



## تأثیر لامیناسیون و تشکیل کمپلکس با بتاسیکلودکسترین بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و رهایش فیلم سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری

هادی الماسی<sup>۱\*</sup>، بهبود پورفتحی<sup>۲</sup>، منیره پورعلی<sup>۳</sup>

- ۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
- ۲- کارشناس ارشد صنایع غذایی، واحد تحقیق و توسعه، گروه صنایع غذایی شیرین عمل
- ۳- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز

اطلاعات مقاله	چکیده
<b>تاریخ های مقاله:</b> تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۸/۱۴	در این مطالعه، فیلم فعال آنتی اکسیدانی برپایه سلولز باکتریایی حاوی ۵ درصد وزنی اسانس رزماری تهیه شد. تأثیر لامیناسیون (تولید فیلم چندلایه) و افزودن بتاسیکلودکسترین ( $\beta$ -CD) (بعنوان ترکیب تشکیل دهنده کمپلکس) بر روی خواص فیزیکوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و رهایش فیلم فعال مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج آزمون پراش اشعه X نشان داد که اسانس رزماری باعث کاهش درجه بلورینگی فیلم سلولز باکتریایی می شود. طبق نتایج آزمون های فیزیکی افزودن ۵ درصد اسانس رزماری باعث افزایش نفوذپذیری نسبت به بخار آب و کاهش استحکام مکانیکی شد و استفاده از $\beta$ -CD و همچنین تولید فیلم سه لایه، اثرات منفی اسانس بر روی خواص فیلم را کاهش داد و تأثیر لامیناسیون در این زمینه بیشتر از $\beta$ -CD بود. اسانس رزماری اثر معنی دار بر روی خواص رنگی فیلم داشت و باعث افزایش اندیس b و کاهش اندیس L شد. فیلم حاوی اسانس آزاد خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی داشت (۶۸٪ درصد) اما پس از لامیناسیون و تشکیل کمپلکس با $\beta$ -CD این خاصیت کمتر شد. $\beta$ -CD و لامیناسیون نرخ رهایش اسانس رزماری از بستر فیلم سلولز باکتریایی را کاهش دادند و تأثیر لامیناسیون بیشتر از $\beta$ -CD بود.
<b>کلمات کلیدی:</b> بسته بندی فعال، اسانس رزماری، فیلم سه لایه، خواص مکانیکی، رهایش کنترل شده.	
<b>DOI: 10.52547/fsct.18.02.20</b>	
*مسئول مکاتبات: h.almasi@urmia.ac.ir	

## ۱- مقدمه

امروزه افزایش آلودگی‌های زیست محیطی در اثر استفاده از پلیمرهای سنتزی حاصل از مشتقات نفتی، توجه محققان را به توسعه و تجاری‌سازی تولید بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر و دوستدار محیط زیست معطوف کرده است. انواع مختلف پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها برای تولید بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر مورد استفاده قرار می‌گیرند. سلولز باکتریایی، بیوپلیمر طبیعی تجدیدپذیری است که به صورت محصول تولید شده از باکتری‌های مختلف از جمله استوباکت‌ها ارائه می‌شود. اخیراً استفاده از این ماده در تولید بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است [۲، ۳]. لایه سلولزی بدست آمده از فعالیت باکتری، ماده‌ای با خلوص بالا، شامل نانوفیبرهای سلولز در هم آمیخته است که تشکیل یک شبکه ژلی سه‌بعدی می‌دهد. غشاء سلولز باکتریایی خواص فیزیکی و مکانیکی منحصر بفردی دارد. تخلخل بالا، بلورینگی و استحکام کششی بالا، ظرفیت اتصال به آب بالا و زیست‌سازگاری خوب آن را از سلولز طبیعی متمایز می‌کند. سلولز باکتریایی به طور گسترده در تهیه مواد زیست پزشکی و تولید نانوحامل‌ها کاربرد دارد [۴]. یکی از کاربردهای بیوپلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر، استفاده از آنها در تولید بسته‌بندی‌های فعال<sup>۱</sup> مواد غذایی می‌باشد. استفاده از بسته‌بندی فعال، روش نوینی برای نگهداری مواد غذایی تازه است و در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای برای تولید و اقتصادی کردن آن انجام شده است [۵]. در بسته‌بندی‌های فعال، عوامل مختلف ضد میکروبی و ضد اکسایش در داخل ساختار بسته‌بندی گنجانیده می‌شوند تا باعث ایجاد یک سیستم فعالی شوند که در طول نگهداری ماده غذایی فعالیت خود را حفظ کرده و به افزایش ماندگاری محصول کمک کنند [۶]. بسته‌بندی‌های فعال ضد اکسایشی یکی از انواع مرسوم بسته‌بندی‌های فعال به حساب می‌آیند [۷]. ترکیبات ضد اکسایش، ترکیباتی هستند که با اشباع کردن رادیکال‌های آزاد باعث تاخیر یا کند کردن اکسیداسیون ترکیبات لیپیدی می‌شوند [۸]. ترکیبات ضد اکسایش سنتزی که در تولید روغن‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرند، از جمله

مواد افزودنی می‌باشند که خطر مصرف بالای آنها برای سلامتی مصرف‌کنندگان به اثبات رسیده است. امروزه استفاده از ترکیبات ضد اکسایش طبیعی به جای انواع سنتزی، رواج زیادی یافته است [۹]. در تحقیقات اخیر بر روی بسته‌بندی‌های فعال، از ترکیبات ضد اکسایش طبیعی در بستر فیلم بسته‌بندی استفاده می‌شود، تا بدون نیاز به استفاده از غلظت بالای ترکیبات ضد اکسایش، بتواند به افزایش ماندگاری محصولات چرب کمک کند. اسانس رزماری یکی از مهمترین ترکیبات زیست فعال طبیعی است که خاصیت ضد اکسایشی آن به اثبات رسیده است. این اسانس حاوی موادی با خاصیت ضد اکسایشی بالا مانند رزمانول، رزماری کوئینون، و کارنوزول است. طبق مطالعه‌های صورت گرفته، رزماری ۴ برابر  $BHA^2$  و ۲ برابر  $BHT^3$  خاصیت ضد اکسایشی دارد، به همین دلیل در صنایع غذایی بسیار کاربرد دارد [۱۰]. مطالعه‌های متعددی در زمینه استفاده از اسانس رزماری در ترکیب بسته‌بندی‌های زیست تخریب پذیر فعال صورت گرفته است [۱۱-۱۴].

یکی از مهمترین مسائلی که در طراحی بسته‌بندی‌های فعال بایستی مدنظر قرار گیرد، نرخ رهایش ترکیب فعال از ماده بسته‌بندی می‌باشد. مهاجرت یک ماده افزودنی از پلیمر به داخل ماده غذایی به عوامل مختلفی بستگی دارد که عبارتند از: غلظت اولیه ماده افزودنی در پلیمر، وزن مولکولی آن، حلالیت آن در ماده غذایی، ساختار و تراکم مولکولی پلیمر، ضریب توزیع آن بین پلیمر و ماده غذایی، دما و زمان [۱۵]. استفاده از مواد تشکیل دهنده کمپلکس مانند بتاسیکلودکسترین ( $\beta$ -CD) می‌تواند با افزایش وزن مولکولی ماده مهاجر، نرخ رهایش را کاهش دهد [۱۶، ۱۷]. همچنین لامیناسیون یا تولید فیلم چندلایه و قرار دادن لایه حاوی ترکیب فعال در بین دولایه دیگر نیز روش دیگری است که می‌تواند در کنترل نرخ رهایش موثر باشد. مطالعه‌های خوبی در زمینه کنترل رهایش ترکیبات زیست فعال و مانند سوربیک اسید [۱۸]، وانیلین [۱] و عصاره گیاه تشنه‌داری [۳] و همچنین نانومواد ضد میکروبی مانند نانوذرات اکسید روی [۱۹] با استفاده از لامیناسیون فیلم سلولز باکتریایی صورت گرفته است.

