

Investigation of the Release Rate and Physicochemical, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Starch Films Containing Cinnamon Essential Oil and Chitosan Nanofiber

HADI ALMASI^{*}, NEDA BOHLUL DANANDEH², SINA ARDEBILCHI MARAND¹

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

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Afagh High Educational Institute, Urmia, Iran.

(Received: Jan. 5, 2021- Revised: Feb. 23, 2021- Accepted: Apr. 10, 2021)

ABSTRACT

In this research, antioxidant active nanocomposite film based on starch was prepared by incorporation of cinnamon essential oil (CEO) and chitosan nanofibers (CHNF). Both of the additives were added at concentrations of 0, 2.5 and 5 % and their effect on barrier, mechanical and morphological characteristics and antioxidant properties were investigated. Also, the release rate of CEO from nanocomposites was studied at two temperatures. With adding CEO water vapor permeability (WVP) was increased, but moisture absorption was decreased. However, CHNF caused to significant decrease of both parameters. CEO decreased the tensile strength of starch films but CHNF increased tensile strength and decreased elongation of films. Results of XRD and FTIR tests approved the homogenous distribution of CEO and CHNF in starch matrix. Also they approved that there are no structural changes and no new interactions after addition of CEO and CHNF to starch film. CEO especially in the concentration of 5% significantly increased the antioxidant activity of starch film, but CHNF decreased its antioxidant activity. Investigation of release rate of essential oil into ethanol (96 %) revealed that by increasing temperature from 4 to 25 °C, the release rate was significantly increased in all samples. The films containing CEO had the highest release rate and its release was controlled after incorporation of CHNF. Generally, the results of this research indicated that by addition of CEO and CHNF to starch film can prepare films with good properties and controlled release characteristics.

Keywords: Starch; Active film, Cinnamon essential oil; Chitosan nanofibers; Antioxidant activity; Release controlling

بررسی نرخ رهايش و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی فیلم نشاسته حاوی اسانس دارچین و نانوفیبر کیتوزان

هادی الماسی^{۱*}، ندا بهلول داندنه^۲، سینا اردبیلچی مرند^۱

۱. گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی آفاق، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۶ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۲/۵ - تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۱/۲۱)

چکیده

در این پژوهش، فیلم نانوکامپوزیت فعال آنتی‌اکسیدانی بر پایه بیوپلیمر نشاسته حاوی اسانس دارچین و نانوفیبر کیتوزان (CHNF) تولید شد. هر دو ترکیب در غلظت‌های صفر، ۲/۵ و ۵ درصد به ترکیب فیلم نشاسته اضافه شدند و تأثیر آنها بر روی خواص با دارندگی، ویژگی‌های مکانیکی و مورفولوژیکی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم نشاسته بررسی شد. همچنین نرخ رهايش اسانس از فیلم‌های نانوکامپوزیت در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس مطالعه شد. افزودن اسانس دارچین باعث افزایش نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) شد اما جذب رطوبت را کاهش داد. در حالی که CHNF باعث کاهش قابل توجه در هر دو پارامتر شد. اسانس دارچین استحکام کششی فیلم نشاسته را کاهش داد اما CHNF باعث افزایش مقاومت کششی و کاهش درصد ازدیاد طول در فیلم نشاسته شد. نتایج آزمون XRD و FTIR ضمن تأیید پخش یکنواخت هردو ترکیب در بستر فیلم نشاسته، نشان دادند که افزودن آنها تأثیری بر خواص ساختاری فیلم ندارد و همچنین اتصالات قابل توجهی بین نانوذره، اسانس و رشته‌های نشاسته ایجاد نشده است. اسانس دارچین بخصوص در غلظت ۵ درصد اثر قابل توجهی در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم نشاسته داشت اما حضور CHNF باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در فیلم شد. بررسی نرخ رهايش اسانس به داخل اتانول ۹۶ درصد نشان داد که با افزایش دما از ۴ به ۲۵ درجه سلسیوس، میزان مهاجرت اسانس در همه نمونه‌ها به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. فیلم‌های حاوی اسانس خالی بیشترین میزان رهايش را داشتند و در حضور CHNF، نرخ رهايش اسانس به‌صورت کنترل شده درآمد. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که با افزودن اسانس دارچین و نانوالیاف کیتوزان به فیلم نشاسته می‌توان فیلمی با خواص کاربردی مطلوب و با رهايش کنترل شده تولید نمود.

واژه‌های کلیدی: نشاسته، فیلم فعال، اسانس دارچین، نانوفیبر کیتوزان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کنترل رهايش

مقدمه

تأثیرات مخرب زیست محیطی ناشی از تجمع مواد پلاستیکی و غیر تخریب‌پذیر، یکی از مهمترین نگرانی‌ها در جهان امروز است. با توجه به این که حجم قابل توجهی از این زباله‌ها مربوط به بسته بندی مواد غذایی می‌باشند، متخصصان صنعت غذا به دنبال یافتن جایگزین‌هایی برای پلیمرهای سنتزی بوده‌اند. یکی از جایگزین‌های مناسب برای این پلیمرها، فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر بر پایه پلیمرهای زیستی می‌باشد. در این میان پلیمرهایی نظیر نشاسته به دلیل زیست تخریب‌پذیری بالا، ارزانی، در دسترس بودن، ایمنی مصرف و کاربرد آسان توجه زیادی را به خود معطوف داشته‌اند (Romero-bastida et al., 2002). نشاسته از دو بخش آمیلوز و آمیلوپکتین تشکیل یافته که قابلیت تشکیل این نوع فیلم به محتوی آمیلوز موجود در آن نسبت داده شده است (Fu et al., 2002). تاکنون تحقیقات متعددی بر روی

فیلم‌های بر پایه نشاسته انجام گرفته است. به عنوان مثال do Evangelho et al (2019) فعالیت ضد باکتریایی، خواص نوری، مکانیکی و سدکنندگی فیلم‌های نشاسته ذرت حاوی اسانس پرتقال را مورد بررسی قرار دادند. همچنین de Souza et al (2020) اثر سینرژیستی اسانس کارواکرول و نانورس را در خواص ضد میکروبی فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر بر پایه نشاسته بررسی کرده‌اند. با توجه به مطالعات انجام شده، فیلم‌های حاصل از نشاسته ذرت عملکرد خوب و قابل قبولی از خود نشان داده‌اند (Bertuzzi et al., 2007).

در سال‌های اخیر با توجه به افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهای تازه و با حداقل فرآوری، بسته بندی فعال مورد توجه زیادی قرار گرفته است. بسته بندی فعال نوعی بسته بندی است که علاوه بر داشتن خواص با دارندگی اصلی بسته بندی‌های معمول (مانند خواص با دارندگی در برابر گازها و

نانوفیبر کیتوزان یکی از نانوتقویت‌کننده‌های زیست تخریب‌پذیری است که می‌تواند در تولید نانوکامپوزیت‌ها مورد استفاده قرار گیرد. هر نانوفیبر کیتوزان بر اساس قطر میله و ابعاد شبکه کریستالی از حدود ۲۰ زنجیره خطی N-استیل گلوکز آمین یا مشتق داستیله آن تشکیل شده است (Muzzarelli and Muzzarelli, 2005). نانوفیبر کیتوزان ماده‌ای غیرسمی، بی‌بو، سازگار با بدن انسان و از همه مهم‌تر زیست تخریب‌پذیر بوده و استفاده از آن در تولید بسته بندی‌های نانوکامپوزیت می‌تواند علاوه بر ارتقای ارزش افزوده‌ی ضایعات فرآورده‌های دریایی، به تولید بسته‌بندی‌هایی مقاوم و نفوذناپذیر دارای مقاومت حرارتی بیشتر و با زیست تخریب‌پذیری بالا منجر شود (Ravi Kumar, 2001).

تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تولید فیلم نشاسته حاوی اسانس دارچین صورت نگرفته است. همچنین تأثیر نانوپرکننده‌ها در کنترل رهایش اسانس‌ها از بستر فیلم‌های بیوپلیمری در کنار اثر تقویت‌کنندگی آنها مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از این پژوهش، تهیه فیلم نشاسته ذرت حاوی اسانس دارچین و نانوفیبر کیتوزان و بررسی خواص مکانیکی، ساختاری، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن می‌باشد. همچنین تأثیر حضور نانوفیبر کیتوزان در کنترل رهایش اسانس از ماتریس فیلم نشاسته مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

نشاسته ذرت مورد استفاده در این پروژه، از نوع Yellow dent corn می‌باشد که از شرکت گلوکوزان قزوین تهیه شد. ساختار مولکولی این نوع نشاسته حاوی ۲۶ درصد آمیلوز و مابقی آمیلوپکتین بوده و دارای ناخالصی پروتئین حدود ۰/۶-۰/۳۵ درصد، چربی حدود ۰/۵ درصد و رطوبت حدود ۱۲ درصد می‌باشد. نانوفیبر کیتوزان (CHNF) از شرکت نانونوین پلیمر (ساری) تهیه شد. گلیسرول با درجه خلوص ۹۹/۵ درصد، امولسیفایر تویین ۸۰ و نیتريت کلسیم از شرکت مرک خریداری گردید. همچنین برای اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب، سولفات کلسیم و سولفات پتاسیم از همین شرکت خریداری شد.

استخراج اسانس دارچین

برای تهیه اسانس دارچین از روش تقطیر آبی با استفاده از دستگاه کلونجر استفاده شد. ابتدا پوست خشک شده دارچین کاسیای ویتنامی با برند تجاری (Vietnam split C.cassia) از عطاری خریداری شد و پس از خرد کردن، در داخل مخزن کلونجر به نسبت ۱ به ۵ با آب مخلوط شد و به مدت ۴ ساعت عملیات استخراج اسانس انجام شد. سپس از کرنات سدیم برای آب‌گیری

بخار آب و تنش‌های مکانیکی) با تغییر شرایط بسته بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های حسی ماده غذایی را بهبود می‌بخشد و در عین حال کیفیت ماده غذایی را حفظ می‌کند (Mascheroni et al., 2010). از ترکیبات مختلفی می‌توان در تولید بسته بندی‌های فعال استفاده نمود. از جمله مواد طبیعی که امروزه در بسته بندی فعال استفاده می‌شود، اسانس‌های گیاهی هستند که اکثراً دارای ترکیبات ضد میکروبی و نیز آنتی‌اکسیدانی هستند. بنابراین، مواد بسته بندی و یا پوشش با ترکیب اسانس طبیعی می‌تواند نقش دوگانه آنتی‌اکسیدان و حفاظت ضد میکروبی را ایفا کند (Ju et al., 2019).

