بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و موادغذایی

بررسی خواص فیزیکی و ضد میکروبی فیلم خوراکی نانوکامپوزیت حاوی اسانس رومان (رزماری)

نگارنده : نفیسه محسن آبادی

اساتید راهنما

دکتر احمد رجائی

دکتر میثم طباطبایی

مشاور

افشین محسنی فر

شهریور ۱۳۹۵

پیوست شماره ۲

دانشگاه شاهرود

دانشکده کشاورزی

گروه : باغبانی و صنایع غذایی

پایان نامه کارشناسی ارشد / خانم نفیسه محسن آبادی به شماره دانشجویی: ۹۲۳۹۵۹۲

تحت عنوان: بررسی خواص فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی نانوکامپوزیت حاوی اسانس روغن (رزماری)

در تاریخ ۹۵/۶/۱۴ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد مورد ارزیابی و با نمره عالی مورد پذیرش قرار گرفت.

اسانید راهنما	امضاء	اسانید مشاور	امضاء
نام و نام خانوادگی: احمد رجایی		نام و نام خانوادگی: گلشن محسنی فر	
نام و نام خانوادگی: میثم طباطبایی		نام و نام خانوادگی:	

اسانید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء
نام و نام خانوادگی: کامبیز جهان بین		نام و نام خانوادگی: رویه مهران زاده	
نام و نام خانوادگی: حمیدرضا صمدلویی			

سپاسگزاری

سپاس بیکران ایزد منان را که در پرتو لایزالش توفیق آموختن میسر نمود تا منت پذیر آستان کبریایی اش باشم. امروز که به توفیق ایزد مهربان، مرحله دیگر از زندگی را با موفقیت سپری کردم، پیشانی شکر بر سجده گاه عبودیت می سایم و بر خود واجب می دانم که از منت گزاران این راه قدرنمایی نمایم و با شهامت قلم را به پاس زحمات بی دریغشان بنگارم. در همین راستا بر اساس روایت مشهور "لم یشکر مخلوق لم یشکر الخالق" نخست سزاوار است نهایت سپاس قلبی خود را تقدیم حضور استاد راهنمای گرامیم جناب آقای دکتر احمد رجایی که زحمات بی شائبه ای متحمل گشته اند و جناب آقایان دکتر میثم طباطبایی و افشین محسنی فر استاد راهنما و مشاور بزرگوارم که در تمام این مراحل مرا راهنمایی فرمودند، نمایم...بی شک انجام مراحل مختلف این پایان نامه بدون حمایت و پشتیبانی بزرگواران مقدور نبود...

و این تلاش کوچک را با تمام عشق و اشتیاق تقدیم می کنم به خانواده عزیزم خصوصا پدر و مادرم که در تمام مراحل زندگیم دعای آنان بدرقه راهم بود...

و تقدیم به خواهر مهربانم که همواره حامی و مشوقم بوده...

از خداوند منان می خواهم عمری بیفزاید تا گوشه ای از زحماتشان را جبران کنم.

باشد این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید....

تعهد نامه

اینجانب نفیسه محسن آبادی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه بررسی خواص فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی نانوکامپوزیت حاوی اسانس رومان (رزماری) تحت راهنمائی دکتر احمد رجایی متعهد می شوم.

- **تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.**
- **در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.**
- **مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.**
- **کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology» به چاپ خواهد رسید.**
- **حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.**
- **در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.**
- **در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است**

.

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.**

چکیده

امروزه به دلیل آلودگی های زیست محیطی، تمایل به استفاده از بسته بندی های زیست تخریب پذیر رو به افزایش است. از طرف دیگر، اگر چه روش حرارتی معمول، سبب اطمینان مصرف کننده از سلامت و افزایش عمر ماندگاری محصولات غذایی می شود، اما در عین حال سبب کاهش فاکتورهای کیفی و کمی آن ها نیز خواهد شد. بنابر این علاوه بر طراحی بسته بندی های زیست تخریب پذیر، ایجاد بسته بندی های ضد میکروب و ایمن با استفاده از مواد ضد میکروب طبیعی بسیار حائز اهمیت است. کیتوزان و اسانس های گیاهی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی شناخته شده هستند که می توان از آنها در بسته بندی های ضد میکروب استفاده کرد. در این پژوهش ابتدا بین بنزوئیک اسید و کیتوزان پیوند کووالانسی ایجاد شد و در ادامه با استفاده از روش خود تجمعی نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید حاصل شد. سپس اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید به منظور افزایش پایداری و خاصیت ضد میکروبی آن درونپوشانی شد. در ادامه اسانس رزماری در حالت آزاد و درونپوشانی شده در فیلم خوراکی بر پایه نشاسته ذرت استفاده شد و خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم های تولیدی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج طیف سنج مادون قرمز-تبدیل فوریه نشان داد که پیوند کووالانسی بین کیتوزان و بنزوئیک اسید با موفقیت انجام شده است. عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی میانگین اندازه ذرات زیر ۱۰۰ نانومتر را نشان داد. فیلم های حاوی نانوژل دارای نفوذپذیری به بخار آب بالاتری در مقایسه با فیلم های حاوی اسانس رزماری بودند. جذب رطوبت فیلم نشاسته ای با افزایش اسانس و نانوژل کاهش یافت. در مورد فیلم های حاوی نانوژل تا غلظت ۰/۲درصد نانوژل شفافیت افزایش یافت. بالاترین استحکام کششی در نقطه شکست مربوط به فیلم حاوی ۰/۲٪ نانوژل بود. هم چنین نتایج آزمون میکروبی نشان داد که اسانس رزماری و نانوژل هر کدام به تنهایی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* خاصیت بازدارندگی خوبی داشتند که با درونپوشانی اثر بازدارندگی اسانس رزماری بیشتر شد. با ترکیب اسانس رزماری با نانوژل به صورت درونپوشانی شده هر دو

اثر ضد میکروبی آنی (اسانس) و تدریجی (نانوژل) بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به دست آمد. با توجه به نتایج این تحقیق، می توان از فیلم های نشاسته ای حاوی اسانس کپسوله شده در نانوژل کیتوزان- بنزوئیک اسید به منظور افزایش ماندگاری مواد غذایی استفاده کرد.

واژهای کلیدی: نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید، اسانس رزماری، فیلم خوراکی، نشاسته

مقالات مستخرج

بررسی خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم نانوکامپوزیت برپایه نشاسته حاوی اسانس رزماری

بررسی خاصیت ضدمیکروبی فیلم نشاسته ای حاوی اسانس رزماری نانوکپسوله

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول ..... کلیات

۱-۱-۱ فیلم های برپایه پلی ساکاریدها ۳

۱-۱-۱-۱ کیتوزان ۴

۱-۱-۱-۲ نشاسته ۵

۱-۱-۲ فیلم های برپایه پروتئین ۶

۱-۱-۳ فیلم های برپایه ترکیبات لیپیدی ۶

۱-۲ بسته بندی های فعال ضدمیکروبی ۷

۱-۲-۱ توسعه سیستم های بسته بندی ضدمیکروبی ۸

۱-۲-۲ انواع بسته بندی های ضدمیکروبی ۹

۱-۲-۲-۱ قرار دادن کیسه های حاوی مواد ضدمیکروب در داخل بسته ماده غذایی ۹

۱-۲-۲-۲ پوشش سطوح بسپاری با مواد ضدمیکروب ۱۰

۱-۲-۲-۳ تثبیت مواد ضدمیکروبی روی بسپار بوسیله پیوندهای کووالانسی یا یونی ۱۰

۱-۲-۲-۴ استفاده از بسپارهایی که ذاتا ضدمیکروب هستند ۱۰

۱-۲-۲-۵ ترکیب کردن مستقیم ترکیبات ضدمیکروبی با بسپارها ۱۰

۱-۳ اسانس های گیاهی ۱۱

۱-۳-۱ اسانس رزماری ۱۳

۱-۴ کاربرد فناوری نانو در صنایع غذایی ۱۴

۱-۴-۱ فن آوری نانو در بسته بندی ۱۵

۱-۵ درونپوشانی ۱۶

۱-۵-۱ روش های درونپوشانی کردن ۱۷

۱-۵-۱-۱ خشک کردن پاششی ۱۷

۱-۵-۱-۲ استفاده از لیپوزوم ها در درونپوشانی کردن اسانس های روغنی ۱۷

۱-۵-۱-۳ به دام انداختن اسانس های روغنی در سیکلودکسترین ۱۸

۱-۵-۱-۴ تکنولوژی امولسیون سازی ۱۸
۱-۵-۱-۵ درونپوشانی کردن در سلول مخمر ۱۹
۱-۴-۲ نانو درونپوشانی ۱۹
۱-۴-۲-۱ پلیمر در ساختار نانو درونپوشان ۲۱
۱-۴-۲-۱-۱ انواع پلیمرها ۲۲
۱-۴-۲-۱-۲ انتخاب پلیمر ۲۲
۱-۴-۲-۲ فرآیند نانو درونپوشانی کردن ۲۲
۱-۴-۲-۲-۱ روش ته نشینی ذرات نانو ۲۲
۱-۴-۲-۲-۲ روش نفوذ امولسیون ۲۳
۱-۴-۲-۲-۳ روش امولسیون سازی دولایه ۲۳
۱-۴-۲-۲-۴ روش ذخیره سازی امولسیونی ۲۴
۱-۴-۲-۲-۵ روش روکش دهی پلیمر ۲۴
۱-۴-۲-۲-۶ روش لایه به لایه ۲۵
۱-۴-۲-۲-۷ نانوذرات کیتوزان ۲۵
۱-۴-۳ نانوژل ۲۵
فصل دوم ..... بررسی منابع
۲-۱ فیلم های زیست تخریب پذیر ۲۸
۲-۲ فیلم های زیست تخریب پذیر فعال ۲۹
۲-۳ پوشش و فیلم های نانوکامپوزیتی ۳۶
فصل سوم ..... مواد و روش ها
۳- مواد و روش ها ۴۲
۳-۱ مواد مورد استفاده ۴۲
۳-۲ روش های مورد استفاده ۴۳
۳-۲-۱ تهیه نانوژل ۴۳
۳-۲-۲ تأیید اتصال عرضی بین کیتوزان و بنزوئیک اسید ۴۵

۳-۲-۳ مورفولوژی و سایز نانوژل با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)[1] ۴۵
۳-۲-۴ درون پوشانی اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید و بررسی کارائی درونپوشانی ۴۶
۳-۲-۵ درونپوشانی اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید ۴۶
۳-۲-۶ تهیه فیلم نشاسته حاوی اسانس رزماری ۴۷
۳-۲-۷ اندازه گیری میزان حلالیت در آب ۴۸
۳-۲-۸ اندازه گیری میزان جذب رطوبت فیلم ها ۴۸
۳-۲-۹ اندازه گیری ضخامت فیلم ها ۴۹
۳-۲-۱۰ تعیین میزان نفوذپذیری به بخارآب (WVP) ۴۹
۳-۲-۱۱ تعیین ویژگی های مکانیکی فیلم ها ۵۰
۳-۲-۱۴ بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها ۵۲
۳-۲-۱۴-۱ تعیین MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی رشد) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) ۵۲
۳-۲-۱۴-۲ بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها با روش انتشار دیسکی ۵۳
۳-۲-۱۴-۳ بررسی ویژگی ضدمیکروبی امولسیون فیلم ها ۵۳
۳-۳ آنالیز آماری ۵۴
فصل چهارم ..... نتایج و بحث
۴- نتایج و بحث ۵۶
۴-۱ بررسی نانوژل کیتوزان- اسیدبنزوئیک تهیه شده ۵۶
۴-۲- درونپوشانی اسانس رزماری در نانوزل کیتوزان- بنزوئیک اسید ۵۸
۴-۳ بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای آزاد و درونپوشانی شده ۵۸
۴-۳-۱ بررسی خواص فیزیکی ۵۹
۴-۳-۱-۱ بررسی میزان حلالیت در آب فیلم ها ۵۹
۴-۳-۱-۲ بررسی میزان جذب رطوبت فیلم ها ۶۰
۴-۳-۱-۳ بررسی میزان نفوذپذیری به بخارآب ۶۱
۴-۳-۱-۴ بررسی میزان آب گریزی سطحی (مقدار زاویه تماس) ۶۲

[1] Scanning Electron Microscope

۴-۳-۱-۵ خواص نوری فیلم ها ۶۳
۴-۳ -۲ خواص مکانیکی فیلم ها ۶۵
۴-۳-۲ بررسی خواص ضدمیکروبی فیلم ها ۶۷
۴-۳-۲-۱ تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس رزماری آزاد و درون پوشانی شده در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۶۷
۴-۳-۲-۲ بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم ها با روش انتشار دیسکی ۶۹
۴-۳-۲-۳ بررسی خاصیت ضد میکروبی امولسیون فیلم ها در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۷۰
نتیجه گیری ۷۵
پیشنهادات ۷۶
منابع ۷۷

فهرست اشکال

شکل ۱-۱ ساختار کیتوزان..... ۵
شکل ۱-۲ گیاه رزماری و ساختار برخی از ترکیبات آن..... ۱۴
شکل ۳-۱ شماتیکی از واکنش بین بنزوئیک اسید و کیتوزان از طریق پیوندهای عرضی..... ۴۴
شکل ۳-۲ میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)..... ۴۶
شکل ۳-۳ دستگاه اولترا سونیکیت..... ۴۷
شکل ۳-۴ وسایل مورد استفاده در آزمون نفوذپذیری به بخارآب..... ۵۰
شکل ۳-۵ دستگاه تعیین ویژگی های مکانیکی فیلم ها..... ۵۱
شکل۴-۱ طیف FT-IR حاصل از نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید..... ۵۶
شکل ۴-۲عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید..... 57
شکل ۴-۳ درصد بازدارندگی امولسیون فیلم های مختلف بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در ساعت چهارم نگهداری ۷۱
شکل ۴-۴ درصد بازدارندگی امولسیون فیلم های مختلف بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در ساعت ششم نگهداری ۷۲.
شکل ۴-۵ درصد بازدارندگی امولسیون فیلم های مختلف بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در ساعت بیست و چهارم نگهداری..... ۷۳

فهرست جداول

جدول ۳-۱ مشخصات اسانس رزماری استفاده شده در این تحقیق.....۴۲
جدول ۴-۱ میزان حلالیت فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل ۵۹
جدول ۴-۲ میزان جذب رطوبت فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل.....۶۰
جدول ۴-۳ میزان نفوذپذیری به بخارآب فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل.....۶۱
جدول ۴-۴ زاویه تماس فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل با قطره آب ۶۲
جدول ۴-۵ خواص نوری فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل ۶۳
جدول ۴-۶ خواص مکانیکی فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل.....۶۵
جدول ۴-۷ حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس رزماری، نانوژل و اسانس رزماری درونپوشانی شده در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*.....۶۸

مقدمه

تأثیرات مخرب محیطی ناشی از تجمع مواد پلاستیکی و غیرتخریب پذیر یکی از مهم ترین نگرانی ها در جهان امروز است. حجم قابل توجهی از این زباله ها مربوط به پلیمرهای مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی می باشند. از این رو در سال های اخیر متخصصان صنعت غذا به دنبال یافتن جایگزین های زیست تخریب پذیر مناسب برای پلیمرهای سنتزی بوده اند. در این میان پلیمرهای طبیعی مانند نشاسته به دلیل زیست تخریب پذیری بالا، ارزانی، در دسترس بودن، ایمنی مصرف و کاربرد آسان آن توجه زیادی را به خود معطوف داشته اند [۱].

در نسل جدید بسته بندی ها از مواد نانوکامپوزیت استفاده می شود. هدف از ایجاد این نوع مواد افزایش مدول، پایداری شکلی و مقاومت نسبت به حلال ها و نفوذ گازها می باشد. در نانوکامپوزیت معمولا یک پایه (بستر) مانند پلیمر و یک یا چند نانومواد وجود دارد [۲].

امروزه کاربرد ترکیبات ضدمیکروبی در بسته بندی مواد غذایی مورد توجه خاصی قرار گرفته است. این فیلم ها به کنترل رشد میکروارگانیسم های فسادزا و بیماری زا کمک می کند. از جمله ترکیباتی که می توان از آن ها به عنوان یک افزودنی دارای خاصیت ضدمیکروبی در فیلم های بسته بندی استفاده کرد، اسانس ها هستند. ترکیب، ساختار و گروه های عاملی اسانس ها نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی آن ها ایفا می کنند [۳]. در میان اسانس های مختلف اسانس رزماری خواص ضدمیکروبی مناسبی در تحقیقات مختلف از خود نشان داده است [۴]. از آنجا که افزودن مستقیم این روغن های فرار به مواد غذایی در ویژگی های حسی غذا اثر می گذارند، افزودن این روغن ها به فیلم ها کاربرد مؤثری در بسته بندی مواد غذایی دارد [۵].

به دلیل اینکه اسانس های گیاهی ترکیبات حساس و فراری هستند یکی از روش ها برای افزایش کارایی آنها درونپوشانی این مواد می باشد. در سالهای اخیر نانو درونپوشانی به دلیل مزایای متعدد نسبت به میکرو درونپوشانی مورد توجه قرار گرفته است. به منظور درونپوشانی اسانس ها از مواد مختلفی استفاده می شود که یکی از پرکاربردترین ترکیبات در این زمینه پلی ساکارید کیتوزان است [۶].

با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این تحقیق درونپوشانی اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان و در مرحله بعد استفاده از این ماده درون فیلم بر پایه نشاسته و بررسی خواص فیزیکی و ضد میکروبی آن می باشد.

فصل اول

کلیات

۱-۱ بسته بندی های زیست تخریب پذیر

شرایط محیطی مانند اکسیژن، نور، رطوبت، تنش های مکانیکی و میکروبی عوامل مهم مؤثر بر کیفیت مواد غذایی می باشند [۷]. همواره بسته بندی ها نقش مهمی در نگهداری، توزیع و بازاریابی موادغذایی داشته اند [۸].

قسمت عمده مواد بسته بندی محصولات غذایی را پلیمرهای حاصل از مشتقات نفتی تشکیل می دهند. مزایای پلیمرهای سنتزی که صنایع بسته بندی را تشویق به استفاده از آن ها می کند عبارتند از: قیمت پایین، تولید راحت تر، ویژگی های مکانیکی مطلوب، خواص بازدارندگی خوب و ویژگی درزبندی حرارتی مطلوب. از طرف دیگر، این نوع پلیمرها دارای یکسری معایبی می باشند نظیر: کاهش منابع سوخت های فسیلی، افزایش قیمت نفت و فرآورده های حاصل از آن، مشکلات زیست محیطی به دلیل زیست تخریب پذیری پایین و سوزاندن زباله های پلیمری، افزایش هزینه ها و همچنین ایجاد آلودگی های ثانویه مربوط به روش های بازیافت آن ها، خطر مسمومیت مصرف کننده بدلیل احتمال مهاجرت مونومرها، الیگومرها یا مواد افزودنی آن ها به داخل مواد غذایی [۹]. مطابق با سازمان حفاظت محیط زیست بیش از ۱۳ میلیون تن زباله از پلاستیک های بسته بندی در سال ۲۰۱۰ در ایالات متحده تولید شده است که نسبت به سال ۱۹۹۰ دو برابر شده است [۱۰]. به منظور حل مشکلات تولید شده توسط زباله های پلاستیکی، تلاش برای به دست آوردن مواد سازگار با محیط زیست انجام شده است. بسیاری از پژوهش ها در جهت جایگزینی پلاستیک توسط مواد زیست تخریب پذیر با خواص مشابه و هزینه پایین می باشد [۱۱].

پلاستیک های زیست تخریب پذیر از مواد پلیمری هستند که قابل تخریب توسط موجودات زنده طبیعی بوده که در حضور شرایط مناسب رطوبت، درجه حرارت و در حضور اکسیژن تجزیه بیولوژیکی منجر به فروپاشی پلاستیک، بدون تولید هیچ ماده سمی یا مضر برای محیط زیست می شود.

فیلم ها و پوشش های خوراکی بعنوان یک پوشش یا فیلم بین اجزای مواد غذایی بعنوان مانع انتقال جرم استفاده می شوند[۲]. فیلم های خوراکی می توانند از انتقال جرم آب یا دیگر ترکیبات مانند اکسیژن، دی اکسید کربن، روغن و ترکیبات معطر بین محصول و محیط اطراف و یا بین لایه های مختلف جلوگیری کنند [۱۲]. پوشش های خوراکی ممکن است بطور مستقیم بر روی محصول تشکیل شوند یا بصورت فیلم مورد استفاده قرار گیرند. ممکن است این مواد بر روی مواد غذایی اسپری شوند یا اینکه موادغذایی در آن ها فرو برده شوند. برای بهبود عملکرد پوشش های خوراکی می توان آنتی اکسیدان ها، طعم دهنده ها، رنگدانه ها، ویتامین ها و عوامل ضدمیکروبی را به پوشش های خوراکی اضافه نمود [۱۳].

فیلم های پلیمری از منابع تجدید پذیر معمولا از مواد خام طبیعی مانند نشاسته، سلولز و پروتئین؛ ترکیبات شیمیایی مشتق شده از مونومرهای زیستی مانند پلی لاکتات ها و بیو پلی استر و یا اینکه پلیمرهای طبیعی تولید شده توسط میکروارگانیسم ها مانند پلی هیدروکسی بوتیرات، سلولز باکتریایی، زانتان و پلولان تهیه می شوند [۱۰و ۲].

طبقه بندی فیلم های زیست تخریب پذیر بر اساس ماده ساختاری مورد استفاده در تهیه آن ها انجام می گیرد. بر این اساس فیلم های خوراکی معمولا از پروتئین ها، پلی ساکاریدها، چربی ها یا ترکیبی از این مواد تهیه می شوند [۱۴].

۱-۱-۱ فیلم های برپایه پلی ساکاریدها

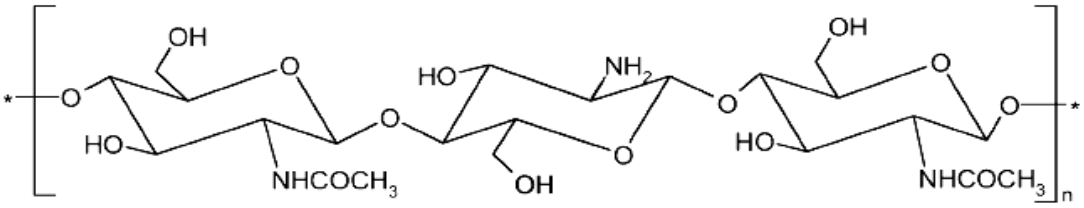
فیلم های پلی ساکاریدی که فیلم هایی بر پایه کربوهیدرات ها نیز نامیده می شوند، پلیمرهای هیدروفیلیک هستند، در نتیجه خواص ممانعتی کمی در برابر آب دارند. سلولز و نشاسته در دسترس هستند و هزینه تولید کمی دارند اما کشش کم آن ها از اشکالات آن هاست که کاربرد آن ها را محدود

کرده است. پلی ساکاریدهای مختلف مثل مشتقات سلولز، نشاسته، مشتقات نشاسته، آلژینات، پکتین، کاراگینان، کیتوزان و صمغ های مختلف برای تولید فیلم های خوراکی استفاده شده است [۱۵].

پلی ساکاریدها هیدروکلوئیدهایی با وزن مولکولی بالا و محلول در آب می باشند. محلول های آبی آن ها به علت اندازه و آرایش مولکولی، توانایی حجم دهندگی یا تشکیل ژل را دارند. وقتی که محلول پلی ساکاریدی روی یک سطح پخش شده و خشک شود، تولید فیلمی می کند که دارای ویژگی های مکانیکی، شفافیت و حلالیت خاص خود است. پلی ساکارید هایی که معمولا در تهیه فیلم های خوراکی بکار می روند شامل نشاسته، سلولز و مشتقات آن، مشتقات پکتین، صمغ های دریایی (آلژینات، کاراگینان، آگار و کیتوزان) و پلی ساکاریدهای میکروبی می باشند. فیلم های پلی ساکاریدی دارای ویژگی های ساختاری، مکانیکی و مقاومت به اکسیژن خوبی می باشند، اما به علت ماهیت آب دوستی خود مقاومت مناسبی در برابر بخار آب ندارند [۱۶و۱۷].

۱-۱-۱-۱ کیتوزان

کیتوزان یک نوع پلیمر چند قندی است که از واحدهای گلوکزآمین و ان-استیل گلوکزآمین (با اتصالات بتا ۱و۴) تشکیل شده است. کیتوزان از استیل زدایی کیتین به دست می آید. این پلیمر کاتیونی، از نظر فراوانی در طبیعت دومین پلی ساکارید مهم بعد از سلولز می باشد. ساختار کیتوزان در شکل (۱-۱) نشان داده شده است. ثابت شده است که کیتوزان یک ماده غیرسمی، زیست تجزیه پذیر، زیست سازگار، دارای خواص ضدمیکروبی روی *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس*، *باسیلوس مگاتریوم* و... و اثر ضدقارچی بر قارچ های مختلف می باشد. همچنین این بسپار دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ویژگی تشکیل فیلم و پوشش است. خاصیت ضدمیکروبی کیتوزان ناشی از گروه های آمینی با بارمثبت است. این گروه ها با غشاء سلولی میکروارگانیسم ها که دارای بار منفی است واکنش می دهند. این واکنش منجر به نشت اجزاء پروتئینی و سایر اجزاء درون سلولی میکروارگانیسم ها می شود [۱۸، ۱۹، ۲۰].



شکل ۱-۱ ساختار کیتوزان [۱۹].

۱-۱-۱-۲ نشاسته

نشاسته یکی از ذخایر انرژی طبیعت است. این کربوهیدرات در مکان های مختلف گیاه به فرم گرانول های مختلف به عنوان مثال کره، بیضی، چندضلعی، لوله نامنظم و ... وجود دارد [۲۱]. نشاسته از جمله پلی ساکاریدهایی است که به وفور در طبیعت یافت شده و به عنوان مهم ترین منبع ذخیره ای در گیاهان مطرح می باشد. مهم ترین منابع آن عبارتند از: دانه های غلات، حبوبات، گیاهان غده ای نظیر سیب زمینی [۲۲ و ۱۲]. نشاسته از دو زیست پلیمر آمیلوز (۲۵٪) و آمیلوپکتین (۷۵٪) تشکیل شده است. آمیلوز توانایی تشکیل فیلم دارد [۱۲].

