

تهیه فیلم‌های فعال بر پایه کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک حاوی اسانس زنجبیل و تعیین ویژگی‌های فیزیکی، ضدکپکی و ضداکسایشی

نوشین نوشیروانی^۱، بابک قنبرزاده^{۲*}، رضا رضایی مکرّم^۳ و مهدی هاشمی^۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۱۶

^۱ دانش آموخته دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۲ به ترتیب استاد و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۳ دانشیار گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

*مسئول مکاتبه: Email: babakg1359@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش تولید فیلم‌های ضد میکروب بر پایه کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک و بررسی اثر افزودن اسانس زنجبیل بر ویژگی‌های مختلف فیزیکی، ضداکسایشی و ضدکپکی فیلم‌ها می‌باشد. نتایج طیف سنجی مادون قرمز برقراری اتصالات هیدروژنی بین اسانس زنجبیل و بستر پلیمر را اثبات نمود. افزودن اسانس زنجبیل باعث کاهش معنی دار ($P < 0/05$) میزان نفوذ پذیری نسبت به بخار آب فیلم خالص از $5/28 \times 10^{-7}$ به $0/99 \times 10^{-7}$ g/m.h.Pa در فیلم حاوی بالاترین غلظت اسانس زنجبیل شد. بر اساس نتایج بدست آمده در آزمون‌های نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، زاویه تماس و همچنین طیف سنجی مادون قرمز می‌توان عنوان نمود که افزودن اسانس زنجبیل با ویژگی آب گریزی به فیلم‌ها، منجر به بهبود خواص بازدارندگی نسبت به رطوبت فیلم‌ها شده است. نتایج آزمون مکانیکی افزایش ازدیاد طول تا نقطه شکست و کاهش استحکام کششی فیلم‌های حاوی اسانس زنجبیل را نشان داد ($P < 0/05$). نتایج آزمون رنگ نشان داد افزودن اسانس زنجبیل و افزایش غلظت آن باعث افزایش شدت رنگ فیلم‌ها می‌شود. فعالیت ضد اکسایش فیلم‌ها با اندازه گیری محتوای ترکیبات فنولی و بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH، وجود رابطه مستقیم بین محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت ضد اکسایشی فیلم‌های حاوی اسانس زنجبیل را نشان داد به طوری که فعالیت ضد اکسایش در فیلم خالص و فیلم حاوی بالاترین درصد اسانس از ۱۲/۴۵ به طور معنی داری ($P < 0/05$) به ۱۸/۳۴٪ افزایش یافت. نتایج آزمون انتشار دیسک خواص ضد کپکی کلیه فیلم‌ها بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* را نشان داد. به طور کلی نتایج این پژوهش فیلم کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک حاوی اسانس زنجبیل را به دلیل نشان دادن ویژگی‌های ضد کپکی و ضد اکسایشی، گزینه مناسبی در تولید بسته بندی مواد غذایی معرفی می‌نماید.

واژگان کلیدی: فیلم ضد میکروبی، اسانس زنجبیل، کیتوزان، کربوکسی متیل سلولز، کپک *آسپرژیلوس نایجر*

مقدمه

آلودگی‌های زیست محیطی به وجود آمده توسط پلاستیک‌های مشتق شده از ترکیبات نفتی در سال‌های اخیر توجه محققان و صنعتگران را به یافتن جایگزین‌های مناسب برای این مواد معطوف ساخته است (نوشیروانی و همکاران، ۱۳۹۱). بسته بندی‌های زیست تخریب پذیر بر پایه پلیمرهای طبیعی، جایگزین‌های مناسبی برای این مواد به شمار رفته و به حفظ ذخایر نفتی و محیط زیست کمک می‌نمایند (نوشیروانی و همکاران، ۲۰۱۶؛ نوشیروانی و همکاران، ۲۰۱۷a). کیتوزان بیوپلیمری مشتق شده از کیتین با توانایی تشکیل فیلم و بازدارندگی مناسب نسبت به گازها و خواص ضد میکروبی می‌باشد. هر چند بازدارندگی ضعیف فیلم خالص کیتوزان نسبت به بخار آب، یکی از مهمترین محدودیت‌های کاربرد آن در بسته بندی مواد غذایی می‌باشد. این مشکل تا حدودی توسط ترکیب نمودن کیتوزان با سایر پلیمرها قابل بهبود می‌باشد (نوشیروانی و همکاران، ۲۰۱۷b). به عنوان مثال وارگاس و همکاران (۲۰۱۱) کاهش بازدارندگی نسبت به رطوبت را در فیلم مخلوط کیتوزان-متیل سلولز مشاهده نمودند.

کربوکسی متیل سلولز پلیمری خطی و محلول در آب بوده که از سلولز تهیه می‌شود و به دلیل قیمت ارزان و غیر سمی بودن، شفافیت و خواص مطلوب تشکیل دهنده فیلم کاربرد زیادی در صنعت غذا، داروسازی، آرایشی بهداشتی و غیره دارد (فصیحی و همکاران، ۲۰۱۷). لذا ترکیب کربوکسی متیل سلولز با کیتوزان می‌تواند به بهبود خواص بازدارندگی و مکانیکی فیلم کمک نماید. هر چند پلیمرهای طبیعی به دلیل دارا بودن خواص آبدوستی بالا، بازدارندگی کمی نسبت به رطوبت نشان می‌دهند. بنابراین افزودن ترکیبات لیپیدی یا سایر مواد آب گریز مانند تری گلیسریدها، موم ها، اسیدهای چرب و غیره می‌تواند به حل این مشکل کمک نماید (پردونس و همکاران، ۲۰۱۴). در میان ترکیبات لیپیدی اسید اولئیک به دلیل حساسیت کم نسبت به اکسیداسیون و بهبود

شکنندگی فیلم گزینه مناسبی در بسته بندی مواد غذایی به شمار می‌رود. کاهش بازدارندگی فیلم با افزودن اسید اولئیک به فیلم‌های کربوکسی متیل سلولز (قنبرزاده و الماسی، ۲۰۱۱) و کیتوزان (وارگاس و همکاران، ۲۰۰۹) گزارش شده است.