اسانس دارچین یکی از مهم‌ترین ترکیبات طبیعی است که خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن به اثبات رسیده است. مهم‌ترین ترکیبات فرار موثر اسانس دارچین عبارتند از: ترانس سینام‌آلدهید، لینالول و تیمول. اثر ضد میکروبی سینام‌آلدهید بر روی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها به اثبات رسیده و خاصیت ضد میکروبی قوی برای این ترکیب گزارش شده است. تیمول نیز از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار است. بنابراین اسانس دارچین می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب طبیعی موثر در جلوگیری از فعالیت میکروبی و همچنین اکسیداسیون ترکیبات لیپیدی در مواد غذایی شناخته شود (Goni et al., 2009). میزان بالای اسانس و اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی در مقایسه با اغلب اسانس‌های گیاهی دیگر، اسانس دارچین را به یک نگهدارنده طبیعی مطلوب در نگهداری مواد غذایی و همچنین در تولید بسته بندی‌های فعال تبدیل کرده است.

با وجود اینکه بیوپلیمرها ترکیبات مناسبی برای حمل انواع مواد افزودنی و ضد میکروبی محسوب می‌شوند و با آزاد سازی کنترل شده این ترکیبات، سرعت انواع فسادهای میکروبی و شیمیایی را در مواد غذایی کاهش می‌دهند، اما با این وجود خواص مکانیکی ضعیف و نفوذپذیری بالا نسبت به بخار آب، دو عیب اصلی بیوپلیمرها به حساب می‌آیند که باعث محدود شدن استفاده صنعتی از این مواد در بسته بندی شده است. یکی از مهم‌ترین تحقیقات انجام یافته در جهت بهبود خواص مکانیکی و بازدارندگی نسبت به بخار آب، استفاده از فناوری نانو می‌باشد. نانوکامپوزیت‌ها پلیمرهایی هستند که در آنها ترکیبات آلی یا غیر آلی مختلفی با اشکال متفاوت و دارای اندازه در ابعاد نانو (کمتر از ۱۰۰ نانومتر) به عنوان فیلر یا پرکننده استفاده شده است. بهبود ویژگی‌های نانوکامپوزیت‌ها، مربوط به بالا بودن نسبت بُعد تقویت‌کننده‌های استفاده شده در ابعاد نانو و همچنین پخش یکنواخت نانوذرات در بستر پلیمر می‌باشد (Ghanbarzadeh et al., 2009; Sorrentino et al., 2007).

شده و در دمای ۲۰ الی ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس وزن نمونه‌ها پس از گذشت ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شده و میزان جذب رطوبت از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{(رابطه ۱)} \quad = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad \text{جذب رطوبت (درصد)}$$

W_t : وزن نمونه پس از ۷۲ ساعت در RH برابر با ۵۵ درصد

W_0 : وزن اولیه نمونه

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP^۱)

برای اندازه‌گیری انتقال بخار آب از روش ASTM E96 (ASTM, 1995) استفاده شد. برای این کار از ویال‌های مخصوصی با قطر ۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۴/۵ سانتی‌متر استفاده شد. درپوش این ویال‌ها دارای منفذی به قطر ۸ میلی‌متر بودند که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون برش داده شده و در این قسمت قرار می‌گیرد. ۳ گرم سولفات کلسیم در داخل ویال‌ها قرار داده شد. ویال‌ها با تمام محتویاتش توزین شده و درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (رطوبت نسبی برابر با ۹۷ درصد) قرار گرفتند. سپس به مدت چهار روز هر چند ساعت یکبار، وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ویال‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر ویال به کل سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب (WVTR^۲) به دست آمد. از تقسیم WVTR به اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم، WVPN^۳ به دست آمد. به دلیل وجود سولفات کلسیم در داخل ویال، فشار بخار داخل ویال صفر در نظر گرفته می‌شود. فشار بخار خارج فیلم نیز از حاصل ضرب رطوبت نسبی داخل دسیکاتور (۹۷ درصد) و فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بدست آمد. از حاصل ضرب WVPN و ضخامت فیلم نیز نفوذپذیری به بخار آب (WVP) بدست آمد.

$$\text{(رابطه ۲)} \quad J = WVTR = \frac{\Delta w}{tA}$$

در این رابطه، J شار بخار آب در عرض فیلم است و آهنگ انتقال بخار آب (WVTR) نیز نامیده می‌شود. Δw میزان بخار آب عبور کرده از فیلم، t مدت زمان انتقال بخار آب و A مساحت سطح فیلم است.

$$\text{(رابطه ۳)} \quad WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} \times X$$

در رابطه ۳، X ضخامت فیلم (متر)، P فشار بخار آب خالص در ۲۵ درجه (۳۱۶۹ پاسکال)، R_1 رطوبت نسبی در دسیکاتور (۹۷

و خشک کردن اسانس استفاده شد و اسانس دارچین (CEO) بدست آمده در ظروف تاریک و دمای یخچال نگهداری گردید (Jafari et al., 2017).

تهیه فیلم بیونانو کامپوزیت نشاسته/ اسانس دارچین/ نانو فیبر کیتوزان

ابتدا ۵ گرم نشاسته در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل شده و همراه با هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد. نانوفیبر کیتوزان در درصدهای مختلف ۲/۵ و ۵ درصد در ۲۰ میلی لیتر آب به صورت جداگانه روی همزن مغناطیسی همزده شده و پس از تیمار فراصوت با توان ۱۰۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط، محلول‌های نشاسته و نانوفیبر کیتوزان با همدیگر مخلوط شدند. در ادامه، اسانس دارچین در درصدهای مختلف ۲/۵ و ۵ درصد به همراه ۲۰ درصد وزنی اسانس از توپین ۸۰ در محلول نشاسته حل شد. غلظت‌های نانوفیبر کیتوزان و اسانس دارچین براساس پیش آزمون‌ها انتخاب شدند. در غلظت‌های بالاتر از ۵ درصد، نانوفیبر کیتوزان تشکیل توده داد و همچنین پخش غیریکنواخت و ایجاد بوی تند و زننده دلیل انتخاب حداکثر غلظت ۵ درصد برای اسانس دارچین بود. پس از افزودن ۲ میلی لیتر گلیسرول، به مدت ۱۰ دقیقه همراه با هم زدن نگهداری شد. سپس این محلول تا ۴۰ درجه سلسیوس خنک شده و به مدت ۶۰ دقیقه جهت خروج حباب‌های هوا هم زده شد. در ادامه، ۱۵ میلی لیتر از محلول روی پلیت نچسب پلی استری پخش شده و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ ساعت خشک شد (Ghanbarzadeh and Almasi, 2011). به طور کلی، ۹ نمونه فیلم تهیه شد که برحسب میزان نانوفیبر کیتوزان (CHNF) و میزان اسانس دارچین (CEO) با علامت‌های اختصاری زیر نشان داده می‌شوند: CEO2.5%، CEO5%، CHNF2.5%، CHNF5%، CEO2.5%-CHNF2.5%، CEO2.5%-CHNF5%، CEO5%-CHNF2.5% و CEO5%-CHNF5%.

روش انجام آزمون‌ها

میزان جذب رطوبت

برای اندازه‌گیری میزان جذب رطوبت فیلم‌ها از روش (2000) Angles and Dufresne استفاده شد. نمونه‌هایی از فیلم‌ها با ابعاد ۲۰×۲۰ میلی‌متر مربع تهیه شد و در دسیکاتور حاوی سولفات کلسیم (رطوبت نسبی برابر با صفر درصد) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از توزین اولیه، نمونه‌ها به دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیتريت کلسیم در (رطوبت نسبی برابر با ۵۵ درصد) منتقل

1 . Water vapor permeability
2 . Water vapor transmission rate
3 . Water vapor permeance

درصد) و R_2 رطوبت نسبی در داخل ویال (صفر درصد) می باشد.

خواص مکانیکی

استحکام کششی نهایی (UTS^1) و کرنش تا نقطه شکست (SB^2) فیلمها با استفاده از دستگاه آزمون مکانیکی Zwick/Roell مدل FR010 (ساخت کشور آلمان) و طبق استاندارد ASTM D882-91 (ASTM, 1996) اندازه گیری شد. ابتدا نمونهها به مدت ۲۴ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵ درصد (نیترات کلسیم) واجد شرایط شدند و سپس سه نمونه از هر کدام از فیلمها به شکل دمبلی با ابعاد $8 \times 5 \times 0.5$ سانتی متر بریده شده و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب ۵۰ میلی متر و ۵ میلی متر بر دقیقه تعیین و دادهها توسط یک کامپیوتر ثبت گردید.

آزمون طیف سنجی FTIR

برای انجام آزمون FTIR از اسپکتروفتومتر Shimadzu 4100 ساخت ژاپن استفاده شد. حدود ۲ میلی گرم نمونههای فیلم به صورت دستی آسیاب شده و با نسبت ۱:۱۰۰ با KBr مخلوط شده و توسط پرس به قرصی با ضخامت حدود ۱ میلی متر تبدیل شد. در ادامه، آزمون اسپکتروسکوپی FTIR نمونههای فیلم در محدوده ۴۰۰۰ تا ۵۰۰ بر سانتی متر و با تفکیک پذیری ۳۲ بر سانتی متر انجام گرفت (Sukhtezari et al., 2017).

آزمون پراش اشعه ایکس

برای انجام آزمون پراش اشعه ایکس از پراش سنج Bruker مدل Advance D8 ساخت شرکت Karlsruhe آلمان استفاده شد. برای انجام آزمون XRD، ژنراتور تولید اشعه ایکس در ۴۰ کیلوولت و ۴۰ میلی آمپر تنظیم شد و نمونهها در معرض اشعه ایکس با طول موج 0.154 نانومتر قرار گرفتند. تشعشعات بازتابشی از نمونه، در دمای محیط و در محدوده زاویه 2θ برابر با $10-80$ درجه جمع آوری و نمودار مربوط به شدت بازتابش آنها، رسم گردید. سرعت انجام آزمون ۱ درجه بر دقیقه و اندازه گامها 0.02 درجه بود (Sukhtezari et al., 2017).

