

فصلنامه گیاهان دارویی

Journal homepage: www.jmp.ir

مقاله تحقیقاتی

تهیه و ارزیابی ویژگی‌های فیلم آنتی‌اکسیدانی کیتوزان-زئین حاوی عصاره‌ی هیدروالکلی آزاد و درون پوشانی شده گیاه کک‌کش بیابانی (*Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.)

عباس مهدیزاده^۱، سید احمد شهیدی^{۱*}، نبی شریعتی فر^۲، محمد رضا شیران^۳، آزاده قربانی حسن سرایی^۱^۱ گروه کشاورزی و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران^۲ گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران^۳ گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

مقدمه: امروزه تمایل به استفاده از بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر به عنوان یکی از فناوری‌های مناسب برای جلوگیری از اکسیداسیون مواد غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. **هدف:** مطالعه حاضر به منظور تهیه، فیلم جدید زیست تخریب پذیر حاوی عصاره هیدروالکلی (اتانول) آزاد و ریزپوشانی شده کک‌کش بیابانی (*Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.) دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. **روش بررسی:** در این بررسی اثرات فیلم‌های مختلف تهیه شده بر روی ویژگی‌های مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی، راندمان درون‌پوشانی، نفوذپذیری در برابر بخار آب، ریز ساختار و خصوصیات رنگ مورد ارزیابی قرار گرفت. **نتایج:** میانگین اندازه ذرات ۱۶۶-۱۵۳ نانومتر و کارایی درون‌پوشانی درصد ۷۳/۰۷-۴۹/۸۸ به دست آمد. نانولیپوزوم با کمترین اندازه و بیشترین کارایی درون‌پوشانی با نمونه‌های فیلم ادغام شدند. نتایج به دست آمده از طیف فعل و انفعالات جدید بین کیتوزان و نانولیپوزوم را نشان داد. با وجود افزایش زردی و کاهش در شاخص‌های سفیدی، ترکیب نانولیپوزوم‌ها سختی مکانیکی و خواص آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشیده و منجر به کاهش نفوذپذیری بخار آب می‌شود. **نتیجه‌گیری:** ویژگی‌های فیلم‌های کیتوزان-زئین متأثر از میزان عصاره به کار رفته است که به طور کل سبب بهبود ویژگی‌های فیلم‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی آنها شد. با توجه به این ویژگی‌ها از این فیلم می‌توان در نگهداری مواد غذایی استفاده نمود.

گل‌واژگان:

فیلم خوراکی

عصاره هیدروالکلی

کک‌کش بیابانی

نانولیپوزوم

کیتوزان

زئین

مخفف‌ها: FTIR، طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه؛ WVP، نفوذپذیری در برابر بخار آب؛ EOs، اسانس‌ها؛ DPPH، ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل؛ SEM، میکروسکوپ الکترونی روبشی؛ TS، استحکام کششی؛ ETB، ازدیاد طول در نقطه شکستن * نویسنده مسؤول: a.shahidi@iauamol.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲۳ دی ۱۳۹۸؛ تاریخ دریافت اصلاحات: ۸ مرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۲ مرداد ۱۳۹۹

doi: [10.29252/jmp.19.75.223](https://doi.org/10.29252/jmp.19.75.223)© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

۱. مقدمه

نانولیپوزوم‌ها بدلیل دارا بودن سطح بیشتر، پتانسیل افزایش حلالیت و دسترسی زیستی، کنترل انتشار بهتر و هدف گیری دقیق مواد انکپسوله شده به میزان بیشتر، نسبت به لیپوزوم‌ها ترجیح داده می‌شوند. جز اصلی نانولیپوزوم‌ها فسفولیپیدها هستند، که خود متشکل از مولکول‌های آمفی-فیلیک حاوی بخش سر هیدروفیلیک محلول در آب و بخش دم هیدروفوبیک محلول در چربی می‌باشند [۳].

افزایش نگرانی‌های زیست محیطی پیرامون مواد پلاستیکی با پایه‌ی پتروشیمی (پلیمرهای صنعتی) باعث افزایش علاقه به استفاده از جانشین‌های زیست تخریب پذیر از منابع تجدیدپذیر شده است [۸].

فعالیت آنتی‌اکسیدانی ویژه و مختلفی برای کیتوزان و مشتقات آن با توجه به وزن مولکولی و درجه‌ی دی استیلاسیون به عنوان فیلم و یا پوشش گزارش شده است [۹]. همچنین گزارش شده است که، الحاق و یا ترکیب عصاره و یا اسانس گیاهان به فیلم‌ها و پوشش‌های کیتوزان-زئینی باعث افزایش مضاعف فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی به خصوص بروی سبزیجات [۱۰]، میوه‌ها [۱۱] و گوشت می‌شود [۱۲].

در برخی از مطالعات انجام شده در خصوص فیلم‌های خوراکی حاوی کیتوزان-زئین مشخص شده که کمترین میزان کاهش وزن در تیمارهای دارای فیلم خوراکی کیتوزان-زئین با نسبت ۱:۱ می‌باشد، همچنین ملاحظه شده که فیلم‌های تولید شده از کیتوزان-زئین دارای اثرات مکانیکی و شیمیایی مناسبی می‌باشند [۱۳-۱۵].

افزودن ترکیبات طبیعی به عنوان آنتی‌اکسیدان به فیلم‌های خوراکی سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، بهبود رنگ و طعم محصول و افزایش ماندگاری آن می‌شود [۱۶-۱۸]. در مورد استفاده از عصاره گیاه کک کش بیابانی در محصولات غذایی، مطالعات اندکی انجام شده است. با این حال، با توجه به اطلاعات در دسترس، هیچ گزارشی نسبت به استفاده

امروزه با توجه به نگرانی روزافزون مصرف‌کنندگان مواد غذایی نسبت به پلیمرهای صنعتی، توجه همگان به استفاده از تکنولوژی‌های جدید نگهداری مواد غذایی (پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر) به عنوان جایگزین‌های مناسب جلب شده است. در این زمینه، مواد طبیعی از قبیل عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌بیوتیکی به صورت هم زمان، مورد توجه بسیار قرار گرفته‌اند [۱]. بخش‌های مختلف گیاه (گل، میوه، برگ، ساقه، دانه و ریشه) منابع غنی از ترکیبات فنولیک هستند. ترکیبات اصلی عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی ترپنوئیدها و فلاونوئیدهای متنوع است. خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی تأیید شده است [۱].

همانند بسیاری از ترکیبات زیست فعال، ترکیبات فنلی گیاه کک کش بیابانی از نظر شیمیایی جزء گونه‌های فعال می‌باشند، که در صورت ترکیب با مواد غذایی ممکن است اثرات قابل توجهی را در سیستم‌های غذایی ایجاد کنند [۳]. حفاظت از ترکیبات فعال در برابر فاکتورهای محیطی (برای مثال اکسیژن، نور، رطوبت و pH) یکی از چالش‌های کاربرد افزودنی‌های طبیعی گیاهی می‌باشد. مشکل بعدی سرعت انتشار بالای اکثر ترکیبات فعال از بسته بندی پلیمری به دلیل وزن مولکولی پایین آنها می‌باشد، که منجر به کاهش طول فعالیت بسته‌بندی فعال و طول عمر مفید ماده‌ی غذایی می‌شود [۴].

در طول ۲ دهه‌ی اخیر، علاقه به استفاده از نانوذرات در صنعت غذا بطور چشمگیری افزایش یافته است [۲]. لیپوزوم‌ها، وزیکول‌های میکروسکوپی متشکل از یک یا دو لایه فسفولیپیدی می‌باشند که از آنها در صنایع غذایی به عنوان حاملین پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین مواد طعم‌دهنده استفاده می‌شود [۶].