از سوی دیگر آلودگی میکروبی مواد غذایی مشکل مهمی در حفظ سلامت مصرف کنندگان می‌باشد. در این راستا، استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی راه متداول مقابله با این مشکل به شمار می‌رود. هر چند مشکلات احتمالی به وجود آمده توسط نگهدارنده‌های شیمیایی بر روی سلامت انسان و تمایل مصرف کنندگان به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی و غذاهای عاری از نگهدارنده‌های شیمیایی، اهمیت استفاده از جایگزین‌های مناسب برای این ترکیبات را دو چندان ساخته است (نوشیروانی و همکاران، ۲۰۱۷c). در این راستا افزودن اسانس‌های طبیعی به فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی و تولید بسته بندی فعال مورد استقبال بسیاری از پژوهشگران و صنعتگران قرار گرفته است (مارتوسی و همکاران ۲۰۱۵). بسته بندی فعال نوعی بسته بندی است که با تغییر شرایط محیط بسته بندی باعث افزایش عمر ماندگاری و بهبود ایمنی و ویژگی‌های حسی ماده غذایی شده و به دلیل حفظ کیفیت و ایمنی مواد غذایی اهمیت زیادی در نگهداری مواد غذایی دارد (مارتوسی و همکاران ۲۰۱۵). روغن‌های اسانسی مخلوط پیچیده‌ای از ترکیبات مختلف شامل ترپن‌ها (منو ترپن‌ها و سسکوئی ترپن‌ها)، ترکیبات آروماتیک (آلدهید، الکل، فنول، مشتقات متوکسی و غیره) و ترپن‌نوئیدها (ایزوپرنوئیدها) می‌باشند (تانگن‌آنچان و همکاران، ۲۰۱۳) که ویژگی‌های ضد باکتریایی، ضد کپکی، ضد ویروسی و ضد اکسایشی مناسبی را نشان داده‌اند (برت، ۲۰۰۴). به علاوه روغن های اسانسی به دلیل کاهش واکنش‌های اکسایشی باعث افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی می‌شوند (تانگن‌آنچان و همکاران، ۲۰۱۳). خواص ضد میکروبی و ضد اکسایشی روغن‌های اسانسی به محتوای بالای ترکیبات

۴۱۰۰۰ گرم بر مول و معرف ۲ و ۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدریج تهیه شدند. گلیسرول، اسید اولئیک و توئین ۸۰ و معرف فولین-سیوکالتو از نماینده شرکت مرک تهیه شدند. محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) از شرکت Biokar Diagnostics فرانسه تهیه شد. سولفات کلسیم، نیتريت کلسیم، سولفات پتاسیم، سولفات سدیم انهدرو، اسید استیک و سایر مواد به کار رفته دارای درجه آزمایشگاهی بودند. گیاه زنجبیل از بازار محلی شهر همدان تهیه شد.

استخراج اسانس زنجبیل

اسانس زنجبیل به روش تقطیر آبی و توسط دستگاه کلونجر استخراج شد. ۵۰۰ گرم زنجبیل در دمای ۴۰°C به مدت ۳ روز خشک و سپس آسیاب شد. پودر زنجبیل بدست آمده به همراه ۱ لیتر آب داخل مخزن دستگاه ریخته شده و به مدت ۳ ساعت حرارت داده شد. سپس اسانس بدست آمده توسط سولفات سدیم انهدرو خشک شده و تا زمان مصرف در یخچال در دمای ۴°C نگهداری شد.

آماده‌سازی فیلم‌ها

فیلم‌ها توسط روش وارگاس و همکاران (۲۰۰۹) با اندکی تغییر تهیه شدند. به طور خلاصه کیتوزان (۰/۲ گرم) در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر اسیدی (۰/۵٪ حجمی/حجمی اسید استیک) حل شده و به مدت یک شب توسط همزن مغناطیسی با دور ۵۰۰ دور در دقیقه هم زده شد. سپس pH سوسپانسیون کیتوزان توسط سود ۳ مولار به ۶/۸ تنظیم شد. ۰/۴ گرم کربوکسی متیل سلولز به طور جداگانه در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و سپس دو سوسپانسیون با هم مخلوط شدند. توئین ۸۰ (۰/۲ گرم) به عنوان امولسیفایر اضافه شده و پس از ۱۵ دقیقه اختلاط اسید اولئیک (۰/۳ میلی لیتر) اضافه شده و مجدداً تا ۱۵ دقیقه همزده شد. سپس عمل تهیه امولسیون توسط اولتراسوند پروپ (Bandelin Sonopuls، آلمان) با قدرت ۳۱ کیلو ژول صورت پذیرفت. غلظت‌های مختلف اسانس

ترپنیک (آلفا پینن، بتا پینن، ۸۱ سینئول، متانول، لینالول) یا ترکیبات فنولیک نظیر کارواکرول، اوژنول و تیمول نسبت داده می‌شود (برت، ۲۰۰۴). گیاه زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale Rosc* متعلق به خانواده *Zingiberaceae* بوده و بیشتر در شرق آسیا و مناطق گرمسیر کشت می‌شود. ریزوم‌های زنجبیل از زمان‌های طولانی به عنوان ادویه مورد مصرف قرار گرفته است. همچنین زنجبیل به عنوان یکی از گیاهان مورد استفاده در طب سنتی به ویژه شرق آسیا بوده و امروزه به عنوان طعم دهنده در فرآورده‌های مختلف غذایی، دارویی و آرایشی بهداشتی و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد (سینگ و همکاران، ۲۰۰۸). آلفا زینگیبرنه ترکیب غالب اسانس زنجبیل را تشکیل می‌دهد و پس از آن اوژنول، زینگرون، گینگریول، گینگرول، گرانیال، المول، نرال، کامفر، لیمونن و آلفا فارنسن دیگر ترکیبات آن را شامل می‌شوند (فیلیپه و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعات پیشین اثرات ضدباکتریایی و ضدکپکی اسانس زنجبیل را به اثبات رسانده‌اند (گوینوت و همکاران، ۲۰۰۳ و سینگ و همکاران، ۲۰۰۸). بانسود و رای (۲۰۰۸) اثر مهارکنندگی اسانس زنجبیل را بر روی کپک‌های *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *آسپرژیلوس نایجر* نشان دادند. اگر چه در مورد خواص ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی مطالعات زیادی صورت گرفته است؛ اما کاربرد این ترکیبات در فیلم‌های خوراکی محدود است. لذا هدف از این مطالعه تولید بسته بندی بر پایه کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز-اسید اولئیک حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل و بررسی اثر اسانس زنجبیل بر روی ویژگی‌های فیزیکی، ضد میکروبی و ضد اکسایشی فیلم‌های تولید شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

کیتوزان با وزن مولکولی پائین (۵۰-۱۹۰ کیلو دالتون) و کربوکسی متیل سلولز سدیم با متوسط وزن مولکولی

و پارامترهای $L^* a^* b^*$ و C توسط مقیاس رنگ CIE-LAB اندازه گیری شد.