آنالیز میکروسکوپ پویش الکترونی نشر میدانی (FE-SEM³)

ریخت شناسی سطح و سطح شکست فیلمها پس از آزمون خواص مکانیکی، توسط میکروسکوپ پویش الکترونی نشر میدانی (FE-SEM) مدل Hitachi 4300S ساخت کشور ژاپن صورت گرفت. برای این کار، سطح شکست فیلمها بعد از آزمون مکانیکی، پس از پوشش طلا، تحت ولتاژ $5kV$ قرار گرفته و تصاویری عمود بر سطح شکست نمونهها و همچنین از سطح آنها تهیه گردید

(Sukhtezari et al., 2017).

تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی فیلمها

فعالیت آنتی اکسیدانی فیلمها با استفاده از روش تعیین قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) به روش Almasi et al (2014) مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمون 0.25 گرم از هر فیلم در ۴ میلی لیتر متانول حل شده و به مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شد. سپس محلول حاصل با ۱ میلی لیتر از محلول DPPH 1 میلی مولار ترکیب شده و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 517 نانومتر خوانده شد. قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$DPPH(\%) = \frac{Abs_c - Abs_s}{Abs_c} \times 100 \quad (\text{رابطه ۴})$$

Abs_c میزان جذب نمونهی متانولی DPPH و Abs_s میزان

جذب نمونهی فیلم است.

تعیین نرخ رهايش اسانس دارچین

از هریک از فیلمهای فعال حاوی اسانس دارچین به ابعاد 2×2 سانتی متر بریده شده و در لولههای کوچک حاوی ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد غوطه ور شدند. پس از بستن درب ویالها در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس در تاریکی نگهداری شدند و هر یک ساعت یکبار ویالها به صورت دستی همزده شده و در فواصل زمانی معین در ۳۶۷ نانومتر رهايش اسانس دارچین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico S-2100 UV) در دو تکرار مورد اندازه گیری قرار گرفت. اسانس دارچین در این طول موج بیشترین جذب را دارد (Li et al., 2013).

خاصیت ضد میکروبی

بررسی خصوصیات ضد میکروبی فیلمها توسط روش انتشار دیسک و بر روی دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (گرم مثبت) و *لیستریا مونوسیتوزنز* (گرم منفی) انجام گرفت. پس از فعال سازی، رقیق کردن و تلقیح میکروارگانیسمها به روی محیط کشتهای مناسب خود، دیسکهایی با قطر ۵ میلی متر از نمونههای فیلم بریده شده و با دقت بر روی محیط کشت قرار داده شدند. پس از گرمخانه گذاری در دما و زمان معین برای هر میکروارگانیسم، هاله بازدارندگی و عدم رشد در اطراف فیلمها، با استفاده از یک میکرومتر اندازه گیری شده و به عنوان معیار خاصیت ضد میکروبی فیلمها گزارش گردید.

تحلیل آماری

همه آزمونها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام

با افزودن CEO، میزان WVP افزایش می‌یابد اما CHNF باعث کاهش این پارامتر می‌شود. WVP برای نمونه شاهد برابر $10 \times 4/4$ گرم بر متر ساعت پاسکال بود که در فیلم‌های حاوی ۲/۵ و ۵ درصد CEO، به ترتیب به ۵/۳ و $10 \times 5/6$ گرم بر متر ساعت پاسکال افزایش یافت (جدول ۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسانس دارچین، به دلیل دارا بودن ویژگی آب‌گریزی هرچند که باعث کاهش میزان جذب رطوبت فیلم نشاسته شد، اما به دلیل قرارگیری در بین رشته‌های بیوپلیمر و کاهش انسجام شبکه، مانند نرم کننده عمل نموده و باعث افزایش نفوذپذیری فیلم نشاسته نسبت به بخار آب می‌شود. در مورد تأثیر افزودن اسانس به فیلم‌های بیوپلیمری مختلف، نتایج مشابهی گزارش شده است (Atares et al., 2010; Barzegar et al., 2014).

با این وجود، افزودن CHNF باعث کاهش WVP شد و فیلم حاوی ۵ درصد CHNF، کمترین WVP را نشان داد. حضور الیاف CHNF در ماتریکس بیوپلیمری، باعث ایجاد مسیرهای زیگزاگ و پرپیچ و خمی برای نفوذ مولکول‌های بخار آب می‌شود. در واقع در حضور این رشته‌های آب‌گریز، مولکول‌های بخار آب برای عبور از فیلم، بایستی مسیر طولانی‌تر و پیچیده‌تری را طی کنند و همین مسئله باعث کاهش آهنگ انتقال و نفوذ مولکول‌های بخار آب می‌شود (Gao et al., 2011). Pereda et al., (2011) در مورد تأثیر نانوالیاف سلولز بر روی WVP فیلم‌های کیتوزان و کازئینات سدیم به نتایج مشابهی دست یافتند.

جدول ۱. میزان جذب رطوبت (پس از ۷۲ ساعت) و نفوذپذیری نسبت به بخار

آب (WVP) فیلم‌های بیونانو کامپوزیت نشاسته		
نمونه‌ها	جذب رطوبت (درصد)	WVP (10^{-7} گرم بر متر ساعت پاسکال)
Control	$51/1 \pm 6/2^a$	$4/0 \pm 4/3^c$
CEO2.5%	$48/1 \pm 3/0^b$	$5/0 \pm 3/2^a$
CEO5%	$47/0 \pm 1/9^b$	$5/0 \pm 6/4^a$
CHNF2.5%	$41/2 \pm 8/1^c$	$4/0 \pm 1/1^{cd}$
CHNF5%	$34/1 \pm 1/1^d$	$3/0 \pm 2/2^e$
CEO2.5%-CHNF2.5%	$35/0 \pm 6/5^d$	$4/0 \pm 2/6^c$
CEO2.5%-CHNF5%	$33/0 \pm 2/1^e$	$4/0 \pm 0/1^d$
CEO5%-CHNF2.5%	$33/0 \pm 7/3^{de}$	$5/0 \pm 1/3^{ab}$
CEO5%-CHNF5%	$28/1 \pm 2/2^f$	$5/0 \pm 1/3^b$

Control: نمونه شاهد؛ CEO: اسانس دارچین؛ CHNF: نانوفیبر کیتوزان حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

ویژگی‌های مکانیکی

یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مواد بسته بندی محصولات غذایی، ویژگی‌های مکانیکی آنها می‌باشد. نشاسته فیلم‌هایی با استحکام کششی پایین و انعطاف پذیری بالا تولید می‌کند که برای استفاده در بسته بندی مواد غذایی مناسب نیستند. به همین دلیل بهبود

شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری SPSS 11.5 در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0.05$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

نتایج و بحث

میزان جذب رطوبت

یکی از پارامترهایی که در تعیین نوع ماده بسته بندی مورد استفاده برای یک محصول غذایی مورد توجه قرار می‌گیرد، رطوبت نسبی محل توزیع آن ماده غذایی است. اگر ماده بسته بندی، حساسیت بالایی نسبت به رطوبت داشته باشد، با قرارگیری در محیطی که رطوبت نسبی بالایی دارد، نه تنها ممکن است خواص کاربردی ماده بسته بندی دچار تغییر شود، بلکه جذب رطوبت، می‌تواند به ایجاد تغییرات کیفی و کاهش ماندگاری محصول بسته بندی شده نیز منجر شود.

با توجه به جدول ۱ به دلیل ویژگی آب‌دوستی نشاسته، فیلم خالص نشاسته قابلیت جذب رطوبت بالایی از خود نشان داد ($51/6$ درصد در رطوبت نسبی ۵۵ درصد). اما همان طور که مشاهده می‌شود افزودن CEO و CHNF بر روی میزان جذب رطوبت فیلم نشاسته اثر معنی‌دار داشتند. با افزایش هر دو ترکیب، جذب رطوبت به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد اما تأثیر CHNF بیشتر از CEO بود. CEO دارای ماهیت آب‌گریز می‌باشد بنابراین در اثر حضور آن در ترکیب نشاسته، خاصیت آب‌دوستی کاهش یافته و میزان جذب رطوبت کمتر می‌شود. CHNF نیز ماهیت آب‌دوستی کمتری نسبت به نشاسته دارد. همچنین قرارگیری آن در بین رشته‌های نشاسته باعث افزایش انسجام ساختاری شده و با کاهش گروه‌های OH آزاد و کاهش فضاهای آزاد بین رشته‌های نشاسته، مانع جذب رطوبت زیاد توسط فیلم نشاسته می‌شود. همان طور که مشاهده می‌شود، در حضور ۵ درصد اسانس و ۵ درصد CHNF، کمترین جذب رطوبت در فیلم نشاسته مشاهده شد ($28/2$ درصد) که نسبت به نمونه شاهد ۴۵ درصد کاهش یافته بود. در مورد تأثیر نانوفیبر کیتین بر روی ویژگی‌های آب‌دوستی فیلم کیتوزان (Sriupayo et al., 2005) و تأثیر نانورس بر روی جذب رطوبت فیلم نشاسته (Carvalho et al., 2001) نتایج مشابهی گزارش شده است.

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

مواد بسته بندی بایستی تا حد امکان، حداقل نفوذپذیری نسبت به بخار آب را داشته باشند تا از تبادل رطوبت بین محیط و ماده غذایی ممانعت شود. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود،

پخش مناسب CHNF در بین رشته های نشاسته و افزایش انسجام و نظم بین رشته ای باعث تقویت خواص مکانیکی می شود. همچنین خود نانوالیاف کیتوزان نیز نسبت به نشاسته از استحکام مکانیکی بالاتری برخوردار است و از این نظر نیز می تواند به تقویت خواص مکانیکی فیلم نشاسته کمک کند. Chang et al. (2010) در مورد تأثیر نانوفیبر کیتین بر روی خواص مکانیکی فیلم نشاسته به نتایج مشابهی دست یافتند.

فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم های فعال

شکل ۱ قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را توسط فیلم های بیونانو کامپوزیت نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، فیلم خالص نشاسته قدرت آنتی اکسیدانی بسیار کمی داشت (حدود ۲/۱۱ درصد) که این قدرت ضعیف نیز احتمالاً به دلیل گیر افتادن رادیکال های آزاد در بین رشته های پلیمر می باشد زیرا خود نشاسته دارای گروه های دهنده هیدروژن نیست که بتوان آن را یک آنتی اکسیدان به حساب آورد. با افزودن CEO، قدرت آنتی اکسیدانی فیلم نشاسته به طور قابل توجهی افزایش یافت و فیلم فعال، در غلظت های ۲/۵ و ۵ درصد CEO به ترتیب قدرت مهار برابر با ۴۵/۳ و ۵۳/۴ درصد نشان داد. ترکیبات فنولی موجود در اسانس دارچین قدرت مهار رادیکال آزاد بسیار قوی دارند. لذا آزاد شدن آنها در بستر فیلم به داخل متانول، باعث ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می شود. در مورد حضور اسانس دارچین و زنجبیل در فرمولاسیون فیلم کازئینات سدیم نیز نتیجه مشابهی گزارش شده است (Atares et al., 2010). با توجه به شکل ۱ مشخص است که فیلم های حاوی CHNF نیز خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی ندارند. افزودن نانوالیاف، قدرت آنتی اکسیدانی فیلم نشاسته را به طور معنی داری افزایش داد. قدرت آنتی اکسیدانی اندک CHNF احتمالاً به دلیل قابلیت مهار رادیکال آزاد توسط گروه های آمین رشته های کیتوزان می باشد که پیش از این نیز در مقالات مختلف مورد اشاره قرار گرفته است (Jahed et al., 2017). CHNF هم چنین در فیلم های حاوی اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی CEO را نیز کاهش داد. همان طور که مشاهده می شود، مثلاً در حضور ۲/۵ درصد CEO، زمانی که میزان CHNF از ۲/۵ به ۵ درصد افزایش می یابد، قدرت مهار رادیکال آزاد به طور معنی داری از ۳۸/۱ به ۳۴/۲ درصد کاهش می یابد. دلیل این امر را می توان اینگونه توجیه نمود که اولاً با استناد به نتایج آزمون FE-SEM حضور CHNF باعث یکنواخت تر و عدم تجمع اسانس در سطح فیلم می شود و بنابراین میزان آزاد شدن آن به داخل متانول در آزمون DPPH کاهش می یابد و ثانیاً پخش CHNF و افزایش تراکم شبکه ی فیلم باعث می شود که

خواص مکانیکی فیلم های نشاسته ای از جمله مباحثی است که بسیار مورد توجه محققین بوده است.

ویژگی های مکانیکی حاصل از آزمون کشش در مورد فیلم های بیونانو کامپوزیت نشاسته - CEO - CHNF در جدول ۲ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، مقاومت مکانیکی فیلم ها با افزایش غلظت CEO کاهش یافته اما با افزودن CHNF افزایش یافته است. با افزودن ۵ درصد اسانس، استحکام کششی نهایی (UTS) فیلم نشاسته از ۹/۸ به ۷/۰ مگا پاسکال کاهش یافت و کرنش تا نقطه شکست (SB) فیلم ها نیز از ۵۴/۴ به ۶۳/۲ درصد افزایش یافت. این تأثیر مربوط به همان نقش نرم کنندگی اسانس دارچین می باشد. مولکول های آبگریز CEO با قرارگیری در بین رشته های نشاسته مانع تشکیل پیوندهای هیدروژنی بیشتر بین زنجیرهای نشاسته می شوند. در نتیجه تعداد اتصالات کمتر شده و استحکام کششی کاهش و انعطاف پذیری فیلم افزایش می یابد. Atares et al. (2010) نیز در مورد تأثیر اسانس دارچین بر روی خواص مکانیکی فیلم کازئینات سدیم به نتایج مشابهی دست یافتند.

جدول ۱: استحکام کششی نهایی (UTS) و کرنش تا نقطه شکست (SB) فیلم های بیونانو کامپوزیت نشاسته

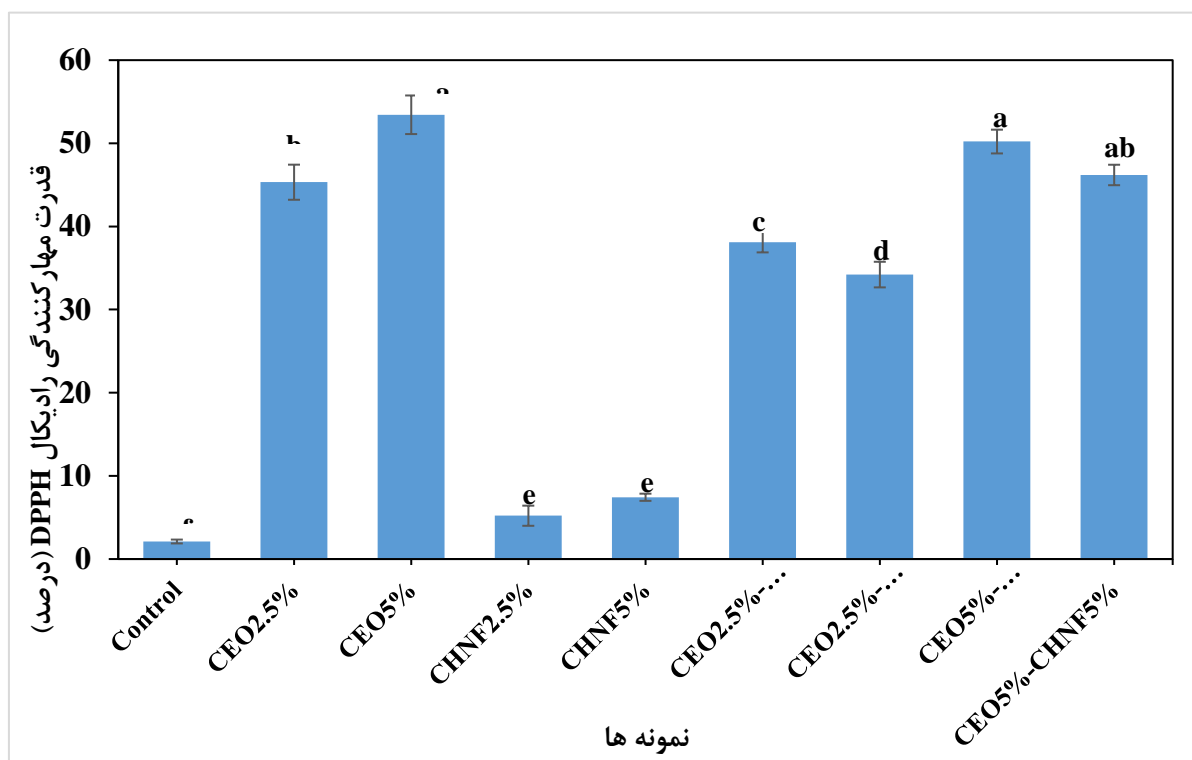
نمونه ها	UTS (مگا پاسکال)	SB (درصد)
Control	۹/۰±۸/۴ ^{de}	۵۴/۰±۴/۲ ^c
CEO2.5%	۸/۰±۶/۵ ^e	۵۷/۰±۹/۳ ^b
CEO5%	۷/۰±۰/۶ ^e	۶۳/۰±۲/۶ ^a
CHNF2.5%	۱۲/۰±۱/۴ ^c	۵۴/۰±۱/۳ ^c
CHNF5%	۱۷/۰±۲/۶ ^a	۵۱/۰±۱/۶ ^d
CEO2.5%-CHNF2.5%	۱۰/۰±۲/۷ ^d	۵۶/۰±۷/۲ ^b
CEO2.5%-CHNF5%	۱۳/۰±۳/۸ ^c	۴۵/۰±۲/۶ ^e
CEO5%-CHNF2.5%	۱۸/۰±۲/۴ ^a	۵۷/۰±۱/۱ ^b
CEO5%-CHNF5%	۱۵/۰±۶/۷ ^b	۵۱/۰±۷/۲ ^d

Control: نمونه شاهد؛ CEO: اسانس دارچین؛ CHNF: نانوفیبر کیتوزان
حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است (p<۰/۰۵).

تأثیر CHNF بر روی خواص مکانیکی فیلم نشاسته مثبت بود. بدین صورت که با افزودن CHNF، میزان UTS به طور معنی داری افزایش یافته و SB کاهش یافت که نشان دهنده اثر تقویت کنندگی نانوالیاف کیتوزان روی فیلم نشاسته می باشد. CHNF هم چنین اثر منفی اسانس بر روی خواص مکانیکی را نیز کنترل نمود. به طوری که در حضور ۵ درصد CHNF، تأثیر منفی CEO بر روی استحکام کششی فیلم نشاسته چندان قابل توجه بود. در نهایت فیلم حاوی ۵ درصد CHNF و ۲/۵ درصد CEO بیشترین UTS (۱۸/۲ مگا پاسکال) و کمترین SB را نشان داد.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم فعال در حضور CHNF اندکی کاهش می‌یابد. مشابه این نتایج در بررسی Sukhtezari et al (2017) بر روی تأثیر بتاسیکلودکسترین در کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه‌داری گزارش شده بود.

تحرك مولکولی کاهش یافته و خروج اسانس از بستر فیلم کمتر شود. همچنین کاهش حلالیت و جذب رطوبت فیلم نشاسته در حضور CHNF نیز از جمله عوامل دیگری است که تورم فیلم در داخل محلول متانولی آزمون را کاهش داده و در نتیجه نشت ترکیبات موثره آنتی‌اکسیدانی را کمتر می‌کند و به همین دلیل



شکل ۱: قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های بیونانو کامپوزیت نشاسته.

Control: نمونه شاهد؛ CEO: اسانس دارچین؛ CHNF: نانوفیبر کیتوزان

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

برسانند و منجر به انعقاد سیتوپلاسم و اختلال در نیروی حرکتی پروتون و در نهایت مرگ باکتری شود. نانوفیبر کیتوزان نیز اثر ضد میکروبی قابل توجهی نشان داد. کیتوزان به دلیل دارا بودن بار مثبت، قادر است به دیواره سلولی باکتری که دارای بار منفی می‌باشد متصل شده و به داخل آن نفوذ کند و باعث تغییر نفوذپذیری غشای سلول شود و به این ترتیب باعث مرگ میکروارگانیسم شود (Dutta et al., 2009).

