

## ویژگی‌های فیزیکی و آنتی‌اکسیدانی فیلم زیست‌تخریب‌پذیر هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی اسانس میخک

رضا قادرمزی<sup>۱\*</sup>، جواد کرامت<sup>۲</sup> و سید امیر حسین گلی<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۸

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۲

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان

<sup>۲</sup> به ترتیب دانشیار و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان

\* مسئول مکاتبه: E-mail: r.ghadermazy@ag.iut.ac.ir

### چکیده

در این پژوهش، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس میخک در مقایسه با BHT توسط روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و قدرت احیاکنندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از افزودن اسانس میخک به محلول آبی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) و تهیه فیلم خوراکی، ابتدا اثر اسانس میخک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی بر خواص مکانیکی، ویژگی‌های نوری، نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس میزان توانایی آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها با توجه به قابلیت آن‌ها در محافظت روغن سویا از اکسیداسیون در دمای ۴۰ °C در یک مکان تاریک به مدت ۶۰ روز و در فواصل زمانی معین با تعیین عدد پراکسید مشخص شد. نتایج آزمایش‌های DPPH و قدرت احیاکنندگی نشان دادند که اسانس میخک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT است. افزودن اسانس به فیلم اثر قابل‌توجهی در کاهش نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن فیلم‌ها داشت. افزودن اسانس میخک به فیلم باعث کاهش شفافیت و خواص مکانیکی شد به طوری که بعد از افزودن اسانس میخک در مقایسه با فیلم شاهد درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی از ۲۳/۶ به ۱۷/۹ درصد، مقاومت کششی از ۲۷/۳ به ۱۲/۳ مگا پاسکال و مدول الاستیک از ۵۳۷/۵ به ۴۷۹ مگا پاسکال کاهش یافت. فیلم حاوی اسانس میخک نسبت به فیلم بدون اسانس فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی ( $P < 0.05$ ) را در پایداری اکسیداسیونی روغن سویا از خود نشان داد.

**واژگان کلیدی:** اسانس میخک، آنتی‌اکسیدان طبیعی، فیلم خوراکی، روغن و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)

### مقدمه

برای بهره بردن از خواص اسانس‌ها پیشنهاد شده استفاده از آن‌ها در ترکیب با بسته‌های غذایی است (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱a). بسته‌های مختلف دارای ویژگی‌های متفاوتی هستند که هر کدام دارای محاسن و معایبی است که یکی از مشکلات عمده آن‌ها

اسانس‌های روغنی به دست آمده از گیاهان مختلف دارای خواص آنتی‌اکسیدانی گسترده‌ای هستند که مربوط به وجود گروه‌های فنول در ساختار شیمیایی آن‌ها است (کولیسیک و همکاران ۲۰۰۴). یکی از راهکارهایی که

آلودگی محیط‌زیست است که می‌توان با استفاده از فیلم‌های طبیعی زیست‌تخریب‌پذیر از این مشکل جلوگیری کرد. بیوپلیمرهای تشکیل‌دهنده فیلم‌های طبیعی شامل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها (شامل کربوهیدرات‌ها و صمغ‌ها)، لیپیدها و یا به‌صورت ترکیبی از این مواد هستند (پورتوم ۲۰۰۸). در میان بیوپلیمرهای پلی‌ساکاریدی، سلولز و مشتقاتش ترکیباتی هستند که برای ساخت فیلم به کار می‌روند، زیرا عموماً فاقد بو و مزه بوده، از انعطاف‌پذیری، استحکام، شفافیت مناسب و نفوذپذیری نسبتاً خوب به اکسیژن و رطوبت برخوردار هستند آن‌ها محلول در آب بوده و قابل‌تجزیه در طبیعت می‌باشند (کروچتا و مولدر جانستون ۱۹۹۷). در بین مشتقات سلولزی، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) از قابلیت مناسبی برای ساخت فیلم زیست‌تخریب‌پذیر با خصوصیتی مانند شفافیت، انعطاف‌پذیری، ویژگی‌های حسی مناسب و غیر سمی بودن برخوردار است همچنین نفوذپذیری کمی به اکسیژن، دی‌اکسید کربن و چربی دارد، ولی ممانعت آن در برابر عبور بخار آب ضعیف است که این مشکل را می‌توان به‌وسیله ترکیبات آب‌گریز مانند اسیدهای چرب، واکس‌ها، سورفاکتانت‌ها و رزین‌ها بهبود بخشید. همچنین تلفیق اسانس‌های روغنی با HPMC علاوه بر ایجاد خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در فیلم‌ها باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب به علت طبیعت آب‌گریز آن نیز می‌شود و این کار باعث کاربرد گسترده‌تر آن‌ها و افزایش مقبولیت این فیلم‌ها در صنعت غذا شود (کروچتا و میلر ۱۹۹۷، سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱a). به‌عنوان مثال در اثر ترکیب اسیدهای چرب با HPMC، نفوذپذیری به بخار آب و شفافیت فیلم کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در مقایسه با فیلم‌های بدون چربی پیدا خواهد نمود (جیم انز و همکاران ۲۰۱۰). نفوذپذیری به بخار آب به شرایط محیطی مثل دما و رطوبت نسبی، ترکیبات فیلم و ضخامت آن بستگی دارد

و علت نفوذپذیری بالای فیلم HPMC به خاطر داشتن رشته‌های بلند و آب‌دوست آن است. محققان در بررسی اثر افزودن چند اسانس مختلف به فیلم کیتوزان و HPMC مشاهده کردند که با افزایش غلظت اسانس‌ها در هر دو فیلم نفوذپذیری به بخار آب و همچنین درصد کشش، مقاومت کششی و مدول الاستیکی کاهش یافته است (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱b). در بررسی اثر اسانس درخت چای در ترکیب با فیلم HPMC نشان داده شده که با افزایش غلظت اسانس تغییرات معنی‌داری در اندازه و بار سطحی ذرات دیسپرسیون فیلم می‌شود و باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب و ظرفیت جذب آب فیلم می‌شود؛ همچنین باعث کاهش معنی‌داری در شفافیت و براقی (جلا)، استحکام کششی و مدول الاستیک (میزان سفتی) فیلم می‌شود (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۰۹). البته بعضی از اسانس‌ها دارای طبیعت آب‌گریزی بالاتری هستند و می‌توانند باعث ممانعت بهتری مقابل بخار آب شوند مثلاً غلظت یکسانی از اسانس‌های ترنج و لیمو باعث کاهش ۵۰ درصدی درحالی‌که همان غلظت از اسانس درخت چای تنها باعث کاهش ۲۰ درصدی نفوذپذیری در فیلم شدند (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱b). فیلم HPMC مقاومت خوبی در برابر استرس‌های فیزیکی دارد ولی در کل افزودن اسانس باعث افزایش درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی و کاهش مقاومت کششی و مدول الاستیک می‌شود، بنابراین به‌طور کلی اسانس‌ها باعث کاهش مقاومت فیلم‌ها به شکستگی می‌شوند (سانچز-گونزالز و همکاران، ۲۰۰۹). فیلم HPMC دارای شفافیت بالایی است ولی افزودن اسانس باعث افزایش کدورت و کاهش براقی آن می‌شود که این به دلیل پراکندگی نور توسط فاز چربی است که دارای اندازه ذرات و ضریب شکست متفاوتی از ذرات فیلم هستند. براقیت فیلم به مورفولوژی سطح فیلم که در طی خشک‌کردن ایجاد می‌شود بستگی دارد و به‌طور کلی با صاف شدن سطح براقی نیز بیشتر می‌شود که با افزودن اسانس میزان

<sup>1</sup>- Hydroxypropyl Methylcellulose

## روش‌ها

### استخراج اسانس

برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت استفاده شد. اسانس بدست آمده با سولفات سدیم بدون آب خشک‌شده و در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در شیشه‌های تیره‌رنگ نگهداری شد (ابراهیم‌آبادی و همکاران ۲۰۱۰).

### بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

#### اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک کل

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک کل از روش فولین-سیوکالتو و از اسید تانیک به‌عنوان استاندارد استفاده گردید (مارتوس و همکاران ۲۰۱۱). بعد از رسم منحنی استاندارد و تعیین معادله خط، ترکیبات فنولیک کل گیاه بر حسب میلی‌گرم تانیک اسید در لیتر نمونه بیان گردید. از متانول نیز به‌عنوان شاهد استفاده گردید.

#### بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH

در این روش مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول متانولی اسانس با غلظت‌های مختلف با یک میلی‌لیتر از محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد و برای مدت‌زمان ۶۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفت. میزان جذب نوری محلول‌های حاصله و شاهد (حاوی مواد شیمیایی یکسان، به‌جز اسانس) در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. از متانول نیز به‌عنوان شاهد استفاده گردید. برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس نیز از BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (ابراهیم‌آبادی و همکاران ۲۰۱۰). کم‌ترین جذب نشان‌دهنده بیشترین قدرت ضد رادیکالی است. درصد ممانعت‌کنندگی (I%) از رادیکال DPPH به‌وسیله رابطه [۱] محاسبه گردید:

$$I\% = \left[ \frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \right] \times 100 \quad [1]$$

که در این رابطه  $A_{blank}$  جذب شاهد و  $A_{sample}$  جذب نمونه است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌صورت IC<sub>50</sub> ارائه شد که نشان‌دهنده غلظتی از اسانس است که توانایی ۵۰

زبری سطح نیز بیشتر می‌شود (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱b). به‌طورکلی افزودن اسانس باعث بهبود نفوذپذیری به گازها می‌شود ولی در این زمینه اطلاعات محدودی در دسترس است (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱a). محققان در بررسی افزودن اسانس زنجبیل، آسکوربیک اسید و سیتریک اسید به فیلم HPMC و تأثیر این فیلم‌ها در روند اکسیداسیون روغن بادام مشاهده کردند که این فیلم‌ها توانایی کاهش روند اکسیداسیون روغن را دارند (آتارس و همکاران ۲۰۱۱). هدف از پژوهش حاضر، (۱) بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس میخک در مدل سیستم‌های مختلف آزمایشگاهی، (۲) بررسی خواص مکانیکی، رنگ، نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن فیلم HPMC حاوی اسانس میخک و (۳) بررسی اثر فیلم‌های حاوی اسانس میخک (بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر فعال) در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا است.

## مواد و روش‌ها

### مواد

غنچه‌های میخک از شرکت پاکان بذر اصفهان و روغن سویا تصفیه‌شده فاقد آنتی‌اکسیدان نیز از کارخانه روغن نباتی نهان گل بروجن تهیه گردید. ترکیبات شیمیایی شامل: متانول، اسید استیک گلاسیال، کلروفرم، سولفات سدیم بدون آب، کربنات سدیم (بدون آب)، BHT (بوتیلات هیدروکسی تولوئن)، تری کلرو استیک اسید، فریک کلرید، یدید پتاسیم، تیو سولفات سدیم، معرف فولین سیو کالتو، نشاسته و پتاسیم فری سیانید از شرکت مرک و اسید تانیک، DPPH (۲ و ۲- دی فنیل بتا پیکریل هیدرازیل)، بتا کاروتن، اسید لینولئیک، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)، توئین ۸۰ و گلیسرول از شرکت سیگما خریداری شد.

## بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با روش قدرت احیاکنندگی

در این روش ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف محلول متانولی اسانس را با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۲ مولار، pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر فری سیانید پتاسیم (۱٪) مخلوط کرده و مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در حمام °C ۵۰ قرار گرفت. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (۱۰٪) به آن اضافه کرده و مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۱۵۰۰ g سانتی‌فوز شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از لایه بالایی این محلول را با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر فریک کلرید (۱٪) داخل لوله آزمایش ریخته و مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و در نهایت جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. از BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. نمونه شاهد نیز حاوی همان مواد شیمیایی به‌جز اسانس بود. در اینجا هرچه شدت رنگ بالاتر باشد نشان‌دهنده قدرت احیاکنندگی بیشتر است و در نتیجه مقدار جذب بالاتری را نشان خواهد داد (گلشین و همکاران ۲۰۱۰). نتایج به‌دست آمده بر اساس IC<sub>50</sub> که غلظتی از نمونه است که در آن جذب برابر ۰/۵ است گزارش شد.

## تهیه فیلم خوراکی (آماده‌سازی دیسپرسیون، قالب‌ریزی و خشک‌کردن محلول فیلم)

ابتدا ۱۰ گرم پودر HPMC را در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه با دمای °C ۸۰ حین هم زدن به آهستگی اضافه کرده و مدت یک‌شب روی همزن مغناطیسی گذاشته تا یک محلول یکنواخت و زردرنگ شفاف ایجاد شود. سپس ۵ گرم گلیسرول و ۰/۵ گرم توئین ۸۰ به آن اضافه کرده و ۳۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی گذاشته تا کاملاً مخلوط شود. سپس ۲ گرم از اسانس میخک را به آن اضافه کرده (نسبت‌های وزنی HPMC: گلیسرول: توئین ۸۰ = ۱: ۰/۵: ۰/۰۵: ۰/۲) و به‌وسیله هم‌زن‌نایزر با دور ۱۳۶۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه همگن شد. بعد از هم‌زن‌نایزاسیون چون مقدار زیادی هوا وارد محلول شده و مقدار زیادی کف روی

درصد بازدارندگی ظرفیت رادیکالی را دارد. IC<sub>50</sub> به‌وسیله آنالیز همبستگی خطی بدست آمده از مقادیر I% در غلظت‌های مختلف نمونه تعیین شد. هرچه مقدار IC<sub>50</sub> بیشتر باشد فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس کمتر است.

## بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با روش بی‌رنگ شدن بتا کاروتن

در این آزمایش ابتدا ۲ میلی‌گرم از بلورهای بتا کاروتن را در ۲۰ میلی‌لیتر کلروفورم حل کرده سپس ۴ میلی‌لیتر از این محلول را همراه با ۴۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۴۰۰ میلی‌گرم توئین ۸۰ داخل بالن ریخته و به‌خوبی مخلوط شد. سپس کلروفورم را با روتاری در دمای °C ۴۰ کاملاً تبخیر کرده و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن را به این بالن اضافه کرده و بالن را به‌شدت هم زده تا یک امولسیون زردرنگ شفاف حاصل شود. سپس ۵ میلی‌لیتر از این امولسیون به لوله‌های حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر محلول متانولی اسانس و BHT در غلظت‌های مختلف اضافه گردید و بلافاصله جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. لوله‌ها در حمام با دمای °C ۵۰ قرار گرفته و در بازه‌های زمانی ۳۰ دقیقه جذب قرائت گردید. این کار تا زمانی که نمونه کنترل کاملاً بی‌رنگ شد ادامه داشت. نمونه شاهد نیز حاوی همان مواد شیمیایی به‌جز اسانس بود. درصد مانع‌کنندگی از بی‌رنگ شدن بتا کاروتن (I%) از رابطه [۲] محاسبه شد.

$$I\% = \left( \frac{AS_{180} - AC_{180}}{AC_0 - AC_{180}} \right) \times 100 \quad [2]$$

که در این معادله، AS<sub>180</sub> جذب نوری نمونه‌ها بعد از ۱۸۰ دقیقه و AC<sub>0</sub> و AC<sub>180</sub> به ترتیب جذب شاهد در زمان‌های ۰ و ۱۸۰ دقیقه می‌باشند. در این مدل سیستم هرچه مقدار جذب نمونه در طول زمان کمتر کاهش پیدا کند فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر است (کولیسیک و همکاران ۲۰۰۴). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌صورت IC<sub>50</sub> ارائه شد.

میلی‌متر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در پنج نقطه برای هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت‌ها محاسبه شده و در محاسبه مقدار مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخار آب و نفوذپذیری به اکسیژن استفاده گردید.

### تعیین ویژگی‌های مکانیکی

برای محاسبه ویژگی‌های مکانیکی از دستگاه آنالیز بافت (STM، مدل STM-20) که به یک نمایشگر متصل است استفاده شد. قبل از انجام آزمایش‌های کشش، تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل گردیدند، به این صورت که تمامی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در رطوبت نسبی ۵۰ درصد و دمای  $25^{\circ}\text{C}$  قرار گرفتند. فیلم‌ها به شکل مستطیل‌های با ابعاد  $10 \times 5/2$  سانتیمتر با استفاده از تیغ جراحی بریده شدند (استاندارد شماره D882 ASTM، به طوری که دو انتهای این قطعه‌ها به صورت دمبلی شکل بود و به اندازه ۲ سانتی‌متر نیز از دو طرف بین فک‌ها قرار گرفت. فاصله بین دو فک دستگاه ۱۰ سانتیمتر و سرعت حرکت فک‌ها روی ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه تنظیم و از لود سل  $50^2$  نیوتنی استفاده شد. فاکتورهای درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی و مدول الاستیک (مگا پاسکال) را با دستگاه اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه [۳] نیز مقاومت کششی فیلم‌ها محاسبه شد:

$$TS = \frac{F}{w \times d} \quad [3]$$

در این رابطه TS مقاومت کششی بر حسب مگا پاسکال، F نیرو بر حسب نیوتن، d ضخامت و w عرض فیلم بر حسب متر می‌باشند.

### اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری به اکسیژن

اندازه‌گیری نفوذپذیری به اکسیژن بر اساس روش استاندارد، ASTM-D1434 با استفاده از دستگاه Custom Scientific Instruments در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  انجام شد. نمونه‌ها پیش از اندازه‌گیری به مدت ۲۴ ساعت در

آن تشکیل شده است با آون تحت خلأ در دمای اتاق تخلیه گاز محلول انجام شد. محلول آماده شده داخل قالب‌های شیشه‌ای مکعب مستطیل با ابعاد  $20 \times 6/17$  سانتیمتر ریخته و به مدت ۳۶ ساعت داخل آون با دمای  $30^{\circ}\text{C}$  قرار داده تا خشک شود و در نهایت فیلم تشکیل شده به راحتی از ظروف جدا گردید و تا زمان انجام آزمایش‌ها در داخل پلاستیک‌های با درب پرس شده که هیچ‌گونه تبادل هوایی با بیرون نداشت در یخچال با دمای  $4^{\circ}\text{C}$  جهت انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد (آتارس و همکاران ۲۰۱۱).

### ساخت ظروف استوانه‌ای از فیلم برای انبارداری روغن

ورقه‌های فیلم به شکل ظروف استوانه‌ای شکل (ارتفاع  $7/57$  سانتی‌متر و قطر ۲ سانتی‌متر) ساخته شد. برای کف ظروف ساخته شده نیز از همان فیلم استفاده شد که از سمت بیرون به وسیله چسب و در سمت داخل نیز در محل اتصال کف و بدنه از همان محلول استفاده شده برای ساخت فیلم ریخته شد تا بعد از خشک شدن محلول در محل اتصال کف و بدنه به وسیله فیلم به هم چسبیده شده و کف و بدنه به صورت یکپارچه درآیند. بعد از مشروط کردن (به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و رطوبت نسبی ۵۰ درصد) داخل هرکدام از آن‌ها مقدار ۵۰ گرم روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان ریخته و داخل آون با دمای  $30 \pm 40^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. نمونه‌ها شامل فیلم HPMC ترکیب شده با اسانس میخک (۲ گرم اسانس به ازای ۱۰ گرم HPMC) و فیلم HPMC بدون اسانس بود، علاوه بر این نمونه‌ها، برای کنترل بهتر شرایط یک نمونه روغن در داخل ظرف شیشه‌ای با همان شرایط فیلم‌ها و بدون هیچ‌گونه افزودنی نیز استفاده شد. در فواصل زمانی ۱۵ روزه به مدت دو ماه آزمون پراکسید از روغن داخل این بسته‌ها انجام شد (آتارس و همکاران ۲۰۱۱).

### تعیین ضخامت

ضخامت نمونه‌ها با میکرومتر دیجیتالی با دقت  $0/001$

که در این رابطه WVP نفوذپذیری به بخار آب  $(g/Pam.s)$ ، شیب خط تغییرات وزن در طی زمان  $(g/h)$ ،  $A$  سطح  $(m^2)$ ،  $L$  میانگین ضخامت  $(m)$  و  $(\Delta p)$  گرادیان فشار جزئی بخار آب در دو طرف فیلم  $(Pa)$  و عدد ثابت ۳۶۰۰ برای تبدیل ساعت به ثانیه است.

#### تعیین مشخصات رنگی نمونه‌های فیلم

اندازه‌گیری رنگ نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج RGB (مدل RGB-1002) صورت گرفت. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار easyRGB به سیستم CIE به صورت پارامترهای  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  تبدیل شدند.  $L^*$  اختلاف بین روشن (۱۰۰) و تاریک (۰) را نمایش می‌دهد. جزء  $a^*$  اختلاف بین سبز ( $-a^*$ ) و قرمز ( $+a^*$ ) و جزء  $b^*$  اختلاف بین آبی ( $-b^*$ ) و زرد ( $+b^*$ ) را بیان می‌کند. اختلاف رنگ فیلم‌های حاوی اسانس میخک با فیلم بدون اسانس (به‌عنوان مرجع) نیز از رابطه [۶] محاسبه شد (اختر و همکاران ۲۰۱۲):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad [6]$$

#### بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها در جلوگیری از

##### اکسیداسیون روغن سویا با روش پراکسید

برای تعیین مقدار پراکسید ابتدا ۵ گرم روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر وزن کرده و ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک-کلروفرم (با نسبت ۳:۲) به آن افزوده و هم زده شد تا روغن در آن حل شود. به این محلول ۰/۵ میلی‌لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع شده اضافه و پس از ۱ دقیقه، ۳۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد. محلول به آرامی با تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تیترا شده و پس از آنکه رنگ زرد از بین رفت، ۰/۵ میلی‌لیتر شناساگر نشاسته ۱٪ به آن افزوده و تیتراسیون ادامه داده شد تا رنگ آبی از بین برود. در ضمن تیتراسیون محلول به شدت تکان داده شد تا لایه کلروفرم آزاد شود. عدد پراکسید از رابطه [۷] محاسبه گردید:

$$PV = (S(s) - S(b) \times N \times 1000) / (m) \quad [7]$$

رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند. ضریب تراوایی گاز در پلیمر طبق رابطه [۴] محاسبه شد:

$$OP = \frac{Q \times L}{A \times (P_1 - P_2)} \quad [4]$$

که در این رابطه OP نفوذپذیری فیلم به اکسیژن  $(ml.\mu m/m^2.day.Kpa)$ ،  $Q$  دبی گاز عبوری از فیلم  $(ml/day)$ ،  $L$  ضخامت غشا  $(\mu m)$ ،  $P_1$  و  $P_2$  فشار گاز در بالادست و پایین دست فیلم  $(KPa)$  و  $A$  سطح مقطع غشا  $(m^2)$  است.

#### اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری به بخار آب

برای انجام این آزمایش از روش استاندارد ASTM E96 استفاده گردید. در این روش از یک سری فنجان‌های آزمایشگاهی با ارتفاع ۸/۵ و قطر داخلی ۲/۵ استفاده گردید. داخل هر فنجان ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد (این مقدار آب در دمای  $25^\circ C$ ، رطوبت نسبی معادل ۱۰۰٪ ایجاد می‌کند). هر یک از فیلم‌های بر دهانه یکی از این فنجان‌ها قرار گرفته و لبه آن‌ها به وسیله پارافین مایع بر روی فنجان محکم گردید تا هیچ منفذی برای خروج بخار آب به جز سطح مقطع معینی از فیلم موجود نباشد و سپس درب‌های واشر دار روی آن‌ها قرار گرفت تا کاملاً محکم شود. سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند (سیلیکاژل به‌عنوان جاذب برای جذب رطوبت موجود در هوا استفاده می‌شود که قبلاً در آون با دمای  $110^\circ C$  کاملاً فعال شده است). اختلاف فشار رطوبت در دو سمت فیلم در دمای  $25^\circ C$  فشار بخاری معادل ۳/۱۷۹ کیلو پاسکال (طبق جدول بخار اشباع) ایجاد می‌کند. کاهش وزن فنجان‌ها طی زمان اندازه‌گیری شد تا فنجان‌ها به وزن ثابتی برسند و با رسم منحنی تغییرات وزن فنجان نسبت به زمان، یک خط راست حاصل شد و شیب آن محاسبه گردید. میزان نفوذپذیری از رابطه [۵] محاسبه شد.

$$WVP = \frac{S \times L}{\Delta P \times A \times 3600} \quad [5]$$

IC<sub>50</sub> کمتر باشد نشان‌دهنده قدرت بازدارندگی بیشتر رادیکال DPPH توسط آنتی‌اکسیدان است. همان‌طور که در جدول ۱ معلوم است ( $P < 0/05$ ) مقدار IC<sub>50</sub> مربوط به میخک کمتر از BHT است. در اینجا مقادیر لازم از میخک در مقایسه با BHT برای این‌که ۵۰ درصد اثر مهارکنندگی داشته باشد بسیار پایین‌تر است و این نشان‌دهنده توانایی بسیار خوب میخک به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی جایگزین ترکیبات سنتزی است. در تحقیقی که توسط گلشین و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد، قدرت بازدارندگی رادیکال DPPH را در غلظت ۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس میخک، BHT، آلفا توکوفرول، BHA و تورولوکس را به ترتیب ۸۳/۶، ۶۷/۸، ۶۴/۹، ۶۲/۵ و ۲۹/۴ درصد و مقدار IC<sub>50</sub> میخک را ۲۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند. همچنین مارتوس و همکاران (۲۰۰۹)، مقدار IC<sub>50</sub> در بازدارندگی رادیکال DPPH را برای اسانس‌های میخک، پونه کوهی، مریم‌گلی و BHT به ترتیب برابر ۰/۳۸، ۳/۹، ۴/۲ و ۰/۵۳ گرم بر لیتر گزارش کردند که این قدرت بالاتر اسانس میخک به خاطر ترکیبی به نام یوژنول است که بیش از ۸۵ درصد ترکیبات فنولیک آن را تشکیل می‌دهد. بامداد و همکاران (۲۰۰۶)، در بررسی اثر غلظت ۱۰۰ ppm عصاره میخک، زیره سیاه و BHT با روش مهارکنندگی رادیکال DPPH اعلام کردند که درصد بازدارندگی آن‌ها به ترتیب برابر با ۳۰/۵، ۴۰/۵ و ۱۱/۱۱ درصد است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود نتایج به‌دست آمده از سایر تحقیقات نیز نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی مناسب اسانس میخک در مقایسه با سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است.

در این معادله PV عدد پراکسید (میلی اکی والان اکسیژن بر گرم نمونه)، S(s) حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای نمونه (میلی‌لیتر)، S(b) حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای شاهد (میلی‌لیتر)، N نرمالیه تیوسولفات سدیم و m نیز وزن نمونه بر حسب گرم است (AOCS, ۱۹۹۸).

### آزمون‌های آماری نتایج

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل انجام شد. برای آنالیز نتایج حاصله از نرم‌افزار SAS و روش آزمون مقایسه میانگین حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده گردید. کلیه آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام شدند.

### نتایج و بحث

#### مقدار ترکیبات فنولیک کل و خواص آنتی‌اکسیدانی

##### اسانس‌ها در مدل سیستم‌های مختلف

مقدار ترکیبات فنولیک کل می‌تواند یکی از شاخص‌های مهم برای تشخیص قدرت آنتی‌اکسیدانی باشد. مقدار ترکیبات فنولیک کل بر اساس مقادیر مختلف جذب اسانس‌های واکنش داده با معرف فولین سیوکالتو و مقایسه آن با محلول‌های استاندارد تانیک اسید هم‌ارز بدست آمد. نتایج این آزمایش‌ها برای اسانس میخک و BHT در جدول ۱ آمده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، میخک دارای میزان بالایی ترکیبات فنولیک است و این به معنی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای این گیاه است. مارتوس و همکاران (۲۰۰۹) مقدار ترکیبات فنولیک کل را برای اسانس میخک، پونه کوهی و مریم‌گلی، به ترتیب ۸۹۸/۹۸، ۷۶۳/۹۷ و ۱۲۲/۹۸ میلی‌گرم بر حسب گالیک اسید در لیتر نمونه گزارش کردند.

