.H., Cole C.G.B. and Duodu K.G. 2004.** Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids*, 18(4): 581–592.
- Nuvoli L., Conte P., Fadda C., Ruiz J.A.R., Garcia J.M., Baldino S. and Mannu A. 2021.** Structural, thermal, and mechanical properties of gelatin-based films integrated with tara gum. *Polymer*, 214: 123244.
- Santoro M., Tatara A.M. and Mikos A.G. 2014.** Gelatin carriers for drug and cell delivery in tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 190: 210–218.
- Shaw G.S. 2016.** Preparation and characterization of gelatin-tamarind gum/carboxymethyl tamarind gum based phase separated hydrogels and films for

- tissue engineering application. M.Sc. Thesis, National Institute of Technology Rourkela, India. 94P.
- Soares R., Lima A., Oliveira R., Pires A. and Soldi V. 2005.** Thermal degradation of biodegradable edible films based on xanthan and starches from different sources. *Polymer Degradation and Stability*, 90: 449–454.
- Tinrat S. and Sila-Asna M. 2017.** Optimization of gelatin extraction and physico-chemical properties of fish skin and bone gelatin: Its application to Panna cotta formulas. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 5: 263–273.
- Torabi Ardekani N., Khorram M., Zomorodian K., Yazdanpanah S., Veisi H. and Veisi H. 2019.** Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated with *Zataria multiflora* essential oil as potential wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125: 743–750.
- Wasswa J., Tang J. and Gu X. 2007.** Utilization of fish processing by-products in the gelatin industry. *Food Reviews International*, 23: 159–174.
- Xu S., Sun T., Xu Q., Duan C., Dai Y., Wang L. and Song Q. 2018.** Preparation and antibiofilm properties of zinc oxide/porous anodic alumina composite films. *Nanoscale Research Letters*, 13: 1–12.
- Xue F., Gu Y., Wang Y., Li C. and Adhikari B. 2019.** Encapsulation of essential oil in emulsion based edible films prepared by soy protein isolate-gum acacia conjugates. *Food Hydrocolloids*, 96: 178–189.
- Zomorodian K., Saharkhiz J., Pakshir K., Immeripour Z. and Sadatsharifi A. 2018.** The composition, antibiofilm and antimicrobial activities of essential oil of *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14: 300–304.



Research Paper

## Enhancing the antimicrobial effects of gelatin-based composite films extracted from kilka fish waste and xanthan gum using Anghozeh oil

Sajad Abdollahi<sup>1</sup>, Zeinab Raoufi<sup>1\*</sup>, Mohammad Hadi Fakoor<sup>2</sup>

Received: May 2021

Accepted: July 2021

### Abstract

Today, the use of natural materials in wound dressing has attracted more attention that can overcome the serious environmental problems caused by conventional synthetic materials. In this study, first gelatin was extracted from Caspian kilka fish waste and then used to make composite films in pure form (G), in combination with xanthan (GX) and Anghouzeh oil (GXA). Mechanical properties, swelling index and surface morphology of the films were investigated. The antibacterial and anti-biofilm effects of G, GX and GXA films were also evaluated. The highest tensile strength was recorded for GX film ( $37.30 \pm 0.59$ MPa) and the lowest value was recorded for pure gelatin film ( $11.74 \pm 0.2$ MPa). For elongation at break, the highest value was measured in GXA film ( $54.87 \pm 0.21$ %) and the lowest was in G film ( $15.61 \pm 0.68$ %). The highest swelling index was recorded for GX film at  $300 \pm 15.3$ %. GXA film presented the highest antimicrobial and anti-biofilm activities. The results of these study showed that the film made of gelatin in combination with xanthan and Anghouzeh oil has ideal mechanical and antibacterial properties to use in wound dressing structure.

**Key words:** *Kilka Gelatin, Xanthan, Anghouzeh Oil, Composite Film, Wound Dressing.*

1- Assistant Professor in Biology Department, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Microbiology, Hidaj Branch, Islamic Azad University, Hidaj, Iran.

\*Corresponding Author: [Zeinabraoufi@bkatu.ac.ir](mailto:Zeinabraoufi@bkatu.ac.ir)