۳.۲. تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه

۵۰ گرم از پودر گیاه توسط ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۸۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط به روش ماسراسیون و امواج اولتراسونیک در ظرف ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتر استخراج و عصاره گیری شد. عصاره استخراج شده توسط کاغذ صافی فیلتره شد و با دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه تغلیظ شد. سپس عصاره تغلیظ شده با دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و پس از آن به آن ۴۰ درجه جهت خشک کردن منتقل شد و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد [۱۹].

۴.۲. آماده سازی نانو لیپوزوم‌ها

برای تهیه‌ی نانو لیپوزوم‌ها، از فسفو لیپید (ال لستین گرانولار، ۹۹ درصد) و کلسترول استفاده شد. نسبت‌های مختلف لستین-کلسترول (۶۰:۰، ۵۰:۱۰، ۴۰:۲۰، ۳۰:۳۰) و عصاره هیدروالکلی کک‌کش بیابانی به کار رفت. ابتدا غلظت‌های مختلف لستین-کلسترول و عصاره هیدروالکلی گیاه در ترکیبی از دی کلرومتان-متانول با نسبت ۱:۱ آماده شد و سپس جهت تبخیر حلال از دستگاه روتاری اوپراتور تحت خلا با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (لایه نازکی در ته و کناره‌های بالن تشکیل شد). سپس این لایه نازک توسط ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر هیدراته شد. لیپوزوم‌ها در این مرحله چندلایه و در مقیاس میکرومتری تولید شدند [۴]. نمونه‌ها تحت همورژنیزاسیون توسط همورژنایزر با دور ۲۰۰۰۰ rpm و در دمای بالاتر از انتقال فاز لیپوزومی قرار گرفتند. در نهایت سونیکاسیون نمونه‌های لیپوزومی توسط سونیکاتور پروب با ۶ سیکل ۱ دقیقه‌ای و ۱ دقیقه استراحت ما بین هر سیکل انجام شد. بدین صورت لیپوزوم‌های تک لایه‌ای در مقیاس نانومتر تولید شدند [۲۱].

از عصاره هیدروالکلی کک‌کش بیابانی در ساخت فیلم خوراکی و یا پوشش فعال مواد غذایی وجود ندارد. قرار گرفتن عصاره هیدروالکلی کک‌کش بیابانی درون لیپوزوم ممکن است جایگزینی مناسب را برای غلبه بر مشکلات مربوط به کاربرد مستقیم آن در غذا و یا بسته‌بندی فعال (از جمله بی‌ثباتی و تجزیه‌ی ترکیبات زیست فعال ناشی از تابش نور و واکنش عصاره کک‌کش بیابانی با مواد شیمیایی غذایی) معرفی کند.

لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر فیلم جدید زیست تخریب پذیر حاوی عصاره هیدروالکلی (اتانول) آزاد و ریز پوشانی شده کک‌کش بیابانی (*Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.)) روی ویژگی‌های مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی، نفوذپذیری در برابر بخار آب، ریز ساختار و خصوصیات رنگ انجام شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. مواد شیمیایی

کیتوزان (با وزن مولکولی ۵۰۰۰۰-۱۹۰۰۰۰ دالتون) با خلوص بیش از ۹۸ درصد، پروتئین زئین (درجه خلوص ۹۷ درصد)، کلسترول (۹۵ درصد خلوص)، لستین (خلوص ۹۹ درصد)، دی کلرومتان، متانول، اتانول، ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)، آگار، دی‌سولفات پتاسیم (خلوص ۹۹ درصد) و سایر مواد شیمیایی از سیگما آلدریج و مرک تهیه شد.

۲.۲. جمع‌آوری گیاه

بخش‌های هوایی گیاه کک‌کش بیابانی از گناباد جمع‌آوری شد و بعد از تایید نوع گیاه و تعیین شماره هرباریوم TEH-۶۷۱۵ در گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران شسته شده و در دمای اتاق و در سایه خشک شد. گیاه خشک شده توسط آسیاب پودر گردیده و تا زمان استفاده در ظروف بدون هوا نگهداری و بسته بندی شد.

۳.۶.۲. تهیه فیلم کیتوزان-ژئین

فیلم‌های پلیمری زیست تخریب در نسبت‌های وزنی ژئین- کیتوزان (۵۰-۵۰ درصد) آماده شد بدین ترتیب که از قبل کیتوزان و ژئین (نسبت وزنی- حجمی ۱:۱۰ اتانول-ژئین) را با هم مخلوط کردیم و سپس محلول‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۰۰ rpm در pH ثابت ۹/۴ با اضافه کردن ۰/۵ مولار محلول سدیم هیدروکسید و گلیسرول با نسبت ۱:۳ (گلیسرول-ژئین) به عنوان پلاستی سایزر مخلوط کردیم. در مرحله‌ی بعد عصاره آزاد و درون پوشانی شده کک کش بیابانی در سه غلظت وزنی- وزنی (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد) به محلول اضافه شد و با دور ۳۰۰ rpm به مدت ۱ ساعت مخلوط شد. در نهایت ۴۰ میلی لیتر از محلول‌های به دست آمده در پتری دیش‌هایی با قطر ۱۰ سانتی متری ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه خشک شد و تا زمان انجام آزمایشات در دسیکاتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی گراد نگهداری شد [۲۶].

۷.۲. تعیین ویژگی مکانیکی و ضخامت فیلم

برای اندازه‌گیری ضخامت نمونه‌ها از میکرومتر دیجیتال استفاده شد. اندازه‌گیری در پنج نقطه از فیلم به صورت به صورت تصادفی انجام شد و میانگین ضخامت‌ها تعیین و در محاسبات استفاده شد [۲۷].

برای تعیین ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها از روش استاندارد شماره D882 استفاده شد. قبل از انجام آزمایش‌های کشش، تمامی نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در رطوبت نسبی ۵۰ درصد و دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی از دستگاه آنالیز بافت استفاده شد. فیلم‌ها به شکل مستطیل‌های ۲/۵×۱۰ سانتی متر با استفاده از تیغ جراحی بریده شده و فاصله بین دو فک دستگاه ۱۰ سانتی متر و سرعت حرکت فک‌ها روی ۵۰ میلی متر بر دقیقه تنظیم و از لود سل ۵۰ نیوتنی استفاده شد [۲۳].

۵.۲. ارزیابی ویژگی لیپوزوم‌ها

۱.۵.۲. تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتا

توزیع اندازه ذرات و قطر متوسط آنها در دستگاه آنالیز کننده اندازه ذرات (Zetasizer Nano S)، ساخت شرکت (Malvern) بر مبنای روش تفرق نور لیزر اندازه‌گیری شد [۲۲]. برای تعیین پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره گیاه از دستگاه زتا سایزر استفاده شد [۲۳].

۲.۵.۲. تعیین کارایی درون پوشانی

جهت تعیین کارایی درون پوشانی، فنول کل موجود در نمونه‌های لیپوزومی ارزیابی شد. بدین منظور ابتدا منحنی کالیبراسیون توسط مقادیر مختلف اسیدگالیک بر حسب میلی گرم رسم شد. مراحل رسم منحنی استاندارد کالیبراسیون به جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده می‌شود. با قرار دادن نتایج حاصل در منحنی کالیبراسیون، میزان فنول کل موجود در عصاره آزاد بر حسب میلی گرم گالیک اسید به دست می‌آید. با کم کردن مقادیر فنول آزاد از فنول اولیه، فنول پوشینه شده حاصل می‌شود [۲۴، ۲۰].