نشاسته به دلیل فراوانی، قیمت ارزان، قابلیت تجدید شوندگی و بازیافت زیستی یکی از مواد خام جذاب برای استفاده در بسته بندی های خوراکی محسوب می شود، علاوه بر این نشاسته حساسیت زا نبوده و به دلیل داشتن ماهیت پلیمری قابلیت فیلم سازی خوبی دارد و این پوشش های بسته بندی، بسیار محکم تر و انعطاف پذیرتر از فیلم های پروتئینی هستند [۲۲]. نشاسته در محیط های آبی و خاکی کاملا زیست تخریب پذیر است. از تجزیه طبیعی نشاسته، آب، دی اکسیدکربن و توده زیستی تولید می شود. بنابراین نه تنها آلودگی زیست محیطی برجای نمی گذارد بلکه با تولید دی اکسیدکربن می تواند دوباره وارد چرخه طبیعت شده و در فتوسنتز گیاهان شرکت کند [۲۱].

با این وجود، نشاسته دارای معایبی از جمله حساسیت به آب و خواص مکانیکی ضعیف در مقایسه با پلیمرهای معمولی مصنوعی می باشد. پلاستیسایزرها اغلب برای رفع شکنندگی فیلم افزوده می شوند. به

عبارتی دیگر، پلاستیسایزرها خاصیت آبدوستی فیلم و به نوبه خود نفوذپذیری به بخار آب را افزایش می دهد [۲۳].

خواص فیلم برپایه نشاسته با مخلوط کردن آن با پلیمرهای دیگر مانند کیتوزان، کربوکسی متیل سلولز، پلی وینیل الکل، پلی لاکتید بهبود می یابد. راه دیگر آن مخلوط نشاسته با پرکننده های دیگر مانند سلواز، لیگنین و نانورس می باشد [۲۱].

۱-۱-۲ فیلم های برپایه پروتئین

یکی از موادی که به طور معمول در تشکیل فیلم های خوراکی و زیست تخریب پذیر بکار می روند، پروتئین ها می باشند که می توانند منشأ گیاهی (پروتئین های سویا و گلوتن گندم) یا حیوانی (پروتئین های شیر و ژلاتین) داشته باشند.

خصوصیت فیلم سازی پروتئین ها ناشی از ویژگی های ذاتی آن ها می باشد که خود به چگونگی توزیع بار، تعادل اسیدهای آمینه قطبی و غیرقطبی، اندازه مولکول، نقطه ایزوالکتریک و شکل سه بعدی وابسته است. نیروهای جاذبه میان زنجیره های پروتئینی منجر به ایجاد بستر چسبنده ای می شود که ساختار فیلم را تشکیل می دهد. فیلم حاصل، توسط برهمکنش های الکترواستاتیک، پیوندهای هیدروژنی، واندروالس، کووالان و پل های دی سولفیدی پایدار می شود. فیلم های پروتئینی نیز مانند فیلم های پلی ساکاریدی علی رغم داشتن ویژگی های مطلوب ساختاری، مکانیکی و مقاومت به اکسیژن، نسبت به رطوبت نفوذپذیرند [۱۷و۲۴].

۱-۱-۳ فیلم های برپایه ترکیبات لیپیدی

پوشش های غذایی برپایه مواد آب گریز مانند لیپیدها به طور اختصاصی به منظور کاهش مهاجرت رطوبت در مواد غذایی توسعه یافته اند، زیرا این ترکیبات به علت ماهیت آب گریز خود سدهای مناسبی در برابر

مهاجرت رطوبت تلقی می شوند. این پوشش ها را با روش های مختلف از جمله پوشش مستقیم، فروبردن و ... می توان بکار برد. اکثر مطالعات در مورد کاربرد این پوشش ها بر میوه ها و سبزی های تازه بوده است. ترکیباتی که اغلب مورد استفاده قرار می گیرند شامل موم زنبور عسل، واکس کارنوبا، تری گلیسیریدها، مونوگلیسیریدهای استیله، اسیدهای چرب، الکل های چرب و رزین ها می باشند. مهم ترین مزیت پوشش های لیپیدی، مقاومت آن ها در برابر رطوبت است، اما نسبت به اکسیژن سد مناسبی نیستند. همچنین کاربرد آن ها به عنوان پوشش مواد غذایی می تواند دارای معایبی از جمله مشکلات ارگانولپتیکی، رنسیدیتی، چرب شدن سطح ماده غذایی و پایداری مکانیکی کم باشد. به علاوه چون این ترکیبات پلیمر نیستند، نمی توانند فیلم چسبنده و مستقل تولید کنند [۱۷و۲۴].

۱-۲ بسته بندی های فعال ضدمیکروبی

تمایل مصرف کنندگان به تهیه مواد غذایی تازه که کمترین فرآیند حرارتی را تحمل کرده و به راحتی با صرف زمان کم در منزل قابل مصرف باشند، از یک طرف و از طرفی دیگر مسمومیت های غذایی بوقوع پیوسته، نیاز به تحقیق و مطالعه در زمینه یافتن راهی نوین جهت جلوگیری از رشد میکروب ها در مواد غذایی در کنار حفظ کیفیت و تازگی و ایمنی این محصولات را ایجاب می کند [۲۵و۲۶] .

آلودگی میکروبی، ماندگاری موادغذایی را کوتاه و خطر ابتلا به بیماری را افزایش می دهد. از این رو، نیاز حیاتی در صنعت مواد غذایی به استفاده از روش های مؤثر برای از بین بردن یا غیرفعال کردن فساد ناشی از پاتوژن در سطح موادغذایی وجود دارد [۶].

اخیرا یافتن راهی که سبب مهار رشد میکروبی در موادغذایی شده در حالیکه کیفیت، طراوت و ایمنی آن ها حفظ گردد، مسأله مهمی شده است [۲۷]. روش های مرسوم حفظ مواد غذایی در برابر رشد میکروبی، شامل فرآیندهای حرارتی، خشک کردن، انجماد، تابش، بسته بندی در اتمسفر اصلا ح شده و اضافه کردن

عوامل ضدمیکروبی یا نمک می باشد. متأسفانه، برخی از این روش ها نمی تواند برای محصولات غذایی مثل گوشت تازه و محصولات آماده به مصرف اعمال شود [۲۸].

از تحولات قابل توجه در سال های اخیر در زمینه فیلم های بسته بندی استفاده از عوامل ضدمیکروبی می باشد. این فیلم دارای قابلیت بهبود ثبات میکروبی مواد غذایی با اثر بر سطح مواد غذایی پس از تماس هستند [۵]. مواد ضدمیکروبی گنجانیده شده در مواد بسته بندی می توانند آلودگی میکروبی را با کاهش سرعت رشد، یا گسترش فاز تأخیر میکروارگانیسم هدف و یا با غیر فعال کردن میکروارگانیسم ها از طریق تماس، کنترل کنند [۲۸].

استفاده از بسته بندی های فعال، روشی نوینی برای نگهداری مواد غذایی می باشند که در سال های اخیر پژوهش های گسترده ای برای تولید و اقتصادی کردن آن انجام یافته است. اصطلاح بسته بندی فعال برای اولین بار توسط لابوزا[۲] در سال ۱۹۸۷ مورد استفاده قرار گرفت. بسته بندی فعال به این صورت تعریف شده است: نوعی بسته بندی که علاوه بر داشتن خواص بازدارندگی اصلی بسته بندی های معمول (مانند خواص بازدارندگی در برابر گازها و بخار آب و تنش های مکانیکی)، با تغییر شرایط بسته بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی های حسی ماده غذایی را بهبود می بخشد و در عین حال کیفیت ماده غذایی حفظ می گردد. بسته بندی فعال شامل برهم کنش هایی بین غذا، ماده بسته بندی (یا پوشش) و اتمسفر گازی داخل بسته می باشد که بایستی در عین حال که کیفیت و امنیت محصول را حفظ می کند قادر به افزایش ماندگاری آن نیز باشد [۹].

۱-۲-۱ توسعه سیستم های بسته بندی ضدمیکروبی

روش های متعددی برای گنجانیدن عوامل ضدمیکروبی در ماده بسته بندی وجود دارد که یکی از آن ها قرار دادن ماده ضدمیکروب در درون فیلم با اضافه کردن آن در اکسترودر هنگامی که فیلم یا فیلم کو

[2] Labuza

اکسترود تولید می شود، است که در این روش مواد باید در لایه های در تماس با موادغذایی ماده بسته بندی چندلایه گنجانیده شوند تا برای فعالیت های ضدمیکروبی کاملا در دسترس باشند [۲۸].

نانوذرات فلزی، نانو مواد اکسید فلزی و نانولوله های کربنی مورد استفاده ترین مواد فعال ضدمیکروبی هستند. عمل این ذرات در تماس مستقیم است، اما این ترکیبات می توانند به آرامی مهاجرت کنند و با مواد آلی موجود در موادغذایی واکنش نشان دهند. نانو ذرات نقره، طلا و روی بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته اند. شایع ترین نانوکامپوزیت که برای بسته بندی موادغذایی بعنوان عامل ضدباکتری مورد استفاده قرار می گیرد، نقره است که سمیت قوی در مقابل طیف گسترده ای از میکروارگانیسم ها دارد [۲۹]، بطوریکه خاصیت ضد قارچ و ضدمیکروب در برابر ۱۵۰ گونه مختلف را از خود نشان داده است. در سالهای اخیر نانوذرات پلیمری نیز برای بسته بندی مواد غذایی توسعه یافته اند [۳۰].

فیلم های زیست پلیمری حامل عالی برای جا دادن طیف وسیعی از افزودنی ها مانند آنتی اکسیدان ها، عوامل ضدقارچی، ضدمیکروبی، رنگ ها و دیگر موادمغذی می باشند. زیست پلیمرهای طبیعی نسبت به زیست پلیمرهای مصنوعی بدلیل اینکه زیست تخریب پذیر هستند، استفاده بیشتری دارند [۲۷].

۱-۲-۲ انواع بسته بندی های ضدمیکروبی

۱-۲-۲-۱ قرار دادن کیسه های حاوی مواد ضدمیکروب در داخل بسته ماده غذایی

موفق ترین کاربرد تجاری بسته بندی ضدمیکروبی، قرار دادن کیسه های کوچک در داخل بسته بندی یا چسباندن این کیسه ها به داخل بسته بندی است جاذب های اکسیژن و رطوبت در محصولات نانوایی، پاستا و بسته بندی گوشت برای جلوگیری از اکسایش بکار می روند. همچنین جاذب های اکسیژن با کاهش اکسیژن محیط از رشد میکروارگانیسم های هوازی خصوصا کپک ها جلوگیری می کنند [۳۱].

۱-۲-۲-۲ پوشش سطوح پلیمری با مواد ضدمیکروب

مواد ضدمیکروب که دمای بالای فرآیند تولید پلیمر را تحمل نمی کنند، به صورت پوشش روی فیلم های پلیمری بکار می روند. مانند پوشش های نایسین/ متیل سلولز که برای پوشش دهی گوشت طیور بکار می رود [۳۱].

۱-۲-۲-۳ تثبیت مواد ضدمیکروبی روی پلیمر بوسیله پیوندهای کووالانسی یا یونی

در این نوع تثبیت، حضور گروه های عاملی در مواد ضدمیکروب و پلیمرها لازم است. [۳۲].

آنزیم های ضدمیکروبی که می توان آن ها را با پیوندهای کووالانسی بر روی بسته بندی مواد غذایی تثبیت کرد شامل لاکتوفرین و سولفیدریل اکسیداز هستند [۳۳] و [۳۴].

۱-۲-۲-۴ استفاده از پلیمرهایی که ذاتا ضدمیکروب هستند

برخی پلیمرهای بکار رفته در فیلم ها و پوشش ها ذاتا خاصیت ضدمیکروبی دارند از جمله می توان به پلیمرهای کاتیونی مانند کیتوزان و پلی ال لیزین اشاره کرد که به دیواره سلولی حمله می کنند [۳۳و۳۴]. پلیمرهای آکریل آمید با خاصیت باکتری کشی جهت بسته بندی میوه ها و سبزیجات و افزایش عمر نگهداری آن ها، مطرح می باشند [۳۵].

۱-۲-۲-۵ ترکیب کردن مستقیم ترکیبات ضدمیکروبی با پلیمرها

ترکیب کردن مواد زیست فعال شامل مواد ضدمیکروب با پلیمرها بصورت تجاری در صنایع داروسازی، نساجی، تجهیزات جراحی و وسایل پزشکی کاربرد دارد. مطالعات نشان داده که افزودن ترکیبات زیست فعال به پلیمرها در صنایع غذایی به سهولت انجام می شود [۳۶]. در این روش امکان بکارگیری پلیمرهای سنتزی و زیستی وجود دارد. پلیمرهای سنتزی شامل پلی اتیلن، پلی استایرن، پلی اتیلن ترفتالات و پلی پروپیلن می باشند [۳۷] و در مورد پلیمرهای زیستی می توان به آلژینات، کیتوزان، پروتئین سویا و

نشاسته اشاره نمود [۱۷]. زیست پلیمرها معمولا بصورت فیلم یا پوشش در مواد غذایی بکار می روند و تحت عنوان فیلم یا پوشش های زیست تخریب پذیر مطرح می شوند [۲۴].

عوامل متعددی را باید در طراحی یا مدل سازی فیلم و یا بسته بندی ضدمیکروبی از جمله ماهیت شیمیایی فیلم ها، پوشش ها، شرایط فرآیند شکل گیری آن ها، فعالیت ضدمیکروبی آن ها و انتخاب مواد ضدمیکروب در نظر گرفت [۲۸].

۱-۳ اسانس های گیاهی

از اواسط قرن گذشته، به منظور حفظ مواد غذایی و عمر مفید طولانی، ترکیبات مصنوعی به عنوان افزودنی در تولید مواد غذایی استفاده شده است. در سال های اخیر، مردم نگرانی زیادی در ارتباط با مصرف این مواد ابراز کرده اند. بنابراین علاقه به استفاده از مواد طبیعی بعنوان مواد نگهدارنده موادغذایی افزایش یافته است.

مطالعات نشان داده اند که برخی از اسانس ها خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قوی دارند. بنابراین، آنها را می توان در تولید مواد غذایی به عنوان جایگزین مواد افزودنی نگهدارنده مصنوعی، به منظور محدود کردن رشد پاتوژن های مواد غذایی استفاده کرد.

فعالیت ضدمیکروبی عصاره های گیاهی بدلیل خاصیت آبگریزی بالای آن ها می باشد که آنها را قادر به عبور از غشاء باکتری ها و باعث خارج شدن یون ها و کاهش پتانسیل غشاء، از دست رفتن عملکرد پمپ پروتون و کاهش ATP ، صدمه به پروتئین، چربی و اندامکهای حاضر در سلول باکتری یا باعث مرگ سلول می شوند [۳۸و۳۹].

اسانس های گیاهی ترکیبات فرار، کمپلکس، معطر و طبیعی هستند که توسط گیاهان به عنوان متابولیت های ثانویه برای دفاع در برابر فساد ریززنده ها تولید می شوند. بر اساس تعریف ایزو ۹۲۳۵، اسانس

فرآورده حاصل از مواد گیاهی خام بدست آمده با تقطیر با آب یا بخارآب می باشد. آن ها اغلب مایعاتی فرار، زلال، گاهی رنگی، محلول در چربی و حلال های آلی و معمولا با چگالی کمتر از آب می باشند [۴۰].

اسانس های گیاهی در طبقه بندی GRAS (به عنوان امن به رسمیت شناخته شده اند) توسط سازمان غذا و داروی امریکا هستند و می توان آن را بدون نیاز به تأیید بیشتر در صنایع غذایی استفاده کرد. با این حال، استفاده از اسانس های گیاهی در مواد غذایی به دلیل خاصیت غیرقابل انحلال در آب و عطرو طعم خاص که خواص حسی مواد غذایی را تغییر می دهد، محدود می باشد [۶].

اسانس های گیاهی مخلوط پیچیده ای هستند که بین ۲۰ تا ۶۰ ترکیب در غلظت های مختلف، دارا می باشند، اما معمولا دو یا سه ترکیب اصلی در غلظت های بالا (۲۰ تا ۷۰ ٪) در آن ها وجود دارند و مابقی در مقادیر کمتری هستند. این ترکیبات اصلی تعیین کننده فعالیت زیستی اسانس ها می باشند. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس ها به دو گروه با خاستگاه متفاوت تقسیم می شوند. یک گروه شامل ترپن ها و ترپنوئیدها که واحدهای تشکیل دهنده آن ها ایزوپرن است و گروه دیگر شامل ترکیبات آلیفاتیک و آروماتیک که از فنیل پروپان مشتق می شوند. هر دو گروه دارای وزن مولکولی کمی هستند [۵].

ترکیب، ساختار و گروه های عملکردی نقش مهمی در تعیین فعالیت ضدمیکروبی اسانس ها دارند. معمولا ترکیبات دارای گروه های فنلی مؤثرترند که در این میان روغن میخک، آویشن، رزماری، مریم گلی دارای بیشترین فعالیت ضدمیکروبی می باشند [۵] معمولا اثر بازدارندگی آن ها بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی است. البته برخی از ترکیبات غیرفنلی اسانس ها بر باکتری های گرم منفی مؤثرتر می باشند، مانند الیل ایزوتیوسیانات، سینامالدهید یا آلیسین که کاملاً بر باکتری گرم منفی مؤثرند [۳۶و۴۱].

از آنجا که افزودن مستقیم این روغن های فرار به مواد غذایی در ویژگی های حسی غذا اثر می گذارد، افزودن این روغن ها به فیلم ها کاربرد مؤثری در بسته بندی مواد غذایی دارد [۵]. از طرفی در مواد غذایی بین ترکیبات غذا (پروتئین و چربی) و ترکیبات فنلی موجود در اسانس تأثیر متقابل وجود دارد، که این موضوع باعث کاهش فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات فنلی می شود. بنابراین حضور اسانس های روغنی در فرمولاسیون فیلم ها و پوشش های خوراکی موجب ثبات این ترکیبات می شود. این دست فیلم ها و پوشش ها از طریق آزادسازی تدریجی ترکیبات ضدمیکروبی آلودگی سطحی موادغذایی را کاهش می هند [۴۲].

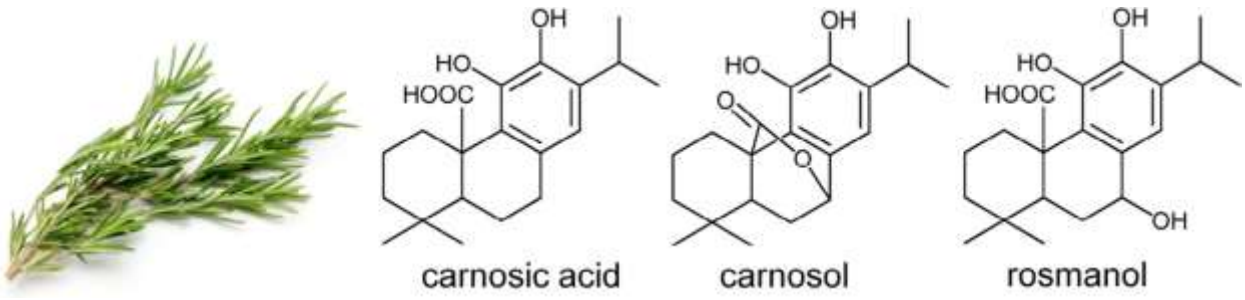
۱-۳-۱ اسانس رزماری

رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* L. گیاهی همیشه سبز و معطر، از خانواده نعناعیان و چند ساله است. این گیاه بومی دریای مدیترانه است اما در بسیاری از نقاط جهان کشت می شود. این گیاه همچنین در رژیم غذایی بعنوان ادویه و عامل طعم دهنده استفاده می شود [۴۳و۴۴].

یکی از مهم ترین ترکیبات رزماری، کارنوسول (یک دی ترپن طبیعی) است. در تحقیقات متعدد خواص ضدمیکروبی قوی اسانس رزماری به اثبات رسیده است [۴]. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی و محافظت کنندگی کبدی و ضدالتهابی آن نیز گزارش شده است. عصاره رزماری حاوی مقدار بالای اسیدکارنوسیک می باشد که نه تنها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است بلکه دارای خاصیت ضدمیکروبی نیز می باشد [۴۴].

عصاره رزماری دارای بسیاری از ترکیبات مختلف مثل فلاونوئیدها، پلی فنل ها و ترپنوئیدها می باشد که این ترکیبات دارای اثرات مختلف فیزیولوژیکی می باشند. بالاترین خواص آنتی اکسیدانی رزماری در درجه اول به حضور دی ترپن های فنلی می باشد. رایج ترین دی ترپن ها در رزماری اسیدکارنوسول، رزمانول، کارنوسیک، اپی رزمانول، ایزورزمانول و ۷-متیل اپی رزمانول می باشد. با این حال، بیش از ۹۰

درصد فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس رزماری به اسید کارنوسیک و کارنوسول نسبت داده شده است [۴۳، ۴۴ و ۴۵]. این ترکیبات به علت دارا بودن خاصیت هیدروژن دهندگی، باعث متوقف شدن واکنش های زنجیره ای تولید رادیکال آزاد می شوند و متعاقب آن اکسیداسیون چربی را به تعویق می اندازد [۴۶]. در شکل (۱-۲) گیاه رزماری و ساختار شیمیایی برخی از ترکیبات مهم این گیاه نشان داده شده است.



شکل ۱-۲ گیاه رزماری و ساختار برخی از ترکیبات آن [۴۳].

۱-۴ کاربرد فناوری نانو در صنایع غذایی

مفهوم فناوری نانو توسط ریچارد فایمن در سال ۱۹۵۹ در جلسه انجمن فیزیک امریکا معرفی شد. از آن زمان، فناوری نانو را رشته ای در زمینه علم و فن آوری کاربردی می دانند. فن آوری نانو، توانایی کارکردن در مقیاس بین ۱-۱۰۰ نانومتر به منظور درک، ایجاد، توصیف و استفاده از ساختار مواد، دستگاه ها و سیستم با خواص جدید به دست آمده از نانوساختار آن ها است. بدلیل اندازه آن ها، نانوذرات نسبت سطح بزرگتری و در نتیجه اتم های سطحی بیش از همتای میکروی خود دارند. در مقیاس نانو، ممکن است مواد خواص الکترونیکی مختلف داشته باشند که روی خواص واکنش نوری، کاتالیزوری و ... اثر می گذارد. دو استراتژی در زمینه فناوری نانو استفاده می شود: "از بالا به پایین" و "از پایین به بالا". در حال حاضر بیشترین تولید در مقیاس نانو "از بالا به پایین" است که در آن ساختارهای نانومتری با کاهش اندازه مواد بدست می آیند [۳۱].

حضور فن آوری نانو در صنعت غذا تحول عظیمی ایجاد کرده، به طوری که در ابعاد مختلف آن از سلامت غذا تا سنتز محصولات جدید و اجزای غذایی نفوذ کرده است. این حقیقت که مواد غذایی در ابعاد کوچک از نظر خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک با ابعاد بزرگ متفاوت هستند، شناخت پدیده های فیزیکی و بیولوژیک را در صنعت غذا دگرگون می سازد. [۶]. نانو ذرات می توانند به طور مؤثری باکتری های مضر در غذا را از بین برده و سلامت غذا را افزایش دهند. ترکیبات نانو در مقایسه با اندازه های اصلی خود دارای فعالیت و تأثیر گذاری بیشتری می باشند [۴۶].

از جمله کاربردهای نانو مواد در علوم غذا و صنایع غذایی، می توان به بسته بندی، تولید غذاهای مولکولی، افزودنی های غذایی و روکش دارکردن آنزیم ها اشاره کرد.

۱-۴-۱ فن آوری نانو در بسته بندی

امروزه بسته بندی و پالایش مواد غذایی یکی از عمده ترین زمینه هایی است که به صورت هوشمند در آمده اند و این بدان معنا است که این بسته ها به شرایط محیطی واکنش نشان می دهند، یا در صورت خراب شدن خود را ترمیم و تعمیر می کنند و یا حتی مصرف کننده را نسبت به وجود آلودگی و یا حضور عوامل بیماری زا در بسته، آگاه می سازند. در حال حاضر پژوهشگران هلندی در زمینه بسته بندی های هوشمند یک گام به جلو برداشته اند، آن ها بسته بندی هایی را طراحی کرده اند که به محض شروع فساد در ماده غذایی داخل بسته، از خود ماده نگهدارنده آزاد می کنند. این نوع بسته بندی که توسط یک سوئیچ زیستی، که به روش نانو فن آوری ساخته شده فعال می شود.

کاربرد فن آوری نانو در بسته بندی را می توان به دو دسته کلی زیر تقسیم نمود:

۱- بسته بندی های فعال که حاوی موادی با عملکردی خاص هستند (شبیه به بسته بندی هایی که از ورود اکسیژن و فساد غذا جلوگیری می کنند) مثال هایی از این نوع شامل موارد زیر هستند:

جایگزینی نانومواد به جای پلی وینیل استات و پلی وینیل الکل در ظروف بسته بندی مقوایی.

استفاده از بطری های پلاستیکی ساخته شده از مواد نانوکامپوزیت و استفاده از لایه های پلاستیکی ضدقارچ و ضدباکتری که دارای طول عمر بیشتری هستند.

۲- بسته بندی های هوشمند که به تغییرات محیط واکنش می دهند. موارد زیر مثال هایی از این نوع هستند: تولید بسته بندی هایی که توانایی بازتاب گرما از یک بستنی یخی را داشته، می توانند آن را از ذوب شدن در یک محیط گرم حفظ کنند. تولید بسته بندی هایی که می توانند خود را ترمیم کنند. بسته بندی هایی که می توانند در شرایط خاص، خواصشان را تغییر دهند مانند بسته بندی هایی که بتوانند فاسدشدن شیر را با تغییر رنگ نشان دهند [۴۷].