#### به دام انداختن رادیکال‌های آزاد با روش DPPH

قدرت به دام انداختن رادیکال آزاد DPPH بر اساس IC<sub>50</sub> در جدول ۱ نشان داده شده است. هر چه مقدار

جدول ۱- مقدار کل ترکیبات فنولیک و فعالیت  
آنتی‌اکسیدانی ( $IC_{50} \pm SD, \mu g/ml$ ) اسانس میخک و  
BHT در مدل سیستم‌های مختلف

نمونه	آزمایش	TP*	DPPH	BCB	RP
میخک		۲۱۷/۵۱ ± ۱۷/۷۰	۲/۷۱ <sup>b</sup> ± ۰/۰۵	۷۵/۶۴ <sup>a</sup> ± ۳/۸۸	۵۳/۵۴ <sup>b</sup> ± ۱/۰۳
BHT		-	۱۲/۸۹ <sup>a</sup> ± ۱/۷۲	۶۲/۸۶ <sup>b</sup> ± ۱/۶۲	۶۱/۵۶ <sup>a</sup> ± ۰/۸۷

\*TP = مقدار کل ترکیبات فنولیک (میلی‌گرم بر لیتر نمونه)،  
DPPH = قدرت بازدارندگی رادیکال، BCB = قدرت بازدارندگی  
لینولئیک اسید، RP = قدرت احیاکنندگی

ممانعت از بی‌رنگ شدن امولسیون بتا کاروتن/  
لینولئیک اسید

این روش یک روش اسپکتروفتومتری است که نشان‌دهنده توانایی اسانس در جلوگیری از بی‌رنگ شدن بتا کاروتن در امولسیون بتا کاروتن/لینولئیک اسید است (کولیسیک و همکاران ۲۰۰۴). نتایج این آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مقدار  $IC_{50}$  مربوط به BHT کمتر از اسانس میخک است. در طی انجام آزمایش مشاهده شد که غلظت‌های ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر اسانس میخک در مقایسه با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر BHT تفاوت معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) ندارد اما در غلظت‌های کمتر، اسانس ضعیف‌تر از BHT بود. با افزایش غلظت اسانس و BHT درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز بیشتر شد که دلیل این امر به خاطر افزایش غلظت ترکیبات فنولیکی در امولسیون و در نتیجه افزایش قدرت آن‌ها در جلوگیری از بی‌رنگ شدن بتا کاروتن است. در تحقیقی که توسط بامداد و همکاران (۲۰۰۶)، در بررسی اثر غلظت ۱۰۰ ppm عصاره میخک، زیره سیاه و BHT با روش بتا کاروتن انجام شد، فعالیت آن‌ها را به ترتیب برابر با ۹۱/۳، ۸۸/۹ و ۹۹ درصد گزارش کردند.

قدرت احیاکنندگی

در مدل سیستم قدرت احیاکنندگی، هر چه مقدار جذب عدد بالاتری باشد نشان‌دهنده قدرت احیاکنندگی بیشتر

است. نتایج این آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است، همان‌طور که ملاحظه می‌شود اسانس میخک با اختلاف زیادی ( $P < 0.05$ ) از BHT قدرت احیاکنندگی بالاتری را نشان داده است و توانسته است در غلظت‌های بسیار کمتری به جذب ۰/۵ برسد. اسانس گیاه میخک در تمامی غلظت‌ها دارای تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) با BHT است و فقط در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آن با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT اختلاف معنی‌دار ندارد ( $P > 0.05$ ) و مشاهده شد که با افزایش غلظت‌ها بر مقدار جذب نیز افزوده می‌شود. گلشین و همکاران (۲۰۱۰)، مقدار جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر را برای غلظت ۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس میخک، BHT، BHA و آلفاتوکوفرول را به ترتیب حدود ۱/۶، ۱/۲، ۱/۳ و ۰/۷ گزارش کرده‌اند.

بررسی ویژگی‌های فیلم

ضخامت فیلم

ضخامت فیلم از جمله فاکتورهای مهم فیلم است که می‌تواند روی ممانعت‌کنندگی به عبور گازها و بخار آب و خواص مکانیکی محصولی که با آن پوشش داده شده است تأثیر بگذارد. در جدول ۲ مقایسه میانگین ضخامت فیلم‌ها نشان داده شده است همان‌طور که مشاهده می‌شود در اینجا اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین ضخامت نمونه‌های بدون اسانس و فیلم ترکیب‌شده با اسانس میخک پس از خشک شدن وجود دارد. ضخامت فیلم با افزودن اسانس کاهش نشان داده است که این نشان‌دهنده از دست دادن مقداری از اسانس طی خشک‌کردن و در نتیجه کاهش مواد جامد کل شرکت‌کننده در ساختار فیلم است. اسانس‌ها همچنین می‌توانند با افزایش آب‌گریزی فیلم باعث کاهش جذب رطوبت و تورم فیلم شوند. علاوه بر این موارد فاکتور ضخامت تحت تأثیر عواملی همچون نوع پلیمر، مقدار ماده خشک، دمای خشک‌کردن و نوع ترکیبات بکار رفته



به بخار آب فیلم می‌شود که دلیل این امر به خاطر افزایش خاصیت آب‌گریزی فیلم حاوی اسانس است.

### نفوذپذیری به اکسیژن

نفوذپذیری به گازها و بخارهای محیط روی خواص مکانیکی بسته‌بندی و نیز افت ترکیبات فرار غذا نظیر طعم‌دهنده‌ها یا گازها ( $\text{CO}_2$  و  $\text{O}_2$ ) به همراه انتقال احتمالی ترکیبات نامطبوع محیطی به ماده بسته‌بندی شده تأثیر می‌گذارند. از این رو، در اغلب موارد نفوذپذیری کم نسبت به گازها مزیت بزرگی در حفظ کیفیت ماده غذایی به شمار می‌رود (کروچتا و میلر ۱۹۹۷؛ سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱a). همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین نمونه‌های فیلم وجود دارد. تغییرات نفوذپذیری به اکسیژن نیز مشابه نفوذپذیری به بخار آب بود یعنی با افزودن اسانس مقدار نفوذپذیری کاهش یافت. فیلم حاوی اسانس نفوذپذیری به اکسیژن کمتری نسبت به فیلم فاقد اسانس داشت. احتمالاً اسانس‌ها در اینجا با پر کردن فضاهای خالی ایجاد شده در شبکه بزرگ با ساختار خطی HPMC (که به علت وجود گلیسرول در ترکیب فیلم مقدار این فضاهای خالی بیشتر شده است) باعث ایجاد ساختار محکم‌تری در مقابل عبور گاز شده‌اند. روجاز و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر اسانس لیموترش در فیلم آلژیناتی-پوره سیب اعلام کردند که اسانس باعث کاهش نفوذپذیری به گازها می‌شود.

### تغییرات رنگ در فیلم

رنگ نیز یکی از فاکتورهای مهم کیفیت فیزیکی، مقدار عبور نور (فتواکسیداسیون) و مقبولیت محصول برای مشتری است. می‌توان با اندازه‌گیری رنگ میزان برخی از ترکیبات ساختار فیلم را نیز اندازه‌گیری نمود (کروچتا و میلر ۱۹۹۷؛ سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱a). در جدول ۳ میانگین پارامترهای رنگ سنجی برای فیلم‌ها نشان داده شده است. این نتایج اندازه‌گیری بر اساس ۴ تکرار برای نمونه‌های فیلم و تبدیل از

در ترکیب پلیمر قرار می‌گیرد (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱a).