کارایی درون پوشانی از رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{کارایی درون پوشانی (\%)} = \frac{\text{فنول کپسوله شده}}{\text{فنول کل}}$$

۶.۲. آماده‌سازی فیلم‌های خوراکی کیتوزان-ژئین

۱.۶.۲. تهیه‌ی محلول کیتوزان

ابتدا محلول ۱ درصد اسید استیک وزنی-وزنی تهیه و سپس محلول ۱ درصد کیتوزان وزنی-حجمی در اسید مذکور با دور ۳۵۰ rpm به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد تهیه شد [۲۵].

۲.۶.۲. تهیه‌ی محلول ژئین

پروتئین ژئین در اتانول ۷۰ درصد حل شد و سپس با مخلوط کردن با دور ۱۸۰ rpm تحت حرارت ۷۰ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، پروتئین تغییر ماهیت داده شود [۲۵].

طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوری در حالت عبور با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر به دست آمد [۲۹].

۱.۱.۲. آزمون هانترب (L a b)

خصوصیات رنگی فیلم با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانترب تعیین و اختلاف رنگ کل و شاخص سفیدی با استفاده از اطلاعات پارامترهای رنگی حاصل از صفحه استاندارد سفید ($L^* a^* b^*$) و نمونه‌های فیلم (L a b) محاسبه شد [۳۰].

۱.۱.۱. اندازه‌گیری میزان خواص آنتی‌اکسیدان

درصد به دام‌اندازی رادیکال (۲ و ۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) ۲۵ میلی‌گرم از فیلم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه به آرامی هم زده شد. سپس ۲/۸ میلی‌لیتر از عصاره فیلم به لوله‌های آزمون حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر محلول یک میلی‌مولار در متانول افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در اتاق نگهداری شد. میزان جذب لوله‌های آزمون و شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. درجه بیرنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام‌اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان مربوطه می‌باشد. در نهایت با استفاده از فرمول زیر، درصد فعالیت به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد ۲ و ۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل تعیین شد [۳۱].

$$\left(\frac{A_B - A_S}{A_B} \right) \times 100$$

AB= جذب شاهد و AS= جذب نمونه استاندارد یا کنترل

۱.۲. تجزیه و تحلیل آماری

تمام آزمایشات تیمارهای مختلف فیلم‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت سه بار تکرار انجام شد. آنالیز بر اساس مدل فاکتوریل صورت گرفت. تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار

۸.۲. اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری به بخار آب
برای انجام این آزمایش از روش استاندارد E96 با اندکی تغییر استفاده شد. در این روش از یکسری فنجان‌های آزمایشگاهی با ارتفاع ۸/۵ و قطر داخلی ۲/۵ سانتی‌متر استفاده شد. داخل هر فنجان ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد (این مقدار آب در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی معادل ۱۰۰ درصد ایجاد می‌کند). فنجان‌ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند. اختلاف فشار بخار آب در دو سمت فیلم در دمای ۲۵ درجه سلسیوس فشار بخاری معادل ۳/۱۷۹ کیلوپاسکال (با استفاده از جدول بخار اشباع) ایجاد کرد. کاهش وزن فنجان‌ها طی زمان اندازه‌گیری شد تا فنجان‌ها به وزن ثابتی برسند و با رسم منحنی تغییرات وزن فنجان نسبت به زمان، یک خط راست حاصل شد و شیب آن محاسبه شد [۲۸].

۹.۲. میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی نحوه توزیع نانوذرات در شبکه پلیمر، تصاویری از سطح مقطع عرضی نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی تهیه شد. صفحات نانوکامپوزیتی ساخته شده بوسیله دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی تحت شرایط ولتاژ تشدید شده ۱۵ kV مورد بررسی قرار به منظور تهیه‌ی عکس از لیبوزوم‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد [۲۵، ۱۹].

۱۰.۲. طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوری

روش طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوری در اصل از تعامل اشعه‌های الکترومغناطیسی با مولکول‌های غذایی با انرژی مشخص عمل می‌کند. دو منطقه از طیف الکترومغناطیسی از جمله طیف سنجی نزدیک near infrared طیف‌سنجی میانی mid infrared نقاط کانون موردنظر در این مطالعه هستند. طیف

شکل ۲ نشان‌دهنده ریز ساختار فیلم‌ها است، تصاویر ریز ساختار فیلم‌های کیتوزان/ژئین، نشان‌دهنده سطوح صاف و ساختار یکنواخت فیلم‌ها می‌باشد و تجمع بزرگی از نانوذرات در ریزساختار دیده نمی‌شود. که احتمالاً نشانگر پراکندگی خوب نانوذرات در سراسر ماتریس فیلم‌ها است.

شکل ۳ نشان‌دهنده طیف مادون قرمز طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه فیلم کیتوزان/ژئین و فیلم‌های حاوی عصاره آزاد و درون پوشانی شده کک کش بیابانی می‌باشد. کشش گروه کربونیل (باند امید I) و خم شدن NH₂ باند امید (II) به ترتیب در ۱۶۲۳ و ۱۵۳۰ بر سانتی‌متر در طیف کیتوزان خالص ظاهر شد. پیک تیز در ۶۵۱ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات کششی C-O می‌باشد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها با استفاده از روش مهار ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم بدون عصاره و فیلم دارای عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی تفاوت معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.05$). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به فیلم‌ها دارای عصاره ۳٪ و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به فیلم کیتوزان-ژئین خالص است.

خصوصیات رنگ با اضافه شدن عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی بر روی پارامترهای رنگی فیلم‌های زیست تخریب‌پذیری در جدول ۴ نشان داده شده است. فاکتور شفافیت (شفافیت *L) فیلم کیتوزان/ژئین در اثر افزودن عصاره گیاه ($P < 0.05$) کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد، در حالی که فاکتورهای زردی و قرمزی (زردی *b و قرمزی *a) فیلم‌ها در حضور عصاره کک کش بیابانی تغییرات قابل ملاحظه‌ای را از خود نشان ندادند. مقادیر بالاتری از شفافیت زردی و قرمزی (*L، *a و *b) در نمونه‌های عصاره نانولیپوزومی مشاهده شد.

SPSS مدل ۲۱ در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) انجام شد. آزمون چند دامنه دانکن برای تأیید اختلاف بین میانگین‌ها انجام شد برای رسم جداول از اکسل استفاده شد.

۳. نتایج

ابتدا نسبت‌های مختلف لستین-کلاسترو (۶۰:۱۰، ۵۰:۱۰، ۴۰:۲۰، ۳۰:۳۰) و عصاره هیدروالکلی کک کش بیابانی آماده شد و اندازه ذرات نسبت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. از بین چهار گروهی که دارای نسبت‌های مختلف لستین به کلاسترو اند، گروهی که دارای نسبت ۵۰:۱۰ دارای اندازه ذرات کمتری نسبت به بقیه بود (142 ± 0.75)، مورد استفاده قرار گرفت. افزودن کلاسترو باعث افزایش میزان پتانسیل زتا شده است. به طوری که میزان آن از 11.7 ± 0.36 - در نمونه بدون کلاسترو تا 16.1 ± 0.78 - در نمونه حاوی ۳۰ میلی‌گرم افزایش یافت. افزایش کلاسترو در سه نسبت بکار رفته ۵۰:۱۰، ۴۰:۲۰ و ۳۰:۳۰ اختلاف چشمگیری نداشت (جدول ۱).