۱-۵ درونپوشانی

درونپوشانی کردن فرآیندی است که در آن پوشش نازک پیوسته در اطراف ذرات جامد، قطرات مایع و یا سلول های گاز تشکیل می شود [۴۸]. یا به تعبیری دیگر درونپوشانی کردن به فن آوری گفته می شود که در آن ترکیبات زیست فعال کاملا پوشانده شده و با یک مرز فیزیکی حفاظت می شوند. این فن آوری حدود ۶۰ سال پیش گسترش یافت و امروزه در دارو سازی استفاده زیادی دارد، هم چنین برای صنعت غذا نیز مناسب است. یکی از مهم ترین دلایل درونپوشانی کردن مواد فعال، پایدار کردن ان ها در محصول نهایی در طول فرآیند است. فایده دیگر کنترل آزاد سازی در محل مورد نظر می باشد. به علاوه درونپوشانی کردن به منظور جلوگیری از واکنش با ترکیبات دیگر در غذا مانند اکسیژن است. درونپوشانی کردن موجب پایداری ترکیبات زیست فعال در طول فرآیند و نگهداری شده و جلوی واکنش های نامطلوب با ماتریکس غذا را می گیرند. عمدتا ترکیبات زیست فعال بسیار سریع وارد واکنش می شوند، درونپوشانی کردن موجب کاهش فرآیند تجزیه این ترکیبات مانند اکسیداسیون و هیدرولیز شده یا بطور کلی جلوی تجزیه را می گیرد [۵۲]. انواع مختلف درونپوشانی در صنایع غذایی به کار برده می شود که

شامل میسل های لورفاکتو، نانوسفرها، ذرات نانو، نانوامولسیون، نانو کوچیلت ها، لیپوزوم ها و نانولیپوزوم ها می باشد [۴۶].

۱-۵-۱ روش های درونپوشانی کردن

بیش از ۱۰۰۰ روش برای فرآیندهای مختلف درونپوشانی کردن وجود دارد که بیش از ۳۰۰ مورد آن ها مربوط به مواد غذایی است [۴۹]. در ادامه تعدادی از روش های مهم ذکر می شود.

۱-۵-۱-۱ خشک کردن پاششی

خشک کردن پاششی که یکی از قدیمی ترین روش های درونپوشانی کردن است و بیشترین استفاده را نیز در بخش صنعت غذا دارد. حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد درونپوشانی ها با خشک کن پاششی انجام می شوند. این روش انعطاف پذیر و مداوم است ولی مهم تر از این ها یک روش مقرون به صرفه است. خشک کردن پاششی ذراتی با کیفیت خوب به اندازه کمتر از ۴۰ میکرومتر تولید می کند. این خصوصیت از دیدگاه خصوصیات بافتی و حسی محصول نهایی مطلوب است. اگر چه خشک کن های پاششی در صنعت غذا بسیار استفاده می شوند معایبی نیز دارند مانند پیچیدگی تجهیزات، شرایط غیر یکنواخت در چمبر خشک کن و اینکه کنترل اندازه ذرات همیشه آسان نیست. در طی فرآیند خشک کردن پاششی تبخیر حلال که در اغلب موارد آب است، موجب می شود به دام افتادن ترکیبات مورد نظر به طور آنی انجام شود. تجهیزات این روش به آسانی قابل دسترس هستند و هزینه تولید آن کمتر از روش های دیگر است. به کار بردن خشک کردن پاششی در میکرو درون پوشانی کردن شامل سه مرحله اصلی است: ۱- آماده سازی دیسپرسیون یا امولسیون که فرآیند باید روی آن انجام شود. ۲- هموژنیزه کردن دیسپرسیون. ۳- اتمایز کردن توده به درون چمبر خشک کردن [۴۹].

۱-۵-۱-۲ استفاده از لیپوزوم ها در درونپوشانی کردن اسانس های روغنی

روش لیپوزوم اولین بار توسط بنگهام و همکارانش در دانشگاه کمبریج در سال ۱۹۶۵ استفاده شد. لیپوزوم ها ذراتی هستند با اندازه بین ۳۰ نانومتر تا چند میکرون. مکانیزم شکل گیری لیپوزوم ها اساسا واکنش آبدوستی- آبگریزی بین فسفولیپیدها و مولکول های آب است. یک لیپوزوم (یا ویزیکول لیپید) ساختاری است از غشای دو لایه لیپیدها که تعدادی بخش های آبی یا مایع را در بر گرفته است. لیپید استفاده شده معمولا فسفولیپید است. لیپوزوم ها به سه دسته تقسیم می شوند: ویزیکول های چندلایه، ویزیکول های کوچک و ویزیکول های بزرگ تک لایه [۵۰].

۱-۵-۱-۳ به دام انداختن اسانس های روغنی در سیکلودکسترین

سیکلودکسترین ها الیگوساکاریدهای حلقوی طبیعی مشتق شده از نشاسته با شش، هفت یا هشت باقیمانده گلوکز هستند. باقیمانده گلوکز با پیوندهای گلیکوزیدی آلفا ۱ به ۴ اتصال یافته اند. سیکلو دکسترین ها ساختار سیلندر شکل دارند. سیکلودکسترین یک قسمت داخلی چربی دوست حدود ۸-۵آ دارد که در آن یک مولکول فعال با یک اندازه مناسب می تواند بطور برگشت پذیر در یک محیط آبی محصور شود. سایز کوچک حفره حلقه مانند ظرفیت آن را محدود می کند. بخش خارجی مولکول های سیکلودکسترین آب دوست بوده در حالیکه بخش داخلی آبگریز است. این خصوصیات ساختاری سبب شده تا سیکلودکسترین ها محیط مناسبی برای درون پوشانی کردن مولکول ها با قطبیت کمتر مانند اسانس های روغنی از طریق واکنش های آب گریزی باشند [۴۹].

۱-۵-۱-۴ تکنولوژی امولسیون سازی

تکنولوژی امولسیون سازی به منظور درونپوشانی کردن مواد زیست فعال در محلول های آبی استفاده می شود. در این تکنولوژی امولسیون می تواند مستقیما به شکل مایع استفاده شود یا خشک شده (یعنی خشک کردن پاششی، غلطکی یا تصعیدی و یا تحت خلأ) و بصورت پودر در بیاید. علاوه بر امولسیون های ساده آب در روغن و روغن در آب انواع مختلفی از امولسیون های چندگانه مانند روغن در آب در روغن

(O/W/O) و آب در روغن در آب (W/O/W) نیز استفاده می شوند. بین اندازه ذرات امولسیون و بازه درونپوشانی کردن رابطه مستقیم وجود دارد. هر چه اندازه کوچک تر باشد بازده درونپوشانی کردن بیشتر است [۴۹].

۱-۵-۱-۵ درونپوشانی کردن در سلول مخمر

درونپوشانی کردن اسانس های روغنی با استفاده از سلول مخمر ((*Saccharomyces cerevisiae*) به عنوان ماده دیواره ای روشی با هزینه کم و حجم بالای فرآیند است. درونپوشانی کردن با مخمرها بستگی به سلول مخمر دارد که اجازه می دهد ماده فعال آزادانه از دیواره و غشای سلول عبور کند و بصورت غیر فعال در داخل سلول بمانند. این تکنولوژی برای مولکول های کوچک چربی دوست مانند اسانس های روغنی استفاده می شود [۵۱].

۱-۴-۲ نانو درونپوشانی

استفاده از مقیاس نانو نوید بخش سامانه رسانش جدید برای مواد زیست فعال است. رهایش طعم، بو و مواد مغذی و استفاده از رفتار فازی پیچیده در محصولات غذایی و نوشیدنی برای ایجاد بافت بهتر، طعم مطبوع تر، رهایش بهتر مواد مغذی و ظاهر و رنگ مطلوب تر از جمله کاربردهای فناوری نانو در این عرصه می باشند. تبدیل محصولات غذایی موجود به مقیاس نانو امکان رهایش بهتر طعم و بو، آنتی اکسیدان ها، ویتامین ها و مواد مغذی را ایجاد می کند [۱۰].

آماده سازی نانوذرات بطور کلی سه هدف را دنبال می کند ۱- نیاز به واکنشگر سمی حداقل باشد ۲- ساده سازی روشی که در تهیه نانوکپسول ها به کار گرفته می شود و امکان صنعتی شدن این روش ۳- بهینه سازی برای افزایش بازده [۵۲].

درونپوشانی کردن در بخش غذا و نوشیدنی به دلایل زیر از اهمیت بالایی برخوردار است:

- بهبود وضعیت حسگری محصول، قرار دادن طعم و بو درون یک پوشش
- حفاظت از ترکیبات حساس در برابر فرآوری
- افزایش میزان جذب به درون محیط زیستی بدن، پایداری شیمیایی، انحلال پذیری، دوام درون سلول
- رهایش کنترل شده: رساندن هدفمند مواد زیست فعال به محل های مورد نظر

نانو کپسوله کردن ترکیبات زیست فعال در نانوامولسیون های روغن در آب روش مؤثری برای وارد کردن ترکیبات کم محلول در آب در موادغذایی است. مولکول های زیست فعال، بسته به فرمولاسیون مورد استفاده، هم چنین فرایند تولید ممکن است مکان های مختلفی در داخل یک نانوامولسیون داشته باشند. برای مثال، ترکیب زیست فعال می تواند در فاز روغن درونی به دام بیفتد یا در لایه پایدارکننده بیرونی پخش شود.

شرایط محیطی روی پایداری، رهاسازی و زیست دسترسی ترکیب نانوکپسوله شده تأثیر می گذارد. در کل، تثبیت ترکیبات زیست فعال در ماتریس لیپیدی نانوامولسیون ها، در نتیجه اندازه نانومتریک سیستم انکپسولاسیون، می تواند بطور بالقوه در بهبود پراکنده شدن ترکیبات کم محلول در آب در محلول های آبی و حداقل گرایش به جداشدن فازهای مختلف (آبی و روغنی)، حفاظت از ترکیبات زیست فعال و حفظ ویژگی های عملکردی آن ها، کاهش تأثیر روی ویژگی های ارگانولپتیک غذا، بهبود جذب و زیست دسترسی ترکیب زیست فعال به خاطر اندازه ریزسلولی نانوکپسول ها که مکانیسم های انتقال غیرفعال در غشای سلولی را افزایش می دهند، نقش داشته باشند [۱۰].

کاربرد نانوکپسوله در مواد بسته بندی ضدمیکروبی و معطر، موادی که برای نانوکپسول در نظر گرفته می شود، شامل آنزیم ها، کاتالیزور، روغن، چسب، پلیمر، نانوذرات معدنی, ذرات لایتکس، سلول ها، افزایش دهنده طعم و رنگ و یا ترکیبات بیولوژیکی مانند تغذیه ویتامین ها می باشد.

با استفاده از نانوکپسول از جنس پلیمر خوراکی می توان مزه و بوی مولکول های غذا را از تخریب تدریجی حفظ نمود و با این روش مدت زمان ماندگاری محصول را، افزایش داد [۵۳].

نانوکپسول های پلیمری با پیوندهای کووالانسی قوی تری به یکدیگر متصل شده و بنابراین از استحکام خاصی برخوردارند. با توجه به محدودیت های عملیاتی در شیوه های تهیه، نانوکپسول ها می توانند مواد فعال را بر روی سطح یا چسبیده به غشاء پلیمری نیز با خود حمل کنند [۵۴].

نانوامولسیون ها امولسیون هایی با قطر ۵۰۰-۱۰۰ نانومتر هستند که اغلب با استفاده از هموژنایزرهای فشار بالا و یا میکروفلوئیدایزرها تولید می شوند. انتخاب سورفاکتانت و یک پلیمر مناسب با قابلیت مصرف خوراکی در تولید نانوامولسیون های غذایی بسیار مهم است. نانوامولسیون های چندترکیبی در سیستم های رسانش موادغذایی استفاده می شود. اجزای غذایی زیست فعال درون فازآبی یا فاز روغنی داخلی و یا فاز آبی پیوسته محبوس و منتقل می شوند به این ترتیب سیستم حمل و نقلی با انتقال چندین جزء غذایی با حلالیت مختلف ایجاد می شود. این تکنولوژی موجب محافظت و یا آزاد سازی اجزای کپسوله شده در فازآبی در محل و بافت هدف مورد نظر مثل دهان، معده و یا روده هستند به عنوان مثال انتشار متناوب ترکیبات چند جزئی در دهان احساس مطلوب و طولانی ایجاد می کند. نانوامولسیون های چندلایه نیز جهت حمل و نقل اجزای موادغذایی بکار می روند که متشکل از یک هسته مرکزی (فاز روغنی) است که توسط یک لایه ضخیم (پوسته) شامل چندین الکترولیت، پوشانده شده است [۴۸].

۱-۴-۲-۱ پلیمر در ساختار نانوکپسول

۱-۴-۲-۱-۱ انواع پلیمرها

ماده اصلی در سنتز نانوکپسول ها پلیمرها هستند که به دو دسته طبیعی و مصنوعی تقسیم می شوند. پلیمرهای طبیعی شامل کربوهیدرات ها و پروتئین ها می باشند. از مهم ترین پلیمرهای مصنوعی نیز می توان به پلی لاکتیک اسید، پلی لاکتیک-کو-گلیکولیکاسید و پلی اپسیلون کاپرولاکتون اشاره نمود. جرم مولکولی، نسبت کوپلیمری، میزان زیست سازگاری و سرعت تجزیه پذیری از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی هر پلیمر محسوب می شود [۵۴].

۱-۴-۲-۱-۲ انتخاب پلیمر

ماهیت آب دوستی یا آب گریزی ماده فعال، هدف اصلی از کپسوله کردن و کاربرد مورد نظر و نیز شرایط زیست محیطی حاکم بر محصول در طول مدت نگهداری و مصرف از مهم ترین عوامل مؤثر در انتخاب پلیمر مناسب به شمار می روند. سازگاری شیمیایی و بی اثر بودن نسبت به مواد فعال موجود در سیستم، عدم جذب رطوبت، انعطاف پذیری، ثبات بالا و هزینه مناسب از ویژگی های مورد نیاز برای مواد پوشش دهنده می باشند [۵۴].

۱-۴-۲-۲ فرآیند نانوکپسوله کردن

به طور کلی روشهای زیر به منظور نانوکپسوله کردن استفاده می شود.

۱-۴-۲-۲-۱ روش ته نشینی ذرات نانو

در این روش نانوکپسول ها به صورت ذرات کلوئیدی تشکیل می شوند. ویژگی نانوکپسول ها تحت تأثیر طبیعت و غلظت اجزای آن می باشد [۵۵]. فرآیند تولید نانوذرات در این فرآیند متشکل از سه مرحله ۱- هسته زایی ۲- رشد ۳- تجمع می باشد. سرعت هر مرحله تعیین کننده اندازه ذرات می باشد [۵۶].

۱-۴-۲-۲-۲ روش نفوذ امولسیون

برای تهیه روش امولسیون نفوذکننده، فازآلی تحت همزدن شدید امولسیون می شود. افزودن بعدی آب به سیستم سبب نفوذ حلال به فاز بیرونی و تشکیل نانوکپسول می شود و با تقطیر حلال یا عبور از فیلتر بر مبنای نقطه جوش، حلال حذف می شود. اندازه نانوکپسول به نرخ تنش برشی که در فرآیند امولسیون سازی به کار گرفته می شود، ترکیب شیمیایی فاز آلی، نسبت روغن به پلیمر و محلول اولیه بستگی دارد. معمولا میانگین سایز نانوکپسول ها کمتر از قطر امولسیون می باشد [۵۲].

۱-۴-۲-۲-۳ روش امولسیون سازی دولایه

این روش به دو روش کلی روغن/ آب/ روغن یا آب/ روغن/ آب تقسیم می شود. بطور کلی فاز توزیع شده خود به تنهایی حالت امولسیون می باشد و قطره های توزیع شده در آن توسط یک لایه از فاز بیرونی جدا می شود. معمولا دو مرحله برای تشکیل قطرات نیاز است با استفاده از دو سورفکتانت نوع آب گریز برای استابیلایزر کردن سطح داخلی امولسیون آب در روغن و نوع چربی دوست برای استابیلایزر کردن سطح خارجی امولسیون آب در روغن در آب به کار می رود. این روش در واقع ترکیبی از دو متد قبلی ته نشینی و امولسیون سازی می باشد. سورفکتانت در این روش دو نقش ایفا می کنند یکی به عنوان تشکیل دهنده فیلم و دیگری به عنوان مرزی برای آزاد سازی دارو در سطح درونی و به عنوان استابیلایزر فضایی در سطح خارجی می باشد. بازده نانوکپسولاسیون و میانگین سایز ذرات تحت تأثیر نوع و غلظت امولسیون آب در روغن و عامل تثبیت کننده می باشد. ذراتی که از این روش به دست می آیند معمولا اندازه آن ها ۲۱۱-۱۵۱ نانومتر می باشد. در این روش محلول اولیه از طریق فراصوت تشکیل می شود و سرانجام حلال ها با تبخیر یا خلأ از بین می روند و نانوکپسول های سخت در محیط آبی باقی می مانند و همان طور که قبلا ذکر شد توزیع نانوکپسول ها می تواند رقیق شود قبل از انکه تحت خلأ قرار بگیرند تا حلال آن ها بطور کامل حذف شود [۵۲].

۱-۴-۲-۲-۴ روش ذخیره سازی امولسیونی

این روش، یک روش استراتژی برای آماده سازی نانوکپسول ها با استفاده از مواد پلیمری طبیعی مانند سدیم آلژینات و ژلاتین می باشد. این روش با امولسیون سازی روغن در آب فازآلی (روغن، ماده فعال، حلال ماده فعال) به همراه فاز آبی (آب، پلیمر، عامل استابیلایزرکننده) توسط همزن مکانیکی یا از طریق فراصوت انجام می شود. در نهایت فرآیند لخته سازی به کمک مرحله اتصال عرضی برای بدست آوردن نانوکپسول با پوسته سخت انجام می شود. احتمالاً بحرانی ترین مرحله برای تشکیل نانوکپسول از این روش، منعقد سازی یا لخته سازی می باشد [۵۶].

۱-۴-۲-۲-۵ روش روکش دهی پلیمر

روش های متفاوتی برای روکش دهی نانوکپسول با استفاده از پلیمر می باشد. این کار از طریق جذب پلیمر بر روی سطح غیرروکش دار نانوکپسول ها وقتی در معرض محلول پلیمر قرار می گیرند تحت شرایط مشخص زمان و شرایط همزدن با استفاده از کیتوزان انجام می شود. در این روند فازآلی متشکل از ۱-سورفکتانت ها ۲- ماده فعال ۳- روغن ۴- حلال استن و فاز آبی شامل عامل تثبیت کننده، محلول روکش دهنده پلیمر آبی می باشد.

فاز آلی و فاز آبی تحت یک همزدن مشخص با یکدیگر مخلوط می شوند و یک محلول نانوامولسیون توسط جابجایی حلال صورت می گیرد و سپس حلال در تحت شرایط خلأ تبخیر می شود تا به یک حجم مشخص برسد و نانوامولسیون ها سرانجام توسط پلیمرها روکش دهی می شود و مکانیسم تشکیل نانوکپسول ها توسط واکنش مابین فسفولیپید با بار منفی و مولکول های کیتوزان با بار مثبت حدواسط را ایجاد می کنند. طول زنجیره کیتوزان سایز نانوکپسول را مشخص می کند. وقتی دو قطره مایع با یکدیگر منعقد می شوند و در فاز سومی قرار می گیرند، فاز سوم مانند لایه ای مابین آن ها قرار گرفته و ایجاد حفره می کند، تا دوفاز یک فاز ایجاد کنند [۵۲].

۱-۴-۲-۲-۶ روش لایه به لایه

روش لایه به لایه برای آماده سازی ذرات کلوئیدی برای دست یابی به ذرات ویزیکولی به نام کپسول های پلی الکترولیت استفاده می شود [۵۵].

۱-۴-۲-۲-۷ نانوذرات کیتوزان

نانوذرات کیتوزان برای کپسوله کردن سرم آلبومین گاوی، کزاز، دیفتری، واکسیناسیون، عوامل ضدسرطان، انسولین، اسیدنوکلوئیک به کار می رود. روش آماده سازی ذرات نانویی کیتوزان بر اساس شکل گیری فوری کمپلکس مابین کیتوزان و پلی آنیلین و یا ژلاتینه سازی محلول کیتوزان در محلول روغنی می باشد. ذرات نانویی که از این روش بدست می آید در حدود ۵۰۰-۲۰۰ نانومتر است [۵۲].

۱-۴-۳ نانوژل

نانوژل ها باعث پیشرفت های بسیاری در مهندسی بافت، بیونانوتکنولوژی و تحویل دارو شده اند. نانوژل ها به دلیل اندازه کوچک، داشتن خلل و فرج فراوان، شبکه های ماکرومولکولی که با آن ها کراس لینک شده اند، گنجایش بالا، استحکام بالا، قدرت واکنش پذیری با فاکتورهای محیطی و به دلیل آنکه در آب متورم می شوند، برای تحویل داروها، پروتئین ها (آنزیم ها، هورمون ها نظیر انسولین و...)، نوکلئیک اسیدها، جستجوگرها و ترکیبات شیمیایی دیگر مناسب می باشند. از دیگر مزایای نانوژل ها می توان به سازگاری زیستی بالا، زیست تجزیه پذیری، ویژگی های تراوشی و انتقالی مناسب اشاره کرد. نانوژل ها همچنین، بدلیل ایجاد باند نمکی، باند هیدروژنی، میانکنش هیدروفوبیک با داروها یا مولکول های بیولوژیکی، به عنوان حامل استفاده می شوند. نانوژل ها از یک هسته که می تواند پپتید، فسفولیپید، اسیدلاکتیک، کیتوزان، دکستران، کربن سیلیکا، پلیمرهای شیمیایی و فلزات باشد و یک سطح تغییر کننده که ویژگی های فیزیکو شیمیایی و کاهش سمیت نانوژل را تأمین می نماید، تشکیل شده اند. استفاده از پلیمرهای زیست سازگار و با قابلیت زیست تجزیه پذیری مانند کیتوزان، هیالورونات، دکستران، سلولز و... در ساخت

نانوژل ها امری ضروری است. در این بین کیتوزان به عنوان یک پلی ساکارید و عاملی برای کپسوله کردن یا برای کنترل آزادسازی هزاران ترکیب فعال معرفی شده است [۵۷ و ۵۸].

نانوژل ها به دو نوع مختلف تقسیم می شوند: نانوهیدروژل و نانوارگانوژل (نانومیسل ها). در گذشته از هیدروژل در مقیاس نانو استفاده می شد که به راحتی مقدار قابل توجهی آب جذب می کرد، در حالیکه نانوارگانوژل آبگریز می باشد. نانوژل ها ظرفیت پایداری بالایی دارند. درونپوشانی کردن اسانس ها در نانوژل سبب انتشار کنترل شده آن ها می گردد. در دهه گذشته، انواع نانوذرات پلی ساکاریدی برای درونپوشانی کردن ترکیبات با فعالیت بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند، در میان پلی ساکاریدها، کیتوزان بدلیل زیست سازگاری مورد توجه واقع شده است. مطالعات متعدد نشان داده که نانوژل کیتوزان در مهندسی بافت، مشتقات دارویی و بعنوان حامل مولکول های مختلف استفاده می شود. این ویژگی منحصر به فرد کیتوزان به گروه های آمین موجود در ساختار پلیمری آن و در نتیجه بارهای مثبت آن مربوط می شود [۱۷].

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱ فیلم های زیست تخریب پذیر

- ✓ صارم نژاد (۱۳۸۸) تأثیر عوامل مختلف (مانند تیمار فراصوت و کلسیم کلراید) را روی خصوصیات فیلم های حاصل از پروتئین باقلا بررسی و مشاهده نمود که با افزایش زمان تیمار فراصوت تا ۶۰ دقیقه، مقاومت به کشش افزایش یافته، همچنین با افزایش زمان تیمار فراصوت تا ۴۵ دقیقه میزان کشش پذیری کاهش می یابد و بعد از آن ثابت شد. با افزودن ۲٪ کلسیم کلراید به فیلم، میزان کشش پذیری کاهش، حلالیت افزایش و میزان رنگ کلی افزایش یافته اما روی نفودپذیری بخار آب و مقاومت به کشش اثری نداشت [۵۹].
- ✓ احمدی (۱۳۸۸) اثر پتاسیم سوربات را روی فیلم مخلوط نشاسته- هیدروکسی پروپیل متیل سلولز- روغن- گلیسرول، بررسی کرد. نتایج نشان داد که افزایش مقدار سوربات تا ۱۸ درصد مقاومت به کشش کاهش و میزان کشش پذیری افزایش یافت. همچنین استفاده از این فیلم، بیاتی نان را به تعویق انداخت [۶۰].
- ✓ فاضل نجف آبادی (۱۳۸۹)، فیلم خوراکی از مخلوط نشاسته و دو صمغ ایرانی (کتیرا و ثعلب) را تهیه و خصوصیات آن ها را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که گلیسرول باعث کاهش مقاومت به کشش، مدول الاستیک، شفافیت و میزان عبور پرتو ماورای بنفش و افزایش میزان کشش پذیری، کدورت رنگ، حلالیت و نفوذپذیری به بخارآب گردید. از فیلم های تهیه شده برای پوشش نان باگت استفاده و بیاتی نان در طی ۳ تا ۷ روز توسط آزمون های حسی و مکانیکی بررسی شد. نتایج نشان داد که این فیلم ها سبب به تأخیرانداختن بیانی نان می شوند اما تفاوتی بین دو نوع فیلم حاوی کتیرا و ثعلب مشاهده نشد [۶۱].