نفوذ پذیری نبت به بخار آب (WVP)

آهنگ انتقال بخار از فیلم‌ها بر اساس روش استاندارد ASTM E96 (۱۹۹۵) اندازه گیری شد. قبل از آزمون فیلم‌ها به مدت ۷۲ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵٪ مشروط شدند. ابتدا ۳ گرم سولفات کلسیم که رطوبت نسبی معادل ۰٪ ایجاد می کند در داخل ظرف‌های مخصوصی که درب آن منفذ داشته و قطعه‌های فیلم بر روی درب قرار داده شده بود، ریخته شد. سپس ظرف‌ها داخل خشکانه که حاوی محلول اشباع پتاسیم سولفات با رطوبت نسبی ۹۸٪ بود، قرار داده شدند. خشکانه داخل انکوباتور با دمای 25°C قرار گرفت و ظروف طی مدت ۴ روز هر چند ساعت یک بار توزین شدند. سپس منحنی افزایش وزن ظرف‌ها با گذشت زمان، رسم و شیب خط حاصل محاسبه شد. از تقسیم شیب خط مربوط به هر ظرف به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، سرعت انتقال بخار آب بر حسب $\text{g/m}^2\cdot\text{h}$ به دست آمد. سپس با استفاده از این (رابطه ۱) نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) محاسبه شد:

(رابطه ۱)

$$\text{WVP} = \frac{WVTR \times X}{P(R_1 - R_2)} \quad (\text{g/m.h.Pa})$$

در این رابطه X ضخامت فیلم (mm)، P فشار بخار آب خالص در 25°C (Pa)، R_2 رطوبت نسبی در خشکانه (۹۸٪) و R_1 رطوبت نسبی در داخل ظرف شیشه‌ای (۰٪) است. این آزمون برای هر یک از نمونه‌ها سه مرتبه تکرار شد.

اندازه گیری خواص مکانیکی

برای بررسی خواص مکانیکی بر اساس روش ASTM-882-91 D، از دستگاه آزمون کششی MTS Qtest / 25 (Elite controller، ساخت فرانسه) استفاده شد. فیلم‌ها به

زنجبیل (۲۵ و ۵۰ و ۷۵ میکرولیتر) به سوسپانسیون اضافه شده که به ترتیب حاوی ۳/۵، ۷ و ۱۰/۶٪ وزنی/وزنی (اسانس/پلی ساکارید) بود و به ترتیب با عناوین GEO1، GEO2 و GEO3 نشان داده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه عمل سونیکاسیون انجام شد. گلیسرول (۴۷٪ وزن پلی ساکارید) به عنوان نرم کننده اضافه شده و مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه توسط همزن مغناطیسی همزده شد. در پایان ۵۰ میلی لیتر از هر محلول داخل پلیت‌های شیشه‌ای (قطر ۹ سانتی متر) ریخته شد و در دمای 25°C به مدت ۷۲ ساعت خشک شد.

اندازه گیری ضخامت

ضخامت فیلم‌ها توسط میکرومتر دستی (Mitutoyo Corp، ژاپن) اندازه گیری شد. برای هر فیلم میانگین ضخامت توسط اندازه گیری در ۱۰ نقطه فیلم گزارش شد.

آزمون طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

به منظور بررسی پیوندهای شیمیایی بین پلیمر و اسانس زنجبیل از روش طیف سنجی مادون قرمز با استفاده از دستگاه اسپکترومتر ATR-FTIR (مدل PIKE technologies/Gladi ATRVERTEX 70 FTIR BRUKER آلمان) استفاده شد. در این روش فیلم‌ها به طور مستقیم روی محل نمونه دستگاه قرار گرفته و اسپکترا در محدوده $4000-400\text{cm}^{-1}$ با ۳۲ اسکن اندازه گیری شد.

زاویه تماس

زاویه تماس سطح فیلم‌ها توسط گونیومتر (Kruss DSA 100، آلمان) اندازه گیری شد. برای هر فیلم ۵ تکرار انجام شد.

رنگ سنجی

برای اندازه‌گیری خواص رنگی از دستگاه رنگ سنج CR-400 Minolta (Konika Minolta، اسپانیا) استفاده شد. فیلم‌ها بر روی یک صفحه سفید استاندارد قرار گرفته

به مدت ۲ دقیقه در تاریکی هم زده شد، سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداشته شد. مقدار جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی-ماوراء بنفش اندازه گیری شد و میزان بازداری رادیکال آزاد DPPH توسط رابطه ۲ محاسبه شد:

(رابطه ۲)

فعالیت بازداری رادیکال آزاد DPPH =

$$\frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \times 100$$

که در آن A_{blank} میزان جذب نمونه شاهد (مخلوط متانول و معرف DPPH عاری از نمونه) و A_{sample} جذب نمونه مورد آزمون می‌باشد.

اندازه‌گیری خواص ضد کپکی

کپک *آسپرژیلوس نایجر* (PTCC ۵۲۹۸) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. فعالیت ضد-کپکی فیلم‌ها بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* توسط روش دیسک انتشاری^۲ مورد بررسی قرار گرفت. ۱۵ میلی لیتر محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار داخل پلیت‌های استریل ریخته شده و پس از جامد شدن، ۱۰۰ میکرولیتر *سوسپانسیون کپک* که توسط لام نئوبار (Simax Kavalier، آلمان) تا غلظت 10^6 CFU/ml شمارش شده بود توسط آنس استریل بر روی محیط کشت گسترانده شد. سپس فیلم‌ها توسط پانچ استریل به صورت دوایری به قطر ۴ میلی متر بریده شدند و بر روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. در ادامه، پلیت‌ها توسط پارافیلیم پوشش داده شده و داخل انکوباتور با دمای 25°C به مدت ۶ روز قرار داده شد. سپس قطر هاله عدم رشد توسط خط کش دیجیتالی اندازه گیری شده (ارفات و همکاران، ۲۰۱۴) و درصد بازداری رشد کپک بر اساس رابطه ۳ محاسبه شد (سینگ و همکاران، ۲۰۰۸):

رابطه ۳

$$\frac{Dc-Dt}{Dc} \times 100 = \text{درصد بازداری رشد کپک}$$

صورت نوارهایی با ابعاد (۵ × ۶۰ میلی متر) بریده شده و استحکام کششی بر حسب MPa و ازدیاد طول تا نقطه شکست بر حسب % محاسبه شد. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب ۵۰ mm و ۵ mm/min تعیین شد. قبل از آزمون فیلم‌ها به مدت ۷۲ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵٪ مشروط شدند.

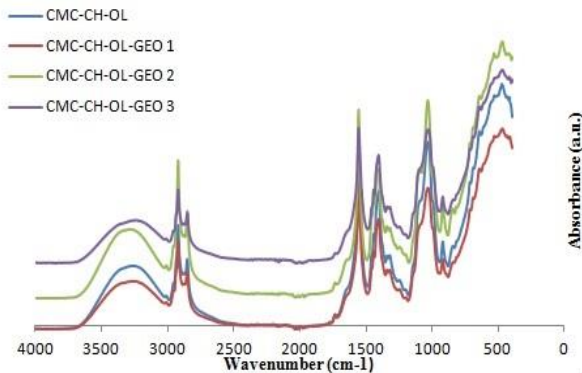
اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنولی

محتوای ترکیبات فنولی توسط روش ناشی پور و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییر با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو^۱ و بر اساس استاندارد اسید گالیک اندازه گیری شد. ابتدا فیلم‌ها به صورت نوارهایی به ابعاد $2 \times 1/5$ سانتی متر بریده شده و داخل ویال‌های تیره رنگ قرار گرفت، سپس ۵ میلی لیتر حلال متانول اضافه شده و به مدت ۵ روز توسط همزن مغناطیسی با دور ۲۵۰ دور در دقیقه همزه شد. سپس ۰/۰۵ میلی لیتر از عصاره بدست آمده با ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتو به مدت ۸ دقیقه در تاریکی مخلوط شد، در ادامه ۱ میلی لیتر محلول کربنات سدیم (۲۰٪ وزنی/حجمی) و ۸/۴۵ میلی لیتر آب اضافه شده تا حجم نهایی محلول به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شود. سپس مخلوط به طور منظم همزده شده و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق نگهداشته شد و سپس جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مرئی-ماوراء بنفش (Speccord 210, Analytik AG, Jena، آلمان) اندازه گیری شد. نتایج بر مبنای اسید گالیک در گرم نمونه خشک و بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی

فعالیت ضداکسایش فیلم‌ها توسط روش ناشی پور و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییر صورت گرفت. ابتدا ۲ میلی لیتر از عصاره بدست آمده (شرح داده شده در بخش اندازه گیری محتوای ترکیبات فنولی) به ۲ میلی لیتر معرف DPPH (محلول متانولی ۱۵۰ میکرومول) اضافه و

حاوی اسانس زنجبیل مشاهده نموده و دلیل آن را به افزایش آب‌گریزی فیلم‌ها به دلیل حضور روغن‌های اسانسی حاوی هیدروکربن در ساختار فیلم نسبت دادند.



شکل ۱- منحنی FTIR برای فیلم خالص کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک (CMC-CH-OL) و حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2، GEO3)

زاویه تماس

نتایج مربوط به زاویه تماس فیلم‌های مختلف در جدول ۱ آمده است. مقدار زاویه تماس به ترتیب از ۹/۲۲° برای فیلم کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک به ۲۷/۳۱°، ۳۱/۳۲° و ۲۹/۳۹° برای فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل افزایش یافت. افزایش زاویه تماس به کاهش آبدوستی سطح فیلم در حضور ترکیبات آب‌گریز و همچنین کاهش گروه‌های آزاد آمین و هیدروکسیل در شبکه پلیمر نسبت داده می‌شود (اجاق و همکاران، ۲۰۱۰). کاهش آبدوستی و افزایش آب‌گریزی فیلم توسط نتایج آزمون طیف سنجی مادون قرمز نشان داده شد (شکل ۱).

ضخامت

ضخامت فیلم‌های مختلف در جدول ۱ آورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود افزودن مقادیر بالای اسانس زنجبیل (GEO2 و GEO3) باعث افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) ضخامت فیلم‌های فعال شده است. افزایش ضخامت فیلم با افزودن اسانس مربوط به افزایش مقدار ماده افزوده شده به فیلم و همچنین ایجاد ساختاری با

که در آن D_c قطر متوسط کلنی در نمونه شاهد و D_t قطر متوسط رشد کلنی در نمونه بر حسب میلی‌متر می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

اثر اسانس زنجبیل بر روی ویژگی‌های مختلف فیلم در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. نتایج به دست آمده با استفاده از روش تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($p < 0.05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (V16) و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

آزمون طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

نتایج آزمون FTIR برای فیلم‌های مختلف در شکل ۱ آورده شده است. پیک 3369 cm^{-1} که به گروه‌های آمین و هیدروکسیل مرتبط است بعد از افزودن اسانس زنجبیل به عدد موج‌های 3371 ، 3363 و 3357 cm^{-1} انتقال یافت که بیانگر برقراری پیوندهای هیدروژنی بین بستر پلیمر و اسانس زنجبیل می‌باشد. حضور پیک تند در 2927 cm^{-1} و همچنین پیک در 2856 cm^{-1} مربوط به گروه‌های متیلن متقارن و نامتقارن در گروه‌های CH_2 و CH_3 می‌باشد که این پیک‌ها در چربی‌ها حضور دارند (ارفات و همکاران، ۲۰۱۴). شدت این پیک‌ها در عدد موج‌های 2927 cm^{-1} و 2856 cm^{-1} بعد از افزودن اسانس زنجبیل به فیلم، افزایش یافت که بیانگر افزایش آب‌گریزی با افزودن اسانس زنجبیل به فیلم می‌باشد. نتایج این پژوهش با پژوهش فرریرا و همکاران (۲۰۱۴) در فیلم‌های کیتوزان حاوی عصاره تفاله انگور، هورمیس و همکاران (۲۰۱۵) در فیلم‌های حاوی اسانس زیره سیاه و موم زنبور عسل و ارفات و همکاران (۲۰۱۴) در فیلم‌های ژلاتین حاوی روغن اسانسی ریحان و نانوذرات اکسید روی همخوانی دارد. همچنین تانگنوآنچان و همکاران (۲۰۱۳) افزایش شدت این پیک‌ها را در فیلم‌های ژلاتین

مختلف در جدول ۲ آورده شده است. افزودن اسانس زنجبیل باعث کاهش معنی دار ($p < 0.05$) روشنایی و افزایش زردی و سبزی فیلم‌ها شد. همچنین درجه سیری (C^*) با افزودن اسانس زنجبیل و افزایش غلظت آن به طور معنی داری افزایش یافت که بیانگر اثر اسانس زنجبیل بر روی رنگ فیلم کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک بوده است. به طور کلی رنگ فیلم-های خوراکی مستقیماً وابسته به نوع و غلظت اسانس افزوده شده به فیلم می‌باشد (آتارس و چیرالت، ۲۰۱۶).

تراکم کمتر بعد از افزودن اسانس زنجبیل می‌باشد (احمد و همکاران، ۲۰۱۲). این نتایج با نتایج مطالعات گذشته بر روی فیلم‌های بر پایه کفیران (قاسملو و همکاران، ۲۰۱۱) و آلژینات (بناویدس و همکاران، ۲۰۱۲) مطابقت دارد.

ویژگی‌های رنگی

ویژگی‌های رنگی شامل فاکتور روشنایی (L^*)، قرمزی (a^*)، زردی (b^*) و درجه سیری (C^*) برای فیلم‌های

جدول ۱- زاویه تماس (درجه) و ضخامت (mm) فیلم خالص کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک (CMC-CH-OL) و

حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2 و GEO3)

نوع فیلم	زاویه تماس (درجه)	ضخامت (mm)
CMC-CH-OL	$22/2 \pm 9/34^a$	0.13 ± 0.013^b
CMC-CH-OL-GEO1	$27/1 \pm 31/78^b$	$0.10 \pm 13/138^b$
CMC-CH-OL-GEO2	$32/1 \pm 31/98^c$	$0.10 \pm 15/036^a$
CMC-CH-OL-GEO3	$39/1 \pm 29/87^d$	$0.10 \pm 16/018^a$

حروف لاتین غیر یکسان در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۲- ویژگی‌های رنگی شامل فاکتور روشنایی (L^*)، قرمزی (a^*)، زردی (b^*) و شدت رنگ (C^*) برای فیلم خالص کربوکسی متیل

سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک و حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2 و GEO3)