بیشترین میزان کارایی درون‌پوشانی مربوط به گروه فاقد کلاسترو و گروه حاوی ۵۰:۱۰ میلی‌گرم لستین (۵۰ میلی گرم) بود که مقدار آن 73.07 ± 0.18 به دست آمد و افزایش غلظت کلاسترو باعث کاهش کارایی کپسولاسیون شد، به طوری که در نمونه حاوی ۴۰ میلی‌گرم لستین و ۲۰ میلی‌گرم کلاسترو به ۵۱٪ رسید. اختلاف میزان درون‌پوشانی در نمونه های فاقد کلاسترو و نسبت ۵۰:۱۰ چشمگیر نبود.

با افزایش غلظت نانولیپوزوم‌ها، نفوذپذیری در برابر بخار آب کاسته می‌شود ($P < 0.05$) اما با افزایش غلظت نانولیپوزوم‌ها حاوی ۳٪ عصاره هیدروالکلی گیاه نفوذپذیری در برابر بخار آب افزایش یافت. کمترین میزان نفوذپذیری در نانولیپوزوم‌ها با غلظت ۱/۵٪ عصاره گیاه مشاهده شد (جدول ۲).

شکل ۱ نشان‌دهنده تصویر میکروسکوپ الکترونی لیپوزوم حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی که نشانگر تشکیل و پراکندگی خوب نانولیپوزوم‌ها است.

جدول ۱. متوسط قطر، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و کارآیی انکپسولاسیون در نانو لیپوزوم های حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی

کد	نسبت کلسترول به لستین	راندمان درون پوشانی سازی %	پتانسیل زتا (mV)	شاخص پراکندگی	Z- میانگین قطر (nm)
۱	۰:۶۰	$1/45 \pm 61/06^c$	$0/36 \pm 11/7^-a$	$0/057 \pm 0/86$	$1/15 \pm 166$
۲	۱۰:۵۰	$0/81 \pm 73/07^d$	$0/46 \pm 15/7^-a$	$0/062 \pm 0/81$	$0/57 \pm 142$
۳	۲۰:۴۰	$3/14 \pm 59/75^b$	$0/55 \pm 15/9^-b$	$0/048 \pm 0/87$	$0/53 \pm 148$
۴	۳۰:۳۰	$0/89 \pm 49/88^a$	$0/78 \pm 16/1^-c$	$0/023 \pm 0/93$	$1/70 \pm 153$

میانگین داده ها \pm انحراف استاندارد

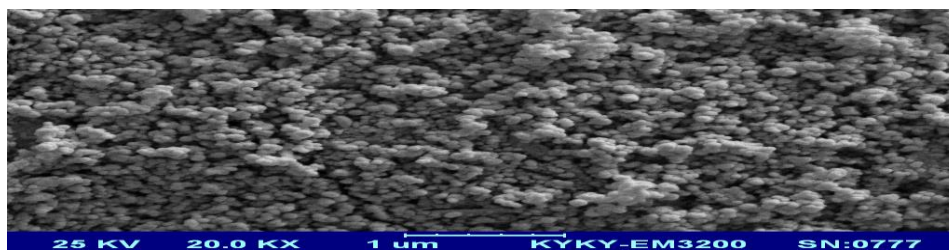
میانگین با حروف مختلف مشخص شده که نشان دهنده تفاوت معنی داری می باشد ($P < 0/05$)

جدول ۲. ضخامت، ویژگی های مکانیکی و نفوذ پذیری بخار آب در فیلم کیتوزان-زئین ادغام شده با نانو لیپوزوم های حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی

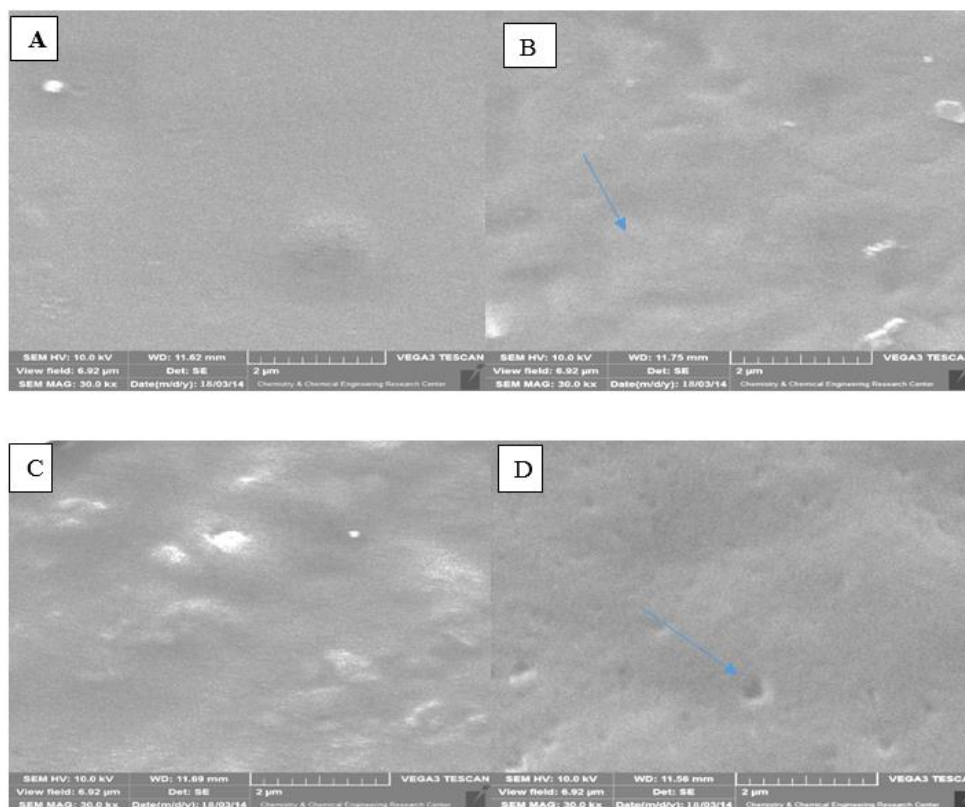
نمونه	نفوذ پذیری به بخار آب (10^{-11} g/msPa)	کشش سطحی (Mpa)	ضخامت (mm)
فیلم کیتوزان-زئین	$0/005 \pm 0/094^d$	$0/021 \pm 1/54^b$	$0/001 \pm 0/103^a$
فیلم کیتوزان-زئین - عصاره	$0/001 \pm 0/072^c$	$0/01 \pm 0/75^a$	$0/003 \pm 0/106^a$
فیلم کیتوزان - زئین - نانو عصاره ۱/۵٪	$0/001 \pm 0/056^b$	$0/03 \pm 1/35^b$	$0/004 \pm 0/110^b$
فیلم کیتوزان - زئین - نانو عصاره ۳٪	$0/006 \pm 0/028^a$	$0/03 \pm 1/42^b$	$0/002 \pm 0/116^c$