- ✓ لیو[3] و همکاران (۲۰۱۲) روی آماده سازی فیلم نشاسته سدیم سوکسینات اکتیل و بررسی خواص فیزیکی و نفوذپذیری به بخارآب و روغن مطالعه کردند. نتایج نشان داد که با افزایش درجه جانشینی گروه سوکسینات اکتیل مقاومت کششی فیلم افزایش می یابد. نتایج این تحقیق نشان داد که این فیلم ها موانع خوبی در برابر بخارآب و روغن هستند و برای خوراکی های با رطوبت کم مناسب می باشند [۱۱].
- ✓ ویلپیسزوسکا[4]و همکاران (۲۰۱۳) با اسیدسیتریک نشاسته سیب زمینی را اصلاح کردند و همراه با میکروسلولز درتهیه فیلم از آن استفاده نمودند. نتایج نشان داد که استحکام کششی فیلم نشاسته با افزایش میزان اسیدسیتریک به کاهش یافت. علاوه براین، حضور پرکننده سلولز بر خواص حرارتی مواد بر پایه نشاسته اثر داشت [۲۲].

۲-۲ فیلم های زیست تخریب پذیر فعال

- ✓ حسینی و همکاران (۱۳۸۸) در پژوهشی، فیلم خوراکی کیتوزان محتوی اسانس آویشن و دارچین، در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد تولیدشده و خواص ضدمیکروبی، فیزیکی و مکانیکی آن ها مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق اثر بازدارندگی فیلم ها در برابر باکتری های گرم مثبت بیش از باکتری های گرم منفی بود. فیلم های محتوی اسانس آویشن در مقایسه با نمونه های حاوی اسانس دارچین اثر بازدارندگی بیشتری در برابر باکتری های مورد آزمایش نشان دادند. افزودن اسانس آویشن به فیلم های کیتوزان محتوی رطوبت، درصد انحلال در آب، نرخ عبور بخار آب و درصد افزایش طول فیلم ها در لحظه پاره شدن را افزایش داد، در حالی که افزودن اسانس دارچین منجر به افزایش مقاومت کششی فیلم ها، کاهش محتوای رطوبت و درصد

[3] Liu
[4] Wilpiszewska

انحلال آن ها در آب شد. به نظر می رسد که خواص بی نظیر فیلم های کیتوزان حاوی اسانس دارچین ناشی از اتصالات سراسری بوسیله ترکیبات موجود در اسانس دارچین در شبکه فیلم بود [۶۲].

- ✓ مرادی و همکاران (۱۳۸۹) فیلم کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی در غلظت های ۰، ۰/۵، ۱و ۲ درصد، را با روش ریخته گری تهیه کردند و میزان فنل کل، خصوصیات آنتی اکسیدانی، رنگ و اثرات ضدمیکروبی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز*[5] را ارزیابی کردند. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین میزان فنل کل مربوط به فیلم حاوی اسانس ۲ درصد بود. قدرت آنتی اکسیدانی فیلم کیتوزان با افزودن اسانس افزایش یافت. این افزایش در غلظت های ۱ و ۲ درصد معنی دار می باشد. شفافیت تیمارها تغییر معنی داری نکرد. اما فیلم حاوی اسانس، باعث کاهش شاخص زردی شد. فیلم حاوی اسانس، موجب افزایش معنی دار در ویژگی های ضد لیستریایی فیلم کیتوزان گردید [۶۳].
- ✓ قاسملو و همکاران (۱۳۹۱) به تهیه و بررسی خواص مکانیکی فیلم برپایه نشاسته ذرت حاوی اسانس آویشن شیرازی و پونه (در نسبت های ۱، ۲ و ۳ درصد حجمی/حجمی) پرداختند. نتایج نشان داد که ویژگی های مکانیکی فیلم های تولید شده تحت تأثیر افزودن اسانس قرار گرفتند به طوریکه مقاومت کششی و کشیدگی به میزان قابل ملاحظه ای افزایش یافت که در مورد اسانس آویشن شیرازی معنی داری بیشتر بود. و همچنین افزودن این اسانس ها سبب کاهش نفوذپذیری به بخارآب شد. بنابراین، اختلاط آن ها می تواند این فیلم ها را برای دستیابی به کاربردهای صنایع غذایی که نیازمند به تمایل ترکیبی کمتری با آب می باشد، مناسب سازد [۲۱].

[5] Listeria monocytogenes

- ✓ محمد فاضل و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی تأثیر کتیرا، گلیسرول و روغن روی خواص فیلم خوراکی برپایه نشاسته سیب زمینی پرداختند. براساس نتایج حاصله، مقادیر مختلف کتیرا، گلیسرول و روغن بر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم های خوراکی برپایه نشاسته سیب زمینی مؤثر بودند. کتیرا مقاومت به کشش را افزایش و میزان رنگ را کاهش داد، در حالیکه گلیسرول باعث کاهش مقاومت به کشش و افزایش میزان کشش پذیری گردید. همچنین روغن آفتابگردان حلالیت و نفوذپذیری به بخارآب را کاهش و میزان کشش پذیری را افزایش داد. گلیسرول و روغن بین زنجیره های نشاسته (آمیلوز و آمیلوپکتین) قرار گرفته و باعث کاهش میزان نیروی بین مولکولی بین زنجیره های آمیلوز و آمیلوپکتین می شود، به همین علت زنجیره های آمیلوز و آمیلوپکتین روی یکدیگر بهتر حرکت کرده و همین امر باعث افزایش میزان کشش پذیری فیلم و کاهش مقاومت به کشش فیلم می شود [۶۴].
- ✓ هدایتی راد و همکاران (۱۳۹۲) در تحقیقی اسانس درمنه را در هفت غلظت به محلول فیلم پولولان افزوده و خاصیت ضدمیکروبی از طریق روش انتشار دیسکی بررسی نمودند. نتایج نشان داد که *اشرشیا کلی*[6] و *استافیلوکوکوس اورئوس*[7] به ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را در برابر اسانس درمنه داشتند [۶۵].
- ✓ امینی فولادی و همکاران (۱۳۹۲) اثر اسانس نعناع را بر خواص مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم های برپایه نشاسته ساگو را بررسی کردند. بر اساس نتایج بدست آمده، اسانس نعناع خاصیت ضدمیکروبی بیشتری در برابر اشرشیاکلی نسبت به *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته که می تون به ضخامت کمتر دیواره سلولی باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت نسبت داد.

[6] Escherichiacoli
[7] Staphylococcus aureus

این اسانس سبب کاهش استحکام کششی، افزایش درصد کشیدگی و کاهش مدول یانگ به دلیل تخریب شبکه فیلم و افزایش میزان رطوبت گردید [۶۶].

- ✓ ناصر صداقت و همکاران (۱۳۹۳) فیلم کربوکسی متیل سلولز را با افزودن اسانس گشنیز و لیموترش در چهار سطح تهیه و اثر آن ها در محیط آگار بر روی بار میکروبی کل، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس ائروژنس*[8] بررسی نمودند. فیلم حاوی ۰.۴ درصد اسانس گشنیز یا اسانس لیموترش و فیلم فاقد اسانس روی گوشت پیچیده و از نظر بار میکروبی و پ هاش با نمونه شاهد در طول ۸ روز در دمای یخچال مقایسه شد. نتایج نشان داد که این فیلم در مقابل میکروارگانیسم های *اشرشیاکلی* و *سودوموناس ائوروژنس* خاصیت ضدمیکروبی داشتند اما تأثیر معنی داری بر استافیلوکوکوس اورئوس نداشتند. این فیلم باعث کاهش بارمیکروبی کل و باکتری های سودوموناس، کلی فرم و استافیلوکوکوس گوشت شده و عملکرد فیلم حاوی اسانس بهتر از فیلم فاقد اسانس بود. تأثیر ضدمیکروبی اسانس لیمو بر سودوموناس بطور معنی داری بیش از اسانس گشنیز بود. این فیلم همراه اسانس لیموترش با کاهش میکروبی گوشت، تخریب بافت و افزایش پ هاش را به تعویق انداخت [۴۳].
- ✓ قادرمزی و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که فیلم خوراکی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) دارای ویژگی های مناسبی برای تشکیل فیلم است ولی به دلیل ماهیت آب دوستی آن، نفوذپذیری بالایی به بخار آب از خود نشان داد. در این تحقیق، نتایج آزمایشات تعیین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در مدل سیستم های مختلف نشان دادند که اسانس پونه کوهی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل قبولی است. افزودن اسانس پونه کوهی به فیلم هیدروکسی پروپیل متیل سلولز اثر قابل توجهی در کاهش شفافیت و خواص مکانیکی، نفوذپذیری به بخارآب و

[8] Pseudomonas aerogenes

اکسیژن فیلم ها داشت. اکسیداسیون در نمونه های روغن سویای بسته بندی شده با فیلم حاوی اسانس پونه کوهی نسبت به فیلم بدون اسانس کاهش معنی داری طی دوره انبارداری داشت [۶۷].

- ✓ پرانوتو[9] و همکاران (۲۰۰۵) ویژگی های مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم آلژینات دارای اسانس سیر را علیه باکتری های *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*[10]، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*[11] بررسی نمودند. نتایج نشان داد که این فیلم تنها بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* اثر ضدمیکروبی داشته است. نفوذپذیری به بخار آب در بالاترین غلظت کاهش یافت [۶۸].
- ✓ این محققین در پژوهشی دیگر که در سال ۲۰۰۶ صورت گرفت، اثرات ضدمیکروبی فیلم پروتئین حاوی عصاره های پونه کوهی، رزماری و اسانس سیر را علیه *استافیلوکوکوس اورئوس مونوسیتوژنس*، *اشرشیاکلی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[12] بررسی کردند. نتایج بدست آمده نشان داد که رزماری در ۴ غلظت مورد آزمون هیچ اثر ضدمیکروبی ندارد و پونه کوهی و سیر با افزایش غلظت تا ۴ درصد، اثر بازدارندگی بیشتری نشان دادند [۶۹ و ۷۰].
- ✓ سانچز گونزالس[13] و همکاران (۲۰۱۰) فیلم برپایه کیتوزان حاوی اسانس ترنج به منظور بررسی خواص فیزیکی و ضدقارچی در برابر *پنی سیلیوم ایتالیکوم*[14] آماده نمودند. نتایج نشان داد که اختلاط این اسانس در فیلم سبب کاهش نفوذپذیری بخارآب به میزان ۵۰٪ گردید. این فیلم در برابر شکستن مقاومت کمتری داشت، و درصد ازیاد طول آن در نقطه شکست نیز کاهش یافت.

---

9 Pranoto
10 Salmonella typhimurium
11 Bacillus cereus
12 Lactobacillus plantarum
13 Laura Sanchez-Gonzalez
14 *penicillium* italicum

فیلم کیتوزان با حداکثر مقدار اسانس ترنج مانع رشد قارچ *پنی سیلیوم ایتالیکوم* در ۲۰ درجه سانتی گراد شده است [۷۱] .

- ✓ لی شن[15] و همکاران (۲۰۱۰) فیلم زیست تخریب پذیر ضد میکروب نشاسته سیب زمینی، کیتوزان و پتاسیم سوربات را تهیه و خواص فیزیکی و ضدمیکروبی آن را بررسی کردند. نتایج نشان داد که فیلم تولیدی علیه *اشرشیاکلی* مؤثر است. پتاسیم سوربات استحکام کششی و کشیدگی را کاهش داد و سبب افزایش نفوذپذیری اکسیژن، بخارآب و حلالیت آب گردید. کیتوزان اثراتی عکس نتایج پتاسیم سوربات نشان داد [۷۲].
- ✓ اوجاق[16] و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهشی فیلم برپایه کیتوزان حاوی اسانس دارچین آماده و خواص ضدمیکروبی، فیزیکی و مکانیکی آن را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که افزودن اسانس دارچین به این فیلم سبب افزایش فعالیت ضدمیکروبی، کاهش محتوی رطوبت، حلالیت در آب و نفوذپذیری بخارآب می گردد [۵].
- ✓ ایحیوت[17] و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه ای خواص مکانیکی و ممانعتی نشاسته سیب زمینی شیرین حاوی روغن پونه کوهی را علیه باکتری های پاتوژن موادغذایی را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که فیلم تولیدی علیه *سالمونلا* و *لیستریا مونوسیتوژنز* مؤثرتر بود. همچنین حداکثر فعالیت ضدمیکروبی مربوط به فیلم حاوی ۲٪ اسانس پونه کوهی بود [۷۳].
- ✓ عبدالهی[18] و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی اسانس رزماری را به منظور توسعه فیلم فعال کیتوزان، استفاده نمودند. فیلم های حاوی اسانس رزماری فعالیت ضدباکتری را نشان دادند [۷۴].

[15] Li Shen
[16] Ojagh
[17] Ehivet
[18] Abdollahi

- ✓ قاسملو[19] و همکاران (۲۰۱۳) دو اسانس آویشن شیرازی و نعناع را در سه سطح به فیلم نشاسته ذرت برای بهبود خواص مکانیکی و ضدمیکروبی اضافه کردند. افزایش اسانس هر دو اسانس کشیدگی در نقطه شکست را به ترتیب افزایش داد. اما تغییر قابل توجهی در استحکام کششی بوجود نیامد. نفوذپذیری به بخار آب در فیلم های حاوی هردو اسانس کاهش یافت. شفافیت فیلم با افزودن اسانس ها، حفظ شد. هر دو فیلم خاصیت ضدمیکروبی علیه *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دادند، البته اثر اسانس آویشن شیرازی از نعناع بیشتر بود [۷۵].
- ✓ شابان[20] و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه ای، اثر ضدمیکروبی فیلم متیل سلولز حاوی نسبت های مختلف اسانس های میخک ، مرزنجوش ، دارچین،گشنیز و زیره را در برابر سه پاتوژن مواد غذایی *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* بررسی نمودند. نتایج نشان داد که شدت اثر ضدمیکروبی اسانس ها به ترتیب مربوط به اسانس مرزنجوش، میخک، دارچین، گشنیز و زیره بود [۷۶].
- ✓ داشی پور[21] و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی، خواص فیزیکی، شیمیایی، آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس میخک را بررسی نمودند. نتایج حاصل نشان داد که استحکام کششی و نقطه استراحت در فیلم حاوی ۱٪ اسانس بالاترین مقدار را داشت. اما با افزایش میزان اسانس نقطه استراحت کاهش یافت. خواص آنتی اکسیدانی با افزایش میزان اسانس بیشتر شد. این فیلم علیه باکتری های بیماری زا نیز مؤثر بود [۷۷].
- ✓ آریایی[22] و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه ای خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم متیل سلولز حاوی اسانس اناریجه بررسی نمودند. این فیلم فعالیت ضدمیکروبی علیه هردو سویه گرم

[19] Ghasemloua
[20] Shaaban
[21] Dashipour
[22] Ariaii

مثبت و گرم منفی نشان داد. استحکام کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست قابل توجه بود اما نفوذپذیری به بخار آب و رطوبت به طور معنی داری کاهش یافت. زاویه تماس آب در فیلم حاوی ۱/۵ درصد اسانس افزایش یافت. شفافیت در فیلم حاوی ۱/۵ درصد اسانس کم شد [۷۸].

- ✓ داشی پور و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه ای، خواص فیزیکی، آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی فیلم تجزیه پذیر کربوکسی متیل سلولز حاوی غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی را بررسی کردند. نتایج نشان داد که فیلم حاوی ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی بالاترین قدرت کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست را داشت. فیلم شاهد کمترین نفوذپذیری به بخار آب را نشان داد. همچنین فیلم شاهد شفاف بود و با افزایش غلظت اسانس، شفافیت آن کاهش یافت. حلالیت در آب با افزایش میزان اسانس کاهش یافت. علاوه بر این فیلم حاوی اسانس روی رشد باکتری های مورد آزمایش موثر بود [۷].
- ✓ آروجو[۲۳] و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی عصاره اتانولی بره موم را به فیلم نشاسته کاساوا اضافه کرده و خواص مکانیکی و ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آن را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که استحکام کششی با حضور این ترکیب تحت تأثیر قرار نگرفت. اما مدول یانگ در حدود ۵۰٪ کاهش یافت. خواص ضدمیکروبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* حتی در غلظت کم این عصاره نیز مشاهده شد [۷۹].

۲-۳ پوشش و فیلم های نانوکامپوزیتی

- ✓ واحدی و همکاران (۱۳۹۲) اثر همزمان پلاستیسایزر و نانوسیلیکون دی اکسید بر روی خواص مکانیکی، فیزیکوشیمیایی و دوخت پذیری حرارتی فیلم نشاسته ساگو را بررسی کردند. آن ها در این مطالعه به این نتیجه رسیدند که فیلم های دارای نانوسیلیکون دی اکسید حلالیت کمتری

[23] Ara_ujo

نسبت به فیلم های فاقد نانوسیلیکون دی اکسید دارند. بعلاوه افزودن نانوسیلیکون دی اکسید به فیلم های برپایه نشاسته ساگو، کاهش نفوذپذیری این فیلم ها را نسبت به بخار آب نشان دادند. در این فیلم ها دوخت پذیری حرارتی با افزایش غلظت نانوسیلیکون دی اکسید افزایش یافته بود. در نتیجه افزودن نانوسیلیکون دی اکسید باعث بهبود خواص اساسی فیلم نشاسته ای می شود [۸۰].

- ✓ برزگر و همکاران (۱۳۹۲) در تحقیقی فیلم های فعال نانوکامپوزیتی نشاسته-رس حاوی اسانس دارچین یا سوربات پتاسیم را تولید و خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی آن ها را جهت کاربرد در بسته بندی موادغذایی مورد بررسی قرار دادند. جهت بررسی خاصیت ضدمیکروبی فیلم ها، از کپک *آسپرژیلوس نایجر* بعنوان میکروارگانیسمی که باعث ایجاد فساد در محصولات نانوایی می شود، استفاده گردید. نتایج نشان داد که مقادیر ۵ درصد از هر دو نوع ماده افزودنی خاصیت ضدمیکروبی در فیلم حاصله ایجاد نکردند. اما با افزایش غلظت این مواد، خاصیت ضدمیکروبی نیز افزایش پیدا کرد. در مقادیر یکسان از هر دو ماده افزودنی، فیلم های حاوی اسانس دارچین دارای اثر ضدمیکروبی قوی تری بودند. افزودن سوربات پتاسیم به این فیلم، نفوذپذیری آن را نسبت به بخار آب افزایش داد. اما افزودن اسانس باعث ایجاد تغییرات معنی داری در نفوذپذیری فیلم ها نشد. نتایج این تحقیق نشان داد که این فیلم می تواند برای بسته بندی موادغذایی بخصوص محصولات نانوایی استفاده شود [۳].
- ✓ خدمتی مقدم و همکاران (۱۳۹۲) عصاره رزماری را نانو درونپوشانی کردند و از آن جهت افزایش زمان نگهداری گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ استفاده نمودند و هم چنین اثر ضدباکتری آن را علیه باکتری اشرشیاکلی بررسی کردند [۴۶].

- ✓ پارک [۲۴]و همکاران (۲۰۰۴) نانوکامپوزیت استات سلولز و خاک رس اصلاح شده معدنی را تهیه کردند. برای پلاستیسیته شدن استات سلولز، از تریتیلن سیترات بعنوان یک پلاستیسایزر سازگار با محیط زیست به جای پلاستیسایزر فتالات سمی استفاده کردند. فیلم استات سلولز/ تریتیلن سیترات/ نانوکامپوزیت خاک رس با ۵٪ وزنی ظرفیت بالاترین قدرت کشش، مدول کشش، استحکام خمشی را ارائه داده اند [۸۱].
- ✓ کیراس[۲۵] و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه ای اثر مونتموریلونیت را روی خواص فیلم حاصل از نشاسته سیب زمینی/ نانوکامپوزیت خاک رس مورد مطالعه قرار دادند. بهبود مقاومت حرارتی نشاسته با افزودن رس بوسیله آنالیز حرارتی مشاهده شد [۸۲].
- ✓ عبدالهی و همکاران (۲۰۱۲) نانورس مونتموریلونیت و اسانس رزماری به فیلم کیتوزان برای بهبود خصوصیات فیزیکی و مکانیکی و همچنین خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی اضافه کردند. نتایج نشان داد که ترکیب نانو رس و اسانس رزماری به کیتوزان نفوذپذیری بخارآب را بهبود داد و حلالیت فیلم کیتوزان نیز تا ۵۰٪ افزایش یافت. استحکام کششی و ازدیاد طول کیتوزان به میزان قابل توجهی بهبود یافت. خواص ضدمیکروبی فیلم حاوی اسانس در ۱/۵ درصد حجمی/حجمی بهبود یافت [۸۳].
- ✓ جی شین[۲۶] و همکاران (۲۰۱۳) فیلم پروتئین جو را تولید کرده و به منظور بهبود خواص فیزیکی، نانورس به این فیلم اضافه نمودند. در میان فیلم های آماده شده، کامپوزیت های فیلم حاوی ۴٪ پروتئین جو و ۱٪ کلوزیت سدیم دارای بهترین خصوصیات فیزیکی بود. این فیلم برای بسته بندی قارچ دکمه استفاده شد. بسته بندی قارچ با این فیلم سبب مهار رشد میکروبی در طول ذخیره سازی گردید [۸۴].

[24] Park
[25] Cyras
[26] Ji Shin

- ✓ محمدی[۲۷] و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه ای فعالیت ضد قارچی اسانس *آویشن شیرازی* کپسوله شده در نانو ذرات کیتوزان را بررسی نمودند. اسانس *آویشن شیرازی* توسط تکنیک انعقاد یونی در ذرات کیتوزان با اندازه ای بین ۱۲۵-۱۷۵ نانومتر(اندازه گیری شده با TEM) درون پوشانی شد. در ادامه اثر آن روی رشد قارچ *بوتیریتیس سینه رآ* در توت فرنگی بررسی شد. نتایج نشان داد که اسانس درون پوشانی شده سبب کاهش رشد بوتیریتیس در توت فرنگی در دمای ۴ و۲۰ درجه سانتی گراد می گردد [۸۵].
- ✓ کاظمی[۲۸] و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه ای، اثر فیلم ژلاتین حاوی آلژینات همراه اسانس پونه کوهی برای نگهداری ماهی قزل آلای رنگین کمان در یخچال به مدت ۱۵ روز را بررسی نمودند. فیلم ترکیبی از ۷۵٪ ژلاتین ماهی نسبت به ۲۵٪ آلژینات سدیم و اسانس پونه کوهی بود. رشد باکتری های سرمادوست مانند باکتری های *اسیدلاکتیک*، *سودوموناس ها* و *انتروباکتریاسه*[۲۹] مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از اسانس در این فیلم، سبب به تأخیر انداختن رشد باکتریایی در طول ۱۵ روز می گردد [۸۶].
- ✓ خلیلی[۳۰] و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی اسانس آویشن شیرازی را به منظور افزایش خواص ضدقارچی و نیمه عمر آن با استفاده از کیتوزان و بنزوئیک اسید درون پوشانی کردند. نتایج نشان داد حداقل غلظت مهار اسانس کپسوله شده ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر بود، در صورتی که عصاره آویشن به تنهایی در غلظت بالاتر از ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر سبب جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس گردید [۱۷].

[27] Mohammadi
[28] Kazemi
[29] Enterobacteriaceae
[30] Khalili

- ✓ ون[۳۱] و همکاران (۲۰۱۶) فیلم نانو الیاف پلی وینیل الکل/ دارچین/ سیکلودکسترین را تحت شرایط بهینه تولید نمودند. نتایج نشان داد که فیلم حاصل سبب افزایش پایداری حرارتی شده و با توجه به اندازه گیری زاویه تماس، این فیلم هیدروفیل است. این فیلم فعالیت ضدمیکروبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* نشان داد. این فیلم سبب ماندگاری طولانی مدت توت فرنگی شد [۶].

[31] Wen

فصل سوم

مواد و روش ها

۳-مواد و روش ها

۳-۱ مواد مورد استفاده

نشاسته ذرت از شرکت گلوکوزان ایران، گلیسرول، کربوکسی متیل سلولز، محیط کشت های مولر هینتون آگار و نوترینت براث ، اسید استیک، توئین ۸۰ و اتانول از شرکت مرک آلمان، کیتوزان، اسید بنزوئیک و ۱-اتیل-۳- (۳- دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید از شرکت سیگما آلمان و اسانس رزماری از شرکت باریج اسانس ایران تهیه شد. در جدول (۳-۱) مشخصات اسانس رزماری استفاده شده در این تحقیق نشان داده شده است.