نوع فیلم	L^*	a^*	b^*	C^*
CMC-CH-OL	$93/0 \pm 58/23^a$	$-0.0 \pm 64/03^c$	$7/0 \pm 63/25^c$	$7/0 \pm 67/14^c$
CMC-CH-OL-GEO1	$92/1 \pm 71/82^{b,c}$	$-0.0 \pm 75/1^b$	$7/1 \pm 25/34^b$	$7/1 \pm 29/34^b$
CMC-CH-OL-GEO2	$92/0 \pm 47/24^c$	$-0.0 \pm 79/06^a$	$7/0 \pm 33/13^b$	$7/0 \pm 37/13^b$
CMC-CH-OL-GEO3	$92/1 \pm 85/52^b$	$-0.0 \pm 81/07^a$	$7/0 \pm 61/42^a$	$7/0 \pm 65/43^a$

حروف غیر یکسان در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

کیتوزان-اسید اولئیک بدون اسانس زنجبیل با افزودن اسانس زنجبیل و افزایش غلظت آن به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). میزان عبور بخار آب از درون فیلم به نسبت اجزاء آب دوست به آب گریز در ساختار فیلم بستگی دارد. بنابراین افزودن روغن‌های اسانسی آب گریز در ساختار فیلم باعث بهبود ویژگی‌های بازدارندگی نسبت به بخار آب می‌شود. همچنین وجود برخی پیوندهای هیدروژنی و کووالانسی احتمالی بین برخی

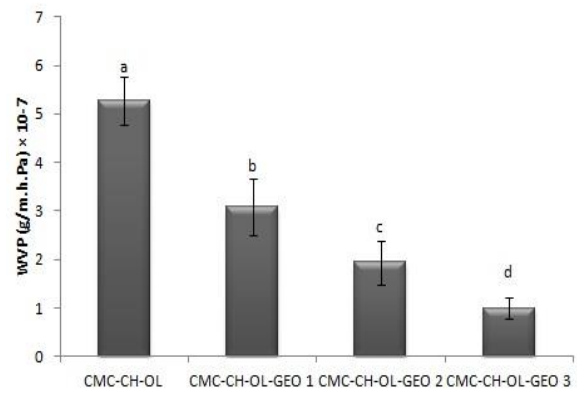
نفوذ پذیری نسبت به بخار آب (WVP)

نتایج آزمون WVP در شکل ۲ آورده شده است همانطور که ملاحظه می‌شود افزودن اسانس زنجبیل باعث کاهش معنی داری ($p < 0.05$) در میزان WVP فیلم‌های کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک حاوی اسانس زنجبیل شد. همچنین ارتباط مستقیمی بین افزایش غلظت اسانس زنجبیل و کاهش میزان WVP مشاهده شد به طوری که میزان WVP فیلم کربوکسی متیل سلولز-

ویژگی‌های مکانیکی

استحکام کششی (MPa) و ازدیاد طول تا نقطه شکست (%) فیلم‌های مختلف در شکل ۳ (الف و ب) آورده شده است. افزودن اسانس زنجبیل باعث کاهش معنی دار (۰/۰۵ P) استحکام کششی از ۷ MPa در فیلم شاهد به ترتیب به ۴/۱، ۳/۵ و ۲/۷ MPa برای فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2 و GEO3) شد. دلایل کاهش استحکام کششی با افزودن اسانس زنجبیل به فیلم مربوط به جایگزینی بخشی از برهم کنش‌های قوی پلیمر-پلیمر با برهم کنش‌های ضعیف تر پلیمر-روغن در حضور اسانس در بستر فیلم بوده که باعث تضعیف ساختار پلیمر شده و بنابراین باعث کاهش استحکام کششی فیلم‌های امولسیون می‌شود (شجاعی علی آبادی و همکاران، ۲۰۱۳). ازدیاد طول تا نقطه شکست برای فیلم شاهد از ۲۹٪ به ترتیب به ۴۳/۷، ۵۵/۶ و ۶۱/۴٪ برای فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2 و GEO3) افزایش یافت. اثر ترکیبات لیپیدی بر ویژگی‌های مکانیکی بستگی به اجزاء فیلم، نسبت آنها، شرایط آماده سازی فیلم همچنین ویژگی چربی و ظرفیت آن برای واکنش با بستر پلیمر دارد. تحقیقات صورت گرفته اثرات منفی افزودن چربی بر ویژگی‌های کششی فیلم‌ها را نشان داده است (آتارس و همکاران، ۲۰۱۱؛ مرادی و همکاران، ۲۰۱۲ و سانچز-گنزالز، ۲۰۱۱) مشاهده شده است. افزودن چربی به بستر فیلم باعث ایجاد یک ساختار ناهمگون شده که ناپیوستگی ایجاد می‌نماید. این پدیده ویژگی‌های مکانیکی فیلم را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تانگن‌آنچان و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده نمودند که افزودن روغن مرکبات استحکام کششی فیلم‌های ژلاتین را به دلیل کاهش برهم کنش‌ها میان مولکول‌های ژلاتین کاهش داد. به علاوه کشش پذیری این فیلم‌ها افزایش یافت که دلیل آن مربوط به اثر چربی بر برهم کنش‌های زنجیر به زنجیر پلیمر و ایجاد نواحی منعطف برای فیلم است. به طور کلی دلایل احتمالی

ترکیبات روغن‌های اسانسی و یا اسید اولئیک با پلیمر می‌تواند علت این پدیده باشد (شجاعی علی آبادی و همکاران، ۲۰۱۳). تانگن‌آنچان و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که اسانس زنجبیل قابلیت بالایی در کاهش WVP فیلم ژلاتین پوست ماهی داشت. نتایج این پژوهش نشان داد که ترکیب روغن‌های اسانسی اثر مهمی در کارایی آنها دارد به طوری که تفاوت آب‌گریزی ترکیبات موجود در اسانس باعث تفاوت کارایی آنها می‌شود. اسانس‌های آب‌گریز با افزایش میزان آب‌گریزی فیلم، باعث کاهش میزان WVP آن می‌شوند. این نتایج با نتایج بدست آمده از FTIR که افزایش آب‌گریزی فیلم‌های حاوی اسانس را نشان داد، مطابقت دارد. کاهش WVP با افزودن درصد کمی از اسانس زنجبیل به فیلم پروتئین سویا توسط آتارس و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده شد. همچنین کاهش WVP بعد از افزودن اسانس دارچین در مطالعات اجاق و همکاران (۲۰۱۰) در فیلم کیتوزان حاوی دارچین و همچنین شن و کامدم (۲۰۱۵) در فیلم کیتوزان حاوی سنبل هندی و چوب سدر گزارش شده بود.