میانگین داده ها \pm انحراف استاندارد

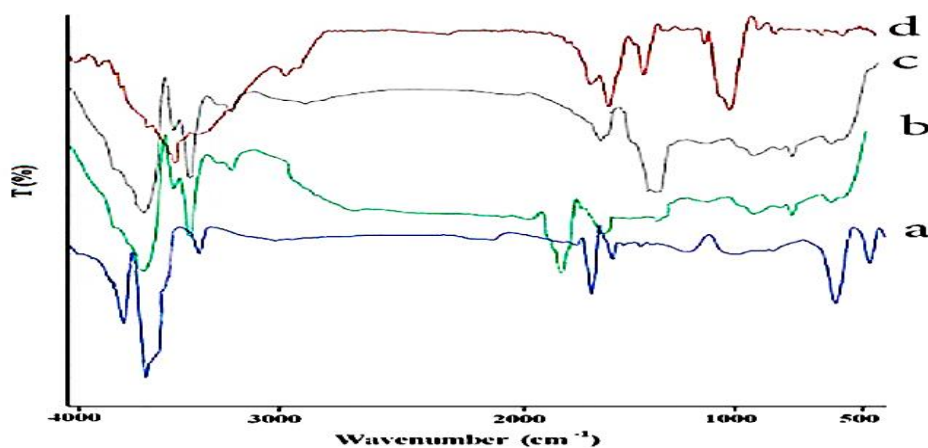
میانگین با حروف مختلف مشخص شده که نشان دهنده تفاوت معنی داری می باشد ($P < 0/05$)



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی لیپوزوم حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی



شکل ۲. تصویر سطح مقطع عرضی میکروسکوپ الکترونی روبشی، نمونه‌های فیلم‌های با و بدون عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی کیتوزان-ژئین



شکل ۳. نمودار طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه فیلم‌های با و بدون عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی کیتوزان-ژئین

جدول ۳. فعالیت مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل فیلم های مختلف نانوکیتوزان خالص و حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی

نوع فیلم	درصد فعالیت آنتی اکسیدانی (IC ₅₀ %)
فیلم نانوکیتوزان	۲۱/۱۷±۰/۳۹ ^a
فیلم نانوکیتوزان با عصاره ۱/۵ درصد	۶۴/۳۴±۰/۷۹ ^b
فیلم نانوکیتوزان با عصاره ۳ درصد	۷۴/۸۹±۱/۳۸ ^c
فیلم نانوکیتوزان با نانولیپوزوم دارای عصاره ۱/۵ درصد	۶۳/۲۳±۰/۶۹ ^b
فیلم نانوکیتوزان با نانولیپوزوم دارای عصاره ۳ درصد	۷۲/۶۷±۰/۷ ^c

میانگین دادها ± انحراف استاندارد

میانگین با حروف مختلف مشخص شده که نشان دهنده تفاوت معنی داری می باشد (P<۰/۰۵)

جدول ۴. پارامترهای رنگ در فیلم کیتوزان- زئین ادغام شده با نانولیپوزوم های حاوی عصاره هیدروالکلی کک کش بیابانی

نمونه	ΔE	b*	a*	L*
فیلم کیتوزان-زئین	۶/۳±۰/۹۵ ^a	۱۳/۰۳±۰/۰۱۷ ^a	-۱/۳۵±۰/۰۹۵ ^a	۳۶/۷۳±۲/۱۶ ^b
فیلم کیتوزان- زئین - عصاره	۱۸/۱±۱/۰۹ ^b	۱۷/۵۶±۰/۴۹۰ ^a	-۰/۰۹±۰/۰۲۱ ^a	۲۴/۳±۱/۷۹ ^a
فیلم کیتوزان - زئین - نانوعصاره ۱/۵٪	۲۱/۴±۱/۱۵ ^b	۲۲/۱۰±۰/۰۸۰ ^b	۱/۱۱±۰/۰۱۱ ^b	۵۴/۴۸±۱/۳۰ ^c
فیلم کیتوزان - زئین - نانوعصاره ۳٪	۲۱/۴±۱/۱۵ ^b	۲۴/۲۱±۰/۰۱۵ ^b	۱/۳۳±۰/۰۳۶ ^b	۶۴/۳۱±۱/۵۵ ^d

میانگین دادها ± انحراف استاندارد

میانگین با حروف مختلف مشخص شده که نشان دهنده تفاوت معنی داری می باشد (P<۰/۰۵)

۴. بحث

لیپوزومی و افزایش اندازه ذرات آن می شود. با توجه به مطالب گفته شده می توان نتیجه گرفت که افزودن کلاسترول به میزان کم، منجر به تراکم ساختار لیپوزومی و افزایش اندازه ی ذرات می شود. به نظر می رسد تأثیر کلاسترول بر روی اندازه ذرات به روش تولید و نوع فسفولیپید مورد استفاده بستگی دارد [۲۵].

۱.۴. اندازه و توزیع اندازه ذرات در نانولیپوزوم های تولید شده از بین چهار گروهی که دارای نسبت های مختلف لستین به کلاسترول اند، گروهی که دارای نسبت ۵۰-۱۰ دارای اندازه ذرات کمتری نسبت به بقیه بود. در این تحقیق افزودن کلاسترول تغییر مشخصی در اندازه وزیکول ها ایجاد نکرده است. قرارگیری کلاسترول در ساختار لیپوزوم باعث افزایش تراکم مولکول های فسفولیپید می شود، زیرا کلاسترول بین دولایه لیپوزوم، توسط مونومرهای سورفاکتانت که به وزیکول ها اتصال یافته اند، قرار می گیرد، بنابراین باعث افزایش معنی دار در اندازه وزیکول ها نمی شود. در پژوهشی بر روی لیپوزوم های تولید شده به روش هیدراسیون لایه نازک اعلام شد که افزودن کلاسترول منجر به سفتی ساختار

۲.۴. کارایی کپسولاسیون نانولیپوزوم های تولید شده بیشترین میزان کارایی درون پوشانی مربوط به گروه فاقد کلاسترول و گروه حاوی ۱۰-۵۰ میلی گرم لستین بود، افزایش غلظت کلاسترول باعث کاهش کارایی کپسولاسیون شد، به طوری که در نمونه حاوی ۴۰ میلی گرم لستین و ۲۰ میلی گرم کلاسترول به ۵۱٪ رسید. اختلاف میزان درون پوشانی

۴.۴. ضخامت فیلم‌ها

ضخامت فیلم‌ها برای آزمون‌های مکانیکی ضروری بوده و جز عوامل تأثیرگذار بر روی خواص فیزیکی نانوکامپوزیت می‌باشد. فیلم‌های به دست آمده ضخامت کمی داشته و به آسانی از سطح پلیت‌ها جدا شدند. ضخامت فیلم‌ها در جدول ۲، در اثر افزودن عصاره گیاهی کک کش بیابانی و همچنین افزایش درصد آن در محلول فیلم به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). ممکن است ایجاد برهمکنش درون مولکولی بین زنجیره‌های پلیمری کیتوزان و ترکیبات عصاره، باعث افزایش دانسیته‌ی فیلم و عاملی برای افزایش ضخامت فیلم‌های حاوی عصاره بوده باشد افزایش ضخامت فیلم در اثر افزودن عامل فعال آنتی‌اکسیدانی توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است [۲۲، ۲۳]. ضخامت فیلم‌ها بین ۲۰۴-۱۲۶ میکرومتر متغیر بود. فیلم‌های حاوی نانولیپوزوم به طور قابل توجهی ضخیم‌تر از فیلم‌های کنترل کیتوزان-زئین بودند ($P < 0.05$). معمولاً با افزایش محتوای نانولیپوزوم‌ها، ضخامت فیلم به میزان قابل توجهی افزایش یافته است، که مطابق با مطالعات مشابه است و این بدان علت است که توزیع نانولیپوزوم‌ها در شبکه کیتوزان/زئین منجر به افزایش حجم فیلم می‌شود.