اثر ضد میکروبی فیلم‌های فعال متفاوت از یکدیگر بود. فیلم خالص نشاسته هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی از خود نشان نداد. با افزودن اسانس دارچین در غلظت ۲/۵ و ۵ درصد، اثر ضد میکروبی قابل توجهی در فیلم نشاسته مشاهده شد اما این تأثیر کمتر از اثر اسانس دارچین خالص بود. زیرا اولاً میزان اسانس مورد استفاده در فیلم کمتر است و ثانیاً ماتریکس فیلم نشاسته مانع از خروج

فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های فعال

جدول ۳ خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های فعال حاوی اسانس دارچین را بر روی دو باکتری گرم مثبت / استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی لیستریا مونوسیتوزنز نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، اسانس دارچین دارای خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی بر روی هر دو باکتری بود و باعث مهار رشد آنها شد. ترکیب فعال اسانس دارچین سینام آلدئید می‌باشد. سینام آلدئید دارای خواص آنتی‌باکتریایی می‌باشد و احتمالاً از طریق اتصال گروه کربونیل با پروتئین‌ها عمل می‌کند و جلوی فعالیت آمینواسید دکربوکسیلاز را می‌گیرد. این ترکیب با داشتن خاصیت آب‌گریزی، پس از تخریب دیواره سلولی و نفوذ در غشای سلول باکتری و میتوکندری باعث نشت یون‌ها و خروج اجزای سلولی شده و یا ممکن است به سیستم آنزیمی باکتری‌ها آسیب جدی

در نزدیکی ۵۷۴ بر سانتی متر و نیروهای کششی C-O در حدود ۱۱۵۷ بر سانتی متر (Galdeano *et al.*, 2008). Huang *et al.* (2004) نیز در مورد طیف FTIR فیلم نشاسته حاوی گلیسرول نتایج مشابهی را گزارش نمودند. همان طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، طیف نگاره‌های فیلم تحت تأثیر افزودن ترکیبات مختلف، تغییر قابل توجهی نداشته است و پیک‌های مورد اشاره، در تمامی فیلم‌ها به همان شکل اول حفظ شده‌اند. تنها در فیلم حاوی ۵ درصد CHNF، شدت پیک‌های مربوط به گروه‌های OH در محدوده‌های ۳۴۰۰ و ۵۷۴ بر سانتی متر تا حدودی کاهش یافته است. این امر را می‌توان به برقراری اتصالات جدید بین رشته‌های نشاسته و الیاف کیتوزان نسبت داد که باعث کاهش تعداد گروه‌های OH آزاد در ماتریکس فیلم شده است (Jafari *et al.*, 2017). اما تغییری در طیف‌های فیلم‌های حاوی اسانس مشاهده نمی‌شود و این امر نشان می‌دهد که اتصال شیمیایی خاصی بین نشاسته و CEO در ترکیب فیلم رخ نمی‌دهد.

آزمون پراش اشعه ایکس (XRD)

آزمون XRD یک آزمون رایج برای مطالعه ساختارهای کریستالی بوده و از آن، بیشتر برای تعیین خواص مورفولوژیکی فیلم‌ها استفاده می‌شود. طیف‌های XRD فیلم‌های بیونانو کامپوزیت در شکل ۳ نشان داده شده است. فیلم نشاسته خالص دو پیک شاخص در زوایای پراش حدود ۲۰ و ۲۶ درجه نشان می‌دهد که از شدت نسبتاً بالایی برخوردارند. این امر نشان می‌دهد که می‌توان فیلم نشاسته را فیلمی با ماهیت نیمه بلورین به حساب آورد. تجمع رشته‌های خطی آمیلوز و نواحی بدون انشعاب آمیلوپکتین در حین پدیده رتروگراداسیون پس از تولید و خشک شدن فیلم، باعث تشکیل نواحی کریستالی در ساختار می‌شود. این امر در مطالعات پیشین Almasi *et al.* (2010) نیز به اثبات رسیده است. همان طور که مشاهده می‌شود، افزودن CHNF و CEO بر روی ماهیت نیمه بلورین فیلم نشاسته اثر قابل توجهی نداشته‌اند و این پیک‌ها در تمامی نمونه‌ها حفظ شده‌اند. نانوفیبر کیتوزان دو پیک شاخص در محدوده‌ی 2θ برابر با ۱۱ و ۱۹/۸ درجه نشان می‌دهد (Jafari *et al.*, 2017). پیک مربوط به ناحیه‌ی ۱۹/۸ درجه به دلیل همپوشانی با پیک نشاسته قابل مشاهده نیست. اما همان‌طور که مشاهده می‌شود، در نمونه‌ی حاوی ۵ درصد CHNF، یک پیک دیگر در 2θ برابر با ۱۱ درجه ایجاد شده است که می‌توان به حضور CHNF نسبت داد. درحالی‌که در حضور ۵ درصد CEO این پیک مربوط به CHNF مجدداً حذف شده است که نشان می‌دهد حضور CEO می‌تواند با نقش نرم‌کنندگی به باز شدن کامل الیاف کیتوزان و پخش کامل آن در ماتریکس فیلم کمک کند.

سریع اسانس و ایفای نقش ضد میکروبی آن می‌شود. با افزودن CHNF به فیلم نشاسته نیز تأثیر ضد میکروبی آن به‌طور معنی داری کاهش یافت. ایجاد اتصالات بین الیاف کیتوزان و رشته‌های نشاسته باعث می‌شود که تأثیر ضد میکروبی CHNF به‌طور کامل بروز نکند. در فیلم‌هایی که حاوی اسانس و CHNF بودند نیز تأثیر ضد میکروبی اسانس دارچین بیشتر از CHNF بود و با افزایش غلظت اسانس، خاصیت ضد میکروبی بیشتر شد درحالی‌که افزایش CHNF اثر قابل توجهی روی تغییر خاصیت ضد میکروبی نداشت. بنابراین می‌توان اینگونه بیان نمود که اسانس دارچین و نانوذرات CHNF با وجود دارا بودن خاصیت ضد میکروبی، زمانی که در داخل بستر فیلم نشاسته قرار می‌گیرند، اثر ضد میکروبی آنها کمتر می‌شود. CHNF قادر است با کنترل رهایش اسانس، تأثیر ضد میکروبی آن را در یک غلظت یکسان به‌طور معنی داری کاهش دهد. بنابراین آزاد شدن اسانس به‌صورت کنترل شده درآمده و فیلم برای مدت زمان طولانی‌تری اثر ضد میکروبی نشان خواهد داد (Ojagh *et al.*, 2010).

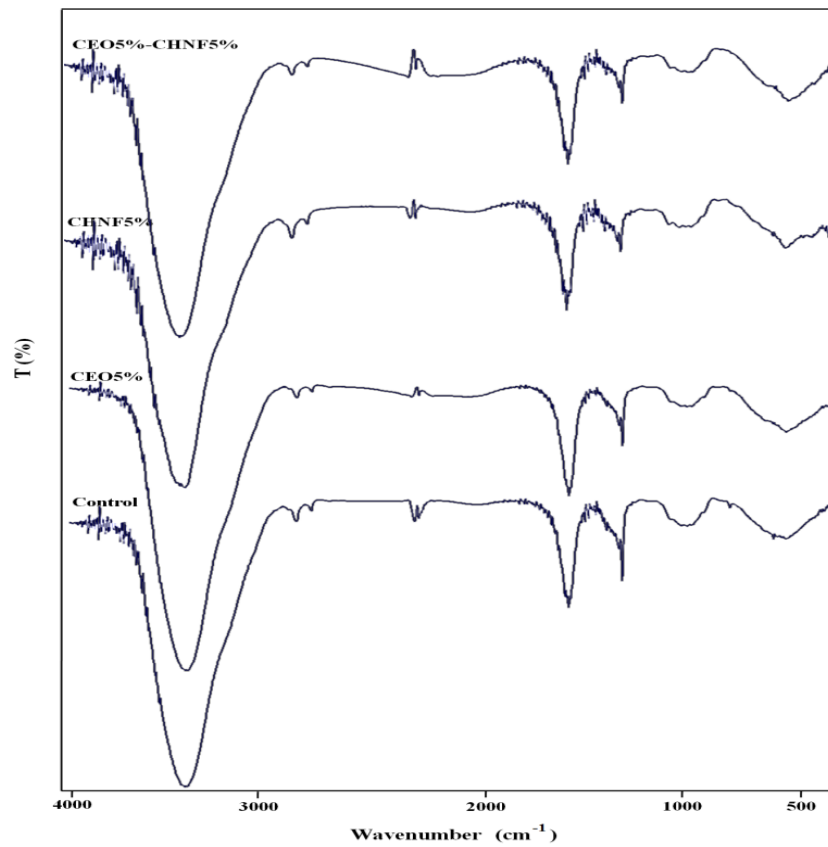
جدول ۰: اثر ضد میکروبی فیلم‌های فعال نشاسته بر روی دو باکتری مورد

مطالعه		نمونه‌ها
لیستریا مونوسیتوزنز / استافیلوکوکوس اورئوس		قطر هاله عدم رشد (میلی متر)
اسانس دارچین	۱۷/۱±۳/۴ ^a	۱۴/۱±۶/۰ ^a
نانوفیبر کیتوزان	۱۳/۲±۱/۷ ^b	۱۱/۰±۵/۸ ^b
Control	.	.
CEO2.5%	۸/۰±۱/۹ ^e	۷/۱±۵/۶ ^d
CEO5%	۱۱/۱±۵/۷ ^c	۱۰/۱±۶/۷ ^c
CHNF2.5%	۶/۲±۲/۲ ^e	۶/۱±۸/۷ ^d
CHNF5%	۷/۰±۸/۷ ^e	۷/۱±۹/۲ ^d
CEO2.5%-CHNF2.5%	۱۰/۰±۲/۷ ^d	۱۲/۰±۵/۷ ^b
CEO2.5%-CHNF5%	۱۰/۱±۰/۳ ^d	۱۱/۱±۶/۷ ^b
CEO5%-CHNF2.5%	۱۲/۱±۲/۹ ^c	۱۲/۰±۷/۸ ^b
CEO5%-CHNF5%	۱۱/۲±۶/۶ ^c	۱۲/۰±۲/۸ ^d