2. Butylated hydroxyl anisole  
3. Butylated hydroxyl toluene

1. Active packaging

(در غلظت ۵ درصد وزن خشک سلولوز) در آب مقطر پخش شده و غشای سلولوزی در آن غوطه‌ور شد و خشک گردید. در حین خشک شدن تمامی اسانس جذب ساختار سلولوز می‌شود. این نمونه با کد REO مشخص شد. در تولید فیلم فعال حاوی کمپلکس اسانس  $\beta$ -CD (۵ درصد وزن خشک سلولوز) و پودر  $\beta$ -CD (۲۰ درصد وزن خشک اسانس) در آب مقطر حل شده و پس از ۲۰ دقیقه تیمار اولتراسوند (ASONE مدل USD 4R، توکیو، ژاپن) با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز، غشای سلولوزی در آن غوطه‌ور شده و خشک گردید (فیلم REO- $\beta$ -CD). فیلم فعال لامینه شده (سه لایه) حاوی اسانس به این صورت تولید شد که فیلم‌هایی با دو لایه از سلولوز باکتریایی خالص و یک لایه میانی حاوی اسانس تهیه شدند. لایه حاوی اسانس مشابه نمونه قبلی تهیه شد و سپس در بین دو لایه فیلم سلولوزی فاقد اسانس قرار گرفت و مجدداً لایه‌های بیرونی در معرض هوا خشک شدند (فیلم REO-ML). برای تولید فیلم فعال لامینه شده (سه لایه) حاوی اسانس کمپلکس شده با  $\beta$ -CD نیز فیلم‌هایی با دو لایه از غشای سلولوز باکتریایی خالص و یک لایه میانی حاوی کمپلکس REO- $\beta$ -CD تهیه شدند. تیمار فراصوت تنها بر روی کمپلکس و قبل از اضافه کردن به فیلم انجام شد (فیلم REO- $\beta$ -CD-ML). فیلم‌های خشک شده در لفاف‌های پلاستیکی تا زمان انجام آزمون‌های بعدی نگهداری شدند.

## ۴-۲-۴- آزمون‌ها

### ۴-۲-۴-۱- ضخامت

برای اندازه‌گیری ضخامت از میکرومتر دیجیتالی (Mitutoyo-No.293-821، توکیو، ژاپن) با دقت اندازه‌گیری ۰/۰۱ میلی‌متر استفاده شد. اندازه‌گیری در ۵ نقطه (۴ نقطه در پیرامون و یک نقطه در مرکز) به صورت تصادفی انجام شد و به صورت میانگین گزارش گردید [۲۱].

### ۴-۲-۴-۲- آزمون پراش پرتو X

جهت مطالعه ساختار فیلم‌های فعال و تأثیر افزودن اسانس بر خواص مورفولوژیکی و ساختاری فیلم سلولوز باکتریایی از آزمون XRD (LabsXRD-6000, Shimadzu، توکیو، ژاپن) استفاده شد. برای انجام آزمون، مولد پرتو X در ۴۰ کیلوولت و ۳۰ میلی‌آمپر تنظیم و نمونه‌ها با طول موج ۰/۱۵۴ نانومتر در

تاکنون از سلولوز باکتریایی در تولید بسته بندی‌های فعال حاوی اسانس از جمله اسانس رزماری استفاده نشده است. همچنین تأثیر تشکیل کمپلکس با  $\beta$ -CD در کنترل رهایش اسانس‌ها از بستر فیلم سلولوزی مورد مطالعه قرار نگرفته است. در این پژوهش، فیلم فعال سلولوز باکتریایی حاوی اسانس رزماری تهیه شده و تأثیر استفاده از  $\beta$ -CD به عنوان عامل کمپلکس دهنده با ترکیبات اسانس و همچنین لامیناسیون و تولید فیلم سه لایه، بر روی خواص فیزیکی، ضدآکسایشی فیلم و همچنین کنترل رهایش اسانس از بستر فیلم فعال مورد بررسی قرار گرفته است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

غشای نانو فیبرسلولوز باکتریایی به شکل غشایی نازک و مرطوب از شرکت نانو نوین پلیمر (ساری) خریداری شد. ویژگی‌های اصلی فیلم سلولوز باکتریایی مورد استفاده عبارتند از: قطر متوسط نانوالیاف ~۴۵ نانومتر، درجه بلورینگی ~۷۸ درصد و خلوص  $\geq 99$  درصد. بتاسیکلودکستین ( $\beta$ -CD) با درجه خلوص ۹۹ درصد، رادیکال آزاد DPPH (۲،۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازین) و سایر مواد شیمیایی از نمایندگی شرکت سیگما (آلمان) تهیه شدند.

### ۲-۲- استخراج اسانس رزماری

برای اسانس‌گیری ابتدا برگ‌های خشک شده رزماری طبق روش وانگ و همکاران [۲۰] و به وسیله دستگاه کلونجر (تقطیر با بخار) عمل شد. برگ خشک رزماری با آب به نسبت ۱ به ۳ و به مدت ۴ ساعت در کلونجر حرارت داده شده و اسانس بدست آمده در ظروف تیره رنگ و در محل تاریک و خنک تا زمان استفاده نگهداری شد.

### ۲-۳- تهیه فیلم

برای تولید فیلم سلولوز باکتریایی، غشای نانوفیبر سلولوز به قطر ۱۰ سانتی‌متر (به اندازه قطر پلیت و بصورت دایره‌ای شکل) بریده شده و در داخل یک پلیت پلاستیکی قرار گرفت و در دمای محیط خشک شد. نمونه فیلم شاهد بدون هیچگونه افزودنی با کد Control مشخص شد. برای تولید فیلم فعال، اسانس رزماری

P: فشار بخار آب خالص در ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۳۱۶۹ پاسکال)

R<sub>1</sub>: رطوبت نسبی در دسیکاتور (۹۷ درصد)

R<sub>2</sub>: رطوبت نسبی در داخل ویال (صفر درصد)

#### ۲-۴-۵- ویژگی‌های رنگی

برای اندازه‌گیری رنگ سطحی فیلم‌ها ابتدا دستگاه روی یک صفحه سفید استاندارد (L\* = ۸۴/۵۹، a\* = -۳/۳۲، b\* = ۱/۱۱) قرار گرفته و پارامترهای رنگی فیلم‌ها رو صفحه استاندارد توسط رنگ سنج MINOLTA (مدل CM-3600d، توکیو، ژاپن) اندازه‌گیری شد. میزان رنگ با استفاده از پارامترهای هاتر برحسب روشنایی (L)، قرمزی-سبزی (a) و زردی-آبی (b) بیان شده و اختلاف رنگ کل<sup>۱</sup> (ΔE)، اندیس زردی<sup>۲</sup> (YI) و اندیس سفیدی<sup>۳</sup> (WI) نیز به صورت زیر محاسبه گردید. داده‌ها در طی سه اندازه‌گیری از نقاط مختلف فیلم‌ها به دست آمده و از آنها میانگین گرفته شد.

(۳)

$$\Delta E = \sqrt{(L_{\text{sample}} - L^*)^2 + (a_{\text{sample}} - a^*)^2 + (b_{\text{sample}} - b^*)^2} \quad (4)$$

$$YI = \frac{142.68b}{L} \quad (5)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

#### ۲-۴-۶- خواص مکانیکی

استحکام کششی نهایی<sup>۴</sup> (UTS) و کرنش تا نقطه شکست<sup>۵</sup> (SB) فیلم‌ها با استفاده از دستگاه آزمون مکانیکی Zwick/Roell (مدل FR010، بن، آلمان) و طبق استاندارد ASTM D882-10 [۲۴] اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵ درصد واجد شرایط شدند و سپس سه نمونه از هر کدام از فیلم‌ها به شکل

معرض پرتو X قرار گرفتند. پرتوهای بازتابشی از نمونه‌ها در دمای محیط و در محدوده زاویه  $\theta = 2/40^\circ$  جمع‌آوری و طیف مربوط به آنها رسم شد. سرعت انجام آزمون ۱ درجه بر دقیقه و اندازه گام‌ها ۰/۰۲ درجه بود.

#### ۲-۴-۳- میزان جذب رطوبت

برای اندازه‌گیری میزان جذب رطوبت فیلم‌ها از روش آنجلس و دوفرسنه [۲۲] استفاده شد. نمونه‌هایی از فیلم‌ها با ابعاد ۲۰×۲۰ میلی‌متر تهیه شد و در دسیکاتور حاوی سولفات کلسیم (درصد RH=۰) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از توزین اولیه، نمونه‌ها به دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیتريت کلسیم (درصد RH=۵۵) منتقل شده و در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس وزن نمونه‌ها در زمان‌های مختلف تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شده و میزان جذب رطوبت از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:

$$\text{جذب رطوبت} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

W<sub>t</sub> وزن نمونه پس از زمان t در درصد RH=۵۵ و W<sub>0</sub> وزن اولیه نمونه‌ها می‌باشد.