جدول ۳-۱ مشخصات اسانس رزماری استفاده شده در این تحقیق

ردیف	آزمایشات		مقدار قابل قبول	نتایج
۱	رنگ		بی رنگ متمایل به زرد کم رنگ	زرد
۲	شفافیت		روشن	روشن
۳	بو		مخصوص رزماری	مخصوص رزماری
۴	وزن مخصوص (گرم/میلی لیتر)		۰/۸۹۵-۰/۹۲۰	۰/۸۹۶
۵	ضریب شکست		۱/۴۶۴-۱/۴۷۳	۱/۴۶۶۹
۶	چرخش نوری		۸ - +۵-	۸/۶۴
۷	ترکیبات	آلفا پینن (٪)	۱۸-۲۶	۲۳/۶۷
		بتا پینن (٪)	۲-۶	۱/۱۴
		بورنئول (٪)	۲-۴/۵	۶/۵۰
		پی سیمن (٪)	۱-۲/۲	۱/۴۷
		لیمونن (٪)	۲/۵-۵	۴/۲۸
		سینول (٪)	۱۶-۲۵	۱۱/۰۴
		کامفور (٪)	۱۳-۲۱	۷/۶۸

۳-۲ روش های مورد استفاده

۳-۲-۱ تهیه نانوژل

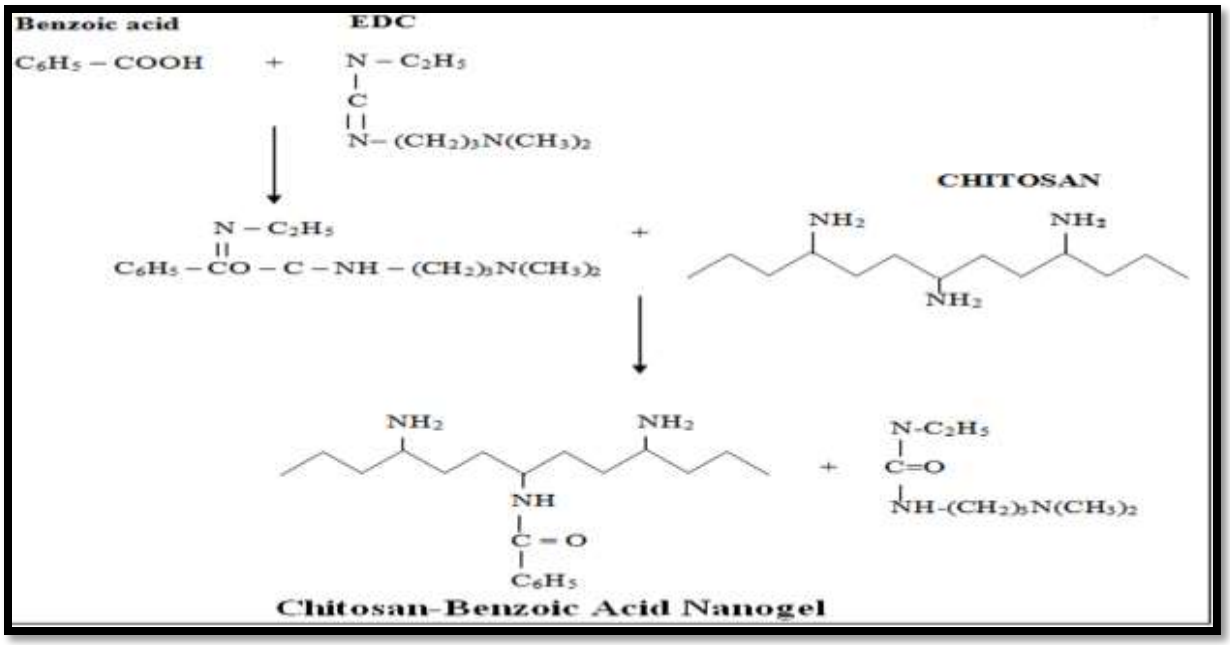
ابتدا ۱ گرم پودر کیتوزان به ۲۰۰ میلی لیتر محلول ۱۵ (حجمی/حجمی) اسید استیک اضافه شد. سپس محلول حاصل با دستگاه همگن کننده فراصوتی به مدت ۲۰ دقیقه و با قدرت ۷۰ وات همگن سازی شد. نهایتا محلول مادر کیتوزان ppm ۵۰۰۰ به دست آمد.

برای تهیه نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید در ابتدا ۲۱۵ میلی گرم پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید در ۱۰ میلی لیتر اتانول حل شد. سپس ۱۷۸ میکرولیتر EDC (۱-اتیل-۳- (۳- دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید) به آن اضافه شد. در ادامه محلول به مدت چند دقیقه در تاریکی نگهداری شد. به منظور برقراری اتصال بین گروه های کربوکسیل پرارهیدروکسی بنزوئیک اسید و گروه های آمینی کیتوزان، مخلوط EDC / پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید قطره قطره در زیر هود شیمیایی به ۷۵ میلی لیتر محلول کیتوزانی موجود بر روی مگنت استیرر اضافه شدند و به مدت ۲۴ ساعت بوسیله دستگاه همزن مغناطیسی مخلوط گردیدند تا از برقراری واکنش کامل بین کیتوزان با پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید اطمینان حاصل گردد. پس از کامل شدن واکنش بین کیتوزان با پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید و به منظور ایجاد ذرات نانوژلی pH محلول ها با اضافه کردن هیدروکسید سدیم در حین مخلوط شدن به ۸/۵ تا ۹ رسانده شد. با بالا رفتن pH رفته رفته ژل مشاهده شد. به منظور جداسازی ذرات نانوژلی تشکیل شده در مرحله قبل، محلول های نانوژلی در فالکون های مخصوص سانتریفیوژ تقسیم بندی و به مدت ۵ دقیقه در دور rpm ۹۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی از ژل سفید رنگی که روی دیواره فالکون ها رسوب کرده بود جداسازی شد. برای از بین بردن ناخالصی های موجود در ژل شامل EDC، کیتوزان و

پاراهیدروکسی بنزوئیک که در واکنش شرکت نکرده بودند، عمل سانتریفیوژ دو مرتبه دیگر با اتانول تکرار و هر بار محلول رویی خالی شد.

به منظور حذف ذرات بزرگ تشکیل شده رسوب، نانوژل فیلتر شد. به همین دلیل ابتدا لازم بود که رسوب نانوژلی رقیق گردد. برای رقیق سازی رسوب از اسید استیک ۱٪ استفاده شد. پس از رقیق سازی، محلول نانوژلی درون فیلتر سرنگی با cut off=0.2 µm ریخته شد و عمل فیلتراسیون سه مرتبه تکرار شد [۱۷].

به ازای هر ۱۰۰ گروه آمین کیتوزان، ۷۵ گروه کربوکسیل اسیدبنزوئیک در دسترس است. این نسبت نه تنها منجر به تشکیل نانوژل همگن با شکل کروی می شود بلکه گروه های آمین اضافی منجر به تولید نانوژل آب دوست می گردد. شکل (۳-۱) شمای کلی واکنش بین بنزوئیک اسید و کیتوزان نشان داده شده است[۱۷].



شکل ۳-۱ شماتیکی از واکنش بین بنزوئیک اسید و کیتوزان از طریق پیوندهای عرضی [۱۷].

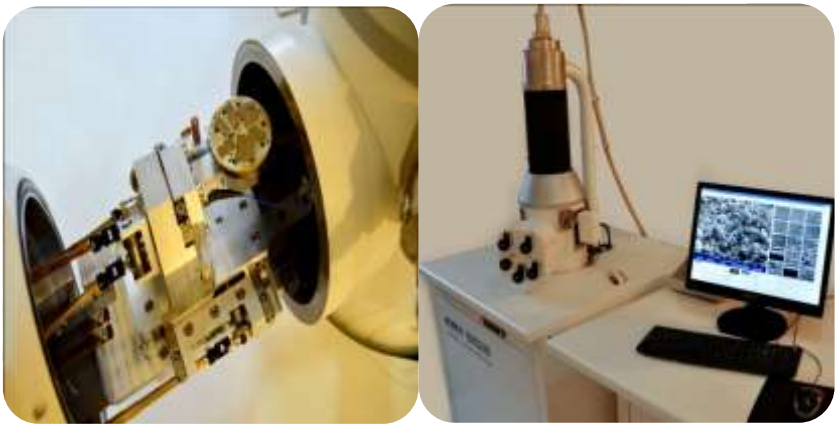
۳-۲-۲ تأیید اتصال عرضی بین کیتوزان و بنزوئیک اسید

برای تأیید اتصال کووالانسی گروه های کربوکسیل اسید چرب به گروه های آمین آزاد کیتوزان از طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)[۳۲] استفاده شد. برای این منظور از کیتوزان، بنزوئیک اسید و نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید طیف FTIR تهیه شد. برای تهیه طیف ابتدا از هر سه ترکیب فیلم های خشک شده تهیه شد و سپس با ۱۰۰ میلی گرم KBr مخلوط و به صورت قرص تبدیل شد. سپس طیف مواد با استفاده از اسپکترومتر FTIR-430 (Jasco,Tokyo, Japon) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و در محدوده cm^{-1} ۴۰۰۰-۵۰۰ ثبت شد[۱۷].

۳-۲-۳ مورفولوژی و سایز نانوژل با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)[۳۳]

مورفولوژی نانوژل کیتوزان – اسیدبنزوئیک با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) فیلیپس XL30 مورد بررسی قرار گرفت. یک قطره از نانوژل تازه آماده شده روی برچسب کربن ریخته شد، و سپس در معرض هوا خشک شد و در ادامه نمونه با طلا پوشش داده شد. سپس ویژگی های مورفولوژی نانوژل کیتوزان- بنزوئیک اسید توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی با ولتاژ ۱۰ کیلو وات مورد بررسی قرار گرفت [۱۷]. در شکل (۳-۲) میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد استفاده نشان داده شده است.

[32] Fourier Transform Infrared Spectroscopy
[33] Scanning Electron Microscope



شکل ۳-۲ میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) [۸۷].

۳-۲-۴ درون پوشانی اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید و بررسی کارائی درونپوشانی

در ابتدا اسانس رزماری در اتانول حل شد (۱:۱ $\frac{V}{V}$) و سپس مخلوط نانوژل (۱۰۰۰۰ میلی گرم در لیتر) و اسانس (۵۰۰۰میلی گرم در لیتر) با استفاده از امواج فراصوت (۷۰ کیلوهرتز) به مدت ۵ دقیقه آماده شدند. فراصوت باعث شد تا نانوژل کیتوزان- بنزوئیک اسید گسسته شود و بعد از اتمام فراصوت با تشکیل مجدد پیوند بین واکنش دهنده ها و با توجه به اینکه اسانس روغنی رزماری هیدروفوب بود اسانس در بین ذرات نانوژل به دام بیفتد . در شکل (۳-۳) دستگاه اولتراسوند پروبی (ساخت ایران) مورد استفاده در این تحقیق نشان داده شده است.

شکل ۳-۳ دستگاه اولترا سونیکیت.

تعیین کارائی درون پوشانی با تعیین میزان اسانس رزماری درونپوشانی نشده توسط ثبت طیف جذبی حداکثر رزماری (۲۴۰ نانومتر) با استفاده از طیف سنج Shimadzu (ژاپن، http://www.shimadzu.com) اندازه گیری شد. قرائت اسپکتروسکوپی محلول پس از رسوب نانوژل توسط سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ g ، ۱۵ دقیقه) انجام شد [۱۷].

۳-۲-۵ تهیه فیلم نشاسته حاوی اسانس رزماری

۲/۵ گرم نشاسته در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر سرد حل شده و گلیسرول با نسبت ۶۰۰ میلی لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک نشاسته به آن افزوده گردید، به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد توسط همزن مغناطیسی (۳۰۰rpm) همزده شد. در ادامه نشاسته در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد، ژلاتینه گردید و کربوکسی متیل سلولز (CMC) به میزان ۱۰ درصد وزنی/وزنی نشاسته به محلول اضافه شد و در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه همزده شد. سپس محلول حاصله تا دمای ۴۰ درجه سانتی

گراد سرد گردید و اسانس رزماری و همچنین اسانس رزماری کپسوله شده در نانوژل به محلول اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه همزده (۶۰۰ rpm) شد و بعد در ظروف پلاکسی گلاس ریخته شد. در پایان نمونه ها در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ساعت خشک گردید. فیلم شاهد مانند دو روش فوق تهیه گردید، با این تفاوت که نانوژل یا اسانس به ان اضافه نشد [۱۰] و [۸۸].

۳-۲-۶ اندازه گیری میزان حلالیت در آب

حلالیت در آب عبارت است از درصد ماده خشک فیلم که پس از ۲۴ ساعت غوطه وری در آب، به حالت محلول در می آید. برای اندازه گیری میزان حلالیت در آب، نمونه شاهد، و نمونه های حاوی غلظت های مختلف اسانس و غلظت های مختلف نانوکپسوله مورد استفاده قرار گرفتند. روش آزمون بدین صورت بود که وزن اولیه نمونه ها (۳×۳ سانتی متر)، پس از خشک شدن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد تعیین و سپس نمونه های فیلم در ظروف حاوی ۵۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفت. ظروف به مدت ۲۴ ساعت در شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. پس از این مدت نمونه ها بوسیله کاغذ صافی، صاف شدند و مجددا در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد خشک شدند تا به وزن ثابت برسند. با توزین نمونه های خشک شده، وزن خشک نهایی به دست آمد. درصد کل ماده محلول از رابطه ۳-۱ محاسبه گردید [۱۰].

رابطه (۳-۱) حلالیت در آب (٪) = [(وزن خشک اولیه - وزن خشک نهایی) / وزن خشک اولیه] × ۱۰۰

۳-۲-۷ اندازه گیری میزان جذب رطوبت فیلم ها

میزان جذب رطوبت توسط فیلم ها به کمک روش هوانگ[۳۴] و همکاران(۲۰۰۵)، اندازه گیری شد. نمونه ها ی فیلم تهیه شده، به صورت قطعات کوچک به ابعاد ۱/۵ × ۱/۵ سانتی متر برش داده شد و در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس نمونه ها به دسیکاتور انتقال داده شد و پس از خنک شدن بلافاصله توزین شدند تا وزن خشک اولیه فیلم بدست آید. پس از توزین، نمونه

[34] Huang

های فیلم در دستگاه ژرمیییناتور با رطوبت نسبی ۷۵ درصد قرار داده شدند و با فواصل زمانی تا ۶۰ ساعت، از دستگاه خارج شده و سپس توزین شدند. محتوی رطوبت فیلم نسبت به زمان از رابطه ۳-۲ بدست آمد [۸۹].

رابطه(۳-۲) ۱۰۰ × [وزن فیلم خشک اولیه / (وزن فیلم خشک اولیه – وزن فیلم پس از گذشت زمان)]=(٪) جذب رطوبت

۳-۲-۸ اندازه گیری ضخامت فیلم ها

برای تعیین ضخامت فیلم ها از ریزسنج استفاده شد. اندازه گیری در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخارآب استفاده گردید [۶۴].

۳-۲-۹ تعیین میزان نفوذپذیری به بخارآب (WVP)

آزمون نفوذپذیری به بخارآب فیلم های تولیدی طبق روش شماره E96-95 مصوب ASTM، اصلاح شده صورت گرفت (ASTM, 1995). برای انجام این آزمون از فنجان هایی با قطر داخلی ۳ سانتی متر و ارتفاع ۳/۵ سانتی متر استفاده شد. فنجان ها حاوی مقداری آب مقطر بودند که این حجم می توانست رطوبت ۱۰۰٪ را در فضای داخل فنجان ایجاد کند بصورتی که رطوبت داخل فنجان از رطوبت بیرون بیشتر بود. نمونه های فیلم بوسیله گریس روی فنجان ها قرار گرفت و با واشر لاستیکی و گیره، محکم و آب بندی شدند. سپس فنجان ها درون یک دسیکاتور محتوی سیلیکاژل قرار گرفتند. فنجان ها هر ۱۲ ساعت یک بار توزین شده و میزان افت وزنی بااستفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ توزین شد. میزان نفوذپذیری به بخار آب از رابطه زیر محاسبه شد.

رابطه (۳-۳)
$$\mathrm{WVP} = \frac{\Delta m \times X}{A \times \Delta t \; x \; \Delta P}$$

در این فرمول Δm افت وزنی مربوط به فنجان، A سطح در معرض، Δt زمان، X ضخامت (m) و ΔP اختلاف فشار جزئی بین درون و بیرون فنجان می باشد که این اختلاف فشار در رطوبت ۱۰۰ درصد ۳/۱۷۹ کیلوپاسکال (با استفده از جدول بخار اشباع) در نظر گرفته شد.

شکل ۳-۴ وسایل مورد استفاده در آزمون نفوذپذیری به بخارآب.

۳-۲-۱۰ تعیین ویژگی های مکانیکی فیلم ها

دستگاه آزمون مواد مورد استفاده جهت آزمون کشش فیلم ها، Instron 5566 ساخت امریکا بود. این دستگاه قابلیت تنظیم واحدهای نیرو و جابجایی براساس سامانه بین المللی (SI) و سامانه انگلیسی را دارا بود. برای انجام آزمایش ها، نیروسنج ۵۰۰ نیوتنی بکاربرده شد. آزمون کشش برای مقایسه مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول در نقطه پارگی نمونه های فیلم تولیدی بکارگرفته شد. برای انجام این آزمون، نمونه های فیلم در قطعات ۲×۱ سانتی متر بریده شد. قبل از انجام آزمون، ضخامت نمونه ها در چند نقطه اندازه گیری شدند. برای هر فیلم آزمون در سه تکرار و در گروه فیزیک الیاف دانشگاه امیرکبیر انجام شد [۸۳]. در شکل (۳-۶) دستگاه تعیین خواص مکانیکی مورد استفاده در این تحقیق نشان داده شده است.

شکل ۳-۵ دستگاه تعیین ویژگی های مکانیکی فیلم ها.

۳-۲-۱۱ زاویه تماس[۳۵]

در این آزمون توسط سرنگ روی فیلم ها در چندجای آن یک قطره ریخته شد. سپس با دوربین دیجیتال از روبرو عکس گرفته شد. سپس در نرم افزار image j زاویه تماس تعیین می گردد [۹۰].

۳-۲-۱۲ آزمون رنگ فیلم ها

شاخص رنگ فیلم با استفاده از دستگاه رنگ سنجی (ساخته شده در دانشگاه شاهرود، دانشکده کشاورزی) اندازه گیری شد. فیلم ها برروی یک پلیت سفید استاندارد قرار گرفته و با توجه به سه فاکتور استاندارد

[35] cantact angle

(L^*=92/91, a^*=0/92, b^*=0/03) و نیز سه فاکتور L، a، b مرتبط به هر نمونه، از روابط (۳-۴) میزان رنگ (ΔE)، شاخص زردی (YI) و شاخص سفیدی (WI) هر نمونه فیلم اندازه گیری شد [۹۱].

روابط (۳-۴)

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

$$YI = 142.86\,\frac{b}{L}$$

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

شفافیت فیلم با اندازه گیری درصد عبور نور (T%) در طول موج ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Jasco, V-550 Series, Tokyo, Japan) بر اساس استاندارد ASTM D1746 مشخص شد. شفافیت (T600) از رابطه (۳-۵) تعیین می گردد.

رابطه (۳-۵)

$$\text{Transprancy} = \frac{A_{600}}{b}$$

که در آن A600 جذب در ۶۰۰ نانومتر است و b طول مسیر نور (بعنوان مثال، ضخامت فیلم) است [۸۳].

۳-۲-۱۳ بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها

۳-۲-۱۳-۱ تعیین MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی رشد) و MBC (حداقل غلظت کشندگی)

جهت تعیین حساسیت ضدمیکروبی اسانس، با استفاده از رقیق سازی لوله ای، ابتدا یک میلی لیتر محیط مولر هینتون براث به لوله های آزمایش اضافه و اتوکلاو گردیدند، سپس از سوسپانسیون باکتری های مورد بررسی با رقت معادل استاندارد شماره ۰/۵ مک فارلند ۵۰ میکرولیتر به هر یک از لوله های آزمایش افزوده شد. در مرحله بعد از اسانس به محتویات لوله های آزمایش اضافه شد. پس از اضافه کردن غلظت

های مورد نظر اسانس به لوله های آزمایش و قرار دادن آن ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت، اولین لوله ای که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و اولین لوله ای که در آن رشدی بر روی محیط جامد ایجاد نکرد به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) گزارش شد [۹۲].

۳-۲-۱۳-۲ بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها با روش انتشار دیسکی

برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها از روش نفوذ آگار[۳۶] استفاده شد. فیلم های تولید شده با استفاده از یک قالب به دیسک هایی به قطر ۲۰ میلی لیتر تبدیل شدند. دیسک ها در شرایط استریل روی محیط کشت مولر هینتون آگار قرار داده شدند. سپس قطر هاله های تشکیل شده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه گیری شد. قبل از قرار دادن دیسک ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۰/۱ میلی لیتر کشت مایع از میکروارگانیسم های *اشریشیاکلی، سالمونلا تایفی موریوم، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، کاندیدا آلبیکنس* (cfu/ml $۱۰^{۵}$-$۱۰^{۶}$) و اسپور *آسپرژیلوس نیجر* صورت گرفت. سپس پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای باکتریها به مدت ۲۴ ساعت و ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. قطر هاله های تشکیل شده به عنوان شاخص میزان فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها در نظر گرفته شد. برای اطمینان از رشد میکروارگانیسم بر روی سطح پلیت، یک پلیت کشت داده شده فاقد فیلم در نظر گرفته شد [۳].

۳-۲-۱۳-۳ بررسی ویژگی ضدمیکروبی امولسیون فیلم ها

به منظور بررسی ویژگی ضدمیکروبی امولسیون فیلم های نشاسته حاوی اسانس و نانوژل از آزمون شمارش میکروبی به روش کشت در پلیت [۹۳] با میکروب *استافیلوکوکوس اورئوس* در ساعت های ۴، ۶

[36] Agar Diffusion Method

و ۲۴ گرمخانه گذاری شده (دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) استفاده شد. درصد کاهش سلول طبق رابطه (۳-۶) محاسبه شد:

رابطه (۳-۶) $$\text{درصد کاهش سلول} = \frac{\text{تعداد میکروب در شاهد} - \text{تعداد میکروب در نمونه}}{\text{تعداد میکروب در شاهد}} \times ۱۰۰$$

۳-۳ آنالیز آماری

تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد. میانگین و انحراف استاندارد (SD) با استفاده از نرم افزار مایکروسافت اکسل محاسبه شد. آزمون چند دامنه دانکن برای مقایسه اختلاف در سطح ۵ درصد با نرم افزار SPSS 16.0محاسبه گردید.

فصل چهارم

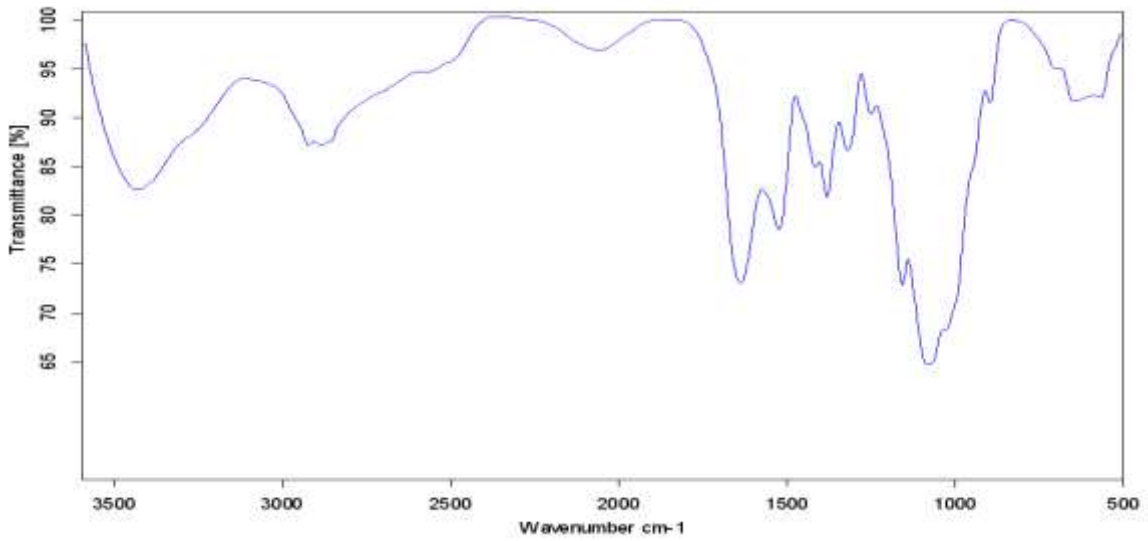
نتایج و بحث

۴- نتایج و بحث

در این فصل به گزارش نتایج حاصل از تهیه نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید، درونپوشانی اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید، استفاده از نانوژل حاوی اسانس رزماری در فرمولاسیون فیلم خوراکی بر پایه نشاسته ذرت و بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم های خوراکی تهیه شده پرداخته شده است. نتایج در بخش های جداگانه ارائه و مورد بحث قرار می گیرد.

۴-۱ بررسی نانوژل کیتوزان- اسیدبنزوئیک تهیه شده

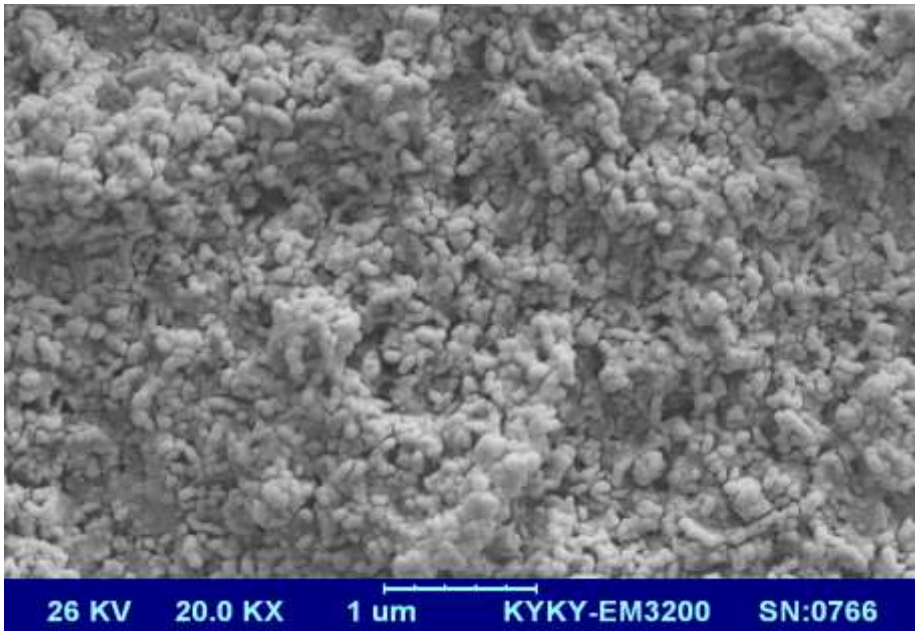
در مرحله اول این مطالعه بین رشته های پلیمر کیتوزان و بنزوئیک اسید پیوند کووالانسی ایجاد شد. به منظور اثبات پیوند کوورالانسی ایجاد شده بین بنزوئیک اسید و کیتوزان طیف FT-IR مورد استفاده قرار گرفت. در شکل (۴-۱) طیف FT-IR مربوط به نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید نشان داده شده است.



شکل۴-۱ طیف FT-IR حاصل از کیتوزان

پیک کششی مشاهده شده در حدود cm^{-1} ۱۵۹۸تشکیل پیوند O= C-NHR را تأیید می کند.