### جدول ۲- نتایج اندازه‌گیری ضخامت و آزمون‌های

#### نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن فیلم HPMC

صفت فیلم	ضخامت ( $\mu\text{m}$ )	نفوذپذیری به بخار آب ( $\text{g.m/m}^2.\text{s.Pa}$ ) $\times 10^{11}$	نفوذپذیری به اکسیژن ( $\text{ml}.\mu\text{m}^2.\text{day.Kpa}$ )
بدون اسانس	$135/44 \pm 2/44^a$	$230/199 \pm 2/02^a$	$488/78 \pm 20/46^a$
با اسانس میخک	$130/04 \pm 2/14^b$	$177/04 \pm 7/09^b$	$292/02 \pm 14/48^b$

\* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها است ( $P < 0.05$ )

### نفوذپذیری به بخار آب

نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های خوراکی با قابلیت آن‌ها در تازه نگه‌داشتن محصولات غذایی، جلوگیری از حبس رطوبت متصاعد شده از محصولات مرطوب یا جلوگیری از کپک زدن محصولات خشک مرتبط است (کروچتا و میلر ۱۹۹۷). مقایسه میانگین داده‌های نفوذپذیری به بخار آب در نشان می‌دهد که بین فیلم‌ها اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) دیده می‌شود (جدول ۲). فیلم حاوی اسانس نفوذپذیری نسبت به بخار آب کمتری نسبت به فیلم فاقد اسانس داشت. نمونه‌های دارای اسانس میخک به علت افزایش خاصیت آب‌گریزی (سانچز-گونزالز و همکاران ۲۰۱۱b) در فیلم نسبت به فیلم بدون اسانس بهتر عمل کرده‌اند. آتارس و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی افزودن اسانس زنجبیل به فیلم HPMC اعلام کردند که در دماهای پایین فیلم حاوی اسانس اثر ممانعت‌کنندگی خوبی در مقابل بخار آب دارد اما با افزایش دما اثر آن ضعیف می‌شود که این به دلیل حرکت فاز روغنی اسانس به سطح و ایجاد ساختاری ناهمگون در فیلم است به‌صورتی که حتی از فیلم بدون افزودنی نیز اثر کمتری داشته است. در تحقیقی دیگر توسط سانچز-گونزالز و همکاران (۲۰۱۱a) اعلام کردند که افزودن ۳ درصد اسانس ترنج به فیلم کیتوزان باعث کاهش ۵۰ درصدی در نفوذپذیری

## جدول ۳- نتایج اندازه‌گیری پارامترهای رنگی

## فیلم HPMC

ΔE	b*	a*	L*	صفت فیلم
۰	-۱/۳۰ <sup>b</sup> ± ۱/۱۹	۰/۴۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۶	۹۵/۴۷ <sup>a</sup> ± ۲/۲۰	بدون اسانس
۵/۲۴ ± ۱/۵۹	-۰/۳۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۴	۰/۴۳ <sup>a</sup> ± ۰/۰۷	۹۳/۳۹ <sup>b</sup> ± ۲/۲۳	با اسانس میخک

\* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها است ( $P < 0.05$ )

همچنین سانچز-گونزالز و همکاران (۲۰۱۱b)، در بررسی اثر افزودن چند اسانس مختلف به فیلم کیتوزان و HPMC مشاهده کردند که با افزایش غلظت تمامی اسانس‌ها شفافیت نیز کاهش می‌یابد.

## ویژگی‌های مکانیکی فیلم

ویژگی‌های مکانیکی بسته‌بندی یکی از عوامل مهم در نگهداری و حمل‌ونقل مواد غذایی است. باید بسته بتواند ماده غذایی را در مقابل ضربات مکانیکی و استرس‌های فیزیکی حفظ کند و مخصوصاً در فیلم‌های خوراکی باید بسته بتواند در مدت‌زمانی که غذا داخل آن محصور است در برابر عوامل محیطی مقاومت فیزیکی خود را حفظ کند. در جدول ۴ میانگین درصد کشش، استحکام کششی و مدول الاستیسیته فیلم‌ها نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که اسانس‌ها روی درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی و استحکام کششی تأثیر معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) گذاشته‌اند. فیلم بدون اسانس دارای بیشترین مقدار درصد کشش، مقاومت کششی و مدول الاستیسیته بود. اسانس باعث کاهش ۵/۶ درصدی کشش شده است و این به خاطر این است که اسانس باعث تغییر در ساختار یکنواخت فیلم شده است، بدین‌صورت که فیلم خالص دارای اتصالات جانبی فراوانی بین رشته‌های خود است، اما اسانس که خاصیت آب‌گریزی دارد به‌صورت قطرات بسیار ریزی در بین این رشته‌ها قرار می‌گیرد و باعث کاهش اتصالات درون‌شبکه‌ای در فیلم می‌گردد. از نظر مقاومت

سیستم RGB به سیستم  $CIE L^*a^*b^*$  تعیین گردید. همان‌طور که مشاهده می‌شود مقایسه میانگین داده‌ها از لحاظ روشنایی یا پارامتر  $L^*$  (سفیدی-سیاهی)، فیلم بدون اسانس دارای مقدار بالاتری است و اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین نمونه‌ها وجود دارد؛ اما فیلم حاوی اسانس میخک فیلمی با رنگ متمایل به سفید ایجاد کرده است. دلیل این تفاوت‌ها به خاطر رنگ اسانس میخک است که با ایجاد کدورت روی میزان روشنایی و یکنواختی ساختار سطحی فیلم اثر گذاشته است (روجاز و همکاران ۲۰۰۷). پارامتر  $a^*$  منفی در ناحیه سبز است و  $a^*$  مثبت در ناحیه قرمز؛ داده‌ها از نظر این پارامتر برای فیلم بدون اسانس و فیلم حاوی اسانس میخک اختلاف معنی‌داری با هم نداشته‌اند ( $P > 0.05$ ). مقدار  $b^*$  منفی در ناحیه آبی و مقدار  $b^*$  مثبت در ناحیه زرد است. تمام نمونه‌ها از لحاظ این پارامتر اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) داشتند و همگی در ناحیه آبی قرار گرفتند چراکه همگی مقداری منفی به خود گرفته‌اند. در اینجا فیلم بدون اسانس مقدار منفی‌تری را به خود اختصاص داده است که این به دلیل عدم وجود اسانس و تأثیر آن روی این پارامتر رنگی است. در مورد اختلاف رنگ نمونه‌ها ( $\Delta E$ ) با فیلم بدون اسانس (به‌عنوان مرجع) این اختلاف به خاطر وجود اسانس در ساختار پلیمر HPMC و تأثیر آن روی ویژگی‌های رنگی است. ولی به دلیل بی‌رنگ بودن اسانس میخک تفاوت رنگ کمی مشاهده می‌شود. روجاز و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی افزودن اسانس لیموترش به فیلم آلژیناتی-پوره سیب اعلام کردند که افزودن اسانس‌ها به فیلم‌ها معمولاً باعث کاهش شفافیت و حالت شیشه‌ای فیلم می‌شود که این امر به دلیل ایجاد یک سطح ناهموار در سطح فیلم در زمان خشک‌کردن است که اسانس معمولاً در سطح فیلم جمع شده و باعث ایجاد ناهمگونی در سطح می‌شود. البته در غلظت‌های پایین اسانس این تغییرات چندان قابل‌ملاحظه نیست.

فیلم کیتوزان و HPMC مشاهده کردند که با افزایش غلظت تمامی اسانس‌ها درصد کشش، مقاومت کششی و مدول الاستیکی کاهش معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) داشته است.