#### ۲-۴-۴- نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

تعیین مقدار نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب طبق استاندارد ASTM E96/E96M-14 با کمی تغییرات [۲۳] انجام گرفت. قطعه‌ای از فیلم‌ها در درپوش ویال‌های حاوی سولفات کلسیم (RH صفر درصد) قرار داده شد و پس از سفت کردن درب ویال، همه آنها در داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (درصد RH=۹۷) قرار گرفتند. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم گردید و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه شد. 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) به دست آمد. از تقسیم WVTR به اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم و ضرب آن در ضخامت، WVP طبق رابطه زیر بدست آمد.

(۲)

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} \cdot X$$

X: ضخامت فیلم (متر)

1. Total color difference
2. Yellowness index
3. Whiteness index
4. Ultimate tensile strength
5. Strain to break

آماری ۲۱ SPSS در سطح احتمال ۵ درصد ( $p < 0/05$ ) استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- ضخامت فیلم‌ها

ضخامت فیلم پارامتر مهمی است که علاوه بر تأثیر روی فرایند تولید و شرایط استفاده، سایر ویژگی‌های کاربردی مواد بسته بندی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. جدول ۱ ضخامت فیلم‌های حاوی اسانس رزماری را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، افزودن اسانس رزماری تأثیر معناداری بر روی ضخامت فیلم نداشت ( $p > 0/05$ ). شبکه سه‌بعدی و متخلخل فیلم سلولز باکتریایی باعث می‌شود که اسانس به راحتی به فضاهای بین رشته‌های سلولز نفوذ کرده و در بین آنها جایگیری نماید. به همین دلیل حضور اسانس نمی‌تواند تأثیری بر روی ضخامت فیلم‌ها داشته باشد. افزودن کمپلکس  $\beta$ -CD باعث افزایش معنادار در مقادیر ضخامت شد. نفوذ مولکول‌های  $\beta$ -CD به فضای بین رشته‌های سلولز و همچنین تشکیل کمپلکس آن با اسانس، باعث افزایش فاصله بین رشته‌ها و در نتیجه افزایش ضخامت می‌شود. لامیناسیون و تولید فیلم سه‌لایه بیشترین تأثیر را در افزایش ضخامت فیلم‌ها داشت. مسلم است که با قرار دادن سه لایه از فیلم سلولزی بر روی یکدیگر، ضخامت آن نسبت به فیلم یک لایه بیشتر خواهد بود. فیلم سه‌لایه حاوی اسانس و  $\beta$ -CD بیشترین ضخامت را در بین نمونه‌ها نشان داد. سوخته‌زایی و همکاران [۳] نیز فیلم سلولز باکتریایی حاوی عصاره گیاه تشنه‌داری تولید کردند و مشاهده نمودند که در حالت تولید فیلم سه‌لایه، ضخامت به طور چشمگیری بیشتر از فیلم تک‌لایه خواهد بود.

#### ۳-۲- آزمون پراش پرتو X (XRD)

به منظور مطالعه تأثیر افزودن اسانس بر خواص مورفولوژیکی و ساختاری فیلم سلولز باکتریایی از آزمون XRD استفاده شد. شکل ۱ الگوهای پراش اشعه X نمونه‌های فیلم سلولز باکتریایی خالص و فیلم‌های حاوی اسانس رزماری و مخلوط اسانس و  $\beta$ -CD را نشان می‌دهد. همان‌طور که انتظار می‌رفت، سلولز باکتریایی، الگوی XRD سلولز I را نشان داد که بیشترین شدت

دمبلی با ابعاد  $8 \times 0/5$  سانتی‌متر بریده شد و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب ۵۰ میلی‌متر و ۵ میلی‌متر بر دقیقه تعیین و داده‌ها توسط یک کامپیوتر ثبت گردید.

#### ۲-۴-۷- خاصیت ضدآکسایشی

فعالیت ضدآکسایشی فیلم‌ها با استفاده از روش تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH به روش سرپیتاواران و هارت [۲۵] مورد بررسی قرار گرفت.  $0/25$  گرم از هر فیلم در ۴ میلی لیتر آب مقطر حل شده و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. سپس محلول رویی حاصل با ۱ میلی لیتر از محلول متانولی DPPH ۱ میلی مولار ترکیب شده و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$DPPH (\%) = \frac{Abs_c - Abs_s}{Abs_c} \times 100$$

$Abs_c$  میزان جذب نمونه متانولی DPPH و  $Abs_s$  میزان جذب محلول نمونه فیلم است.

#### ۲-۴-۸- بررسی نرخ رهائش اسانس رزماری

برای انجام آزمون‌های مهاجرت، قطعات  $2 \times 2$  سانتی‌متر از فیلم‌های فعال حاوی اسانس بریده شده و در ویال‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول اتانول ۹۵ درصد غوطه‌ور شدند. سپس ویال‌ها در دمای ۴، ۲۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و در فواصل زمانی مشخص از محلول سیمولانت نمونه‌برداری شده و شدت جذب آن در طول موج ۳۴۴ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico S-2100 UV) اندازه‌گیری شد. پس از قرائت جذب، محلول دوباره به ویال مورد نظر برگردانده شد. اسانس رزماری در این طول موج بیشترین جذب را نشان داد. میزان رهائش اسانس رزماری با استفاده از منحنی استاندارد و از روی مقادیر جذب در زمان‌های مختلف محاسبه شد [۲۶].

#### ۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

همه آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. برای تحلیل و ارزیابی (ANOVA) داده‌ها و تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها از مدل خطی (G.L.M) در نرم افزار

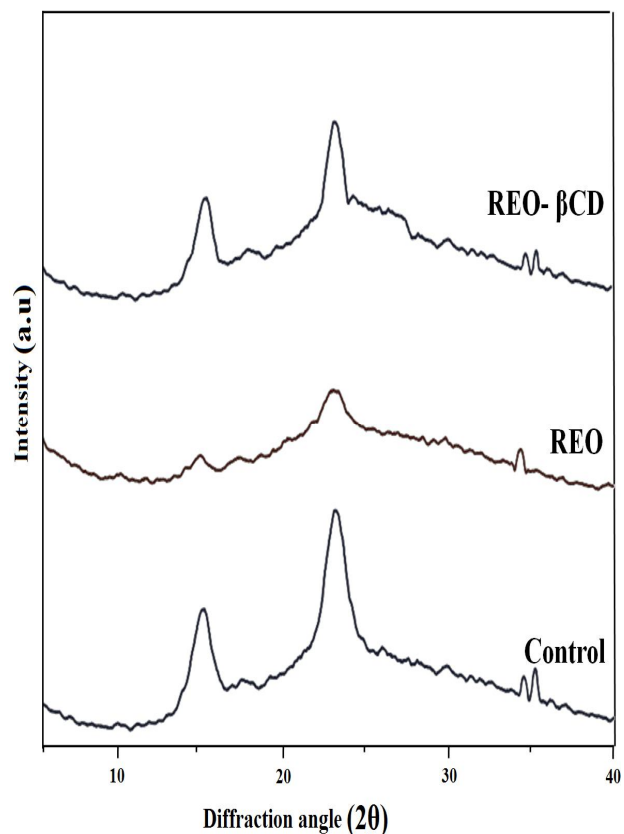
سلولز باعث کاهش یکپارچگی فیلم می‌شود. این درحالی است که در اثر افزودن  $\beta$ -CD درجه بلورینگی فیلم حاوی اسانس مجدداً افزایش می‌یابد.  $\beta$ -CD با اسانس تشکیل کمپلکس می‌دهد و با افزودن ترکیب آن دو به فیلم سلولزی،  $\beta$ -CD برخلاف اسانس خالص قادر است با گروه‌های OH آزاد سلولز واکنش دهد. بنابراین اثر منفی اسانس رزماری در کاهش تراکم پلیمر، با حضور  $\beta$ -CD کاهش می‌یابد و بنابراین افزودن کمپلکس اسانس  $\beta$ -CD قادر است اثر منفی اسانس بر روی خواص ساختاری فیلم سلولز باکتریایی را کاهش دهد. طیف XRD فیلم‌های لامینه تفاوتی با نمونه‌های تک‌لایه نداشت چون ساختار شیمیایی فیلم تغییری نکرده بود. بنابراین از اشاره به آنها خودداری شد.