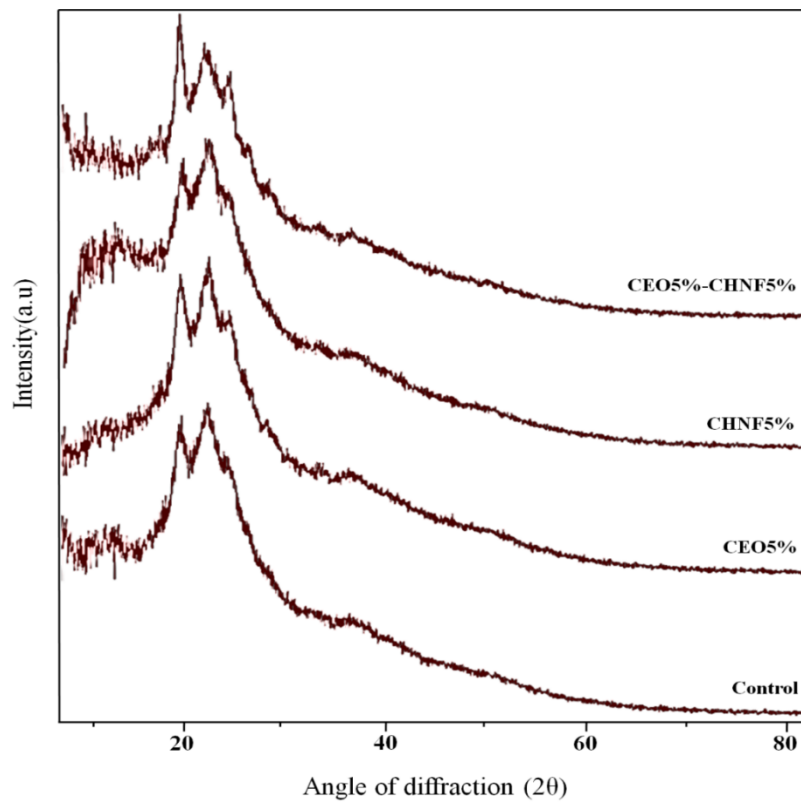
Control: نمونه شاهد؛ CEO: اسانس دارچین؛ CHNF: نانوفیبر کیتوزان
حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است (p<۰/۰۵).

آزمون FTIR

شکل ۲ طیف نگاره‌های FTIR نمونه‌های فیلم شاهد و فیلم‌های حاوی بیشترین غلظت‌های اسانس، نانوفیبر و ترکیب آن دو را نشان می‌دهد. در تشابه با یافته‌های پیشین، فیلم نشاسته حاوی گلیسرول، شش پیک شاخص نشان داد: پیک مربوط به گروه‌های OH در پیوندهای هیدروژنی در محدوده ۳۶۰۰-۳۳۰ بر سانتی متر؛ تغییر شکل محوری (۲۹۲۲ بر سانتی متر) و تغییر شکل زاویه‌ای (۱۴۵۷ بر سانتی متر) گروه‌های CH₂ و CH₃؛ نیروهای کششی پیوند O-C روی حلقه‌های انهدروگلوکز در محدوده‌ی ۱۰۲۹-۱۱۶۲ بر سانتی متر؛ OH مربوط به پیوندهای هیدروژنی



شکل ۲: طیف نگاره های FTIR فیلم های بیونانو کامپوزیت نشاسته
Control: نمونه شاهد؛ CEO: اسانس دارچین؛ CHNF: نانوفیبر کیتوزان



شکل ۳: منحنی های XRD فیلم های بیونانو کامپوزیت نشاسته
Control: نمونه شاهد؛ CEO: اسانس دارچین؛ CHNF: نانوفیبر کیتوزان

آزمون FE-SEM

آزمون SEM برای مطالعه ریخت شناسی و مورفولوژی فیلمها مورد استفاده قرار می‌گیرد. شکل ۴ تصاویر میکروسکوپی FE-SEM از سطح شکست فیلمها را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود همه فیلمها از بافت متراکم و نسبتاً سختی برخوردارند و تخلخل و حفرات در مقطع عرضی مشاهده نمی‌شود که نشان دهنده قابلیت خوب نشاسته در تولید یک فیلم یکپارچه و محکم می‌باشد. با افزودن ۵ درصد اسانس (شکل ۴ B) ناهماری و زبری‌هایی مخصوصاً در لایه سطحی فیلم مشاهده شد که می‌توان اینگونه استدلال نمود که اسانس دارچین به دلیل چگالی کمتر، در حین ریختن بر روی پلیت و قبل از خشک شدن، حرکت نموده و در لایه‌ی سطحی فیلم قرار می‌گیرد و باعث ایجاد چنین حالتی می‌شود. زمانیکه از ۵ درصد CHNF در ترکیب فیلم نشاسته استفاده شد (شکل ۴ C)، میزان غیریکنواختی در مقطع عرضی فیلم کمتر شد که نشان دهنده پخش یکنواخت نانوالیاف در ساختار فیلم نشاسته برخلاف اسانس دارچین می‌باشد. هر چند که توده‌هایی از نانوالیاف در برخی از قسمت‌ها مخصوصاً سطح فیلم مشاهده شد، اما دو فاز مجزا و قابل تشخیص در فیلم‌های نانوکامپوزیت حاوی CHNF وجود نداشت. زمانی که به طور همزمان از ۵ درصد CEO و ۵ درصد CHNF استفاده شد (شکل ۴ D)، حضور CHNF به پخش مطلوب تر CEO کمک نمود و حالت رونشینی اسانس که در فیلم حاوی ۵ درصد CEO مشاهده شده بود (شکل ۴ B) دیگر مشاهده نگردید. بنابراین می‌توان از این تصویر نتیجه گرفت که CHNF نه تنها به خوبی قادر است در ترکیب فیلم نشاسته پخش شود، بلکه به پخش یکنواخت تر اسانس نیز کمک می‌کند.

شکل ۵ تصاویر میکروسکوپی از سطح فیلمها را نشان می‌دهد. مشخص است که فیلم خالص نشاسته دارای سطحی صاف و کاملاً یکنواخت و با حداقل زبری می‌باشد (شکل ۵ A). با افزودن CEO، میزان پستی و بلندی‌ها افزایش یافته و غیریکنواختی سطح فیلم بیشتر می‌شود. حتی در برخی قسمت‌ها، ترک‌های ریزی نیز قابل مشاهده می‌باشد (شکل ۵ B). این امر نشان می‌دهد که حضور اسانس باعث کاهش یکنواختی شبکه‌ی فیلم نشاسته می‌شود و حتی حضور توئین ۸۰ نیز نمی‌تواند به اختلاط کامل و پخش مناسب آن در بستر فیلم کمک کند. با افزودن ۵ درصد CHNF میزان غیریکنواختی کاهش یافت و سطح فیلم تقریباً مشابه فیلم شاهد بود که نشان دهنده امتزاج پذیری مطلوب نانوالیاف کیتوزان با رشته‌های نشاسته می‌باشد. با این وجود در برخی قسمت‌ها، برجستگی‌های مربوط به توده‌های

CHNF نیز مشاهده گردید. هر چند که تعدادشان کم و اندازه آنها کوچک بود (شکل ۵ C). با افزودن همزمان CEO و CHNF، اثر هم‌افزایی بین آنها مشاهده شد. به این معنی که از یک طرف CHNF به پخش مطلوب تر اسانس کمک نمود و میزان زبری سطحی مربوط به اسانس تا حدودی کاهش یافت و از طرف دیگر CEO باعث شد توده شدن نانوالیاف کاهش یابد و پخش CHNF نیز مطلوب تر گردد. به طور کلی فیلم حاوی هردو ترکیب اسانس و نانوالیاف، توپوگرافی سطحی مطلوب تری نسبت به حالتی داشت که این دو ترکیب به تنهایی استفاده شده بودند.

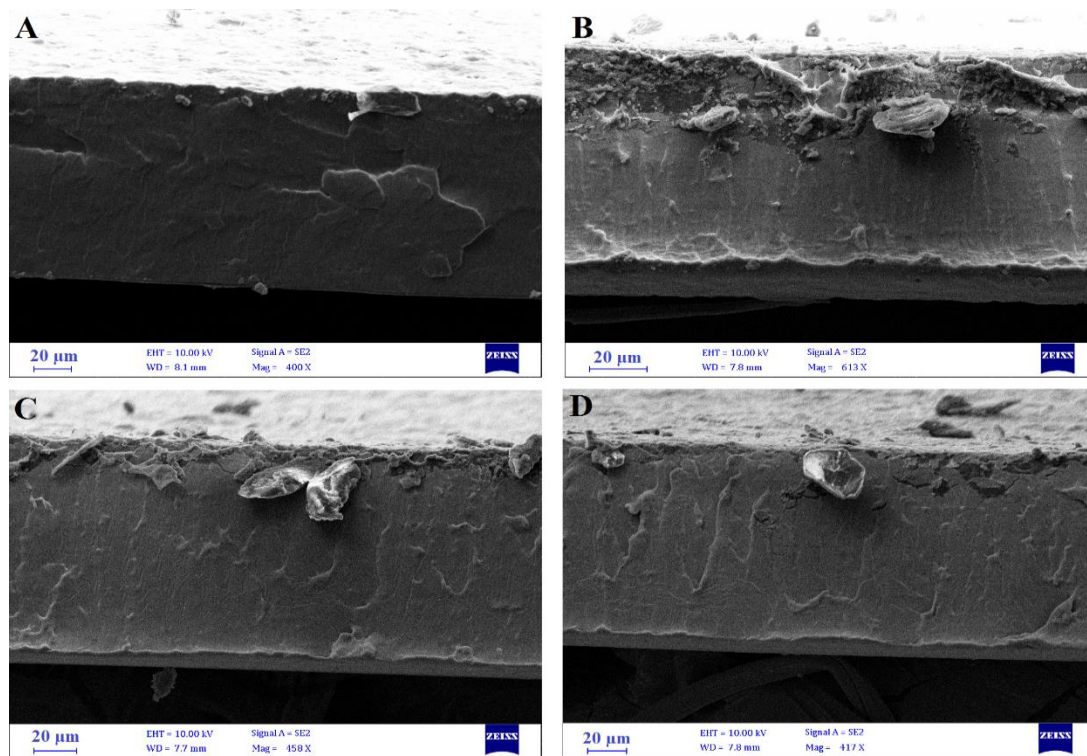
شکل ۶ تصویر بزرگنمایی شده از توده‌های CHNF موجود در فیلم حاوی ۵ درصد CHNF را نشان می‌دهد. پیک مربوط به CHNF که در آزمون XRD مشاهده شد نیز مربوط به همین نواحی آگلومره شده از نانوالیاف کیتوزان بود. در حضور اسانس، شدت تشکیل این توده‌ها کاهش یافت و در نتیجه پیک مربوطه نیز از XRD محو شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که CEO با نقش نرم‌کنندگی و افزایش فضاهای آزاد بین مولکولی، به پخش یکنواخت تر نانوالیاف کیتوزان در بستر فیلم نشاسته کمک می‌کند.