۵.۴. خواص مکانیکی فیلم‌ها

داده‌های مربوط به مدول الاستیک و مقاومت کششی فیلم‌ها در جدول ۲ نشانگر افزایش استحکام کششی (TS) و مدول الاستیک در اثر افزودن نانولیپوزوم به درون ماتریس پلیمری می‌باشد ($P < 0.05$). نمونه فیلم کیتوزان-زئین خالص میزان استحکام کششی کمتری نسبت به نانوکامپوزیت‌ها دارا می‌باشد. استحکام کششی و مدول الاستیک فیلم‌ها در اثر افزودن نانو لیپوزوم‌ها به ماتریس پلیمری افزایش یافت ($P < 0.05$). فیلم کیتوزان-زئین خالص از استحکام کششی بهتری نسبت به فیلم‌های حاوی عصاره کک کش بیابانی آزاد و درون پوشانیده برخوردار است. استحکام کششی فیلم‌ها

در نمونه‌های فاقد کلاسترول و نسبت ۱۰-۵۰ چشمگیر نبود. از آنجایی که فسفولیپیدها، ساختمان اصلی لیپوزوم را تشکیل می‌دهند، هر چه میزان غلظت فسفولیپید بالاتر باشد، ترکیب فعال بیشتری درون پوشانی خواهد شد. از طرف دیگر سفت شدن غشا توسط کلاسترول باعث جلوگیری از باز شدن غشای لیپوزومی و در نتیجه جا گرفتن کمتر مواد فعال آگریز در آن می‌شود. افزایش آگریزی سطحی توسط کلاسترول، تمایل اتصال مواد فعال آبدوست به سطح لیپوزوم را کاهش می‌دهد. نتایج پارک و لویی در سال ۲۰۱۰ نشان داد که در نسبت ۶۰ به ۴۰ فسفاتیدیل کولین به کلاسترول، حداکثر بارگذاری ویتامین C در لیپوزوم‌های پوشش داده شده با کیتوزان و تهیه شده با تزریق حلال اتانول مشاهده می‌شود و در مقادیر بالاتر و کمتر از آن نسبت کارایی کاهش می‌یابد [۱۰].

۳.۴. پتانسیل زتا نانو لیپوزوم‌ها

افزودن کلاسترول باعث افزایش میزان پتانسیل زتا شده است. به طوری که میزان آن از 11.7 ± 0.36 - در نمونه بدون کلاسترول تا 16.1 ± 0.78 - در نمونه حاوی ۳۰ میلی گرم افزایش یافت. افزایش کلاسترول در سه نسبت به کار رفته ۵۰:۱۰، ۴۰:۲۰ و ۳۰:۳۰ اختلاف چشمگیری نداشت. با توجه به اینکه کلاسترول یک مولکول خنثی است افزایش بار منفی سطح با این مکانیزم توجیه شده است: لیپیدهای قطبی در محیط آبی و تحت انرژی اعمال شده به شکل دو لایه‌های گرد و سازمان یافته در می‌آیند. با حضور کلاسترول در ساختار گروه هیدروکسیل موجود در سر کلاسترول با گروه کولین موجود در سر قطبی فسفاتیدیل کولین پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند و گروه کولین که دارای بار مثبت می‌باشد به داخل غشا کشیده می‌شود و گروه فسفاتیدیل که دارای بار منفی است به سطح غشا کشیده می‌شود و باعث افزایش بار منفی و دفع الکترو استاتیک ذرات می‌شود. افزودن کلاسترول در لیپوزوم حاوی نایسین باعث افزایش پتانسیل زتا از ۵۵- به ۶۴- شد [۲۸].

۴.۶. میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب نفوذپذیری به بخار آب یک روش ساده اندازه‌گیری میزان نفوذ و عبور رطوبت به داخل یک ماده است. انتقال بخار آب از فیلم‌ها به دو فاکتور حلالیت و نفوذپذیری مولکول‌های آب در ماتریکس فیلم بستگی دارد. میزان نفوذپذیری به بخار آب یکی از پارامترهای مهم فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر به شمار می‌رود. این پارامتر به منظور بررسی تأثیر ترکیب نانولیپوزوم‌ها و عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی بر خصوصیات مهاری فیلم کیتوزان-زئین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان داد که نفوذپذیری در برابر بخار آب در فیلم‌ها به طور قابل توجهی پایین‌تر از فیلم‌های کیتوزان-زئین است ($P < 0/05$). با افزایش غلظت نانولیپوزوم‌ها از نفوذپذیری در برابر بخار آب کاسته می‌شود ($P < 0/05$) اما با افزایش غلظت نانولیپوزوم‌ها حاوی ۳٪ عصاره هیدروالکلی گیاه نفوذپذیری در برابر بخار آب افزایش یافت. کمترین میزان نفوذپذیری در نانولیپوزوم‌ها با غلظت ۱/۵٪ عصاره گیاه مشاهده شد. کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌ها ممکن است به دلیل وجود نانولیپوزوم‌ها باشد که به طور یکنواخت در ماتریس پلیمر توزیع می‌شوند.

نفوذپذیری بخار آب یک ویژگی مهم عملکردی فیلم هاست، که به ساختار شیمیایی، نوع پلاستی‌سایزر، مورفولوژی فیلم، ماهیت نفوذپذیری و شرایط اندازه‌گیری مانند دما و شیب فشار بخار آب آنها وابسته است [۵]. پابست و همکاران (۲۰۱۸) اظهار داشتند که میزان نفوذپذیری به بخار آب تحت تأثیر خصوصیات آبریز-آبدوستی مواد تشکیل دهنده فیلم قرار گرفته است [۶].

اضافه کردن عصاره کک کش بیابانی به طور معنی‌داری باعث کاهش معنی‌داری نفوذپذیری به بخار فیلم کیتوزان/زئین نسبت به فیلم خالص شد. هاجیو (۲۰۱۶) از کاهش مشابهی در نفوذپذیری به بخار فیلم‌های کیتوزان به دلیل افزودن مواد معدنی گزارش دادند و دلیل این امر افزایش

پس از افزودن عصاره کک کش بیابانی آزاد به ماتریس پلیمر کاهش یافت ($P < 0/05$). حداقل استحکام کششی برای فیلم کیتوزان/زئین حاوی عصاره کک کش بیابانی آزاد بود. افزودن عصاره کک کش بیابانی الاستیسیته را به میزان قابل توجهی کاهش داد ($P < 0/05$). این را می‌توان با افزایش عدم انسجام ساختاری ناشی از مخلوط کردن عصاره و در نتیجه تولید فیلم با تحرک زنجیره بالاتر و انسجام ماتریسی پایین‌تر، توضیح داد. استحکام کششی فیلم‌های کیتوزان/زئین با افزودن نانولیپوزوم‌های بارگذاری شده با عصاره به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. نانولیپوزوم‌ها اثر معنی‌داری بر ازدیاد طول در نقطه شکستن (ETB) نداشتند. نانولیپوزوم‌ها می‌توانند بر خصوصیات مکانیکی فیلم در ماتریس پلیمری حاصل از اختلاط لستین تأثیر بگذارند که می‌تواند تعامل‌های زنجیره ای پلیمر را در صورت وجود اجزای لیپید تغییر دهد [۳۲]. به طور کلی، تیمارهای حاوی نانو ذرات درون پوشانی شده دارای مقاومت کششی بهتر و درصد بهتر کشیدگی نسبت به تیمارهای حاوی عصاره آزاد بودند، نتایج مطالعه حاضر مشابه مطالعات گزارش شده قبلی بود. رفتار مشابهی در مورد اثر افزودن نانوذرات به سایر نانوکامپوزیت‌های پایه پلیمری همچون نشاسته، آگار و پروتئین سویا گزارش شده است [۲۴]. به طور کلی با افزودن عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی به فیلم و همچنین افزایش غلظت آن، مقدار استحکام کششی (TS) به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P < 0/05$). این پدیده اینگونه تفسیر می‌شود که ترکیبات موجود در عصاره گیاهی با قرار گرفتن در بین زنجیره‌های پلیمری سبب تضعیف پیوندهای درون شبکه پلیمری، به هم خوردن تراکم ساختاری و تخریب ماتریس فیلم می‌شوند [۲۰].