### ۳-۳- میزان جذب رطوبت

شکل ۲، میزان جذب رطوبت فیلم‌های فعال حاوی اسانس رزماری را نشان می‌دهد. به دلیل ویژگی آب‌دوستی و تخلخل بالای فیلم سلولز باکتریایی، فیلم شاهد قابلیت جذب رطوبت بالایی از خود نشان داد و پس از ۷۲ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵ درصد، بیش از ۶۲ درصد جذب رطوبت در فیلم شاهد مشاهده شد. با افزودن اسانس رزماری به میزان ۵ درصد وزن فیلم، جذب رطوبت فیلم به میزان قابل توجهی کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). این کاهش جذب رطوبت نشان دهنده تأثیر مثبت اسانس رزماری بر خواص بازدارندگی فیلم سلولز باکتریایی می‌باشد. اسانس رزماری به دلیل ویژگی آبرگریزی موجب کاهش تمایل فیلم سلولز به جذب رطوبت می‌شود. همچنین نفوذ به فضای بین رشته‌های سلولز مانع تماس کافی مولکول‌های آب با گروه‌های هیدروکسیل سلولز شده و در نتیجه جذب رطوبت کاهش می‌یابد. این نتیجه نشان می‌دهد که جذب رطوبت و نفوذپذیری نسبت به بخار آب دو مقوله مجزا از هم بوده و یک ترکیب در عین حال که قادر است جذب رطوبت را کاهش دهد، ممکن است تأثیری بر روی WVP نداشته باشد.

با افزودن  $\beta$ -CD در کنار اسانس رزماری، میزان جذب رطوبت به کمتر از ۵۰ درصد نمونه شاهد کاهش یافت. احتمالاً به دلیل

پراش آن در زاویه پراش  $(2\theta)$   $14.9^\circ$ ،  $22.5^\circ$  و  $34.8^\circ$  مشاهده می‌شود که مربوط به صفحات بلورین سلولز می‌باشند [۲۳]. همان طور که در شکل مشخص است، شدت پیک‌ها در فیلم خالص بیشتر از سایر نمونه‌ها بوده و نشانگر این است که سلولز باکتریایی از درجه بلورینگی بالایی برخوردار است. بنابراین می‌توان فیلم سلولز باکتریایی را فیلم نیمه بلورین با درجه بلورینگی نسبتاً بالا به حساب آورد.



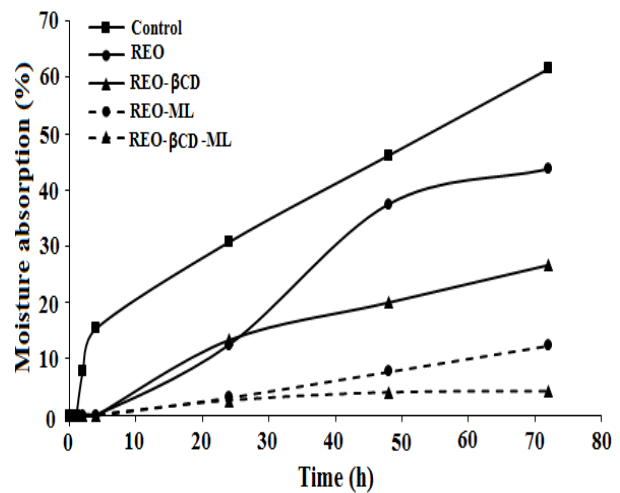
**Fig 1** XRD patterns of control film and active films containing free rosemary essential oil (REO) and its complex with  $\beta$ -CD (REO- $\beta$ CD).

با افزودن اسانس رزماری (نمونه REO) شدت پیک‌ها به‌طور قابل توجهی کاهش یافت که نشان دهنده از بین رفتن ساختار بلورین سلولز می‌باشد. هر سه پیک شاخص، در حضور اسانس رزماری تقریباً ناپدید شدند. این امر نشان می‌دهد که اسانس رزماری قادر است با نفوذ به فضاهای بین رشته‌های متراکم سلولز، ساختار طبیعی و به هم فشرده آنها را تخریب نموده و از درجه بلورینگی فیلم بکاهد. عدم سازگاری اسانس با مولکول‌های

### ۳-۴- نفوذپذیری نسبت به بخار آب

در واقع یکی از عوامل فساد رطوبت نسبی می‌باشد به همین دلیل بازدارندگی نسبت به بخار آب یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مورد استفاده برای بسته‌بندی مواد غذایی به شمار می‌رود. نتایج آزمون WVP در جدول ۱ نشان داده است. نفوذپذیری فیلم‌های بیوپلیمری به بخار آب، به میزان حلالیت مولکول‌های آب در ماتریکس فیلم و همچنین میزان انتشار پذیری و حرکت مولکول‌های بخار آب در راستای مقطع عرضی فیلم بستگی دارد. نتایج نشان داد که اسانس رزماری تأثیری بر روی WVP فیلم سلولز ندارد ( $p > 0.05$ ). این نتایج برخلاف نتایجی است که در مورد تأثیر افزودن اسانس بر روی WVP فیلم‌های بیوپلیمری مختلف گزارش شده است [۱۸، ۱۵]. اسانس رزماری هرچند که می‌تواند جذب رطوبت فیلم سلولز را بطور قابل توجهی کاهش دهد، اما احتمالاً بدلیل قرارگیری در فضای بین رشته‌های سلولز و کاهش تراکم بین رشته‌ای نقش موثری در کاهش WVP ندارد. افزودن  $\beta$ -CD باعث کاهش معنادار در WVP فیلم حاوی اسانس شد ( $p < 0.05$ ). ایجاد اتصالات اضافی در حضور  $\beta$ -CD و همچنین کمک به پوشاندن اسانس و در نتیجه حذف نقش تداخلی آن در کاهش تراکم بین رشته‌ای، باعث افزایش تراکم شبکه سلولزی می‌شود. در نتیجه افزایش تراکم، مسیرهای پرپیچ و خم برای عبور مولکول‌های بخار آب ایجاد می‌شود و در نتیجه WVP کاهش می‌یابد. تولید فیلم سه‌لایه بیشترین تأثیر را در کاهش WVP فیلم‌ها داشت. یکی از موثرترین پارامترها در تعیین WVP ضخامت فیلم می‌باشد. هرچند که تأثیر ضخامت در رابطه تعیین WVP در نظر گرفته شده است اما با افزایش ضخامت، مسیر مورد نیاز برای حرکت و عبور مولکول‌های بخار آب افزایش می‌یابد و به همین دلیل WVP برای فیلم‌های لامینه غالباً کمتر از فیلم یک‌لایه خواهد بود. جیپا و همکاران [۱۸] و استروئسکمو و همکاران [۱] نیز برای کاهش WVP در فیلم لامینه سلولز باکتریایی حاوی سوربیک اسید و وانیلین به نتایج مشابهی دست یافتند.

برقراری پیوندهای هیدروژنی قوی بین  $\beta$ -CD و سلولز باکتریایی و همچنین به دلیل پر شدن منافذ موجود در سلولز باکتریایی توسط بتاسیکلودکسترین، ممانعت در برابر جذب رطوبت افزایش می‌یابد.  $\beta$ -CD با افزایش اتصالات بین مولکولی در ساختار سلولز قادر است ساختاری بسیار فشرده و مستحکم ایجاد کند که جذب و نفوذ مولکول‌های آب را به درون این ساختار محدود می‌سازد. همان طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، فیلم‌های سه‌لایه کمترین جذب رطوبت را در بین تمام نمونه‌ها نشان دادند.



**Fig 2** Moisture absorption of active films during 72 h at RH-55%. REO: rosemary essential oil; REO-βCD: complex of REO with  $\beta$  cyclodextrin; REO-ML: multilayer film containing REO; REO-βCD-ML: multilayer film containing  $\beta$ CD complex of REO.

به دلیل افزایش ضخامت فیلم و همچنین افزایش تراکم ساختاری و کاهش فضاهای آزاد، نفوذ مولکول‌های آب به داخل ساختار فیلم سه‌لایه کاهش می‌یابد [۲۷]. در بین فیلم‌های سه‌لایه نیز حضور  $\beta$ -CD باعث کاهش جذب رطوبت شد و فیلم سه‌لایه حاوی اسانس رزماری و  $\beta$ -CD کمترین جذب رطوبت را پس از ۷۲ ساعت نشان داد (۴/۱۹ درصد). جیپا و همکاران [۱۸] نیز در مورد جذب رطوبت فیلم‌های یک‌لایه و سه‌لایه سلولز باکتریایی حاوی اسید سوربیک به نتایج مشابهی دست یافتند.

**Table 1** The thickness and water vapor permeability (WVP) of active films

Film	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP ( $\times 10^{-10}$ g/m.h.Pa)
Control	125.2 $\pm$ 3.1 <sup>a</sup>	1.14 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>
REO	127.4 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>	1.20 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>
REO- $\beta$ CD	139.1 $\pm$ 3.2 <sup>b</sup>	1.00 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
REO-ML	294.6 $\pm$ 1.0 <sup>c</sup>	0.56 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
REO- $\beta$ CD-ML	317.4 $\pm$ 0.9 <sup>d</sup>	0.41 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>

REO: rosemary essential oil; REO- $\beta$ CD: complex of REO with  $\beta$  cyclodextrin; REO-ML: multilayer film containing REO; REO- $\beta$ CD-ML: multilayer film containing  $\beta$ CD complex of REO. Means with different letters in each column have significant difference ( $p < 0.05$ ).