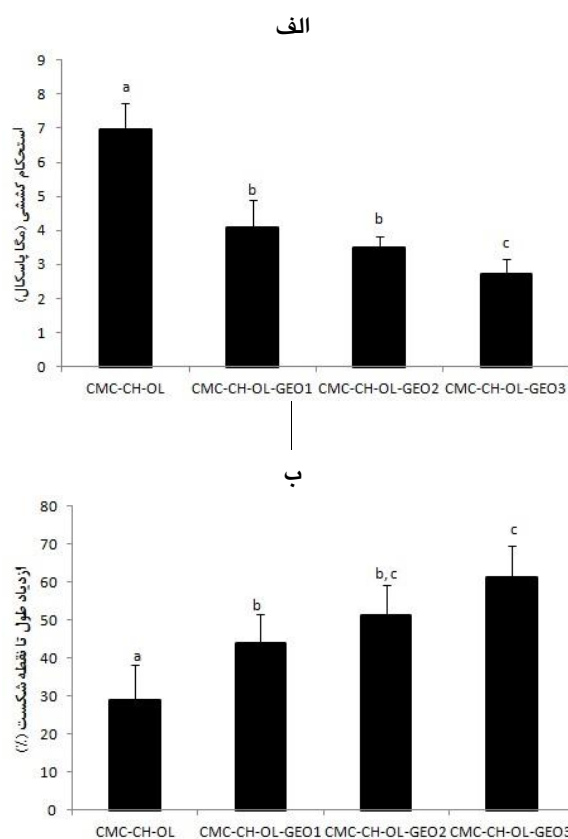


شکل ۲- نفوذ پذیری نسبت به بخار آب در فیلم خالص کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک (CMC-CH-OL) و حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2 و GEO3)

حروف لاتین غیر یکسان در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

اسانس زنجبیل در شکل ۴ (الف و ب) آورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود فیلم شاهد محتوای کمی از ترکیبات پلی فنولی (۱/۷۵ میلی گرم اسید گالیک بر گرم نمونه) را نشان می‌دهد. این نتیجه با پژوهش رویز نواجاس و همکاران (۲۰۱۳) که وجود میزان کمی از ترکیبات پلی فنول را در فیلم کیتوزان گزارش نمودند مطابقت دارد. آنها این نتیجه را به تشکیل کروموژن بین معرف فولین-سیوکالتو و ترکیبات غیر فنولی نسبت دادند. افزودن اسانس زنجبیل باعث افزایش معنی دار ($p < 0.05$) محتوای ترکیبات پلی فنولی به ۲/۵۶، ۳/۱۴ و ۴/۶۸ میلی گرم اسید گالیک بر گرم نمونه به ترتیب در فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل GE01، GE02 و GE03 شد. فعالیت ضد اکسایشی فیلم‌های مختلف توسط آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بدست آمده فعالیت ضد اکسایشی برای تمام فیلم‌ها را نشان داد (شکل ۴). فیلم خالص کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک نیز فعالیت ضد اکسایشی نشان داد که این نتیجه با نتایج حاصل از پژوهش سیرپی‌اتراوان و هارته (۲۰۱۰) که فعالیت ضد اکسایشی برای فیلم خالص کیتوزان مشاهده نمودند، مطابقت دارد. هر چند شدت این فعالیت با افزودن عصاره چای سبز افزایش یافت. فعالیت ضد اکسایش فیلم کیتوزان به واکنش بین رادیکال‌های آزاد و گروه‌های آمین آزاد (NH_2) برای تشکیل رادیکال‌های پایدار نسبت داده می‌شود به طوری که گروه‌های آمین می‌توانند یون هیدروژن را جذب کنند و تشکیل آمونیوم (NH_3) بدهند (رویژ نواجاس و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج اندازه گیری فعالیت ضد اکسایش برای فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل، فعالیت ضد اکسایش بالاتری نسبت به نمونه شاهد نشان داد به طوری که فعالیت ضد اکسایشی به طور معنی داری ($p < 0.05$) با افزودن اسانس زنجبیل و افزایش غلظت آن از ۱۲/۴۵ برای نمونه شاهد به ۱۴/۰۱، ۱۶/۸۵ و ۱۸/۳۴٪ به ترتیب در فیلم‌های

این پدیده ممکن است مربوط به اولاً اثرات نرم‌کنندگی^۱ روغن‌های اسانسی بر روی پلیمر، حتی در غلظت کم (شجاعی علی آبادی و همکاران، ۲۰۱۳) و ثانیاً تغییر در ساختار پیوسته به ناپیوسته بستر پلیمر و ثالثاً مربوط به بازآرایی ساختار فیلم در حضور اسانس باشد (آتارس و چیرالت، ۲۰۱۶).



شکل ۳. استحکام کششی نهایی (الف) و درصد

ازدیاد طول تا نقطه شکست (ب) برای فیلم

شاهد (کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک) و فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GE01، GE02 و GE03)

(حروف لاتین مختلف نشانگر تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) می‌باشد).

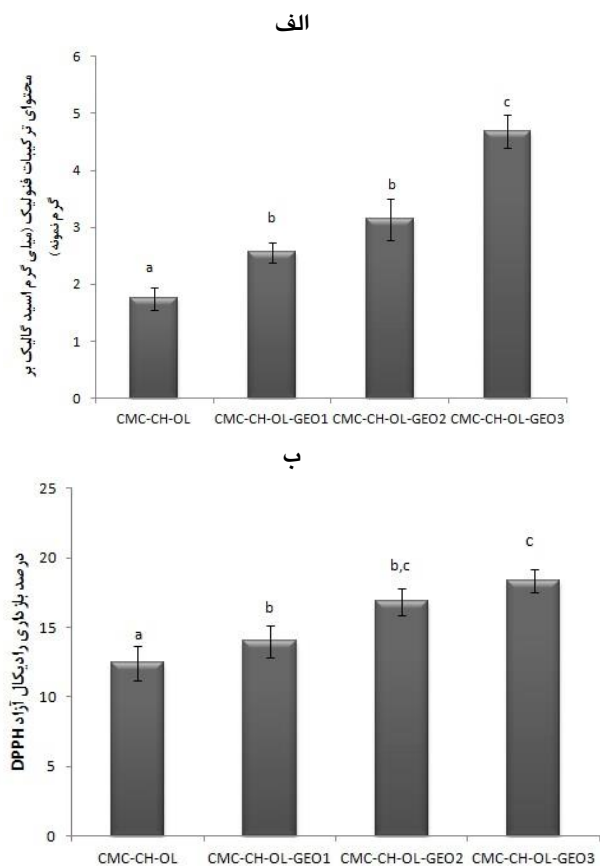
محتوای ترکیبات فنولیک و ویژگی‌های ضد اکسایشی محتوای ترکیبات فنولیک فیلم خالص کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک و حاوی غلظت‌های مختلف

به علاوه تحقیقات نشان داده است که فعالیت ضد-اکسایشی در اسانس زنجبیل به اثر هم افزایی بین دو تا چند ترکیب مرتبط است. به طور کلی، فعالیت ضد-اکسایش معمولاً با مقدار ترکیبات پلی فنولیک که توسط روش فولین-سیوکالتو اندازه گیری می‌شود مرتبط است. این نتایج با نتایج محتوای ترکیبات پلی فنولی که افزایش محتوای ترکیبات فنولی با افزایش غلظت اسانس زنجبیل را نشان داد، مطابقت دارد. داسی پور و همکاران (۲۰۱۵) و گومز استاکا و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که میزان فعالیت ضد اکسایشی فیلم‌ها بستگی به مقدار ترکیبات ضد اکسایش افزوده شده به آنها دارد.