بررسی نرخ رهایش اسانس از فیلم‌های فعال

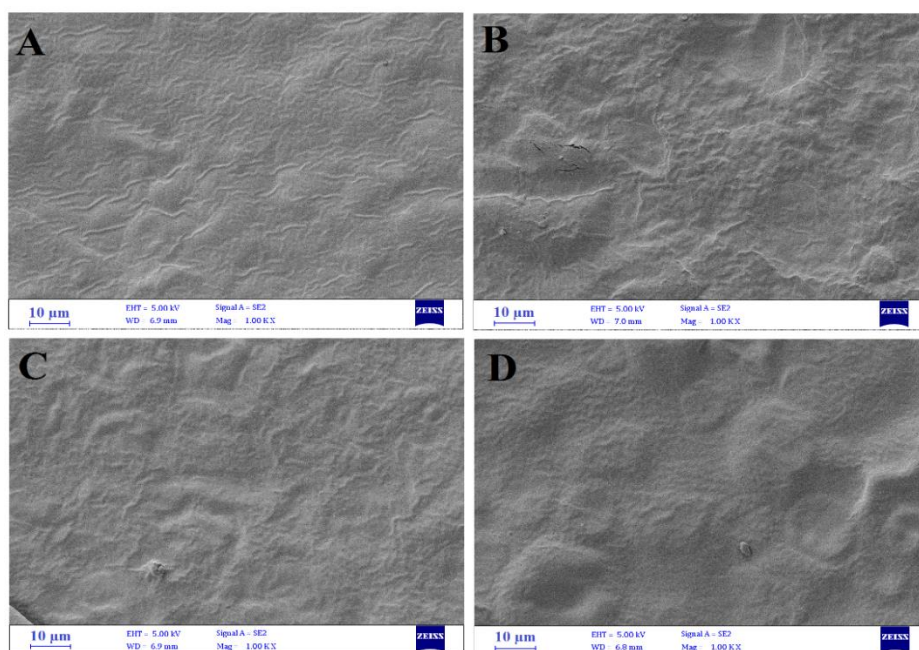
برای یک فیلم فعال این یک عیب محسوب می‌شود که کلیه‌ی ترکیب فعال خود را در طی ساعات اولیه بسته بندی ماده غذایی آزاد کند. بنابراین کنترل آزاد سازی و ایجاد یک رهایش کنترل شده یکی از ضروریات اصلی طراحی یک بسته بندی فعال است. تأثیر دما و همچنین تأثیر فرمولاسیون فیلم بر روی نرخ رهایش اسانس دارچین از ماتریکس فیلم‌های فعال در شکل ۷ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌گردد، با افزایش غلظت CEO نرخ رهایش بیشتر می‌شود و در هردو دما، فیلم حاوی ۵ درصد CEO بیشترین میزان رهایش را در زمان‌های مختلف آزمون نشان می‌دهد. اما حضور CHNF باعث کاهش نرخ رهایش شده و آن را به صورت کنترل شده درمی‌آورد. همان طور که مشاهده می‌شود، با افزایش میزان CHNF تأثیر آن بر روی کنترل رهایش اسانس بیشتر می‌شود. به طوری که فیلم حاوی ۲/۵ درصد اسانس و ۵ درصد CHNF در هردو دمای آزمون کمترین نرخ رهایش را پس از گذشت ۷۲ ساعت نشان داد. همان طور که پیش از این اشاره شد، حضور CHNF با افزایش انسجام ساختاری و تراکم مولکولی، تحرک اسانس را کمتر کرده و سرعت خروج آن از بستر فیلم را کاهش می‌دهد. هم‌چنین رشته‌های CHNF مانند سدهایی عمل نموده و با ایجاد مسیرهای پرپیچ و خم، مسیر خروج اسانس از ماتریکس فیلم نشاسته را طولانی تر می‌کنند. به این دلایل،

پلی لاکتیک اسید (PLA) به نتایج مشابهی دست یافتند. همچنین Duman و Tunc (2011) ادعا کردند که حضور نانورس باعث کنترل رهایش کارواکرول از فیلم متیل سلولز می‌شود که در توافق با نتایج این پژوهش بود.

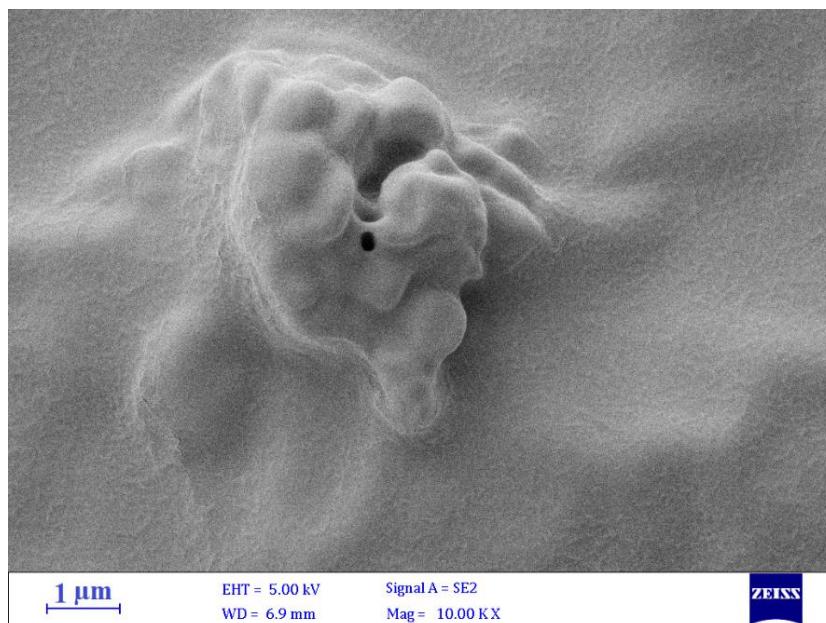
می‌توان اذعان نمود که در حضور CHNF، رهایش اسانس از بستر فیلم نشاسته به‌صورت کنترل شده درمی‌آید و بنابراین می‌توان با افزایش همزمان این دو ترکیب به فیلم نشاسته، فیلمی فعال با رهایش کنترل شده تولید نمود. Almasi et al. (2014) در مورد تأثیر نانوالیاف سلولز در رهایش آنتی‌اکسیدان TBHQ از فیلم



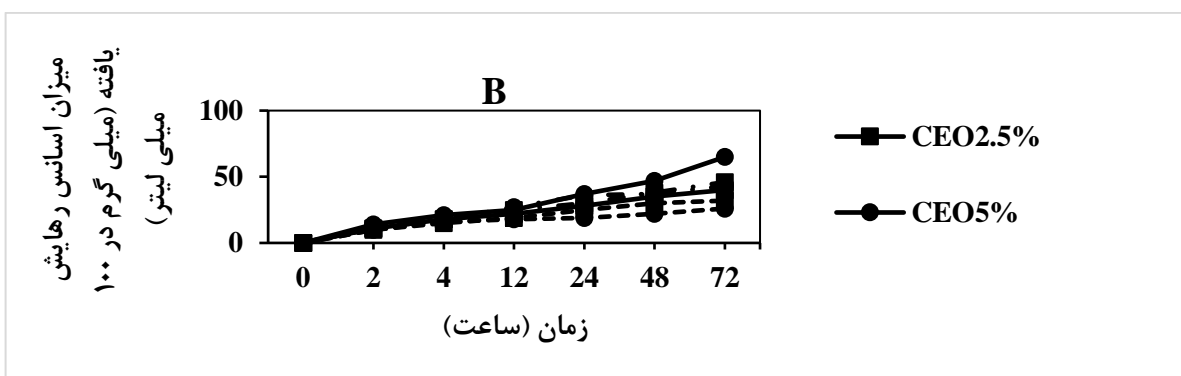
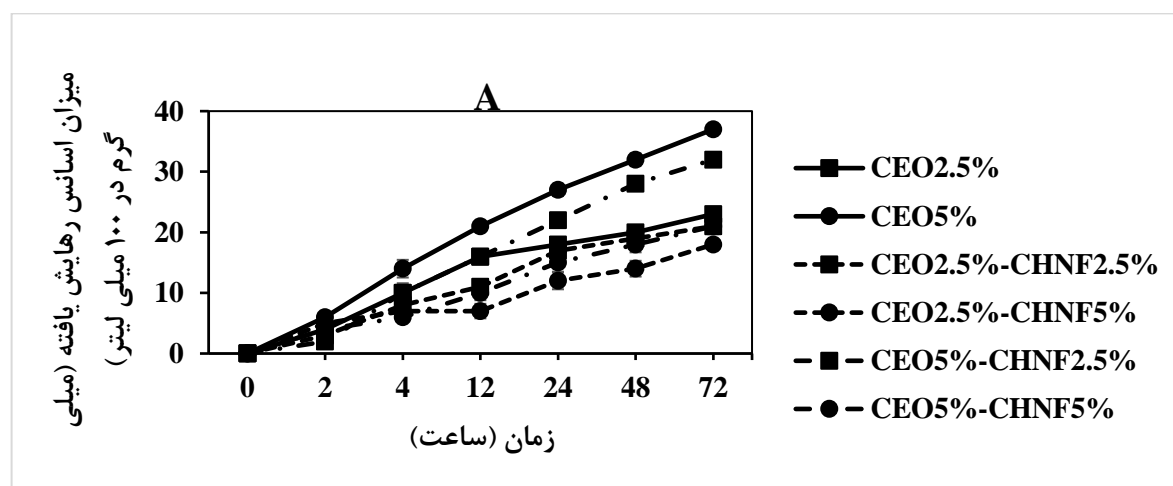
شکل ۴: تصویر FE-SEM از مقطع عرضی فیلم خالص نشاسته (A)، فیلم حاوی ۵ درصد اسانس دارچین (B)، فیلم حاوی ۵ درصد نانوفیبر کیتوزان (C) و فیلم حاوی ۵ درصد اسانس دارچین و ۵ درصد نانوفیبر کیتوزان (D)