به فیلم خالص کاهش یافت. اسانس رزماری به رنگ زرد روشن می‌باشد و افزودن آن به فیلم سفید رنگ سلولز باعث افزایش قابل توجه در میزان زردی فیلم شد. بطوریکه این تغییر رنگ با چشم غیر مسلح قابل تشخیص بود. هنگامی که اسانس رزماری با  $\beta$ -CD ترکیب شده و سپس به فیلم سلولز اضافه می‌شود، هرچندکه مجدداً می‌تواند باعث کاهش L و افزایش b شود اما میزان این تغییرات کمتر از حالتی بود که اسانس به تنهایی به فیلم اضافه شد.  $\beta$ -CD با پوشش اسانس و تشکیل کمپلکس با آن، تأثیرگذاری رنگ اسانس بر روی فیلم را کاهش می‌دهد. در مورد پارامتر قرمزی - سبزی (اندیس a) نیز تغییرات مشابه بود. اسانس رزماری باعث کاهش معنادار اندیس a شد ( $p < 0.05$ ) اما  $\beta$ -CD توانست اندکی این پارامتر را افزایش دهد. در بین خواص رنگی فیلم‌های لامینه نیز اختلاف معناداری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) زیرا لایه حاوی اسانس و  $\beta$ -CD (دو ترکیبی که بیشترین تأثیر را بر روی خواص رنگی داشتند) در بین دو لایه‌ی خالص رویی قرار گرفته و بنابراین روند تغییرات رنگی در فیلم‌های لامینه به اندازه فیلم‌های تک لایه مشهود نبود. به‌طور کلی، هرچه شفافیت فیلم‌های بیوپلیمری بالاتر بوده و به پلاستیک‌های حاصل از پلیمرهای سنتزی نزدیک‌تر باشد، پذیرش و استفاده از این نوع مواد بسته‌بندی افزایش خواهد یافت.

### ۳-۵- ویژگی‌های رنگی فیلم‌ها

رنگ و شفافیت فیلم‌ها، نقش مهمی در ظاهر و مقبولیت آنها توسط مصرف کننده دارد [۲۸]. جدول ۲ نشان دهنده خواص رنگی سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری می‌باشد. افزودن اسانس رزماری به فیلم تأثیر معناداری در ویژگی‌های رنگی فیلم گذاشت ( $p > 0.05$ ). افزودن اسانس‌های روغنی ممکن است در رنگ طبیعی فیلم‌ها تغییراتی ایجاد کند که این تغییر به غلظت مواد افزوده شده وابسته است [۲۸]. با توجه به نتایج، فیلم شاهد بالاترین میزان روشنایی و کمترین میزان زردی و اختلاف رنگ با صفحه استاندارد را داشت. با افزودن اسانس رزماری به فیلم سلولز باکتریایی پارامتر b و اندیس YI که نشان دهنده‌ی میزان زردی فیلم می‌باشد بطور چشمگیری افزایش یافت. بطوریکه فیلم‌های حاوی اسانس از نظر رنگی با فیلم خالص کاملاً متفاوت بودند. اختلاف رنگ ( $\Delta E$ ) با صفحه استاندارد نشان دهنده‌ی شفافیت فیلم است و هرچه این اختلاف کمتر باشد میزان شفافیت فیلم بالا خواهد بود. همانطور که از نتایج پیداست با افزودن اسانس رزماری اختلاف رنگ بطور معنی داری ( $p < 0.05$ ) افزایش یافته و با افزودن  $\beta$ -CD میزان این افزایش کمتر بود و در مورد فیلم‌های لامینه شده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). همچنین میزان اندیس سفیدی (WI) پلیمرها نسبت

**Table 2** The color parameters of active films obtained by Hunter color test

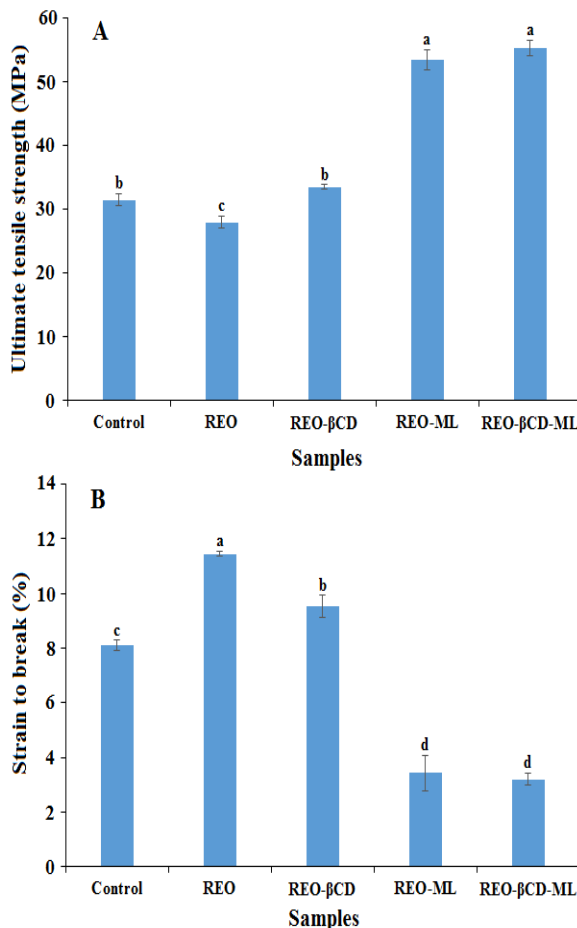
Film	L	a	b	$\Delta E$	YI	WI
Control	87.43 $\pm$ 1.11 <sup>a</sup>	0.59 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	11.62 $\pm$ 0.81 <sup>d</sup>	15.21 $\pm$ 1.19 <sup>c</sup>	18.98 $\pm$ 1.01 <sup>c</sup>	82.88 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>
REO	54.32 $\pm$ 2.20 <sup>d</sup>	-0.04 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>	60.00 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>	70.19 $\pm$ 2.00 <sup>a</sup>	157.79 $\pm$ 2.81 <sup>a</sup>	24.60 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>
REO- $\beta$ CD	61.54 $\pm$ 0.76 <sup>c</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	48.03 $\pm$ 0.99 <sup>c</sup>	56.29 $\pm$ 1.54 <sup>b</sup>	111.49 $\pm$ 1.43 <sup>b</sup>	38.47 $\pm$ 0.90 <sup>b</sup>
REO-ML	69.67 $\pm$ 0.95 <sup>b</sup>	0.05 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	52.17 $\pm$ 1.05 <sup>b</sup>	57.47 $\pm$ 0.66 <sup>b</sup>	106.97 $\pm$ 1.21 <sup>b</sup>	39.66 $\pm$ 1.11 <sup>b</sup>
REO- $\beta$ CD-ML	71.13 $\pm$ 1.00 <sup>b</sup>	0.02 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	52.00 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup>	56.94 $\pm$ 3.81 <sup>b</sup>	104.43 $\pm$ 0.98 <sup>b</sup>	40.53 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>

REO: rosemary essential oil; REO- $\beta$ CD: complex of REO with  $\beta$  cyclodextrin; REO-ML: multilayer film containing REO; REO- $\beta$ CD-ML: multilayer film containing  $\beta$ CD complex of REO. Means with different letters in each column have significant difference ( $p < 0.05$ ).



## ۳-۶- خواص مکانیکی

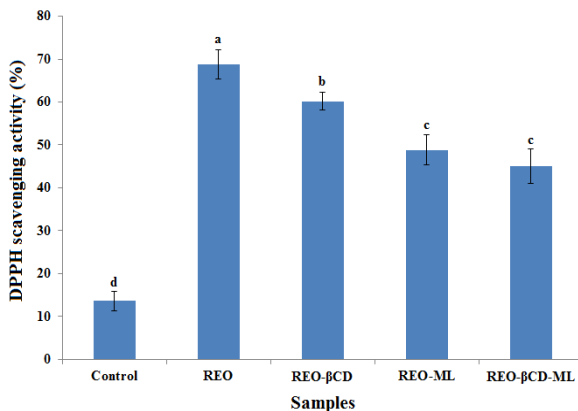
بین مولکولی در اثر لامیناسیون باعث می‌شود که فیلم سه‌لایه قدرت تحمل نیروی کششی بیشتری داشته باشد. سوخته‌زاری و همکاران [۳] نیز در مورد تأثیر لامیناسیون و حضور  $\beta$ -CD بر روی خواص مکانیکی فیلم سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه‌داری به نتایج مشابهی دست یافتند.