در شکل (۴-۲) عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوژل های کیتوزان-بنزوئیک اسید نشان داده شده است. با توجه به عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی می توان گفت که مورفولوژی نانوژل ها تقریبا کروی و اندازه این ذرات زیر ۱۰۰ نانومتر است. اتصال اسید چرب پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید غیرقطبی به پلیمر کیتوزان و قرار گرفتن کمپلکس در یک محیط قطبی باعث تجمع سرهای غیرقطبی به داخل و سرهای قطبی به خارج و تشکیل یک ساختار مجتمع تقریباً کروی شکل گردید.



شکل ۴-۲ عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید

در این مطالعه، اسیدبنزوئیک بعنوان پیوند دهنده برای تشکیل پلیمر کیتوزان (نانوژل) استفاده شد که در مقایسه با سایر پیوند دهنده ها مثل گلوتارآلدهید و گلیکول که سمی هستند، ایمن تر بود [۱۷].

در مقایسه با مطالعات قبلی [۹۴، ۹۵، ۹۶ و ۹۷] اندازه ذرات نانو ژل کیتوزان حاصل در این تحقیق کوچکتر و یکنواختر بود که این تفاوت می تواند به چندین عامل نسبت داده شود؛ اول، فراصوت اولیه زنجیره طولانی کیتوزان را به قطعات کوچکتر تبدیل کرد که مانع از شکل گیری نانوژل بلند زنجیر شد.

عامل دوم می توان به نقش مهم فراصوت مجدد در کاهش اندازه ذرات اشاره کرد و عامل سوم نیز عبور نانوژل از درون فیلتر بود.

نانو ژل کیتوزان- بنزوئیک اسید با توجه به اینکه دارای گروههای آب دوست و آب گریز به صورت همزان می باشد قادر است ترکیبات غیر قطبی از جمله اسانس ها را در خود جای دهد.

۴-۲- درون پوشانی اسانس رزماری در نانوزل کیتوزان- بنزوئیک اسید

کارائی درون پوشانی اسانس رزماری با استفاده از تغییرات طیف جذبی اسانس رزماری (۲۳۰ نانومتر) محاسبه شد. نتایج نشان داد که کارائی درون پوشانی اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان- بنزوئیک اسید ۸۰ درصد بود. در تحقیق ژاوه[۳۷] و همکاران (۲۰۱۵) میزان کارائی درون پوشانی اسانس زیره سبز در نانوژل کیتوزان ۸۵ درصد گزارش شد. همچنین در تحقیق دیگر خلیلی و همکاران (۲۰۱۵) میزان کارائی درونپوشانی اسانس آویشن در نانوژل کیتوزان را ۸۷ درصد گزارش نمودند. اختلاف ناشی در میزان کارائی درن پوشانی می تواند ناشی از تفاوت در اسانس های مورد استفاده و همچنین نوع نانوژل و شرایط درون پوشانی باشد [۱۷ و ۹۸].

۴-۳ بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای آزاد و درون پوشانی شده

در ادامه تحقیق فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی غلظت های متفاوت اسانس رزماری (۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد به نسبت وزن نشاسته)، نانوژل کیتوزان- بنزوئیک اسید (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد به نسبت وزن نشاسته) و شاهد تهیه شد و سپس خواص فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی آن ها بررسی شد.

[37] zhaveh

۴-۳-۱ بررسی خواص فیزیکی

۴-۳-۱-۱ بررسی میزان حلالیت در آب فیلم ها

نتایج حاصل از حلالیت در آب فیلم ها در جدول (۴-۱) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اسانس رزماری باعث کاهش حلالیت در آب فیلم های برپایه نشاسته شده است. حلالیت در آب فیلم شاهد ۴۴/۰۳ درصد بود که برای فیلم حاوی ۳۰٪ اسانس حلالیت به ۳۷/۰۶ درصد کاهش یافت که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر داشتند. این پدیده می تواند باتوجه به اثرات متقابل اجزای اسانس و ماهیت آب گریزی اسانس باشد. فیلم حاوی نانوژل در مقایسه با فیلم شاهد حلالیت در آب را اندکی افزایش داد، اما این افرایش از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری نداشت. با توجه به این نتایج می توان گفت که نانوژل در غلظت های استفاده شده اثر معنی داری ($P\leq ۰/۰۵$) بر میزان حلالیت در آب فیلم های بر پایه نشاسته نداشت.

جدول ۴-۱ میزان حلالیت فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل

نمونه ها	حلالیت در آب (٪)
شاهد	$۴۴/۰۳\pm۷/۸۲^{abc}$
۱۰٪ اسانس رزماری	$۴۲/۳۳\pm۱۰/۴۳^{abc}$
۲۰٪ اسانس رزماری	$۳۹/۹۰\pm۲/۲۲^{bc}$
۳۰٪ اسانس رزماری	$۳۷/۶۰\pm۶/۷۰^{c}$
۰/۱٪ نانوژل+۰/۰۵٪ اسانس رزماری	$۵۰/۲۰\pm۱/۱۲^{ab}$
۰/۲٪ نانوژل+۰/۱٪ اسانس رزماری	$۴۴/۸۱\pm۳/۳۲^{abc}$
۰/۳٪ نانوژل+۰/۱۵٪ اسانس رزماری	$۵۲/۷۱\pm۱/۰۲^{a}$

مقادیر با حروف متفاوت(a,b) در ستون‌های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$ آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

حسینی و همکاران (۱۳۸۸) در مطالعات خود نیز به این نتیجه رسیدند که افزودن اسانس دارچین منجر به کاهش حلالیت فیلم های کیتوزان شده است که این پدیده را ناشی از ایجاد اتصالات سراسری توسط اسانس دارچین و ایجاد گروه های آمیدی یا استری دانستند. ایجاد اتصالات سراسری در فیلم کیتوزان، منجر به کاهش گرایش پلیمر به آب شد و فیلمی با حلالیت کمتر در آب تولید نمود [۱۸].

۴-۳-۱-۲ بررسی میزان جذب رطوبت فیلم ها

نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به جذب رطوبت فیلم ها در جدول (۴-۲) نشان داده شده است.

جدول ۴-۲ میزان جذب رطوبت فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل

نمونه ها	جذب رطوبت (%)
شاهد	۳۰/۶۷±۱/۳۴[a]
۱۰٪ اسانس رزماری	۳۲/۶۲±۱/۹۷[a]
۲۰٪ اسانس رزماری	۲۲/۷۸±۰/۶۰[c]
۳۰٪ اسانس رزماری	۲۳/۶۲±۰/۳۶[bc]
۰/۱٪ نانوژل+۰/۰۵٪ اسانس رزماری	۳۳/۲۳±۱/۳۵[a]
۰/۲٪ نانوژل+۰/۱٪ اسانس رزماری	۲۶/۹۱±۳/۳۱[b]
۰/۳٪ نانوژل+۰/۱۵٪ اسانس رزماری	۲۵/۷۲±۲/۱۶[bc]

مقادیر با حروف متفاوت(a,b) در ستون‌های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$ آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

نتایج نشان داد که جذب رطوبت فیلم ها با افزایش میزان اسانس رزماری و نانوژل فیلم کاهش یافت. فیلم های حاوی ۱۰٪ اسانس رزماری و ۰/۰۵٪ نانوژل در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با فیلم شاهد در جذب رطوبت نداشتند. اما فیلم های حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد اسانس رزماری و ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد نانوژل حاوی اسانس رزماری اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد با فیلم شاهد نشان دادند. دلیل این پدیده احتمالاً مربوط به تشکیل پیوند هیدروژنی بین مولکولهای نشاسته با گروه های عاملی ترکیبات اسانس و نانوژل است که این ساختار جدید جذب مولکول های آب را کاهش می دهد. نتایج مشابه ای در تحقیقات پارک و ژائو (۲۰۰۴) و اوجاق (۲۰۱۰) گزارش شده است. بر اساس نتایج این تحقیقات دلیل کاهش جذب رطوبت فیلم های حاوی اسانس و کیتوزان به فشردگی شبکه فیلم نسبت داده شده است. همچنین اسانس باعث تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه های عاملی زنجیره کیتوزان می گردد که منجر به کاهش در دسترس بودن گروه های هیدروکسیل و آمین و محدود کردن تعاملات پلی ساکارید با آب توسط پیوند هیدروژنی و در نتیجه کاهش میزان جذب رطوبت فیلم های خوراکی می گردد [۵ و ۹۹].

همچنین حسینی و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقات خود نشان دادند که افزودن اسانس آویشن شیرازی به محتوی فیلم خوراکی کیتوزان سبب افزایش جذب رطوبت فیلم ها به دلیل تخریب شبکه فیلم می شود. اما این افزایش تا غلظت ۰/۵٪ اسانس بود، افزودن اسانس در سطح ۱/۵٪ سبب کاهش جذب رطوبت به دلیل افزایش آب گریزی آن شد که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشابه بود [۱۸].

۴-۳-۱-۳ بررسی میزان نفوذپذیری به بخارآب

نتایج حاصل از آزمایش نفوذپذیری به بخارآب در جدول (۴-۳) نشان داده شده است.

جدول ۴-۳ میزان نفوذپذیری به بخارآب فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل

نمونه ها	نفوذپذیری به بخارآب($g.m/m^2.s.Kpa$)
شاهد	۲/۷۵±۰/۰۷^{bc}
۱۰٪ اسانس رزماری	۲/۳۴±۰/۰۶^{d}
۲۰٪ اسانس رزماری	۱/۹۲±۰/۰۷^{e}
۳۰٪ اسانس رزماری	۱/۷۵±۰/۰۴^{e}
۰/۱٪ نانوژل+۰/۰۵٪ اسانس رزماری	۲/۶۴±۰/۰۸^{c}
۰/۲٪ نانوژل+۰/۱٪ اسانس رزماری	۲/۸۴±۰/۱۴^{b}
۰/۳٪ نانوژل+۰/۱۵٪ اسانس رزماری	۳/۰۴±۰/۱۳^{a}

مقادیر با حروف متفاوت(a,b) در ستون‌های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$ آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

نتایج نشان داد که افزایش اسانس رزماری باعث کاهش نفوذ پذیری به بخار آب فیلم شد که اختلاف معنی داری با فیلم شاهد در سطح ۵ داشتند. اما افزایش نانوژل باعث افزایش نفوذپذیری به بخار آب فیلم ها شد. البته فیلم های حاوی ۰/۱ و ۰/۲ درصد نانوژل در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با فیلم شاهد نداشتند اما فیلم حاوی ۰/۳ درصد اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد. نتایج مشابه ای توسط وانگ و همکاران (۱۹۹۲)، سیدیم و ساریکوس (۲۰۰۶) و حسینی و همکاران (۱۳۸۸) بدست آمده است. نتایج این تحقیقات نشان داد که افزودن اسانس به فیلم سبب کاهش نفوذپذیری به بخارآب می شود که دلیل این پدیده احتمالا به خاصیت آب گریزی اسانس مربوط می باشد [۱۸ و ۷۰ و ۱۰۰]. حسینی و همکاران (۱۳۸۸) نیز نشان داند که فیلم کیتوزان حاوی بالاترین میزان اسانس آویشن میزان

نفوذپذیری به بخار آب آن بدلیل افزایش خاصیت آب گریزی فیلم ها، کاهش یافته است [۱۸]. البته اسانس ها ترکیباتی پیچیده ای هستند و نمی توان به سادگی فرض کرد که افزودن این مواد آب گریز به فرمول فیلم، باعث کاهش نفوذپذیری به بخارآب فیلم شود، بلکه تأثیری که اسانس بر ریز ساختار فیلم می گذارد، تعیین کننده مقدار نفوذپذیری آن به بخارآب است [۳]. اما افزودن نانوژل حاوی اسانس رزماری به فیلم بر پایه نشاسته سبب افزایش این فاکتور شده که این نتیجه می تواند به دلیل طبیعت هیدروفیل کیتوزان باشد [۳ و ۷۰ و ۱۰۰]. افزودن ترکیبات قطبی ممکن است سبب افزایش ماهیت آب دوستی و قابلیت انحلال فیلم ها گردند [۳].

۴-۳-۱-۴ بررسی میزان آب گریزی سطحی (مقدار زاویه تماس)

مقدار زاویه تماس با آب، آبگریزی فیلم را نشان می دهد. زاویه تماس با آب در جدول (۴-۴) نشان داده شده است.

جدول ۴-۴ زاویه تماس فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل با قطره آب

نمونه ها	زاویه تماس (درجه)
شاهد	۵۲/۵۷±۱/۰۲^{ab}
۱۰٪ اسانس رزماری	۵۲/۴۷±۱/۵۲^{ab}
۲۰٪ اسانس رزماری	۵۶/۰۷±۱/۲۱^{ab}
۳۰٪ اسانس رزماری	۵۶/۷۰±۱/۳۹^{a}
۰/۱٪ نانوژل+۰/۰۵٪ اسانس رزماری	۵۰/۷۶±۴/۰۰^{b}
۰/۲٪ نانوژل+۰/۱٪ اسانس رزماری	۵۷/۲۹±۲/۰۳^{a}
۰/۳٪ نانوژل+۰/۱۵٪ اسانس رزماری	۵۵/۰۷±۵/۹۶^{ab}

مقادیر با حروف متفاوت(a,b) در ستون‌های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$ آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

مقایسه نتایج آب گریزی فیلم ها نشان می دهد که با فزایش میزان اسانس و نانوژل، آب دوستی فیلم ها کاهش یافته است. البته اختلاف مشاهده شده در بین تیمار ها اندک بود و در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری را با نمونه شاهد نشان ندادند.

اوجاق و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که با افزایش میزان اسانس دارچین به فیلم کیتوزان، مقدار زاویه تماس افزایش می یابد که دلیل آن را به آبگریزی اسانس و همچنین از دست دادن گروه های عاملی آزاد (گروه های آمینه و هیدروکسیل) مربوط دانستند [۵].

در تحقیق دیگری که توسط ون و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد. نتایج نشان داد که فیلم نانوالیاف حاوی اسانس دارچین درون پوشانی شده توسط بتا سیکلودکسترین، آب دوست تر از نمونه شاهد بود [۶].

۴-۳-۱-۵ خواص نوری فیلم ها

رنگ فیلم عاملی مهم برای جذب مصرف کننده می باشد [۱۰۱]. مقادیر اختلاف رنگ کلی (ΔE)، شاخص زردی (YI)، سفیدی (WI) و شفافیت (T) فیلم ها در جدول (۴-۵) نشان داده شده است.

جدول ۴-۵ خواص نوری فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل

نمونه ها	ΔE	YI	WI	T
شاهد	۳/۰۶±۰/۶۵^{ab}	۱۲/۳۱±۰/۲۱^{a}	۵۷/۴۰±۰/۹۸^{c}	۰/۶۵۵±۰/۰۴۵^{c}
۱۰٪ اسانس رزماری	۴/۱۸±۱/۳۳^{ab}	۸/۷۰±۲/۶۰^{a}	۵۹/۶۷±۰/۸۵^{b}	۰/۳۹±۰/۱۰^{d}
۲۰٪ اسانس رزماری	۵/۱۸±۲/۳۰^{a}	۱۰/۱۹±۵/۳۸^{a}	۶۰/۱۷±۱/۵۳^{b}	۰/۱۵۵±۰/۱۱^{e}
۳۰٪ اسانس رزماری	۲/۹۰±۱/۳۸^{ab}	۱۲/۷۸±۳/۵۴^{a}	۶۲/۵۸±۰/۸۵^{a}	۰/۴۰۵±۰/۱۲^{d}
۰/۱٪ نانوژل+۰/۰۵٪ اسانس رزماری	۳/۲۳±۲/۰۷^{ab}	۱۲/۰۲±۴/۹۶^{a}	۵۹/۰۹±۱/۳۹^{bc}	۰/۹۹۵±۰/۰۲^{b}
۰/۲٪ نانوژل+۰/۱٪ اسانس رزماری	۲/۳۳±۰/۵۸^{b}	۷/۱۸±۰/۰۷^{a}	۵۹/۴۴±۰/۵۷^{b}	۱/۳۸۵±۰/۱۶^{a}
۰/۳٪ نانوژل+۰/۱۵٪ اسانس رزماری	۱/۹۶±۰/۴۷^{b}	۰/۷۹±۱/۳۷^{b}	۵۹/۹۸±۰/۰۱^{b}	۰/۳۶۵±۰/۰۱^{d}

مقادیر با حروف متفاوت(a,b) در ستون‌های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$ آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

ΔE نشانگر تغییرات کلی رنگ فیلم می باشد و هر چه میزان آن افزایش یابد، نشان دهنده تغییر رنگ کلی فیلم است. نتایج اختلاف رنگ فیلم ها نشان داد که با افزایش نانوژل اختلاف رنگ فیلم ها کاهش یافته است. البته از نظر آماری اختلاف های مشاهده شده در سطح ۵ درصد معنی دار نبود.

نتایج شاخص زردی نشان داد که اضافه شدن اسانس رزماری به فیلم های نشاسته ای اثر معنی داری (P> ۰/۰۵) بر شاخص زردی نداشته است. اما افزایش نانوژل به ویژه در غلظت ۰/۳ درصد باعث کاهش معنی دار (P≤۰/۰۵) شاخص زردی فیلم ها شده است (جدول ۴-۵).

نتایج شاخص سفیدی نشان داد که افزایش اسانس رزماری به طور معنی داری (P≤۰/۰۵) باعث افزایش شاخص سفیدی شده است. در مورد تیمارهای نانوژل اگرچه نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی داری (P≤۰/۰۵) مشاهده شد اما در بین فیلم های حاوی نانوژل در غلظت های مختلف اختلاف معنی داری (P>۰/۰۵) مشاهده نشد (جدول ۴-۵). نتایج حاصل از مطالعه مرادی و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که شاخص سفیدی کاملاً متأثر از نوع و میزان اسانس مورد استفاده، حتی در غلظت های پایین می باشد [۶۳].

شفافیت فیلم یک عامل مهم است و بطور مستقیم ظاهر محصولات بسته بندی شده را تحت تأثیر قرار می دهد [۱۰۲]. از سوی دیگر میزان اکسیداسیون و در نتیجه کیفیت مواد غذایی را نیز تحت تأثیر قرار می دهد [۱۰۳]. همچنین شفافیت یک شاخص مؤثر و کارآمد در تعیین اطلاعات مربوط به اندازه ذرات پراکنده شده در ماتریکس پلیمر است، بطوریکه ذرات و گرانول های بزرگتر از طول موج مرئی، مسیر عبور نور را مسدود نموده و باعث افزایش کدورت فیلم می شوند [۷۱]. نتایج جدول (۴-۵) نشان می دهد که فیلم های حاوی اسانس انتقال نور کمتری در مقایسه با فیلم شاهد در طول موج ۶۰۰ نانومتر داشته اند که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با نمونه شاهد مشاهد شد. در مورد فیلم های حاوی نانوژل با افزایش نانوژل تا ۰/۲٪ در فیلم نشاسته، شفافیت افزایش یافت اما در غلظت ۰/۳٪ دوباره کاهش پیدا کرد. کاهش شفافیت فیلم های نانوژل در غلظت بالا احتمالاً به دلیل پخش نشدن مناسب ذرات نانوژل در ساختار فیلم می باشد.

۴-۳ -۲ خواص مکانیکی فیلم ها

نتایج خواص مکانیکی فیلم ها در جدول (۴-۶) نشان داده شده است.

جدول ۴-۶ خواص مکانیکی فیلم های خوراکی بر پایه نشاسته حاوی اسانس رزمای و نانوژل

نمونه ها	استحکام کششی(Kpa)	ازدیاد طول در نقطه شکست(%)
شاهد	۰/۵۶۵±۰/۱۶۰^{b}	۹۵/۲۱±۱۹/۶۹^{bcd}
۱۰٪ اسانس رزماری	۰/۴۷۹±۰/۱۶۷^{bc}	۱۸۰/۲۰±۱۵/۷۸^{a}
۲۰٪ اسانس رزماری	۰/۱۸۱±۰/۰۴۸^{c}	۷۵/۰۰±۲۷/۲۲^{d}
۳۰٪ اسانس رزماری	۰/۳۷۷±۰/۰۴۹^{bc}	۲۰۰/۲۰±۱۵/۲۷^{a}
۰/۱٪ نانوژل+۰/۰۵٪ اسانس رزماری	۰/۹۲۳±۰/۱۴۰^{a}	۱۴۰/۸۳±۲۴/۳۷^{abc}
۰/۲٪ نانوژل+۰/۱٪ اسانس رزماری	۱/۲۰۳±۰/۳۱۵^{a}	۱۵۱/۴۵±۳۶/۵۰^{ab}
۰/۳٪ نانوژل+۰/۱۵٪ اسانس رزماری	۰/۳۲۵±۰/۰۹۲^{bc}	۸۵/۵۷±۴۵/۵۱^{cd}

مقادیر با حروف متفاوت(a,b) در ستون‌های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P\leq$۰/۰۵ آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

همانطور که در جدول (۴-۶) نشان داده شده است، فیلم های حاوی اسانس رزماری، باعث کاهش استحکام کششی فیلم نسبت به فیلم شاهد شد. البته در بین فیلم های حاوی اسانس رزماری تنها فیلم ۲۰ درصد اختلاف معنی داری ($P\leq$۰/۰۵) را با فیلم شاهد نشان داد. در مورد فیلم های حاوی نانوژل، اضافه شدن نانوژل تا غلظت ۰/۲ درصد باعث افزایش معنی داری ($P\leq$۰/۰۵) در استحکام کششی شد. اما در غلظت ۰/۳ درصد استحکام کششی دوباره کاهش پیدا کرد. کاهش استحکام کششی در غلظت ۰/۳ درصد نانوژل احتمالاً مربوط به پخش نشدن مناسب ذرات نانوژل در ماتریکس فیلم است که این ناهمگن بودن ساختار فیلم باعث کاهش استحکام آن می گردد.

تغییر شکل در نقطه استراحت، نشانه ای از انعطاف پذیری فیلم و توانایی کشش است. با افزایش میزان اسانس از ۱۰٪ به ۲۰٪ طویل شدن کاهش اما با افزایش میزان اسانس به ۳۰٪ این فاکتور نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی داری ($P\leq$۰/۰۵) یافت. در مورد تیمارهای حاوی نانوژل، شاخص ازدیاد طول ابتدا

افزایش و سپس کاهش پیدا کرد. البته تغییرات ازدیاد طول در مورد فیلم های حاوی نانوژل نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان ندادند.

بطورکلی اسانس ها اثرات متفاوتی برخواص مکانیکی فیلم های پلی ساکاریدی نشان داده اند. اسانس آویشن و میخک سبب کاهش استحکام کششی و بهبود شاخص ازدیاد طول شده است [۱۰۴]، همچنین اسانس دارچین سبب بهبود استحکام کششی اما کاهش طویل شدن فیلم کیتوزان گردیده است [۵]. این تفاوت در نتایج ممکن است به نوع پلی ساکارید (وزن مولکولی) و فعل و انفعالات خاص با اجزای اسانس مربوط باشد [۷۲].

نرم کننده ها از طریق کاهش نیروهای بین مولکولی در فیلم های نشاسته ای و قرار گرفتن بین زنجیره های آمیلوزی، خصوصیات مکانیکی این فیلم ها را تغییر می دهند. با افزودن اسانس به درون فیلم، استحکام کششی کاهش یافت (جدول ۴-۶). حضور اسانس سبب بهم خوردن تراکم ساختاری و کاهش مقاومت نمونه های حاوی اسانس در برابر کشش می شود. بر اساس تحقیقات صورت گرفته توسط محققین مختلف، افزودن ترکیبات ضدمیکروبی به بسپارهای مختلف به علت ایجاد تغییرات در سطح مولکولی، سبب تغییر خواص مکانیکی فیلم های تولید شده از این بسپارها می شود. این تغییرات به علت تخریب ماتریکس فیلم، در اغلب موارد در جهت کاهش مقاومت فیلم ها در برابر کشش می باشد.

برزگر و همکاران (۱۳۹۲) با افزودن اسانس دارچین به فیلم خوراکی برپایه نشاسته نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. همچنین در این تحقیق با افزودن اسانس میزان کشیدگی به طور معنی داری نیز افزایش یافت که این محققین دلیل آن را مایع بودن اسانس های روغنی در دمای اتاق بیان کردند. اسانس ها با قرارگرفتن در زنجیره های بسپاری، سبب تضعیف پیوندهای درونی می شوند و از طریق انعطاف پذیری و تحرک زنجیره های بسپار افزایش می یابد [۳].

نتایج حاصل از مطالعه مرادی و همکاران (۱۳۸۹) نشان داده که با افزایش عصاره دانه انگور به فیلم کیتوزان تا ۱٪ ازدیاد طول در نقطه شکست افزایش یافت و پس از آن در ۲٪ این شاخص کاهش پیدا کرد. مقاومت در برابر پارگی فیلم کیتوزان حاوی ۲٪ عصاره ممکن است به دلیل پیوندهای عرضی بین کیتوزان و ترکیبات فنلی با وزن مولکولی بالای موجود در عصاره ایجاد شود. ترکیبات فنلی به دلیل خاصیت آب دوستی و وزن مولکولی بالا، موجب کاهش اثرات نرم کنندگی فیلم و نهایتا باعث افزایش میزان مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش فیلم خوراکی می شوند. پایین بودن میزان کشش در فیلم حاوی ۲٪ عصاره دانه انگور، به دلیل حضور میزان زیادی عصاره در داخل فیلم بود که باعث پخش نشدن کامل عصاره در فیلم شد و در نهایت نیز موجب ایجاد پیوندهای ضعیف بین بسپار و عصاره شد. این حالت باعث ایجاد یکسری نقاط با عدم تحمل به کشش بر روی فیلم می شود [۶۳]. تفاوت حاصل در برخی از مطالعات قبلی و مطالعه حاضر می تواند به دلیل تفاوت نوع پلی ساکارید، شرایط و میزان نوع پلاستی سایزر مورد استفاده و همچنین به میزان ماده زیست فعال اضافه شده بستگی داشته باشد.