۱، ما طول موج‌های مشابه با کسانی که در این زمینه مطالعه کرده‌اند مشاهده شد.

در مقایسه با کیتوزان - زئین خالص، کاهش شدت پیک در 1535 cm^{-1} برای فیلم حاوی عصاره آزاد ظاهر شده است و تقریباً هیچ تغییری در فیلم‌های حاوی نانولیپوزوم‌ها بوجود نیامد. علاوه بر این، یک قله جدید برای یک فیلم حاوی یک عصاره آزاد در محدوده 1337 cm^{-1} مشاهده شد، که می‌تواند مربوط به ترکیبات فنولی عصاره کک کش بیابانی باشد. پیک مشابه نیز برای فیلم‌های همراه با نانولیپوزوم‌های عصاره مشاهده شده است. دلیل شدت بیشتر این پیک برای این تیمار، در مقایسه با نمونه‌های حاوی عصاره آزاد، احتمالاً به دلیل اثر هم‌افزایی عصاره و ترکیبات فنولی لسیتین (به عنوان مثال توکوفرول‌ها) است که به همراه فسفولیپیدها در آن استخراج شده‌اند. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، کاهش شدت این قله‌ها می‌تواند برای فیلم‌های کیتوزان-زئین حاوی نانولیپوزوم‌های فعال مشاهده شود. این ممکن است به دلیل تعامل جدید بین نانولیپوزوم‌ها و زنجیره‌های کیتوزان باشد.

به طور خلاصه، نتایج نشان داد که بین گروه‌های NH_2 یا OH کیتوزان و نانولیپوزوم‌ها برخی از فعل و انفعالات وجود دارد. نتیجه ما مطابق با مطالعات مشابه بود. در گزارشی دیگر بیان شده که هیچ تعامل خاصی بین نانولیپوزوم‌ها و نشاسته ذرت، فیلم‌های سدیم کازئینات و ژلاتین از طیف طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه وجود ندارد [۲۸، ۳۵]. گروه‌های آمیدی کیتوزان و هیدروکسیل منجر به ایجاد پیوندهای هیدروژن شده که در مطالعات مشابه، تعامل الکترواستاتیک بین زئین و کیتوزان مورد تأیید است.

۱.۴. ریزساختار سطح فیلم

یکنواختی فیلم، ساختار لایه، منافذ و صافی سطح با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد ارزیابی قرار نانو ذرات

تعامل بین مولکولی بین ساختار پلیمر و مواد معدنی و ویتامین‌ها بود [۲۸]. گبیس و همکاران (۲۰۱۲) در نتیجه تعامل بین ماتریس پلیمر و عصاره آنتی‌اکسیدان و در نتیجه کاهش پیوند هیدروژن بین کیتوزان و آب، کاهش در دسترس بودن گروه‌های هیدروژن و در نتیجه کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بیوپلیمر را عنوان کردند [۷].

میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های حاوی نانولیپوزوم‌ها عصاره هیدروالکلی کک کش بیابانی نسبت به فیلم‌های شاهد کمتر بود ($P < 0.05$). تعامل بین کیتوزان و گروه سر قطبی واقع در غشای بیرونی نانولیپوزوم‌ها می‌تواند منجر به تشکیل نانولیپوزوم‌های به طور مساوی توزیع شده در فیلم شود. وو و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که نانولیپوزوم‌ها منجر به افزایش فاکتور تورم برای مهاجرت رطوبت در ماتریس می‌شوند و این مسافت باعث می‌شود که مسافتی که مولکول‌های H_2O برای رسیدن به آن از درون فیلم عبور می‌کنند، افزایش یابد [۸]. لویز و همکاران (۲۰۰۹) کاهش دسترسی گروه‌های هیدروژنی در نتیجه ایجاد برهمکنش بین ماتریس پلیمری و عصاره آنتی‌اکسیدانی و در نهایت کاهش اتصالات هیدروژنی بین کیتوزان و آب را عاملی برای کاهش نفوذپذیری به بخار آب و محتوای آبی فیلم‌های بیوپلیمری بیان کردند [۳۳، ۳۴].

۷.۴. طیف مادون قرمز

شکل ۳ طیف مادون قرمز (طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه) فیلم کیتوزان/زئین و فیلم‌های حاوی عصاره آزاد و درون پوشانی شده کک کش بیابانی را نشان می‌دهند. کشش گروه کربونیل (باند آمید I) و خم شدن NH_2 باند آمید (II) به ترتیب در 1623 و 1530 cm^{-1} در طیف کیتوزان خالص ظاهر شد. پیک تیز در 651 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی C-O می‌باشد، با حداکثر اختلاف 20 سانتی‌متر در -

خوبی با مطالعات مشابه مربوط به تأثیر ترکیب سایر افزودنی‌های فعال درون پوشانی شده در پارامترهای رنگی نشاسته ذرت، کیتوزان و سدیم کازینات، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز و فیلم های خوراکی مبتنی بر آلژینات بود [۳۰، ۲۹].

۵. نتیجه گیری

نتایج این مطالعه که در شرایط آزمایشگاهی انجام شد بیانگر این است که می‌توان فیلم و پوشش فعال کیتوزان-زئین با استفاده از عصاره آزاد و نانو لیپوزوم عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی تهیه کرد.

نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه نشان‌دهنده برهمکنش جدید بین کیتوزان-زئین و نانولیپوزوم‌ها می‌باشد. خواص نفوذپذیری به بخار آب، مکانیکی و رنگی فیلم‌ها با افزودن عصاره کک کش بیابانی به فرم آزاد و نانولیپوزوم به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار گرفتند.

افزودن نانولیپوزوم‌ها به فیلم‌های کیتوزان-زئین اثر تضعیف‌کننده کمتری بر روی خواص مکانیکی فیلم در مقایسه با عصاره آزاد نشان داد. فیلم کیتوزان-زئین حاوی عصاره ۳٪ نانولیپوزوم بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی همراه با خواص مکانیکی بهبود یافته‌ای نسبت به فیلم‌های حاوی عصاره آزاد گیاه کک کش بیابانی از خود نشان داد.

فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر کیتوزان-زئین همراه با نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی می‌تواند به عنوان یک بسته بندی فعال با فعالیت آنتی‌اکسیدانی با کاربردهای فن‌آوری بالقوه در صنایع غذایی توصیه شود.

مشارکت نویسندگان

نویسنده اول: مسئولیت جمع‌آوری داده‌های خام، نویسنده دوم: تحریر مقاله، نویسنده سوم: مجری طرح و پایه ریزی تحقیق، نویسنده چهارم: داده‌پردازی و تحلیل، نویسنده پنجم: مشاوره در طراحی.

به صورت کامل در داخل فیلم پراکنده شده است (شکل ۲: B D), مطالعات دیگر نتایج مشابهی را گزارش کردند که هیچ تجمع بزرگی از نانو ذرات وجود نداشت این نشانگر پراکندگی خوب نانوذرات در سراسر ماتریس فیلم‌ها است. همچنین در مطالعات دیگر کاهش صافی سطح فیلم با افزودن نانوذرات نیز مشاهده شده است [۳۶].