**Fig 3** Ultimate tensile strength (A) and strain to break (B) of active films. REO: rosemary essential oil; REO- $\beta$ CD: complex of REO with  $\beta$  cyclodextrin; REO-ML: multilayer film containing REO; REO- $\beta$ CD-ML: multilayer film containing  $\beta$ CD complex of REO. Means with different letters have significant difference ( $p < 0.05$ ).

شکل ۳B نیز درصد کرنش تا نقطه شکست فیلم‌ها را نشان می‌دهد. کرنش تا نقطه شکست نشان دهنده میزان انعطاف‌پذیری فیلم‌هاست. مشخص است که با افزودن اسانس رزماری، به دلیل ایجاد اثر نرم‌کنندگی که بدان اشاره شد، کرنش تا نقطه شکست افزایش می‌یابد. درواقع، اسانس رزماری باعث نرم‌تر شدن

خواص مکانیکی فیلم‌ها میزان مقاومت پلیمر تولید شده برای بسته بندی در نگهداری مواد غذایی از آسیب‌های وارده در طول حمل و نقل را نشان می‌دهد. شکل ۳ خواص مکانیکی فیلم‌های سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری را نشان می‌دهند. شکل ۳A استحکام کششی فیلم‌های سلولز باکتریایی در نقطه شکست را نشان می‌دهد. فیلم خالص سلولز از استحکام مکانیکی نسبتاً بالایی در مقایسه با سایر بیوپلیمرها مانند نشاسته، کازئین و کربوکسی متیل سلولز برخوردار بود [۲۹]. این امر به دلیل درجه بلورینگی بالاتر و میزان بیشتر برهمکنش‌های بین رشته‌ای در این بیوپلیمر می‌باشد. با افزودن اسانس رزماری استحکام کششی به‌طور معناداری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ) و از ۳۳/۱۱ به ۲۷/۵۴ مگاپاسکال رسید. اسانس قادر است با قرارگیری در بین رشته‌های بیوپلیمر، شدت و تعداد برهمکنش‌های بین مولکولی را کاهش دهد. در نتیجه با کاهش اتصالات بین رشته‌ای، میزان مقاومت کششی کاهش می‌یابد. درواقع اسانس رزماری در ماتریکس فیلم سلولز باکتریایی مانند یک نرم‌کننده عمل می‌کند و باعث کاهش اتصالات بین مولکولی می‌شود. از طرف دیگر، همان‌طور که در بخش نتایج آزمون XRD اشاره شد، افزودن اسانس باعث کاهش درجه بلورینگی فیلم سلولز می‌شود. همین امر نیز می‌تواند باعث کاهش سختی و استحکام فیلم شود. چراکه استحکام کششی فیلم‌های بیوپلیمری تا حد زیادی به درجه بلورینگی آنها وابسته است. با افزودن  $\beta$ -CD تأثیر منفی اسانس بر روی استحکام کششی کمتر شد و این پارامتر به‌طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ).  $\beta$ -CD قادر است با واحدهای گلوکز در ساختمان سلولز واکنش داده و انسجام ساختاری را افزایش دهد. درواقع  $\beta$ -CD تأثیر نرم‌کنندگی اسانس را کاهش می‌دهد زیرا اولاً با پوشش دادن اسانس دخالت آن در ایجاد فضاهای آزاد بین مولکولی را کمتر می‌کند و ثانیاً با ایجاد اتصالات بین رشته‌ای، تحرک مولکولی زنجیرهای سلولز را کاهش می‌دهد [۲۸]. بیشترین استحکام کششی در فیلم‌های سه‌لایه مشاهده شد. با قرار دادن سه لایه فیلم سلولزی بر روی یکدیگر، استحکام کششی به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. افزایش ضخامت و پخش نیروهای کششی در واحد سطح بزرگتر و همچنین افزایش تراکم



**Fig 4** Antioxidant potential of active films against DPPH free radical. REO: rosemary essential oil; REO-βCD: complex of REO with β cyclodextrin; REO-ML: multilayer film containing REO; REO-βCD-ML: multilayer film containing βCD complex of REO. Means with different letters have significant difference ( $p < 0.05$ ).

همچنین مسیر نفوذ شبه‌غذا و انتشار اسانس به بیرون نیز در فیلم سه‌لایه طولانی‌تر شده و همین امر نیز رهایش اسانس را کندتر می‌کند. سوخته‌زاری و همکاران [۳] نیز در مورد فیلم سه‌لایه سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه‌داری به نتایج مشابهی دست یافتند. مطابق نتایج خاصیت ضداکسایشی بایستی توجه داشت که در حالت سه‌لایه هرچند که خاصیت ضداکسایشی به طور لحظه‌ای و در طی آزمون کم است اما کنترل رهایش آن باعث خواهد شد که فیلم لامینه برای مدت زمان‌های طولانی‌تری اثر ضد میکروبی نشان دهد. در مورد رهایش اسانس در قسمت بعدی بحث شده است.

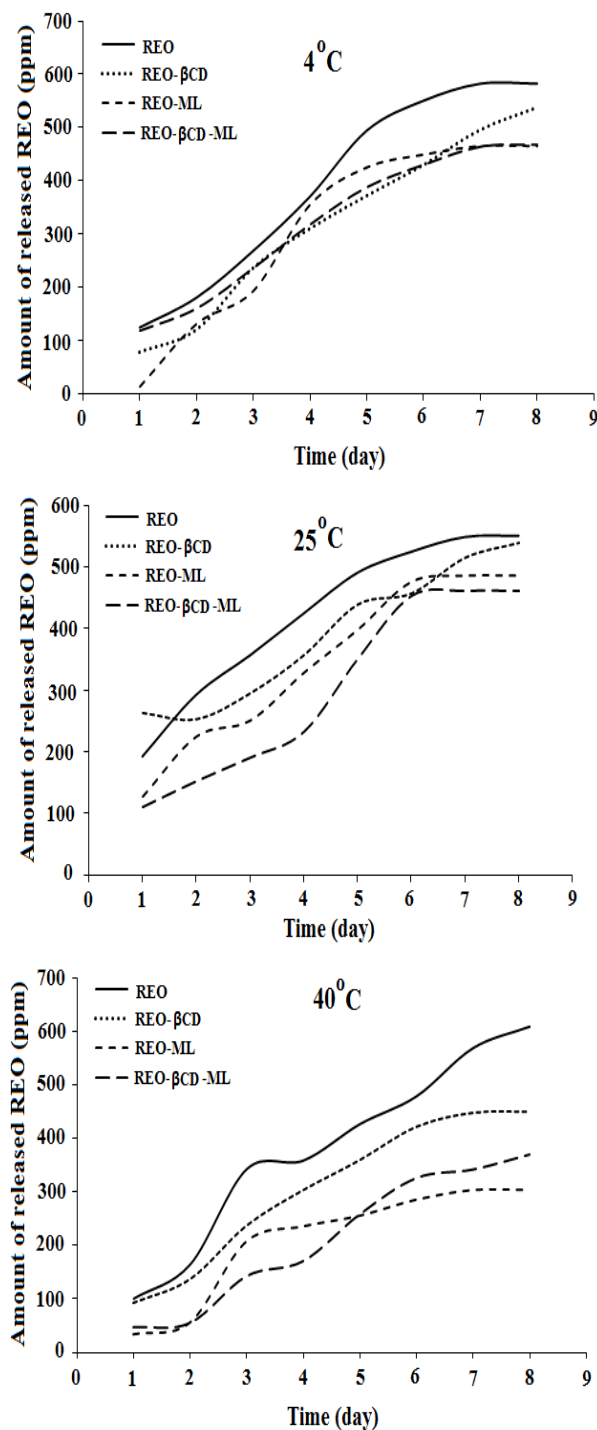
### ۳-۸- نرخ رهایش اسانس رزماری

کنترل نرخ رهایش یکی از چالش‌های مهم مخصوصاً در محصولات غذایی و دارویی محسوب می‌شود. کنترل رهایش مواد ضدمیکروبی از فیلم‌های بسته‌بندی به نگرانی و حفظ محصولات غذایی برای دوره طولانی مدت کمک می‌کند. شکل ۵ نرخ رهایش اسانس رزماری از فیلم‌های سلولز باکتریایی را به داخل سیمولانت اتانول ۹۵ درصد در دمای ۴، ۲۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. در تمامی دماهای آزمون، فیلم سلولزی

فیلم‌های سلولزی می‌شود. با افزودن β-CD به دلیل نقش کمکی آن در افزایش اتصالات بین رشته‌ای، کرنش کمتر شده و انعطاف‌پذیری کاهش می‌یابد. فیلم‌های لامینه از بیشترین شکنندگی و کمترین انعطاف‌پذیری برخوردار بودند. تولید فیلم سه‌لایه و اتصال لایه‌ها به هم، استحکام کششی فیلم را افزایش داده و انعطاف‌پذیری را کمتر می‌کند [۱۸].