ویژگی‌های ضدکپکی

ویژگی‌های ضدکپکی فیلم‌های مختلف بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آن در جدول ۳ آورده شده است. نتایج آزمون انتشار ویژگی‌های ضد کپکی برای کلیه فیلم‌های مورد آزمون را نشان داد. مشاهده ویژگی‌های ضد میکروبی برای فیلم شاهد مربوط به ویژگی‌های ضد میکروبی کیتوزان بوده که آن نیز به برهم کنش بین گروه‌های مثبت کیتوزان و بارهای منفی غشاء سلولی میکروبی نسبت داده می‌شود که باعث به هم ریختن ساختار دیواره سلولی می‌شود (کوما و همکاران، ۲۰۱۵). نتایج نشان داد که افزودن اسانس زنجبیل و افزایش غلظت آن باعث افزایش معنی دار قطر هاله عدم رشد کپک *آسپرژیلوس نایجر* از ۱۱/۴۶ میلی متر برای فیلم کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک به ترتیب به ۱۴/۳۱، ۱۴/۹۲ و ۱۹/۳۱ میلی متر در فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2، GEO3) شد. به طور کلی خواص ضد میکروبی کیتوزان و همچنین حضور اسانس زنجبیل و افزایش غلظت آن موجب نشان دادن ویژگی‌های ضد کپکی بالا در فیلم‌های فعال شد. ویژگی‌های ضد کپکی اسانس زنجبیل به حضور ترکیبات پلی فنولی موجود در آن نسبت داده می‌شود. یاماموتو ریپیرو و همکاران (۲۰۱۳) اثر ضدکپکی اسانس زنجبیل بر روی کپک

حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل GEO1، GEO2، GEO3 و افزایش یافت. فعالیت ضد اکسایشی فیلم کیتوزان حاوی اسانس زنجبیل توسط تانگوانچان و همکاران (۲۰۱۳) نشان داده شد. روغن‌های اسانسی به دلیل دارا بودن ترکیب شیمیایی غنی از ترپنوئیدها و اسیدهای فنولیک به عنوان ترکیبات ضد اکسایش قوی شناخته شده‌اند. حضور ترکیباتی نظیر اوژنول، زینگرون، گینگریول، گینگرول در روغن اسانسی زنجبیل باعث ایجاد فعالیت ضد اکسایش می‌شود.



شکل ۴- محتوای ترکیبات فنولیک (الف) و فعالیت

بازداری رادیکال آزاد DPPH (ب) در فیلم خالص

(کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک) و حاوی

غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل (GEO1، GEO2 و

GEO3)

(حروف لاتین مختلف نشانگر تفاوت معنی دار ($p < 0.05$)).

شمار می‌رود. در این پژوهش فیلم‌های ترکیبی کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل ویژگی‌های ضدکپکی مناسبی علیه کپک *آسپرژیلوس نایجر* نشان دادند که دلیل آن به وجود ترکیبات پلی فنولی موجود در اسانس زنجبیل که توسط روش فولین سیوکالتو اندازه گیری شد، نسبت داده می‌شود. نتیجه آزمون‌های فیزیکی نشان داد افزودن اسانس زنجبیل باعث کاهش استحکام کششی و افزایش ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم‌های مختلف می‌شود. بهبود ویژگی بازدارندگی نسبت به بخار آب فیلم با افزودن اسانس زنجبیل حاوی ترکیبات آب گریز در فیلم-های مختلف بدست آمد که ویژگی مناسبی در بسته بندی مواد غذایی به شمار می‌رود. همچنین افزایش خواص ضداکسایشی فیلم‌های فعال کاربرد این نوع بسته بندی را در حوزه مواد غذایی به عنوان گزینه مناسبی پیشنهاد می‌نماید. نتایج این پژوهش فیلم فعال حاوی بالاترین غلظت اسانس زنجبیل (GEO3) را گزینه مناسبی با فعالیت ضد کپکی و ضد اکسایشی بالا معرفی می‌نماید.

فوزاریوم ورتیسیلیویدیس^۱ را به اثر مهار کننده این اسانس بر روی ارگواستروئول غشاء سلولی نسبت دادند. در واقع اسانس زنجبیل با ایجاد اختلال در بیوسنتز ارگواستروئول، بر عملکرد غشاء سلولی اثر گذاشته و منتهی به مرگ سلول می‌شود.

جدول ۳- قطر هاله عدم رشد (میلی متر) و درصد

بازدارندگی رشد کپک *آسپرژیلوس نایجر*

نوع فیلم	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	درصد بازدارندگی رشد
CMC-CH-OL	$11/46 \pm 0/35^c$	$12/73^c$
CMC-CH-OL-GEO1	$14/31 \pm 0/54^b$	$15/9^b$
CMC-CH-OL-GEO2	$14/92 \pm 0/58^b$	$16/57^b$
CMC-CH-OL-GEO3	$19/31 \pm 0/75^a$	$21/45^a$

حروف لاتین غیر یکسان در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

نتیجه گیری

تولید بسته بندی فعال حاوی اسانس‌های ضد میکروبی روشی جدید در کنترل آلودگی میکروبی مواد غذایی به

منابع مورد استفاده

- نوشیروانی ن، قنبرزاده ب، انتظامی ع ع، ۱۳۹۱، اثر نانوکریستال سلولز و پلی وینیل الکل روی ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های بیونانوکامپوزیتی بر پایه نشاسته، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۱، ۷۴-۶۳.
- Ahmad M, Benjakul S, Prodpran T, and Agustini TW, 2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocolloids 28: 189-199.
- Arfat YA, Benjakul S, Prodpran T, Sumpavapol P and Songtipya P, 2014. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. Food Hydrocolloids 41: 265-273.
- 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.
- Atares L, Perez-Masia R 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.
- Atares L and Chiralt A, 2016. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. Trends in Food Science and Technology 48: 51-62.
- Bansod S and Rai M, 2008. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. World Journal of Medical Sciences 3 (2): 81-88.