#### بررسی اثر محافظتی فیلم‌ها بر روند اکسیداسیون روغن سویا

روند تغییرات پراکسید حاصل‌شده در نمونه‌های روغن بسته‌بندی‌شده توسط فیلم‌ها طی دوره نگهداری به مدت ۶۰ روز در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با گذشت زمان بر مقدار پراکسید تمام نمونه‌ها افزوده شده است. مقدار پراکسید در نمونه شاهد (روغن بسته‌بندی‌شده توسط شیشه) روز اول ۱/۵۳ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن و در روز آخر دارای بیشترین مقدار (۹۲/۶۷ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن) نسبت به نمونه‌های بسته‌بندی‌شده توسط فیلم خوراکی بود. همچنین مقدار پراکسید در نمونه‌های پوشیده شده توسط فیلم‌های بدون اسانس و فیلم حاوی اسانس میخک در روز آخر به ترتیب برابر با ۸۵/۸۹ و ۴۸/۶۷ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود. از روز پانزدهم به بعد تمام نمونه‌ها دارای نرخ رشد زیادی بودند اما این نرخ سایرین بود ولی از روز چهل و پنجم به بعد دارای رشد سریعی شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در پایان دوره نگهداری نمونه بدون پوشش فیلم خوراکی (روغن داخل شیشه) و روغن پوشیده شده توسط فیلم بدون اسانس به ترتیب بیشترین مقدار پراکسید را به خود اختصاص داده‌اند و با روغن پوشیده شده توسط فیلم حاوی اسانس میخک اختلاف معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) دارند؛ اما فیلم حاوی اسانس میخک در طی دوره نگهداری نیز اثر خوبی از خود نشان داد به طوری که میانگین عدد پراکسید آن‌ها به ترتیب اثر برای فیلم‌های حاوی اسانس میخک برابر ۱۶/۹، فیلم بدون آنتی‌اکسیدان برابر ۳۳/۳ و نمونه شاهد داخل

کششی نیز تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) داشتند؛ در اینجا نیز اسانس باعث کاهش در حدود ۱۵ مگاپاسکال در مقاومت کششی فیلم‌های حاوی اسانس نسبت به نمونه فاقد اسانس شده است. از لحاظ پارامتر مدول الاستیسیته فیلم فاقد اسانس با نمونه حاوی اسانس میخک اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ) و فقط فیلم حاوی اسانس میخک کاهش اندکی به میزان حدود ۰۸ مگاپاسکال داشت. به‌طور کلی افزودن اسانس باعث کاهش سفتی فیلم‌ها شده است.

#### جدول ۴- مقایسه میانگین ( $\pm SD$ ) خواص مکانیکی

##### فیلم HPMC با و بدون اسانس میخک.

صفت فیلم	درصد کشش		مقاومت کششی		مدول الاستیسیته	
	(مگا پاسکال)		(مگا پاسکال)		(مگا پاسکال)	
بدون اسانس	۲۳/۵۶ <sup>a</sup> ± ۳/۷۷	۲۷/۳۵ <sup>a</sup> ± ۴/۵۷	۵۳۷/۵۴ <sup>a</sup> ± ۸۶/۴۱			
با اسانس میخک	۱۷/۹۰ <sup>b</sup> ± ۲/۴۴	۱۲/۳۴ <sup>b</sup> ± ۳/۳۵	۴۷۸/۹۶ <sup>a</sup> ± ۶۷/۴۸			

\* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها است ( $P < 0/05$ )

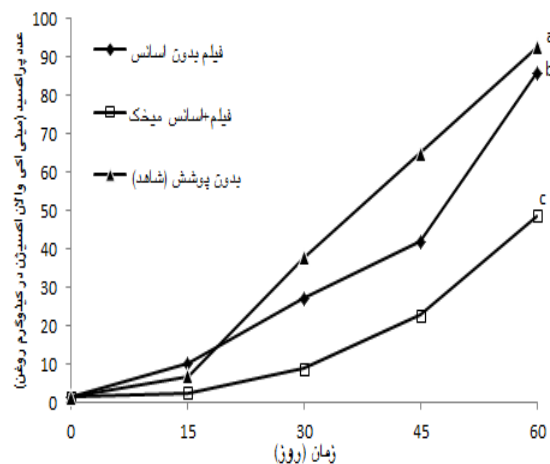
آتارس و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی افزودن اسانس زنجبیل به فیلم HPMC اعلام کردند که از نظر ویژگی‌های مکانیکی، فیلم حاوی اسانس مدول الاستیکی و مقاومت کششی کمتری دارد. همچنین سانچز-گونزالز و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اثر اسانس درخت چای در فیلم خوراکی HPMC اعلام کردند که با افزایش غلظت اسانس، نفوذپذیری به بخار آب کاهش می‌یابد ولی ویسکوزیته و شفافیت افزایش می‌یابد و در بررسی خواص مکانیکی برای غلظت ۲ درصد اسانس در فیلم نیز درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی تغییرات معنی‌داری نداشته است ( $P > 0/05$ ). همچنین مقاومت کششی و مدول الاستیسیته به‌صورت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش یافته‌اند. همچنین همان محققان (۲۰۱۱b)، در بررسی اثر افزودن چند اسانس مختلف به

بیشترین فعالیت مربوط به فیلم‌های حاوی عصاره میخک <BHA> دارچین< چای سبز با مقادیر ۱۰۵/۱۱، ۱۰۴/۹۹، ۱۰۴/۶۶ و ۸۸/۷۹ درصد و در روش بتاکاروتن به ترتیب مربوط به BHA< میخک< دارچین< چای سبز بود با مقادیر ۷۳/۵۱، ۶۴/۵۸، ۶۰/۲۹ و ۲۳/۴۲ درصد بود و در بررسی عدد پراکسید روغن سویا (که قبلاً برای تسریع شرایط تا دمای ۱۵۰°C حرارت دیده) داخل بسته‌بندی اثر سلولز به مدت ۸ هفته در دمای ۴۰°C مقدار آن را برای فیلم‌های ترکیب‌شده با BHA، دارچین، میخک و چای سبز به ترتیب برابر با ۵۱۷، ۴۸۴، ۵۳۰ و ۴۸۲ میلی اکسیژن بر کیلوگرم روغن گزارش کردند.