۴-۳-۲ بررسی خواص ضدمیکروبی فیلم ها

۴-۳-۲-۱ تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس رزماری آزاد و درون پوشانی شده در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

در جدول ۴-۷ نتایج مربوط به حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس رزماری، نانوژل و اسانس رزماری درونپوشانی شده در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده شده است.

جدول ۴-۷ حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس رزماری، نانوژل و اسانس رزماری درونپوشانی شده در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

	حداقل غلظت بازدارندگی(میکروگرم/میلی لیتر)	حداقل غلظت کشندگی (میکروگرم/میلی لیتر
اسانس رزماری	۲۰۰	۲۰۰
نانوژل	۸۰	۸۰
اسانس رزماری درونپوشانی شده	۴۰	۴۰

نتایج جدول (۴-۷) نشان می دهد که با درون پوشانی اسانس رزماری در نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی این اسانس در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* کاهش یافته است.

همچنین نتایج نشان می دهد که میزان MIC و MBC نمونه ها با هم یکسان می باشد. که با نتایج به دست آمده از مطالعه سوکوویک و همکاران (۲۰۱۰) با نتایج حاصل از این تحقیق یکسان بود [۱۰۵].

ترکیب، ساختار و گروه های عملکردی نقش مهمی در تعیین فعالیت ضدمیکروبی اسانس ها دارند. معمولا ترکیبات دارای گروه های فنلی مؤثرترند که در این میان روغن میخک، آویشن، رزماری، مریم گلی دارای بیشترین فعالیت ضدمیکروبی می باشند [۵]. معمولا اثر بازدارندگی آن ها بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی است. البته برخی از ترکیبات غیرفنلی اسانس ها بر باکتری های گرم منفی مؤثرتر می باشند [۳۶ و ۴۱]. مشخصه ای که بیشتر فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات را تحت تاثیر قرارداده است، آب گریزی بالای آن هاست، که آنها را قادر به عبور از غشاء باکتری ها کرده و این باعث از دست رفتن یون ها و کاهش پتانسیل غشاء، از بین رفتن عملکرد پمپ پروتون، صدمه به پروتئین ها، چربی ها و اندامکهای حاضر در سلول باکتری شده و در نهایت می تواند منجر به مرگ سلول شود [۳۸ و ۳۹].

در مورد پلیمر کیتوزان، هنوز مکانیسم اثر ضد میکروبی آن به طور کامل مشخص نشده است. اما چندین فرضیه در این زمینه ارائه شده است. از جمله این دلایل می توان به تغییر نفوذپذیری غشاء در اثر بر هم کنش میان گروههای آمین کیتوزان با بارهای منفی روی سطح سلول باکتری اشاره کرد. این برهمکنش باعث نشت الکترولیت ها از درون سلول به بیرون می شود [۱۰۵]. تحقیقات قبلی نشان داده است که نانوذرات کیتوزان نسبت به بسپارهای آزاد کیتوزان اثر ضدمیکروبی بیشتری دارند. اثر ضدمیکروبی بیشتر نانوذرات احتمالا به دلیل سطح بیشتر این ذرات است که این سطح بیشتر قابل دسترس، توانایی اتصال بیشتری با سطح میکروارگانیسم ها را دارد [۱۰۶].

۴-۳-۲-۲ بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم ها با روش انتشار دیسکی

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی اسانس رزماری، نانوژل و اسانس رزماری درونپوشانی شده، از فیلم های تهیه شده دیسکی به قطر ۲ سانتی متر تهیه شد و در ادامه دیسک ها بر روی پلیت های تلقیح شده با میکروارگانیسم های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *اشریشیاکلی*، *سالمونلا تایفی موریم*، *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکنس* قرار گرفت و اثر فیلم ها بر رشد میکروارگانیسم ها بررسی شد. نتایج حاصل از رشد میکروارگانیسم ها نشان داد که پلیت های حاوی فیلم های با اسانس رزماری، نانوژل و اسانس درونپوشانی شده باعث جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها در زیر فیلم شدند در صورتیکه در مورد فیلم های شاهد رشد میکروارگانیسم ها در زیر فیلم نیز مشاهده شد. البته در این آزمون قطر هاله ایجاد شده اطراف دیسک ها به عنوان قدرت ضدمیکروبی گزارش می شود که در این آزمون تنها غلظت بالای فیلم های دارای اسانس رزماری توانست مقدار کمی اطراف دیسک ها ایجاد هاله کرد. لازم به ذکر است که غلظت های مورد استفاده در این تحقیق با توجه به کارهای قبلی انتخاب شد و حتی غلظت های بالاتری نسبت به غلظت های استفاده شده در کارهای دیگران نیز استفاده شد [۱۰۷ و ۱۰۸]. در این تحقیق غلظت ۳۰ درصد نیز نتوانست نتایج قابل قبولی به دست آورد. اولین دلیل این تفاوت احتمالاً به

تفاوت ترکیبات اسانس استفاده شده در تحقیقات قبلی با تحقیق حاضر مربوط است. دومین دلیل نیز احتمالاً به ضخامت فیلم ها مربوط می باشد. در کار حاضر ضخامت فیلم ها تقریبا ۳۰ میکرومتر بود در حالیکه در کارهایی که توانسته بودند به نتایج مطلوب برسند ضخامت در حدود ۹۰ میکرومتر بود [۱۰۷ و ۱۰۸]. با توجه به اینکه با افزایش ضخامت فیلم در واقع اسانس بیشتری نیز در واحد سطح وجود خواهد داشت، بنابراین در عمل در کارهای قبلی غلظت های بیشتری روی پلیت ها به کار رفته بود.

در مورد فیلم های حاوی نانوژل نتایج منطقی بود. به دلیل اینکه در این آزمون ترکیبات ضد میکروب به محیط اطراف انتشار پیدا کرده و باعث جلوگیری از رشد می شوند. اسانس ها ترکیبات فرار هستند و قادر به انتشار به محیط اطراف هستند [۴۰ و ۴۲]، اما نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید یک ساختار با وزن مولکولی بالاست [۹۸] و به ذاحتی قادر به انتشار به محیط اطراف نیست. به همین دلیل فیلم های حاوی نانوژل فقط در محل تماس با سطح پلیت توانستند از رشد میکروارگانیسم ها جلوگیری کنند.

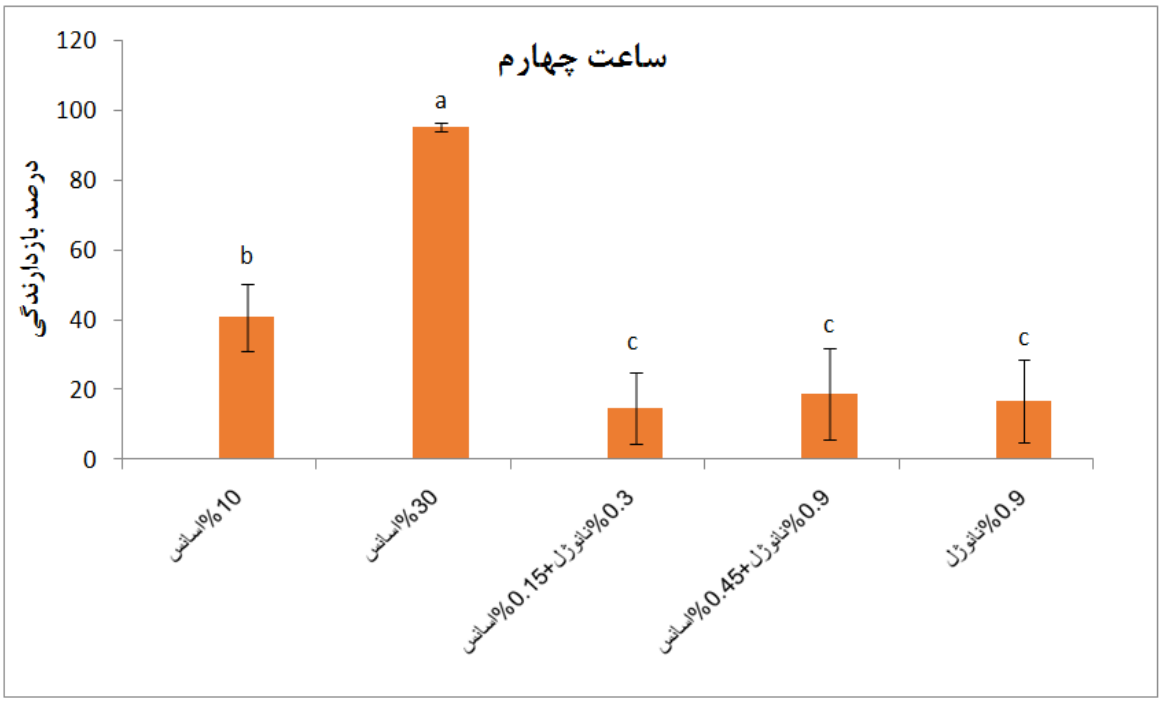
در مورد فیلم های حاوی اسانس رزماری درون پوشانی شده دلایل مربوط به فیلم های نانوژل را می توان بیان کرد. همچنین اسانس به کار رفته در این فیلم ها نیز خیلی کمتر (حداکثر ۰/۱۵٪) از فیلم های حاوی اسانس آزاد (حداقل ۱۰٪) بود.

۴-۳-۲-۳ بررسی خاصیت ضد میکروبی امولسیون فیلم ها در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

با توجه به اینکه نانوژل ترکیبی غیر فرار می باشد و روش انتشار دیسکی برای بررسی اثر ضد میکروبی این ترکیبات مناسب نبود، به همین دلیل در این مرحله روش کشت در محیط مایع استفاده شد. به همین منظور مقدار مشخصی از امولسیون فرمولاسیون فیلم های حاوی اسانس رزماری، نانوژل و اسانس رزماری در حالت درونپوشانی شده به محیط کشت نوترینت براث حاوی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اضافه و میزان رشد این باکتری در زمانهای مختلف بررسی شد. لازم به ذکر است که در این مرحله فرمولاسیون

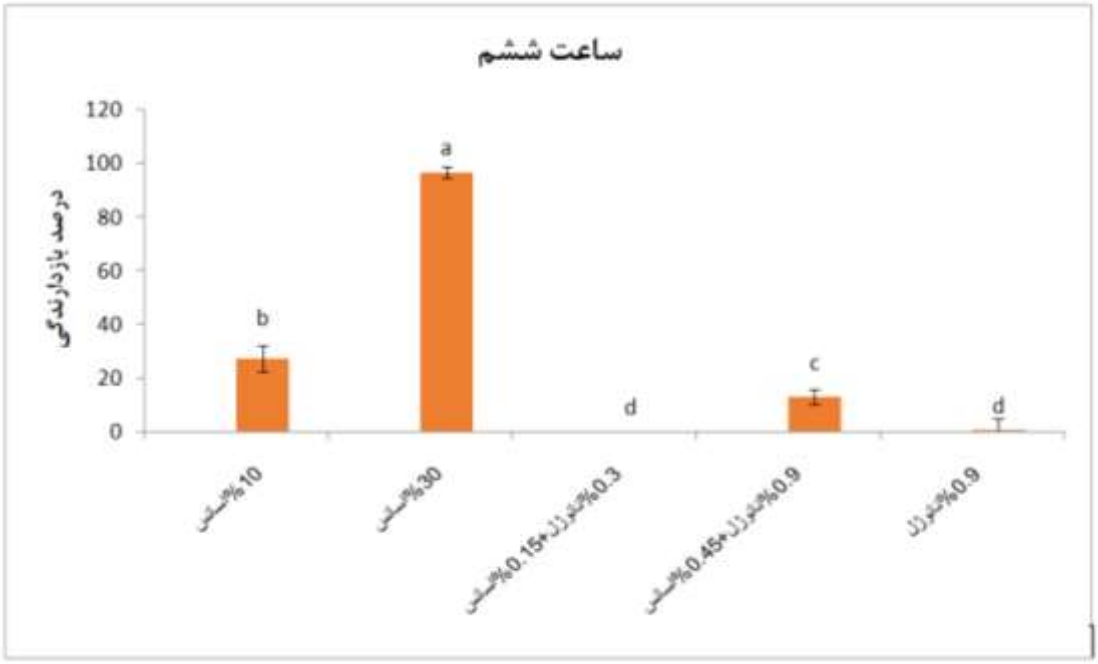
با غلظت ۰/۹ درصد نانوژل (بدون اسانس) و همچنین اسانس درونپوشانی شده ۰/۴۵ درصد نیز تهیه و اثر ضد باکتری آنها بررسی شد.

در شکل های (۴-۳)، (۴-۴) و (۴-۵) به ترتیب درصد بازدارندگی از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط تیمارهای مختلف در ۴، ۶ و ۲۴ ساعت پس از گرمخانه گذاری نشان داده شده است.



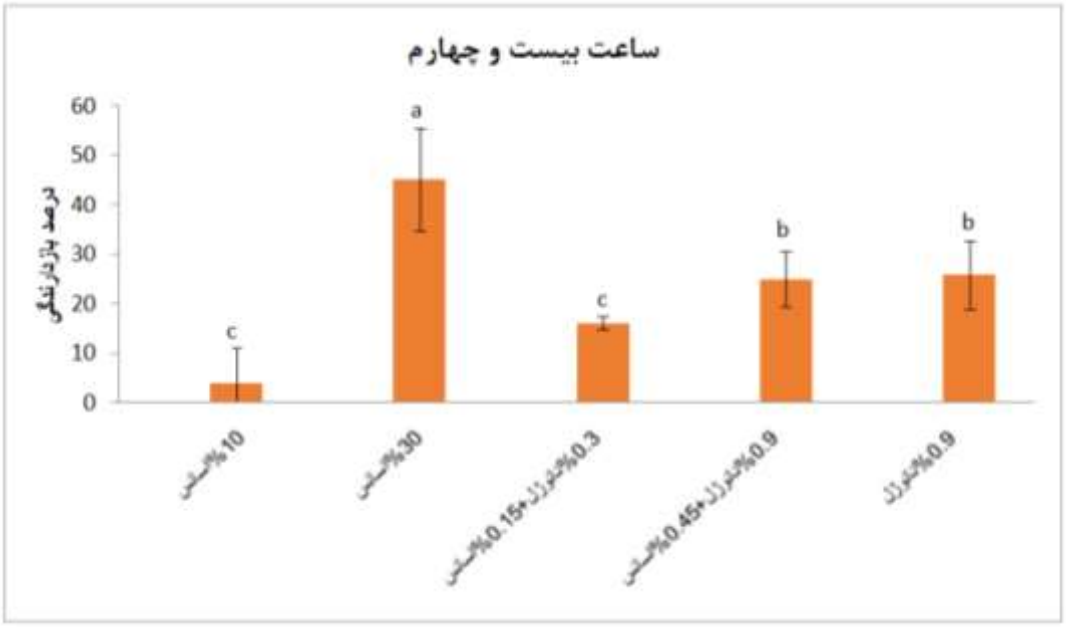
شکل ۴-۳ درصد بازدارندگی امولسیون فیلم های مختلف بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در ساعت چهارم نگهداری

نتایج شکل (۴-۳) نشان می دهد که در ساعت چهارم گرمخانه گذاری تیمارهای با ۱۰ و ۳۰ درصد اسانس رزماری دارای خاصیت ضد باکتری بالاتری نسبت به تیمارهای حاوی نانوژل و اسانس درون پوشانی شده بودند که اختلاف مشاهده شده در سطح ۵ درصد نیز معنی دار بود. همچنین در این ساعت بین تیمارهای نانوژل ۰/۹ درصد و اسانس رزماری درونپوشانی شده ۰/۱۵ و ۰/۴۵ درصد اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجود نداشت.



شکل ۴-۴ درصد بازدارندگی امولسیون فیلم های مختلف بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در ساعت ششم نگهداری

نتایج شکل (۴-۴) نشان می دهد که در ساعت ششم گرمخانه گذاری تیمارهای ۳۰ و ۱۰ درصد اسانس رزماری به ترتیب بیشترین اثر بازدارندگی را داشته اند که با تیمارهای حاوی نانوژل اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد. در این ساعت اثر بازدارندگی تیمار حاوی ۰/۴۵ درصد اسانس درونپوشانی شده از تیمار حاوی ۰/۱۵ درصد اسانس درونپوشانی شده و همچنین ۰/۹ درصد نانوژل بیشتر بود که اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد.



شکل ۴-۵ درصد بازدارندگی امولسیون فیلم های مختلف بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در ساعت بیست و چهارم نگهداری

نتایج شکل (۴-۵) نشان می دهد که در ساعت بیست و چهارم گرمخانه گذاری تیمار حاوی ۳۰ درصد اسانس رزماری بیشترین اثر بازدارندگی را داشته است. نکته قابل توجه در این ساعت تیمارهای حاوی نانوژل بود. نتایج اثر بازدارندگی در این ساعت نشان داد که تیمارهای حاوی ۰/۹ و ۰/۳ درصد نانوژل از تیمار ۱۰ درصد اسانس رزماری بیشتر بوده است البته تنها تیمارهای حاوی ۰/۹ درصد نانوژل اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد با تیمار ۱۰ درصد اسانس رزماری نشان دادند.

نتایج بازدارندگی رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که قدرت بازدارندگی اسانس رزماری در ساعت های اولیه بیشتر بوده است که این اثر را می توان به فراریت ترکیبات اسانس مربوط دانست. ولی با پیشرفت زمان و خارج شدن اسانس از محیط اثر بازدارندگی نانوژل بارزتر از اسانس رزماری بوده است.

نتایج به دست آمده نشان داد که اسانس رزماری قادر به تأخیر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* شده اما در دوره زمانی طولانی و تحت شرایط محیطی اثر آن به مرور زمان کم شده است. با توجه به اثر ضد باکتری نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید می توان با درون پوشانی اسانس رزماری به همان نتایج بازدارندگی در

غلظت های پایین تر دست یافت. این نتیجه از این نظر اهمیت دارد که یکی از مشکلات اصلی استفاده از اسانس های گیاهی اثرات عطر و طعمی ایجاد شده در محصولات است که تا حدودی کاربرد آن ها را محدود کرده است [۱۰۹]. با استفاده از درون پوشانی در نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید می توان غلظت های کمتری از اسانس را استفاده کرد که به طبع اثرات عطر و طعمی کمتری بر محصولات خواهد داشت. در این تحقیق حداکثر نانوژل ۰/۹ درصد و اسانس درونپوشانی شده ۰/۴۵ درصد استفاده شد. نتایج پیش تیمارها نشان داد که امکان استفاده از نانوژل کیتوزان- بنزوئیک اسید بیشتر از ۰/۳ درصد برای تشکیل یک فیلم مناسب وجود نداشت و استفاده بیشتر از آن باعث رشته ای شدن ذرات نانوژل شده که این باعث از بین رفتن ساختار نانو ذرات و همچنین ایجاد فیلم نامناسب گردید. غلظت های بالاتر تا حدود ۰/۹ درصد نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید برای تهیه امولسیون با تنظیم پ هاش در حد اسیدی امکان پذیر بود. دلیل این محدودیت استفاده از نانوژل احتمالاً به کربوکسی متیل سلولز استفاده شده در فرمولاسیون مربوط می شود. پایه اصلی فیلم استفاده شده در این تحقیق نشاسته بود، اما چون فیلم های نشاسته ای استحکام مناسبی نداشتند، با توجه به کارهای قبلی به فرمولاسیون مقداری کربوکسی متیل سلولز اضافه شد [۱]. اگرچه نشاسته یک پلی ساکارید خنثی است اما کربوکسی متیل سلولز پلی ساکارید آنیونی است. از طرف دیگر کیتوزان یک بسپار کاتیونی است [۱۱۰]. به همین دلیل در غلظت های بالا کربوکسی متیل سلولز باعث رسوب و به هم پیوستن ذرات نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید شده و استفاده از آن را محدود کرد.

نتیجه گیری

دراین مطالعه اتصال شیمیایی بین کیتوزان و بنزوئیک اسید با موفقیت انجام شد. در ادامه نانوذرات کیتوزان-بنزوئیک اسید با روش خود تجمعی ایجاد شد. عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی میانگین اندازه ذرات زیر ۱۰۰ نانومتر را نشان داد. نتایج نشان داد فیلم حاوی نانوژل حاوی اسانس دارای نفوذپذیری به بخارآب بالاتری در مقایسه با فیلم حاوی اسانس آزاد بود. جذب رطوبت با افزایش اسانس و نانوژل کاهش یافت. همچنین اسانس و نانوژل اثر قابل توجهی برحلالیت در آب و زاویه تماس فیلم نداشتند. شفافیت فیلم ها با افزایش اسانس کاهش یافت. در مورد فیلم های حاوی نانوژل تا غلظت ۰/۲درصد باعث افزایش شفافیت شد اما در غلظت ۰/۳ درصد شفافیت کاهش پیدا کرد. آزمونهای مکانیکی نشان داد که فیلم حاوی ۰/۲٪ نانوژل دارای بالاترین استحکام کششی در نقطه شکست بود. هم چنین نتایج آزمون میکروبی نشان داد که اسانس رزماری و نانوژل کیتوزان-بنزوئیک اسید هر کدام به تنهایی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* خاصیت بازدارندگی دارند و با درونپوشانی اثر بازدارندگی بیشتر شد. علاوه بر این نانوژل بر خلاف اسانس ها که به خاطر طبیعت فرارشان سریع اثر می کنند به صورت تدریجی اثر باز دارندگی داشت. همچنین با ترکیب اسانس با نانوژل به صورت درون پوشانی شده هر دو اثر آنی (مربوط به اسانس) و تدریجی (مربوط به نانوژل) به دست آمد. این نتیجه نشان داد که در غلظت های خیلی کمتر از اسانس رزماری می توان خاصیت بازدارندگی را به دست آورد که این می تواند یکی از مشکلات استفاده از اسانس ها در غلظت های بالا (ایجاد عطر و طعم نامطلوب) را بر طرف نماید. بنابراین می توان از فیلم های حاوی اسانس رزماری کپسوله شده به منظور بسته بندی یا پوشش مواد غذایی استفاده کرد.

پیشنهادات

۱- نانوژل کیتوزان- بنزوئیک اسید در فیلم های پلی ساکاریدی (غیر آنیونی) دیگر همانند فیلم های کیتوزانی در غلظت های بالاتر استفاده شده در این تحقیق استفاده شود و خواص فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی آن بررسی شود.

۲- اسانس های دیگر با استفاده از این نانوذرات درونپوشانی شده و اثرات ضد میکروبی آنها بررسی شود.

۳- اسانس رزماری درونپوشانی شده در ساختار فیلم یا به صورت پوشش روی نمونه های مواد غذایی استفاده شده و اثر آن بر افزایش ماندگاری محصولات بررسی شود.

منابع

[۱]حسینی ف، حبیبی نجفی م ح، ارومیه ای ع ر، نصیری محلاتی م و یاورمنش م، (۱۳۹۲) "تولید فیلم های خوراکی زیست تخریب پذیر از محصولات برپایه ذرت و بررسی ویژگی های فیزیکی و مکانیکی آن ها" *نشریه پژوهش های صنایع غذایی*، شماره ۲، جلد ۲۳.

[۲] Sorrentino A. Gorrasi G. and Vittoria V. (2007) "Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications" *Trends in Food Science & Technology*, *18*(2), pp 84-95.

[۳] برزگر ح، عزیزی م ح، برزگر م و حمیدی اصفهانی ز، (۱۳۹۲) "تولید و ارزیابی فیلم فعال نانوکامپوزیتی نشاسته-رس حاوی اسانس دارچین و سوربات پتاسیم" *نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی*، شماره ۲، جلد۲، ص ۱۶۷-۱۷۸.

[۴] Soltani M. Ghodratnama M. Ebrahimzadeh-Mosavi H.A. Nikbakht-Brujeni G. Mohamadian S. and Ghasemian M. (2014) "Shirazi thyme (Zataria multiflora Boiss) and Rosemary (Rosmarinus officinalis) essential oils repress expression of sagA, a streptolysin S-related gene in Streptococcus iniae" *Aquaculture*, *430*, pp 248-252.

[۵] Ojagh S.M. Rezaei M. Razavi S.H. and Hosseini S.M.H. (2010) "Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water" *Food Chemistry*, *122*(1), pp 161-166.

[٦] Wen P. Zhu D.H. Wu H. Zong M.H. Jing Y.R. and Han S.Y. (2016) "Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging" *Food Control*, *59*, pp 366-376.

[۷] Dashipour A. Razavilar V. Hosseini H. Shojaee-Aliabadi S. German J.B. Ghanati K. Khakpour M. and Khaksar R. (2015) "Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil" *International journal of biological macromolecules*, *72*, pp 606-613.

[۸] Brody A.L. (2000) “Packaging, food” *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.

[۹] بابازاده ا و الماسی ه، (۱۳۹۲)، " استفاده از نانونقره بعنوان ترکیب فعال ضدمیکروبی در بسته بندی موادغذایی"، بیست ویکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، شیراز.

[۱۰] Wihodo M. and Moraru C.I. (2013) “Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review” *Journal of Food Engineering*, *114*(3), pp 292-302.

[۱۱] Ghanbarzadeh B. Almasi H. and Entezami, A.A. (2010) “Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films”*Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *11*(4), pp 697-702.

[۱۲] Liu Z. Liu X. Cao Y. Xie W. Ma X. and Yu X. (2013) “Edible starch sodium octenyl succinate film formation and its physical properties” *Journal of Applied Polymer Science*, *127*(4), pp 2922-2927.

[۱۳] Adetunji C.O. Fawole O.B. Arowora K.A. Nwaubani S.I. Oloke J.K. Adepoju A.O. Adetunji J.B. and Ajani A.O. (2013) “Performance of Edible Coatings from Carboxymethylcellulose (CMC) and Corn Starch (CS) Incorporated with Moringa Oleifera Extract on Citrus Sinensis Stored at Ambient Temperature” *Agrosearch*, *13*(1), pp 77-86.

[۱۴] Prajapati V.D. Jani G.K. and Khanda S.M. (2013) “Pullulan: an exopolysaccharide and its various applications” *Carbohydrate polymers*,*95*(1), pp 540-549.