### ۳-۷- فعالیت ضداکسایشی

هدف از انجام این تحقیق طراحی یک بسته‌بندی فعال با خاصیت ضداکسایشی بود. بنابراین خاصیت ضداکسایشی نمونه‌های فیلم نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۴ مقادیر قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط نمونه‌های فیلم را نشان می‌دهد. فیلم سلولز باکتریایی خالص قدرت ضداکسایشی کمی نشان داد (۱۳/۶ درصد). سلولز فاقد خاصیت ضداکسایشی می‌باشد و همین مقادیر کم قدرت مهارکنندگی نیز احتمالاً به دلیل حضور ناخالصی‌ها یا مواد مورد استفاده در محیط کشت سنتز سلولز می‌باشد [۳]. با افزودن اسانس رزماری، فیلم فعال خاصیت ضداکسایشی قابل توجهی پیدا کرد و به مقدار ۶۸/۷ درصد افزایش یافت. ترکیبات زیست فعال اسانس رزماری خاصیت ضداکسایشی خوبی نشان می‌دهند و مطالعه‌های قبلی بر روی فیلم‌های فعال حاوی این اسانس نیز به نتایج تقریباً مشابهی دست یافته‌اند [۱۱، ۱۲]. هنگامی که اسانس رزماری به شکل کمپلکس با β-CD در ترکیب فیلم استفاده شد، خاصیت ضداکسایشی به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ( $p < 0.05$ ). تشکیل کمپلکس و افزایش وزن مولکولی باعث کاهش آزاد شدن اسانس به داخل محلول شده و بنابراین مقدار اسانس کمتری با DPPH وارد واکنش می‌شود. در حالت تولید فیلم سه‌لایه نیز کاهش قدرت ضداکسایشی چشمگیرتر بود و فیلم سه‌لایه حاوی کمپلکس اسانس کمترین قدرت ضداکسایشی را نشان داد (۴۵/۱ درصد). دلیل این امر این است که در فیلم سه‌لایه، بخش دارای اسانس تماس کمتری با محلول مورد استفاده در آزمون پیدا می‌کند و بنابراین آزاد شدن اسانس به داخل محلول کمتر بوده و مقادیر مهارکنندگی DPPH کاهش می‌یابد.



**Fig 5** Release profile of REO from active films at three different temperatures. REO: rosemary essential oil; REO-βCD: complex of REO with β cyclodextrin; REO-ML: multilayer film containing REO; REO-βCD-ML: multilayer film containing βCD complex of REO.

حاوی اسانس خالص بیشترین نرخ رهایش را نشان داد. تشکیل کمپلکس اسانس با β-CD قادر بود میزان رهایش اسانس را کاهش دهد. گیر افتادن اسانس در حفرات β-CD و کاهش تحرک مولکولی آنها باعث کاهش نرخ رهایش اسانس می‌شود. همچنین تشکیل کمپلکس به افزایش وزن مولکولی ترکیبات مهاجرت کننده نیز کمک می‌کند. وزن مولکولی ماده مهاجر یکی از مهمترین عوامل در تعیین نرخ رهایش می‌باشد. با افزایش وزن مولکولی، سرعت خروج اسانس از ماتریکس سلولز به داخل اتانول کاهش می‌یابد. کونتز و همکاران [۱۵] در مورد تأثیر β-CD در کنترل رهایش ترکیب ضداسکایشی آلفاتوکوفرول به داخل اتانول ۹۵ درصد به نتایج مشابهی دست یافتند. سوخته‌زاری و همکاران [۳] نیز تأثیر تشکیل کمپلکس عصاره تشنه داری با β-CD را در کنترل رهایش این عصاره از فیلم سلولز باکتریایی به اثبات رساندند.

تولید فیلم لامینه و قرار دادن لایه حاوی اسانس در بین لایه‌های سلولزی خالص نیز تأثیر قابل توجهی در کنترل رهایش داشت. در هر سه دمای مورد آزمون، فیلم‌های لامینه نسبت به فیلم‌های تک‌لایه نرخ رهایش کمتری نشان دادند و در بین آنها نیز فیلم لامینه حاوی β-CD میزان مهاجرت کمتری داشت. قرار دادن لایه‌های خارجی بر روی لایه فعال حاوی اسانس، سطح تماس لایه فعال با محیط مایع را کاهش داده و نرخ تورم و افزایش تحرک مولکولی را کاهش می‌دهد. همچنین در این حالت فاصله‌ای که اسانس بایستی طی کند تا از سطح فیلم به داخل اتانول آزاد شود افزایش می‌یابد. در نتیجه زمان کلی مهاجرت افزایش یافته و نرخ رهایش در طول ۷۲ ساعت آزمون کاهش قابل توجهی نسبت به فیلم‌های تک‌لایه نشان می‌دهد. در مورد مهاجرت سوربیک اسید و وانیلین از فیلم‌های سه لایه سلولز باکتریایی نیز نتایج مشابهی گزارش شده است [۱۸، ۱].

نکته مهم دیگری که می‌توان از شکل ۵ استنباط نمود، تأثیر دما بر روی نرخ رهایش می‌باشد. همان طور که از مقایسه سه شکل، مشخص است افزایش یا کاهش دما تأثیر قابل توجهی بر روی نرخ رهایش اسانس نداشته است و در هر سه دمای آزمون، میزان اسانس رهایش یافته از فیلم‌ها تقریباً در یک سطح بوده است.

- multilayer films. Food Engineering, 114, 153-157.
- [2] Stoica-Guzun, A., Stroescu, M., Jinga, S., Jipa, I., Dobre, T., & Dobre, L. (2012). Ultrasound influence upon calcium carbonate precipitation on bacterial cellulose membranes. Ultrasonics Sonochemistry, 19, 909-915.
- [3] Sukhtezari, S., Almasi, H., Pirs, S., Zandi, M., Pirouzifard, M., (2017). Development of bacterial cellulose based slow-release active films by incorporation of *Scrophularia striata* Boiss. Extract. Carbohydrate Polymers, 156, 340-350.
- [4] Wei, B., Yang, G., & Hong, F. (2011). Preparation and evaluation of bacterial cellulose dry films with antibacterial properties. Carbohydrate Polymers, 84, 533-538.
- [5] Labuza, T.P. & Breene, W.M. (1988). Applications of active packaging for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. Journal of Food Processing and Preservation, 13, 1-69.
- [6] Hutton, T. (2003). Food packaging: An introduction. key topics in food science and technology-Number 7. Chipping Campden, Gloucestershire, U.K: Campden and Chorleywood Food Research Association Group (p. 108).
- [7] De Kruijf, N., Van Beest, M., Rijk, R., Sipila, T., Paseiro, L., & De Meulanaer, B. (2002). Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. Food Additives and Contaminants. 19144-162.
- [8] Belitz, H., Grosch, W. and Schieberle, p. 2009. Food Chemistry. 4th revised and extended ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- [9] Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., Kruijf, N., & Debevere, J. (1999). Developments in the active packaging of foods. Food Science & Technology, 10, 77-86.
- [10] Peter, D., Nichols, B. D., Mooney & Elliott N. G. (2001). Unusually high levels of non-saponifiable lipids in the fish escolar and rudderfish Identification by gas and thin-layer chromatography. Journal of Chromatography A, 936, 183-191.
- [11] Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G., (2012). A novel active bionanocomposite film

این پدیده برخلاف نتایج سایر محققینی است که اعلام نموده‌اند با افزایش دما، نرخ رهایش ترکیبات فعال از فیلم‌های بیوپلیمری به داخل سیمولانت‌های مایع افزایش می‌یابد [۲۶-۳۳]. دلیل این امر، احتمالاً به ماهیت ساختاری فیلم سلولز باکتریایی مربوط باشد. فیلم خشک شده سلولز باکتریایی از درجه بلورینگی و میزان تراکم مولکولی بالایی نسبت به سایر فیلم‌های زیست تخریب پذیر برخوردار است. بنابراین افزایش دما تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد احتمالاً قادر نیست شدت و تعداد پیوندها را کاهش داده و جنبش مولکولی را افزایش دهد و در نتیجه به افزایش نرخ رهایش در دماهای بالاتر منجر شود. برای اثبات این ادعا لازم است آزمون DSC یا TGA بر روی فیلم‌ها انجام شده و خواص حرارتی آنها بیشتر مورد مطالعه قرار گیرد.

#### ۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که افزودن ۵ درصد اسانس رزماری، خواص کاربردی فیلم سلولز باکتریایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و همچنین تشکیل کمپلکس اسانس رزماری با  $\beta$ -CD دلیل افزایش سازگاری آن با بیوپلیمر، تأثیر منفی اسانس بر روی خواص فیلم را کاهش می‌دهد. لامیناسیون و تولید فیلم سه لایه، تأثیر قابل توجهی بر روی بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی فیلم سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری نشان داد. در نتیجه با استفاده از  $\beta$ -CD و همچنین لامیناسیون، می‌توان فیلم فعال ضد اکسایشی با رهایش کنترل شده تولید نمود بطوریکه فیلم برای مدت زمان‌های طولانی‌تری خاصیت ضد اکسایشی از خود نشان دهد. با توجه به نتایج این پژوهش، فیلم سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری می‌تواند بعنوان یک بسته‌بندی فعال مناسب برای مواد غذایی به کار رود و قادر خواهد بود که با کنترل رهایش اسانس، ماندگاری محصول را برای مدت طولانی حفظ نموده و از فساد اکسیداتیو آن جلوگیری کند.

#### ۵- منابع

- [1] Stroescu, M., Stoica-Guzun, A., & Jipa, L. M. (2012). Vanillin release from poly (vinylalcohol)-bacterial cellulose mono and

- loaded bacterial cellulose films. *Carbohydrate Polymers*, 149, 8-19.
- [20] Wang, S., Cheng, Q., Rials, T. G., & Lee, S.H. (2007). Cellulose microfibril/nanofibril and its nanocomposite. In *Proceeding of the 8<sup>th</sup> Pacific rim bio-based composites symposium*.
- [21] Barzegar, H., Azizi, M. H., Barzegar, M., & Hamidi-Esfahani, Z. (2014). Effect of potassium sorbate and cinnamon oil on antimicrobial and physical properties of starch-clay nanocomposite films. *Carbohydrate polymers*, 110, 26-31.
- [22] Angles, M. N., & Dufresne, A. (2000). Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. Structural analysis. *Macromolecules*, 33(22), 8344-8353.
- [23] Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Entezami, A.A., & Asl, A.K. (2015). Novel nanocomposites based on fatty acid modified cellulose nanofibers/poly (lactic acid): Morphological and physical properties. *Food Packaging and Shelf Life*, 5, 21-31.
- [24] ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-10. *Annual book of ASTM*, (2010). Philadelphia, PA: American Society for testing and Materials.
- [25] Siripatrawan, U., & Harte, B, R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24, 770-775.
- [26] Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Entezami A. A., & Khosrowshahi Asl, A. (2014). Development of novel controlled release nanocomposite based on Poly(lactic acid) for increasing the oxidative stability of soybean oil. *Food Additives & Contaminants, Part A*, 31(9), 1586-1597.
- [27] Savadkar, N.R., & Mhaske, S.T. (2012). Synthesis of nano cellulose fibers and effect on thermoplastic starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 89:146-151.
- [28] Du, W. X., Avena-Bustillos, R. J., Hua, S. S. T., & McHugh, T. H. (2011). Antimicrobial volatile essential oils in edible films for food safety. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, A. Mendez-Vilas (ed.), 1124-1134.
- incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 111, 343-350.
- [12] Alizadeh-Sani, M., Ehsani, A., & Hashemi, M. (2017). Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO<sub>2</sub> nanoparticle/rosemary essential oil nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. *International Journal of Food Microbiology*, 251, 8-14.
- [13] Alizadeh-Sani, M., Khezerlou, A., & Ehsani, A. (2018). Fabrication and characterization of the bionanocomposite film based on whey protein biopolymer loaded with TiO<sub>2</sub> nanoparticles, cellulose nanofibers and rosemary essential oil. *Industrial Crops and Products*, 124, 300-315.
- [14] Qin, Y., Li W., Liu, D., Yuan, M., & Li, L. (2017). Development of active packaging film made from poly (lactic acid) incorporated essential oil. *Progress in Organic Coatings*, 103, 76-82.
- [15] Koontz, J.L., Moffitt, R.D., Marcy, J.E., O'Keefe, S.F., Duncan, S.E. & Long, T.E. (2010). Controlled release of a-tocopherol, quercetin, and their cyclodextrin inclusion complexes from linear low-density polyethylene (LLDPE) films into a coconut oil model food system. *Food Additives and Contaminants*, 27(11), 1598-1607.
- [16] Sun, X., Sui, S., Ference, C., Zhang, Y., Sun, S., & Zhou, N. (2014). Antimicrobial and mechanical properties of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion with essential oils in chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(35), 8914-8918.
- [17] Chen, G., & Liu, B. (2016). Cellulose sulfate based film with slow-release antimicrobial properties prepared by incorporation of mustard essential oil and  $\beta$ -cyclodextrin. *Food Hydrocolloids*, 55, 100-107.
- [18] Jipa, L., Stoica-Guzun, A., & Stroescu, M. (2012). Controlled release of sorbic acid from bacterial cellulose based mono and multilayer antimicrobial films. *Food Science and Technology*, 47,400-406.
- [19] Shahmohammadi Jebel, F., & Almasi, H. (2016). Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-

- phenolic antioxidants from extruded poly lactic acid (PLA) film. *Food Contaminants*, 28, 445-455.
- [32] Manzanarez- Lopez, F., Soto- Valdez, H., Auras, A. R., & Peralta, E. (2011). Release of alpha-Tocopherol from poly (lactic acid) film and its effect on the oxidative stability of soybean oil. *Food Engineering*, 104, 508-517.
- [33] Ortiz-Vazquez, H., Shin, J., Soto-Valdez, H. & Auras, R. (2011). Release of butylated hydroxytoluene (BHT) from Poly(lactic acid) films. *Polymer Testing*, 30, 463-471.
- [29] Ahvenainen, R. (2003). Active and intelligent packaging: An introduction. In: *Novel food packaging techniques*. R. Ahvenainen (ed.). Woodhead Publishing, Cambridge, U.K. pp. 5-21.
- [30] Graciano-Verdugo, A. Z., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Cruz-Zárate, P., Islas-Rubio, A., Sánchez-Valdes, S., Sánchez-Escalante, A., González-Méndez, N. & González-Ríos, H. (2010). Migration of  $\alpha$ -tocopherol from LDPE films to corn oil and its effect on the oxidative stability. *Food Research International*, 43, 1073-1078.
- [31] Jamshidian, M., Arab Tehrani, E. & Desobry, S., (2012). Release of synthetic



## Scientific Research

## Effect of lamination and complex formation with $\beta$ -cyclodextrin on physicochemical, antioxidant and release properties of bacterial cellulose film containing rosemary essential oil

Almasi, H. <sup>1\*</sup>, Pourfathi, B. <sup>2</sup>, Pourali, M. <sup>3</sup>

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

2. R&D department of Shirin Asal food industry, Tabriz, Iran

3. MSc graduate, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tabriz Branch

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 19 May 2019 Accepted 04 November 2020</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Active packaging, Rosemary essential oil, Three-layer film, Mechanical properties, Controlled release.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.52547/fsct.18.02.20</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: h.almasi@urmia.ac.ir</p>	<p>In this study, bacterial cellulose based antioxidant films containing 5%wt of rosemary essential oil (REO) were prepared. The effect of lamination (production of multilayer film) and beta-cyclodextrin (<math>\beta</math>-CD) (as complex agent) on the physicochemical, antioxidant and release properties of the active films was studied. X-ray diffraction analysis revealed that the REO was able to decrease the crystallinity of bacterial cellulose film. Results of physical tests revealed that the addition of 5% REO caused to increase of water vapor permeability and decrease of mechanical stiffness and using of <math>\beta</math>-CD and lamination diminished these negative effects of REO and effect of lamination was more than <math>\beta</math>-CD. REO had a significant effect on color properties and caused to increase b values and decrease L values. REO loaded film had good antioxidant activity (68.7%) but this property decreased after lamination and <math>\beta</math>-CD complexion. The <math>\beta</math>-CD and lamination decreased the migration rate of REO from matrix of bacterial cellulose films and the effect of lamination was more than <math>\beta</math>-CD.</p>