- Benavides S, Villalobos-Carvajal R, and Reyes, JE, 2012. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, 110, 232–239.
- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, 2004. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223–253.
- Coma V, Freire CSR and Silvestre AJD, 2015. Recent advances on the development of antibacterial polysaccharide-based materials, Chitosan, cellulose and starch. *Polysaccharides*: 1751-1803.
- Dashipour A, Razavilar V, Hosseini H, Shojaee-Aliabadi S, German JB, Ghanati K, Khakpour M, Khaksar R, 2015. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules* 72: 606–613.
- Fasihi H, Fazilati M, Hashemi M and Noshirvani N, 2017. Novel carboxymethyl cellulose-polyvinyl alcohol blend films stabilized by Pickering emulsion incorporation method. *Carbohydrate Polymers* 167: 79-89.
- Ferreira AS, Nunes C, Castro A, Ferreira P and Coimbra MA, 2014. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. *Carbohydrate Polymers* 113: 490-499.
- Ghanbarzadeh, B and Almasi, H, 2011. Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48, 44–49.
- Ghasemlou M, Khodaiyan F, Oromiehie A and Saeid-Yarmand M, 2011. Characterization of edible emulsified films with low affinity to water based on kefir and oleic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(3): 378–384.
- Gomez-Estaca J, Bravo L, Gomez-Guillén MC, Aleman A and Montero P, 2009. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chemistry* 112: 18–25.
- Guynot ME, Ramos AJ, Seto L, Purroy P, Sanchis V and Marin S, 2003. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. *Journal of Applied Microbiology* 94: 893-899.
- Hormis NM, Lazic VL, Markov SL, Vastag ZG, Popovic SZ, Suput DZ, Dzinic NR, Velicanski AS and Popovic LM, 2015. Optimization of chitosan biofilm properties by addition of caraway essential oil and beeswax. *Journal of Food Engineering* 158: 86–93.
- Hosseini SF, Rezaei M, Zandi M and Farahmandghavi F, 2015. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and Products* 67: 403-413.
- Martucci JF, Gende LB, Neira LM and Ruseckaite RA, 2015. Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Industrial Crops and Products* 71: 205–213.
- Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR, Malekinejad H, Aliakbarlu J and Hadian M, 2012. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT Food Science and Technology* 46(2):477-484.
- Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Fasihi, H and Almasi H, 2016. Starch-PVA nanocomposite film incorporated with cellulose nanocrystals and MMT: a comparative study. *International Journal of Food Engineering* 12: 37-48.
- Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Rezaei Mokarram R, Hashemi M and Coma V, 2017a. Preparation and characterization of active emulsified films based on chitosan-carboxymethyl cellulose containing zinc oxide nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 99: 530-538.
- Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Gardrat C, Rezaei Mokarram R, Hashemi M, Le Coz C and Coma V, 2017b. Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. *Food Hydrocolloids* 70: 36-45.
- Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Rezaei Mokarram R, Hashemi M, 2017c. Novel active packaging based on carboxymethyl cellulose-chitosan -ZnO NPs nanocomposite for increasing the shelf life of bread. *Food Packaging and Shelf life* 11: 106-114.

- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH and Hosseini SMH, 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry* 122: 161-166.
- Perdones A, Vargas M, Atares L and Chiralt A. Physical, 2014. Antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. *Food Hydrocolloids* 36: 256-264.
- Perede M, Amica G, Racz I and Marcovich NE, 2011. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *Journal of Food Engineering* 103: 76-83.
- Philippe S, Souaibou F, Jean-Pierre N, Brice F, Paulin A, Issaka Y and Dominique S, 2012. Chemical composition and in vitro antifungal activity of *Zingiber officinale* essential oil against foodborne pathogens isolated from a traditional cheese wagashi produced in Benin. *International Journal of Biosciences* 2(9): 20-28.
- Ruiz-Navajas Y, Viuda-Martos M, Sendra E, Perez-Alvarez JA and Fernandez-Lopez J, 2013. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control* 30: 386-392.
- Sanchez-Gonzalez L, Chiralt A, Gonzalez-Martinez C and Chafer M, 2011. Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropyl methyl cellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering* 105: 246-253.
- Shen Z and Kamdem DP, 2015. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules* 74: 289-296.
- Shojaee-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar MA, Mohhamadi A, Ghasemlou M, Ojagh, SM, Hosseini SM and Khaksar MA, 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules* 52: 116-124.
- Singh G, Kapoor IPS, Singh P, Heluani CSD, Lampasona MPD and Catalan CAN, 2008. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology* 46: 3295-3302.
- Siripatrawan U and Harte BR, 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 24: 770-775.
- Tongnuanchan P, Benjakul S and Prodpran T, 2013. Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. *Journal of Food Engineering* 117: 350-360.
- Vargas M, Albors A, Chiralt A and Gonzalez-Martinez C, 2009. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids* 23: 536-547.
- Vargas M, Albors A, Chiralt A and Gonzalez-Martinez C, 2011. Water interactions and microstructure of chitosan-methylcellulose composite films as affected by ionic concentration. *LWT-Food Science and Technology* 44: 2290-2295.
- Yamamoto-Ribeiro MMG, Grespan R, Kohiyama CY, Ferreira FD, Mossini SAG, Silva EL, Filho, BAD A, Mikcha JMG and Junior MM, 2013. Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food Chemistry* 141: 3147-3152.

Preparation of active films based on carboxymethyl cellulose-chitosan-oleic acid containing ginger essential oils and investigation of physical, antifungal and antioxidant properties

N Noshirvani¹, B Ghanbarzadeh^{2*}, R Rezaei Mokarram², M Hashemi³

Received: October 17, 2016

Accepted: May 06, 2017

¹ PhD of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

² Professor and Associate Professor, respectively, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³ Associate professor of analytical chemistry, Faculty of chemistry, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

*Corresponding author: E mail: Babakg1359@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to produce antimicrobial films based on carboxymethyl cellulose- chitosan-oleic acid (CMC-CH-OL) containing different concentrations of ginger essential oil (GEO) in order to study the structural, physical, antioxidant, and antifungal properties of the films. The results of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) confirmed some hydrogen bonding formation between film matrix and GEO. Water vapor permeability (WVP) of the CMC-CH-OL film decreased from 5.28×10^{-7} to 0.99×10^{-7} g/m.h.Pa in the film incorporated with the highest concentration of GEO (GEO3). Based on the obtained results from WVP, contact angle and FTIR, it can be concluded that the addition of GEO with hydrophobic nature, led to an improvement in water barrier properties of films. The results of mechanical test revealed an increase in elongation at break (EB) and a decrease in tensile strength (TS) for the films containing GEO ($p < 0.05$). Color test results showed that GEO led to an increase in the intensity of color in all films, especially at the highest concentration of GEO (GEO3). Antioxidant activity of the films was evaluated by measuring the content of total phenolic compounds and DPPH scavenging activity showed a positive relationship between the content of phenolic compounds and antioxidant activity of the films containing GEO, while the DPPH scavenging activity of pure CMC-CH-OL film increased significantly ($p < 0.05$) from 12.45 to 18.34% for CMC-CH-OL-GEO3. The results of disk diffusion test represented antifungal properties for CMC-CH-OL-GEO films against *Aspergillus niger*, also antifungal activity increased with increasing the GEO content ($P < 0.05$). Generally, due to demonstrating good antifungal and antioxidant properties, CMC-CH-OL-GEO film is a good alternative in food packaging application.

Keywords: Antimicrobial film, ginger essential oil, chitosan, carboxymethyl cellulose, *Aspergillus niger*