#### نتیجه‌گیری

مهم‌ترین هدف استفاده از اسانس میخک در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر HPMC، بهبود اثرات آنتی‌اکسیدانی، بهبود خصوصیات نفوذپذیری این فیلم‌های هیدروفیل و کاهش از دست رفتن ترکیبات فرار اسانس در طول زمان نگهداری است. در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهارکنندگی رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی درصد بازدارندگی اسانس میخک بیشتر از BHT بود. در روش بتاکاروتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT بیشتر از اسانس میخک بود. اسانس میخک باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها شد که یکی از بزرگ‌ترین معایب این فیلم‌ها است. مقدار نفوذپذیری به اکسیژن نیز با افزودن اسانس کاهش یافت. در بررسی تأثیر اسانس میخک روی ویژگی‌های نوری مشاهده شد که افزودن اسانس باعث کاهش شفافیت و روشنایی فیلم‌ها شد. در بررسی خواص مکانیکی فیلم‌ها، اسانس باعث کاهش درصد کشش، مقاومت کششی و مدول الاستیکی شده‌اند یعنی به‌طور کلی باعث کاهش سفتی فیلم‌ها شدند. در بررسی عدد پراکسید، فیلم‌های حاوی اسانس میخک اثر بهتری در جلوگیری از اکسیداسیون روغن در مقایسه با نمونه

شیشه برابر ۴۰/۸ میلی اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود. آتارس و همکاران (۲۰۱۱)، در بررسی افزودن اسانس زنجبیل، اسید آسکوربیک و اسیدسیتریک با غلظت ۰/۵ درصد (وزنی/وزنی) به فیلم HPMC و اندازه‌گیری مقدار پراکسید روغن بادام در رطوبت نسبی ۵۰ درصد مشاهده کردند که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به فیلم حاوی اسانس، اسیدسیتریک، اسید آسکوربیک و فیلم فاقد افزودنی بود؛ اما در رطوبت نسبی ۳۳٪ بعد از ۱۱۸ روز نگهداری در دمای ۴۰°C بهترین فعالیت مربوط به اسیدسیتریک و اسید آسکوربیک بود و با هم اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند ( $P > 0/05$ ) همچنین فیلم بدون افزودنی و فیلم حاوی اسانس نیز اختلاف معنی‌داری نداشتند ( $P > 0/05$ ) که دلیل آن را به خاطر اکسید شدن خود اسانس در طول زمان و رطوبت نسبی پایین نسبت داده‌اند.



شکل ۱- تغییرات عدد پراکسید در روغن بسته‌بندی‌شده با فیلم خوراکی HPMC

فوپوریتام و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر افزودن عصاره گیاهان مختلف به فیلم‌های اتر سلولزی و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های حاصله با روش‌های مختلف اعلام کردند که برای غلظت ۰/۱ درصد (وزنی/وزنی) در روش DPPH به ترتیب

پوشیده شده توسط فیلم بدون اسانس از خود نشان دادند.

#### منابع مورد استفاده

- Akhtar MJ, Jacquot M, Jasniewski J, Jacquot C, Imran M, Jamshidian M, Paris C and Desobry S, 2012. Antioxidant capacity and light-aging study of HPMC films functionalized with natural plant extract. *Carbohydr Polymers* 25: 1-9.
- AOCS, 1998. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society, Method: Cd 8-53. 5th Edn., AOCS, Champaign, IL (USA).
- ASTM, 1995. Standard test methods for water vapour transmission of materials. In: Standards Designations: E96-95. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp. 406-413.
- ASTM, 2001. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In: Standard D882. Annual Book of American Standard Testing Methods. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA. pp. 162-170.
- ASTM, 1983. Standard Test Method for Determining Gas Permeability Characteristics of Plastic 401 Film and Sheeting. D1434-82. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and 403 Materials, Philadelphia, PA, pp. 632-647.
- Atares L, Masia RP and Chiralt A, 2011. The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. *Journal of Food Engineering* 104: 649-656.
- Bamdad F, Kadivar M and Keramat J, 2006. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 20-27.
- Bourtoom T, 2008. Review Article: Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal* 15: 237-248.
- Ebrahimabadi AH, Mazoochi A, Kashi FJ, Djafari-Bidgoli Z and Batooli H, 2010. Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of the aerial parts of *Salvia eremophila* Boiss. from Iran. *Food and Chemical Toxicology* 48: 1371-1376.
- Gulcin I, Elmastas M and Enein HYA, 2010. Antioxidant activity of clove oil - A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of Chemistry* 5: 489-499.
- Imran M, Revol-Junelles AM, René N, Jamshidian M, Akhtar MJ, Tehrani EA, Jacquot M and Desobry S, 2012. Microstructure and physico-chemical evaluation of nanoemulsion based antimicrobial peptides embedded in bioactive packaging films. *Food Hydrocolloids* 29: 407-419.
- Jimenez A, Fabra MJ, Talens P, and Chiralt A, 2010. Effect of lipid self-association on the microstructure and physical properties of hydroxypropyl-methylcellulose edible films containing fatty acids. *Carbohydrate Polymers* 82: 585-593.
- Krochta JM and Mulder-Johnston CD, 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology* 51: 61-74.
- Krochta JM and KS Miller, 1997. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science and Technology* 8: 228-237.
- Kulic T, Radonic A, Katalinic V and Milos M, 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry* 85: 633-640.
- Labouffie F, Hémati M, Lamure A and Diguët S, 2013. Effect of the plasticizer on permeability, mechanical resistance and thermal behaviour of composite coating films. *Powder Technology* 238: 14-19.
- Martos MV, Mohamady MA, Fernández-López J, Abd ElRazik KA, Omer EA, Pérez-Alvarez JA and Sendra E, 2011. In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control* 22: 1715-1722.
- Phoopuritham P, Thongngam M, Yoksan R and Suppakul P, 2011. Antioxidant Properties of Selected Plant Extracts and Application in Packaging as Antioxidant Cellulose-Based Films for Vegetable Oil. *Packaging Technology and Science* 25: 125-136.
- Rojas-Graü MA, Avena-Bustillos RJ, Olsen C, Friedman M, Henika PR, Martín-Belloso O, Pan Zh and McHugh TH, 2007. Effects of plant essential oils and compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate apple puree edible films. *Journal of Food Engineering* 81: 634-641.

- Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Cháfer A, Cháfer M, 2011a. Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings. *Food Engineering. Review* 3:1-16.
- Sánchez-González L, Chiralt A, González-Martínez C and Cháfer M, 2011b. Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering* 105: 246-253.
- Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A and Cháfer M, 2009. Characterization of edible films based on hydroxyl propylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids* 23: 2102-2109.

## Evaluation of physical and antioxidant properties of biodegradable film of hydroxypropylmethylcellulose combined with clove essential oil

R Ghadermazi<sup>1\*</sup>, J Keramat<sup>2</sup> and S A H Goli<sup>3</sup>

Received: January 12, 2015

Accepted: September 30, 2015

<sup>1</sup>MSc Graduated Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

<sup>2</sup>Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

\* Corresponding author: E-mail: r.ghadermazy@ag.iut.ac.ir

### Abstract

In this study, the antioxidant activity of essential oil (EO) of clove in comparing to BHT was investigated using DPPH free radical scavenging,  $\beta$ -carotene/linoleic acid and reducing power methods. The EO was added to aqueous Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and then HPMC film was prepared, in first stage the effect of clove EO as a natural antioxidant in mechanical/optical properties and water vapor (WVP)/oxygen permeability (OP) of films was investigated. Subsequently, the antioxidant activities of films against soybean oil oxidation were evaluated during 60 days storage at 40 °C in a dark place by measuring the peroxide value (PV). Results of DPPH and reducing power assays showed that, higher antioxidant activity was observed for clove EO than BHT. The EO causes a significant decrease of WVP and OP of films. Also, addition of clove EO into HPMC film led to decrease of transparency and mechanical properties. In general, elongation percentage from 23.6 to 17.9%, tensile strength from 27.3 to 12.3 MPa and elastic modulus from 537.5 to 479 MPa in comparing to control film (without antioxidant) was decreased. HPMC film containing clove EO revealed a notable antioxidant activity against the soybean oil oxidation in comparing to control film ( $P < 0.05$ ) during the storage time.

**Keywords:** Clove essential oil, Natural antioxidants, Edible film, Soybean oil, Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)