[۱۵] Jong-Whan R. (2007) “Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47, pp 411–433.*

[۱۶] Baldwin E.A. Hagenmaier R. and Bai J. eds. (2011), “*Edible coatings and films to improve food quality*” CRC Press.

[۱۷] Embuscado M.E. and Huber K.C. (2009), “*Edible films and coatings for food applications”* pp. 245-250. Dordrecht, The Netherlands:: Springer.

[۱۸] Khalili S.T. Mohsenifar A. Beyki M. Zhaveh S. Rahmani-Cherati T. Abdollahi A. Bayat M. and Tabatabaei M. (2015) "Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-

benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against Aspergillus flavus" *LWT-Food Science and Technology,60*(1), pp.502-508.

[۱۹] حسینی م ه، رضوی ه و موسوی م ح، (۱۳۸۸)، " بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی، ضدباکتریایی و ریزساختاری فیلم های خوراکی تولیدشده از کیتوزان محتوی اسانس های آویشن و دارچین"، *مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، شماره دوم، ۶۸-۴۷.

[۲۰] مرادی م، تاجیک ح، رضوی روحانی م، ارومیه ای ع، ملکی نژاد ح، قاسم مهدی ه، (۱۳۹۱)، " تهیه و ارزیابی خصوصیات فیلم آنتی اکسیدان کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور"، گیاهان دارویی، شماره ۴۲، دوره ۱۱، ۵۲-۴۳.

[۲۱] ابراهیمی خوسفی م، خسروی دارانی ک و فلاح زاده ایرقوئی ف، (۱۳۹۲)، "نانوکپسوله کردن ترکیبات زیست فعال برای کاربردهای غذایی"، بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، دانشگاه شیراز.

[۲۲] قاسملو م، خاکسار ر، مردانی ت، شهنیا م و راشدی ح، (۱۳۹۲) " تهیه و بررسی بیوفیلم بسته بندی زیست تخریب پذیر ضدمیکروبی برپایه نشاسته"، *فصلنامه علمی-پژوهشی علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، شماره ۵. جلد ۷، صفحات ۱۲۳-۱۱۵.

[۲۳] Wilpiszewska K. and Czech Z. (2014) "Citric acid modified potato starch films containing microcrystalline cellulose reinforcement–properties and application" *Starch-Stärke, 66*(7-8), pp 660-667.

[۲۴] Rhim J.W. Lee J.H. and Ng P.K. (2007) "Mechanical and barrier properties of biodegradable soy protein isolate-based films coated with polylactic acid" *LWT-Food Science and Technology, 40*(2), pp 232-238.

[۲۵] Brody A.L. Strupinsky E.P. and Kline L.R. (2001), " *Active packaging for food applications*", CRC press.

[۲۶] Du W.X. Olsen C.W. Avena-Bustillos R.J. McHugh T.H. Levin C.E. and Friedman M. (2008) "Storage stability and antibacterial activity against Escherichia coli O157: H7 of carvacrol in edible apple films made by two different casting methods" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(9), pp 3082-3088.

[۲۷] Rhim J.W. and Ng P.K. (2007) "Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications" *Critical reviews in food science and nutrition*, *47*(4), pp 411-433.

[۲۸] احمدی ف و مویدنیا ن، (۱۳۹۲)، " بسته بندی ضدمیکروبی موادغذایی و کارایی آن در شرایط واقعی"، بیست ویکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، شیراز.

[۲۹] De Azeredo H.M. (2009) "Nanocomposites for food packaging applications" *Food Research International*, *42*(9), pp 1240-1253.

[۳۰] Silvestre C. Duraccio D. and Cimmino S. (2011) "Food packaging based on polymer nanomaterials" *Progress in Polymer Science*, *36*(12), pp 1766-1782.

[۳۱] Cooksey K. (2005) "Effectiveness of antimicrobial food packaging materials" *Food additives and contaminants*, *22*(10), pp 980-987.

[۳۲] García-Garibay M. Luna-Salazar A. and Casas L.T. (1995) "Antimicrobial effect of the lactoperoxidase system in milk activated by immobilized enzymes" *Food Biotechnology*, *9*(3), pp 157-166.

[۳۳] Cagri A. Ustunol Z. and Ryser E.T. (2004) "Antimicrobial edible films and coatings" *Journal of Food Protection®*, *67*(4), pp 833-848.

[۳۴] Lopez-Rubio A. Almenar E. Hernandez-Muñoz P. Lagarón J.M. Catalá R. and Gavara R. (2004) "Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications" *Food Reviews International*, *20*(4), pp 357-387.

[۳۵] Beverlya R.L. Janes M.E. Prinyawiwatkula W. and No H.K. (2008) "Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of Listeria monocytogenes" *Food Microbiology*, *25*(3), pp 534-537.

[۳۶] Campos C.A. Gerschenson L.N. and Flores S.K. (2011) “Development of edible films and coatings with antimicrobial activity” *Food and Bioprocess Technology*, *4*(6), pp 849-875.

[۳۷] Campos S. Doxey J. and Hammond D. (2011) “Nutrition labels on pre-packaged foods: a systematic review” *Public health nutrition*, *14*(08), pp 1496-1506.

[۳۸] Pesavento G. Calonico C. Bilia A.R. Barnabei M. Calesini F. Addona, R. Mencarelli L. Carmagnini L. Di Martino M.C. and Nostro A.L. (2015) “Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes in beef meatballs” *Food Control*, *54*, pp 188-199.

[۳۹] Beyki M. Zhaveh S. Khalili S.T. Rahmani-Cherati T. Abollahi A. Bayat, M. Tabatabaei M. and Mohsenifar A. (2014) “Encapsulation of Mentha piperita essential oils in chitosan–cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against Aspergillus flavus” *Industrial Crops and Products*, *54*, pp 310-319.

[٤٠] Djeddi S. Djebile K. and Achour Z. (2009) “Composition and Anti-microbiological Activity of the Essential Oils of Pelargonium capitatum L.(Geraniaceae) from Algeria” *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, *3*(1), pp 1-5.

[۴۱] Holley R.A. and Patel D. (2005) “Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials” *Food Microbiology*, *22*(4), pp 273-292.

[۴۲] صداقت ن، محمد حسینی م، خشنودی نیا س، حبیبی نجفی م.ب و کوچکی آ, (۱۳۹۳)، "بررسی خواص ضد میکروبی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس گشنیز و پوست لیموترش و تأثیر آن بر افزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای یخچال"، *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، شماره ۴، جلد۹: ص ۶۲-۵۳.*

[۴۳] Petiwala S.M. and Johnson J.J. (2015) “Diterpenes from rosemary (Rosmarinus officinalis): Defining their potential for anti-cancer activity” *Cancer letters*, *367*(2), pp 93-102.

[۴۴] Gaya M. Repetto V. Toneatto J. Anesini C. Piwien-Pilipuk G. and Moreno S. (2013) “Antiadipogenic effect of carnosic acid, a natural compound present in Rosmarinus officinalis, is exerted through the C/EBPs and PPARγ pathways at the onset of the differentiation program” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *1830*(6), pp 3796-3806.

[۴۵] Amaral G.P. de Carvalho N.R. Barcelos R.P. Dobrachinski F. de Lima Portella R. da Silva M.H. Lugokenski T.H. Dias G.R.M. da Luz S.C.A. Boligon A.A. and Athayde M.L. (2013) “Protective action of ethanolic extract of Rosmarinus officinalis L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats” *Food and chemical toxicology*, *55*, pp 48-55.

[۴۶] خدمتی مقدم ی، نورانی م، حیدرزاده ح، آریایی پ، (۱۳۹۲)، "تاثیر عصاره نانوکپسوله شده گیاه رزماری بر روی گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ آلوده به باکتری اشرشیاکلی"، سومین همایش ملی امنیت غذایی، سوادکوه.

[۴۷] میرزایی ح و کریمی ن، (۱۳۸۹)، "نانو فن آوری در صنعت غذا"، سال ششم، شماره ۶۴.

[۴۸] Marcuzzo E. Sensidoni A. Debeaufort F. and Voilley A. (2010) “Encapsulation of aroma compounds in biopolymeric emulsion based edible films to control flavour release” *Carbohydrate Polymers*, *80*(3), pp.984-988.

[۴۹] خورسندی آ و اسکندری م ه، (۱۳۹۲)، " بررسی روش های انکپسوله کردن اسانس های روغنی"، بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، شیراز.

[۵۰] Liolios C.C. Gortzi O. Lalas S. Tsaknis J. and Chinou, I. (2009) “Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of Origanum dictamnus L. and in vitro antimicrobial activity” *Food chemistry*, *112*(1), pp.77-83.

[۵۱] Bishop J.R.P. Nelson G. and Lamb J. (1998) “Microencapsulation in yeast cells” *Journal of microencapsulation*, *15*(6), pp.761-773.

[۵۲] شریفی ف و طباطبایی ف، (۱۳۹۰) "بررسی روش های مختلف تهیه نانوکپسول و کاربرد آن در صنایع غذایی" *بیستمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی.*

[۵۳] حاتمیان م و قاسم زاده ر، (۱۳۹۳)، " نانوکپسوله کردن در صنایع غذایی"، همایش ملی علوم و فناوریهای نوین در صنایع غذایی، تربت حیدریه.

[۵۴] دهقانی ف، فرهادیان ن، بی ریایی ا، (۱۳۹۴)، " بررسی روش های سنتز نانوکپسول ها به عنوان نانو حامل های دارویی"، دنیای نانو، سال یازدهم، شماره ۳۹.

[۵۵] Letchford K. and Burt H. (2007) "A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes" *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, *65*(3), pp.259-269.

[۵۶] Reis C.P. Neufeld R J. Ribeiro A J. and Veiga F. (2006) "Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles" *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *2*(1), pp.8-21.

[۵۷] خلیلی ط، محسنی فر ا، بیگی م، ژاوه س، عبدالهی آ، فضلی آ و طباطبایی م، (۱۳۹۲)، " - تأثیر عصاره روغنی آویشن انکپسوله شده در نانوژل های کایتوسانی در ممانعت از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس"، هشتمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران و چهارمین همایش ملی ایمنی زیستی، تهران.

[۵۸] بیگی م، خلیلی ط، محسنی فر ا، محمدی س، عبدالهی آ و طباطبایی م، (۱۳۹۲)، " ۱۲۴-ساخت نانوحامل کایتوسان به همراه پیونددهنده های عرضی سینامیک اسید و بنزوئیک اسید"، هشتمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران و چهارمین همایش ملی ایمنی زیستی، تهران.

[۵۹] صارم نژاد س، عزیزی م.ح ، برزگر م وعباسی س ، (۱۳۸۸) "بررسی اثر pH و غلظت پلاستی سایزر روی ویژگی های فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین باقلا" *فصلنامه علوم و صنایع غذایی*، شماره ۲، دوره۶.

[۶۰] احمدی ع، عزیزی م.ح، عباسی س، هادیان ز و صارمی نژاد س، (۱۳۹۰) "افزایش ماندگاری نان باگت با استفاده از پوشش پلی ساکاریدی محتوی سوربات پتاسیم" *نشریه پژوهش های صنایع غذایی*، شماره ۲، جلد۲۱.

[۶۱] نجف آبادی م.ح، (۱۳۸۹)، رساله دکتری:" بررسی تأثیر برخی تیمارهای فیزیکی و شیمیایی روی خواص فیلم های خوراکی حاصل از مخلوط نشاسته دوصمغ ایرانی (کتیرا و ثعلب) و کاربرد آنها در پوشش دهی نان باگت"، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

[۶۲] حسینی س.م.ه، رضوی س.ه و موسوی س.م.ع، (۱۳۸۷) "بررسی خواص فیزیکی، ضدباکتریایی و ریزساختاری فیلم های خوراکی تولیدشده از کیتوزان محتوی اسانس هاس آویشن و دارچین"، *مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری موادغذایی*، شماره دوم، جلداول، ص ۴۷-۶۸.

[۶۳] مرادی م، تاجیک ح، رضوی روحانی س.م، ارومیه ای ع.ر، ملکی نژاد ح و ساعی دهکردی س.س، (۱۳۸۹) "ارزیابی خصوصیات آنتی اکسیدانی، رنگ و اثرات ضدباکتریایی فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی علیه لیستریا منوسیتوژنز"، ارمغان دانش، شماره۴، دوره ۱۵، ص۳۰۳-۳۱۵.

[۶۴] فاضل م، عزیزی م.ح، عباسی س و برزگر م، (۱۳۹۱)، "بررسی تأثیر کتیرا، گلیسرول و روغن روی خصوصیات فیلم خوراکی برپایه نشاسته سیب زمینی"، *مجله علوم و صنایع غذایی*، شماره ۳۴، دوره ۹، ص ۱۰۶-۹۷.

[۶۵] هدایتی راد ف، شریفان ا، خدائیان چگینی ف و حسینی س.ا، (۱۳۹۲) "بررسی خاصیت ضدمیکروبی فیلم تهیه شده از پولولان حاوی اسانس درمنه" *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*، شماره ۲، سال سوم، ص ۱۳۰.

[۶۶] امینی فولادی س و محمدی نافچی ع ر، (۱۳۹۲)، "بررسی اثر نعناع بر خواص مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم های نشاسته ساگو"، سومین همایش ملی امنیت غذایی، سوادکوه.

[۶۷] قادرمزی ر، کرامت ج و گلی س.ا.ح، (۱۳۹۴) "تأثیر اسانس پونه کوهی بر ویژگی های فیلم خوراکی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز" *فصلنامه فناوری های نوین غذایی*، شماره ۷، سال دوم، ص ۶۱-۷۴.

[۶۸] PranotoY. Salokhe V.M. and Rakshit S.K. (2005) “Physical and antibacte rial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil” *Food research international*, *38*(3), pp.267-272.

[۶۹] Seydim A.C. Guzel-Seydim Z.B. Acton J.C. and Dawson P.L. (2006) “Effects of Rosemary Extract and Sodium Lactate on Quality of Vacuum-packaged Ground Ostrich Meat” *Journal of food science*, *71*(1), pp S71-S76.

[۷۰] Seydim A.C. and Sarikus G. (2006) “Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils” *Food research international*, *39*(5), pp.639-644.

[۷۱] Sánchez-González L. Cháfer M. Chiralt A. and González-Martínez C. (2010) “Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on Penicillium italicum” *Carbohydrate polymers*, *82*(2), pp 277-283.

[۷۲] Shen X.L. Wu J.M. Chen Y. and Zhao G. (2010) “Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan” *Food Hydrocolloids*, *24*(4), pp 285-290.

[۷۳] Ehivet F.E. Min B. Park M.K. and Oh J.H. (2011) “Characterization and Antimicrobial Activity of Sweetpotato Starch-Based Edible Film Containing Origanum (Thymus capitatus) Oil” *Journal of food science*, *76*(1), pp C178-C184.

[۷۴] Abdollahi M. Rezaei M. and Farzi G. (2012) “Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging” *International Journal of Food Science & Technology*, *47*(4), pp 847-853.

[۷۵] Ghasemlou M. Aliheidari N. Fahmi R. Shojaee-Aliabadi S. Keshavarz B. Cran M.J. and Khaksar R. (2013) “Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils” *Carbohydrate polymers*, *98*(1), pp 1117-1126.

[۷۶] Shaaban H.A. Mahmoud K.F. Ibrahim M.A. and Ibrahim G. (2014) “Antimicrobial Activity of Edible Methyl Cellulose Films Enriched with Essential Oils Against Three Common Foodborne Pathogens” *World Applied Sciences Journal*, *32*(10), pp 2092-2101.

[۷۷] Dashipour A. Khaksar R. Hosseini H. Shojaee-Aliabadi S. and Kiandokht G. (2014) “Physical, Antioxidant and Antimicrobial Characteristics of Carboxymethyl Cellulose Edible Film Cooperated with Clove Essential Oil” *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, *16*(8), pp 34-42.

[۷۸] Ariaii P. Tavakolipour H. Rezai M. and Rad A.H.E. (2014) “Properties and antimicrobial activity of edible methylcellulose based film incorporated with Pimpinella affinis oil” *European Journal of Experimental Biology*, *4*(1), pp 670-676.

[۷۹] Araújo G.K.P. Souza S.J. Silva M.V. Yamashita F. Gonçalves O.H. Leimann F.V. and Shirai M.A. (2015) “Physical, antimicrobial and antioxidant properties of starch-based film containing ethanolic propolis extract” *International Journal of Food Science & Technology*, *50*(9), pp 2080-2087.

[۸۰] واحدی ش، محمدی نافچی ع، طبری م، (۱۳۹۲)، " اثرهمزمان پلاستیسایزر و نانوسیلیکون در اکسید بر روی خواص مکانیکی، فیزیکوشیمیایی و دوخت پذیری حرارتی فیلم نشاسته ساگو"، پدافند غیرعامل در بخش کشاورزی.

[۸۱] Kim H.B. Jang H.C. Nam H.J. Lee Y.S. Kim B.S. Park, W.B. Lee K.D. Choi Y.J. Park S.W. Oh M.D. and Kim E.C. (2004) "In vitro activities of 28 antimicrobial agents against Staphylococcus aureus isolates from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey" *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *48*(4), pp 1124-1127.

[۸۲] Cyras V.P. Manfredi L.B. Ton-That M.T. and Vázquez A. (2008) "Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films" *Carbohydrate Polymers*, *73*(1), pp 55-63.

[۸۳] Abdollahi M. Rezaei M. and Farzi G. (2012) "A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan" *Journal of Food Engineering*, *111*(2), pp 343-350.

[۸۴] Shin Y.J. Song H.Y. Jo W.S. Lee M.J. and Song K.B. (2013) "Physical properties of a barley protein/nano-clay composite film containing grapefruit seed extract and antimicrobial benefits for packaging of Agaricus bisporus" *International Journal of Food Science & Technology*, *48*(8), pp 1736-1743.

[۸۵] Mohammadi A. Hashemi M. and Hosseini S.M. (2015) "Nanoencapsulation of Zataria multiflora essential oil preparation and characterization with enhanced antifungal activity for controlling Botrytis cinerea, the causal agent of gray mould disease" *Innovative Food Science & Emerging Technologies*,*28*, pp 73-80.

[۸۶] Kazemi S.M. and Rezaei M. (2015) "Antimicrobial Effectiveness of Gelatin–Alginate Film Containing Oregano Essential Oil for Fish Preservation" *Journal of Food Safety*, *35*(4), pp 482-490.

[۸۷] بیکی م، (۱۳۹۱)، پایان نامه ارشد، تاثیر نانوژل های کایتوسانی محتوی عصاره روغنی و معطر نعناع فلفلی در ممانعت از رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات.*

[۸۸] عباس زاده عراقی نژاد م و محمدی نافچی ع، (۱۳۹۲)، "بررسی اثر اسانس مرزه بر روی ویژگی های فیزیکوشیمیایی فیلم خوراکی نشاسته سیب زمینی" *سومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی*، قوچان.

[۸۹] Su J.F. Huang Z. Yuan X.Y. Wang X.Y. and Li M. (2010) "Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions" *Carbohydrate Polymers*, *79*(1), pp.145-153.

[۹۰] Rhim J.W. Hong S.I. Park H.M. and Ng P.K. (2006) "Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity" *Journal of agricultural and food chemistry, 54*(16), pp.5814-5822.

[۹۱] Bolin H.R. and Huxsoll C.C. (1991) "Effect of Preparation Procedures and Storage Parameters on Quality Retention of Salad-cut Lettuce" *Journal of Food Science, 56*(1), pp.60-62.

[۹۲] حیدری ا، دخیلی رنجو م، ذوالفقاری م، (۱۳۹۰)، " برررسی تأثیر ضدمیکروبی اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis L.*) بر جدایه های *E.coli* روده جوجه های گوشتی"، فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی، سال ششم، شماره ۱.

[۹۳] Rangelova N. Aleksandrov L., Angelova, T. Georgieva N. and Müller R. (2014) "Preparation and characterization of SiO/CMC/Ag hybrids with antibacterial properties" *Carbo Poly.* 101: 1166-1175.

[۹۴] Barka E.A. Eullaffroy P. Clément C. and Vernet G. (2004) "Chitosan improves development, and protects Vitis vinifera L. against Botrytis cinerea" *Plant Cell Reports, 22*(8), pp.608-614.

[۹۵] Kwon H.J. Coté T.R. Cuffe M.S. Kramer J.M. and Braun M.M. (2003) "Case reports of heart failure after therapy with a tumor necrosis factor antagonist" *Annals of internal medicine, 138*(10), pp.807-811.

[۹۶] Nasti A. Zaki N.M. de Leonardis P. Ungphaiboon S. Sansongsak P. Rimoli M.G. and Tirelli N. (2009) "Chitosan/TPP and chitosan/TPP-hyaluronic acid nanoparticles: systematic optimisation of the preparative process and preliminary biological evaluation" *Pharmaceutical research*,*26*(8), pp.1918-1930.

[۹۷] Chen H.Y. Hou J. Zhang S. Liang Y. Yang G. Yang Y. Yu L. Wu Y. and Li G. (2009) "Polymer solar cells with enhanced open-circuit voltage and efficiency" *Nature photonics*, *3*(11), pp.649-653.

[۹۸] Zhaveh S. Mohsenifar A. Beiki M. Khalili S.T. Abdollahi A. Rahmani-Cherati T. and Tabatabaei M. (2015) "Encapsulation of Cuminum cyminum essential oils in chitosan-caffeic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against Aspergillus flavus" *Industrial Crops and Products*, *69*, pp.251-256.

[۹۹] Park S.I. and Zhao Y. (2004) "Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(7), pp.1933-1939.

[۱۰۰] Wong D.W. Gastineau F.A. Gregorski K.S. Tillin S.J. and Pavlath A.E. (1992) "Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *40*(4), pp 540-544.

[۱۰۱] Sivarooban T. Hettiarachchy N.S. and Johnson M.G. (2008) "Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films" *Food Research International*, *41*(8), pp.781-785.

[۱۰۲] Chen T.B. and Chai L.T. (2010) "Attitude towards the environment and green products: consumers' perspective" *Management science and engineering*,*4*(2), p 27.

[۱۰۳] Rao M.S. Kanatt S.R. Chawla S.P. and Sharma A. (2010) "Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties" *Carbohydrate Polymers*, *82*(4), pp.1243-1247.

[۱۰۴] Hosseini M.H. Razavi S.H. and Mousavi M.A. (2009) "Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils" *Journal of Food Processing and Preservation*, *33*(6), pp 727-743.

[105] Sokovic M. Glamoclija J. Marin P.D. Brkic D. and van Griensven L.J. (2010) " Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model" Moleculares, 15 (11), pp.7532-7546.

[۱۰6] Severino R. Vu K.D. Dons\`\i F. Salmieri S. Ferrari G. Lacroix M. (2014) "Antimicrobial effects of different combined non-thermal treatments against Listeria monocytogenes in broccoli florets" *J. Food Eng*. 124, 1–10.

[۱۰7] Qi L. Xu Z. Jiang X. Hu C. and Zou X. (2004) "Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles" *Carbohydrate research*,*339*(16), pp.2693-2700.

[۱۰۸] صفری ه و محمدی نافچی ع، (۱۳۹۱)، " بررسی خواص فیزیکو شیمیایی و ضد میکروبی فیلم های خوراکی تولید شده از نشاسته مانگ بین محتوای عصاره رزماری"، همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی.

[۱۰9] Yan Q. Zhang J. Dong H. Hou H. and Guo P. (2013) "Properties and antimicrobial activities of starch–sodium alginate composite films incorporated with sodium dehydroacetate or rosemary extract" *Journal of Applied Polymer Science*, *127*(3), pp.1951-1958.

[۱10] Gutierrez J. Barry-Ryan C. and Bourke P. (2008) "The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients" *International journal of food microbiology*, *124*(1), pp.91-97.

[۱۱1] Rosca C. Popa M.I. Lisa G. and Chitanu G.C. (2005) "Interaction of chitosan with natural or synthetic anionic polyelectrolytes. 1. The chitosan–carboxymethylcellulose complex" *Carbohydrate Polymers*, *62*(1), pp.35-41.

Abstract

Due to environmental pollution, tend to use biodegradable packaging is on the rise. On the other hand, although conventional heating methods, due to increase consumer confidence and shelf-life of food products, but at the same time it will also reduce the quantitative and qualitative factors. Therefore, in addition to biodegradable packaging design, create antimicrobial packaging and safety using natural antimicrobial agents is very important. Chitosan and essential oils are known as antimicrobial agents that could be used in antimicrobial packaging. In this study, the covalent bond between benzoic acid (BA) and chitosan (CS) was created and then CS-BA nanogel using self-assembled method was obtained. Rosmary essential oils (REOs) were encapsulated in CS-BA nanogel in order to enhance antimicrobial activity and stability of the oils. Then REOs in the free and encapsulated forms were used in corn starch-based edible films and its physical, mechanical and antimicrobial properties were studied. Results of FT-IR showed that covalent bond between the CS and BA have been successfully completed. SEM image showed the average particle size below 100 nm. Films containing nanogel had a water vapor permeability higher compared to films containing REOs. Moisture absorption of films decreased with increasing REOs and nanogel. In the case of films containing nanogel to a concentration of 0.2% transparency increased. Film containing 0.2% nanogel had the highest tensile strength at break point. The microbial test results showed that the REOs and nanogel each alone had a good inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* and by encapsulation inhibitory effect of REOs was increased. By combining REOs and nanogel, both immediately (REOs) and gradual (Nanogel) antimicrobial effects against *S. aureus* were obtained. According to the results of this study, starch-based edible films containing encapsulated REOs in CS-BA nanogel can be used to enhance the shelf life of food products.

Key words: Chitosan-benzoic acid nanogel, Rosmary essential oil, Edible film, Starch

Shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

MSc Thesis in Science and food

Evalution of physical and antimicrobial properties of Nano-composite edible films containing Rosmarinus officinalis essential oil

Nafiseh Mohsenabadi

Supervisors:
Dr. Ahmad Rajaei
Dr. Meisam Tabatabaei

Advisor:
Dr. Afshin Mohsenifar

Septamber2016