شکل ۵: تصویر FE-SEM از سطح فیلم خالص نشاسته (A)، فیلم حاوی ۵ درصد اسانس دارچین (B)، فیلم حاوی ۵ درصد نانوفیبر کیتوزان (C) و فیلم حاوی ۵ درصد اسانس دارچین و ۵ درصد نانوفیبر کیتوزان (D)



شکل ۶: تصویر FE-SEM از توده های نانوالیاف تشکیل شده در سطح فیلم نشاسته حاوی ۵ درصد نانوفیبر کیتوزان



شکل ۷: نرخ رهائش اسانس دارچین از فیلم های فعال به داخل اتانول ۹۶ درجه سلسیوس در دو دمای ۴ درجه سلسیوس (A) و ۲۵ درجه سلسیوس (B): CEO: اسانس دارچین; CHNF: نانوفیبر کیتوزان

از فیلم در دمای ۴ درجه سلسیوس برابر ۳۷/۲ میلی گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر بود درحالی که برای همین فیلم در دمای ۲۵ درجه سلسیوس میزان رهائش ۶۵/۵ میلی گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر بدست آمد. با توجه به این نتایج می توان گفت که نرخ رهائش

نکته قابل توجه دیگر در شکل ۷ این است که با مقایسه دو شکل A و B می توان متوجه شد که با افزایش دما، نرخ رهائش اسانس از فیلم نشاسته بیشتر می شود. به طوریکه مثلاً در فیلم ۵ درصد CEO، پس از گذشت ۷۲ ساعت، میزان اسانس آزاد شده

مکانیکی را افزایش و انعطاف پذیری را کاهش داد. آزمون FTIR و XRD موید عدم تأثیر اسانس و نانوالیاف بر خواص ساختاری فیلم نشاسته و عدم برقراری اتصالات جدید بین این سه ترکیب بودند. تصاویر FE-SEM نشان داد که حضور CEO به پخش یکنواخت و عدم توده شدن CHNF کمک می‌کند و حضور CHNF نیز به پخش مطلوب اسانس و عدم رونشینی آن در سطح فیلم منجر می‌شود. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی نشان داد که با افزودن اسانس دارچین، قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد اما حضور CHNF باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم می‌شود. بررسی نرخ رهایش اسانس مشخص نمود که در حضور CHNF رهایش اسانس دارچین بصورت کنترل شده در آمده و میزان آزاد شدن آن با گذشت زمان سرعت کمتری پیدا می‌کند. به‌طور کلی طبق نتایج این پژوهش می‌توان ادعا نمود که با افزودن هم‌زمان اسانس دارچین و نانوالیاف کیتوزان به فرمولاسیون فیلم نشاسته می‌توان فیلم فعال آنتی‌اکسیدانی تولید نمود که علاوه بر حفظ و ارتقای خصوصیات فیزیکی فیلم نشاسته، دارای قدرت کنترل رهایش نیز بوده و می‌تواند برای مدت زمان‌های طولانی‌تری خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دهد. هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

REFERENCES

- 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 and Contaminants, Part A*, 31(9), 1586-1597.
- Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., & Entezami, A. A. (2010). Physicochemical properties of starch – CMC– nanoclay biodegradable films, *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 1-5.
- Angles, M. N., & Dufrense, A. (2000). Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. *Structural Analysis. Macromolecules*, 33, 8344-8353.
- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of material. E96-95. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM. (1996). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-91. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Atarés, L., Bonilla, J., & Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 100, 678-687.
- 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.
- Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, 80, 972-978.
- Carvalho, A. J. F., de Curvelo, A. A. S., & Agnelli, J. A. M. (2001). A first insight on composite of thermoplastic starch and kaolin. *Carbohydrate Polymers*, 45, 189-194.
- Chang, P. R., Jian, R., Yu, J., & Ma, X. (2010). Starch-based composites reinforced with novel chitin nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 80, 420-425.
- de Souza, A. G., Dos Santos, N. M. A., da Silva Torin, R. F., & dos Santos Rosa, D. (2020). Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1737-1747.
- do Evangelho, J. A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., El Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., & da Rosa Zavareze, E. (2019). Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 222, 114981.
- Dutta, P., Tripathi, S., Mehrotra, G., & Dutta, J. (2009).

ترکیب فعال از بستر فیلم، به دمای محل نگهداری ماده غذایی بسته بندی شده بستگی دارد. با افزایش دما و نزدیک شدن به دمای انتقال شیشه‌ای پلیمر، تحرک زنجیرها افزایش می‌یابد و فضای آزاد بین آنها بیشتر می‌شود و در نتیجه تحرک مولکولی اسانس نیز بیشتر شده و نرخ رهایش آن از داخل بستر فیلم بیشتر می‌شود. Almasi et al. (2014) نیز در مورد تأثیر دمای نگهداری بر نرخ رهایش آنتی‌اکسیدان TBHQ از فیلم PLA به نتایج مشابهی دست یافتند.

نتیجه گیری کلی

در این پژوهش فیلم بیونانو کامپوزیت نشاسته حاوی اسانس دارچین و نانوالیاف کیتوزان تولید شد. حضور اسانس دارچین اثر متفاوتی بر روی خواص بازدارندگی فیلم نشاسته داشت. به‌طوریکه میزان جذب رطوبت را کاهش داد اما باعث افزایش نفوذپذیری نسبت به بخار آب شد. افزودن نانوالیاف کیتوزان باعث بهبود خواص بازدارندگی شده و به کاهش جذب رطوبت و کاهش WVP منجر شد. تأثیر اسانس و نانوالیاف بر روی خواص مکانیکی نیز متفاوت بود. به‌طوریکه CEO با نقش نرم‌کنندگی باعث کاهش UTS و افزایش SB شد اما CHNF اثر معکوس داشت و استحکام

- Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173-1182.
- Fu, Z. Q., Wang, L. J., Li, D., Wei, Q., & Adhikari, B., (2002). Effects of high-pressure homogenization on the properties of starch-plasticizer dispersions and their films. *Carbohydrate Polymers*, 86, 202-207.
- Galdeano, M. C., Grossmann, M. V. E., Mali, S., & Bello-Perez, L. A. (2008). Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. *Materials Science and Engineering C*, 43, 111-119.
- Gao, C., Wan, Y., He, F., Liang, H., Luo, H., & Han, J. (2011). Mechanical, moisture absorption, and photodegradation behaviors of bacterial cellulose nanofiber-reinforced unsaturated polyester composites. *Advances in Polymer Technology*, 30(4), 249-256.
- Ghanbarzadeh, B., & Almasi, H. (2011). Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(1), 44-49.
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Zahedi, Y. (2009). Biodegradable edible biopolymers in food and drug packaging. Amir Kabir University of Technology, Tehran Polytechnic Press.
- Goni, P., Lopez, P., Sanchez, C., Gomez-Lus, R., Becerril, R., & Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116(4), 982-989.
- Huang, M., Yu, J., & Ma, X., (2004). Studies on the properties of Montmorillonite-reinforced thermoplastic starch composites. *Polymer*, 45, 7017-7023.
- Jafari, H., Pirouzifard, M.K., Alizadeh Khaledabad, M., & Almasi, H., (2017). Effect of chitin nanofiber on the morphological and physical properties of chitosan/silver nanoparticle bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 461-466.
- Jahed, E., Alizadeh Khaledabad, M., Rezazad Bari, M., & Almasi, H. (2017). Effect of cellulose and lignocellulose nanofibers on the properties of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* essential oil-loaded chitosan films. *Reactive & Functional Polymers*, 117, 70-80.
- Ju, J., Chen, X., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., & Yao, W. (2019). Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 92, 22-32.
- Li, Y. Q., Kong, D. X., Wu, H. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 41, 269-278.
- Mascheroni, E., Chalier, P., Gontard, N., & Gastaldi, E. (2010). Designing of a wheat gluten/montmorillonite based system as carvacrol carrier: Rheological and structural properties. *Food Hydrocolloids*, 24, 406-413.
- Muzzarelli, R. A. A., & Muzzarelli, C. (2005). In Chitin and chitosan: Research opportunities and challenges, ed. by P. K. Dutta (New Age Intl., New Delhi, India.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193-198.
- Pereda, M., Amica, G., Rácz, I., & Marcovich, N. E. (2011). Preparation and characterization of sodium caseinate films reinforced with cellulose derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 1014-1021.
- Ravi Kumar, M. V. (2001). A Review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*, 46, 1-27.
- Romero-Bastida, C. A., Bello-Perez, L. A., Garcia, M. A., Martino, M. N., Solorza-Feria, J., & Zaritzky, N. E. (2002). Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydrate Polymers*, 60, 235-244.
- Sorrentino, A., Gorrasi, G., & Vittoria, V. (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18, 84-95.
- Sriupayo, J., Supaphol, P., Blackwell, J., & Rujiravanit, R. (2005). Preparation and characterization of α -chitin whisker-reinforced chitosan nanocomposite films with or without heat treatment. *Carbohydrate Polymers*, 62(2), 130-136.
- Sukhtezari, S., Almasi, H., Pirsá, S., Zandi, M., & Pirouzifard, M., (2017), Development of bacterial cellulose based slow-release active films by incorporation of *Scrophularia striata* Boiss. Extract. *Carbohydrate Polymers*, 87, 30-41.
- Tunç, S., & Duman, O. (2011). Preparation of active antimicrobial methyl cellulose/carvacrol/montmorillonite nanocomposite films and investigation of carvacrol release. *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 465-472.