۹.۴. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها با استفاده از روش مهار ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم بدون عصاره و فیلم دارای عصاره هیدروالکلی گیاه کک کش بیابانی تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به فیلم دارای عصاره ۳٪ مشاهده شد، اما تفاوت معناداری با فیلم نانولیپوزوم عصاره ۳٪ نداشت. نتایج مشابهی در مطالعات قبلاً انجام شده گزارش شده است [۹].

۱۰.۴. خصوصیات رنگ

رنگ یکی از مهم‌ترین خصوصیات حسی مواد غذایی است که نقش مؤثری در تشخیص کیفیت مواد غذایی توسط مصرف‌کننده دارد. حضور لسیتین در نانولیپوزوم‌های بارگذاری شده با عصاره کک کش بیابانی می‌تواند علت کاهش قابل توجه مقدار پارامترهای رنگ باشد ($P < 0.05$). علاوه بر این، این کاهش به این دلیل است که لسیتین به طور طبیعی قهوه‌ای است. رنگ قهوه‌ای لسیتین منجر به زردی بیشتر فیلم‌های حاوی عصاره هیدروالکلی کک کش بیابانی درون پوشانی شده نسبت به فیلم‌های شاهد و فیلم‌های حاوی عصاره کک کش بیابانی آزاد شد. همان‌طور که در جدول آورده شده است، اضافه کردن عصاره کک کش بیابانی آزاد و درون پوشانی شده منجر به تولید فیلم‌های تیره‌تر شد. نتایج ما در تطابق

تضاد منافع

رعایت بی‌طرفی در فرآیند انجام پژوهش و گزارش به عمل آمد، ضمناً این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافی ندارد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از زحمات مهندس نظم‌آرا و سایر همکاران در آزمایشگاه بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- Ouattara B, Giroux M, Yefsah R, Smoragiewicz W, Saucier L, Borsa J and Lacroix M. Microbiological and biochemical characteristics of ground beef as affected by gamma irradiation, food additives and edible coating film. *Radiat. Phys. Chem.* 2002; 63 (3-6): 299-304.
- Chitsazi MR, Korbekandi H, Asghari G, Bahri Najafi R, Badii A and Iravani S. Synthesis of silver nanoparticles using methanol and dichloromethane extracts of *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss. aerial parts. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2016; 44 (1): 328-333.
- Kamkar A, Ardekani MRS, Shariatifar N, Misagi A, Nejad ASM and Jamshidi AH. Antioxidative effect of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* L. extracts in soybean oil. *S. Afr. J. Bot.* 2013; 85: 39-43.
- Sawale PD, Patil GR, Hussain SA, Singh AK and Singh RRB. Release characteristics of polyphenols from microencapsulated *Terminalia arjuna* extract: Effects of simulated gastric fluid. *Int. J. Food Prop.* 2017; 20(12): 3170-3178.
- Pinelli P, Ieri F, Vignolini P, Bacci L, Baronti S and Romani A. Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers of *Urtica dioica* L. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56 (19): 9127-9132.
- Nerín C. Antioxidant active food packaging and antioxidant edible films. *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Volume 2: Management in different industry sectors* 2010, 496-515.
- Véronique C. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Sci.* 2008; 78 (1-2): 90-103.
- Donsì F, Annunziata M, Sessa M and Ferrari G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Sci. Technol.* 2011; 44(9): 1908-1914.
- Siró I, Fenyvesi É, Szente L, De Meulenaer B, Devlieghere F, Orgoványi J, Sényi J and Barta J. Release of alpha-tocopherol from antioxidative low-density polyethylene film into fatty food simulant: Influence of complexation in beta-cyclodextrin. *Food Addit. Contam. B* 2006; 23(8): 845-853.
- Fathi M, Mozafari MR and Mohebbi M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends Food Sci. Tech.* 2012; 23(1): 13-27.
- Rasaee S, Ghanbarzadeh S, Mohammadi M and Hamishehkar H. Nano phytosomes of quercetin: A promising formulation for fortification of food products with antioxidants. *Pharm. Sci.* 2014; 20(3): 96-101.
- Nirmala R, Park H-M, Navamathavan R, Kang H-S, El-Newehy MH and Kim HY. Lecithin blended polyamide-6 high aspect ratio nanofiber scaffolds via electrospinning

for human osteoblast cell culture. *Mat. Sci. Eng. C-Mater.* 2011; 31(2): 486-493.

13. Zhang L, Liu Z, Wang X, Dong S, Sun Y and Zhao Z. The properties of chitosan/zein blend film and effect of film on quality of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biol. Tech.* 2019; 155: 47-56.

14. Vrabič Brodnjak U and Tihole K. Chitosan Solution Containing Zein and Essential Oil as Bio Based Coating on Packaging Paper. *Coatings* 2020; 10(5): 497.

15. Chen G, Ali F, Dong S, Yin Z, Li S and Chen Y. Preparation, characterization and functional evaluation of chitosan-based films with zein coatings produced by cold plasma. *Carbohydr. Polym.* 2018; 202: 39-46.

16. Martín-Belloso O, Rojas-Graü MA and Soliva-Fortuny R. Delivery of flavor and active ingredients using edible films and coatings. In: *Edible films and coatings for food applications*. Vol: Springer; 2009, 295-313.

17. Kumaran, M. K. Interlaboratory comparison of the ASTM standard test methods for water vapor transmission of materials (E 96-95). *J. Test. Eval.* 1998; 26(2): 83-88.

18. Moradi M, Tajik H, Rohani SMR, Oromiehie AR, Malekinejad H, Aliakbarlu J and Hadian M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT-Food Sci. Technol.* 2012; 46(2): 477-484.

19. La Mantia F and Morreale M. Green composites: A brief review. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing.* 2011; 42(6): 579-588.

20. Aider M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. *LWT-Food Sci. Technol.* 2010; 43 (6): 837-842.

21. Bourtoom T. Edible films and coatings: characteristics and properties. *Int. Food Res. J.* 2008; 15(3): 237-248.

22. Yadav R and Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *J. Phytol.* 2011.

23. Xia S and Xu S. Ferrous sulfate liposomes: preparation, stability and application in fluid milk. *Food Res. Int.* 2005; 38(3): 289-296.

24. Escamilla-García M, Calderon-Dominguez G, Chanona-Perez JJ, Farrera-Rebollo RR, Andraca-Adame JA, Arzate-Vazquez I, Mendez-Mendez JV and Moreno-Ruiz L. Physical and structural characterisation of zein and chitosan edible films using nanotechnology tools. *Int. J. Biol. Macromol.* 2013; 61: 196-203.

25. Cheng S-Y, Wang B-J and Weng Y-M. Antioxidant and antimicrobial edible zein/chitosan composite films fabricated by incorporation of phenolic compounds and dicarboxylic acids. *LWT-Food Sci. Technol.* 2015; 63 (1): 115-121.

26. Pabast M, Shariatifar N, Beikzadeh S and Jahed G. Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated *Satureja* plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control* 2018; 91: 185-192.

27. Gibis M, Vogt E and Weiss J. Encapsulation of polyphenolic grape seed extract in polymer-coated liposomes. *Food Funct.* 2012; 3 (3): 246-254.

28. Haghju S, Beigzadeh S, Almasi H and Hamishehkar H. Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: I. Physicochemical characterisation and antimicrobial properties. *J. Microencapsul.* 2016; 33(5): 438-448.

29. Alexander M, Lopez AA, Fang Y and Corredig M. Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: Encapsulation efficiency and stability. *LWT*. 2012; 47(2): 427-436.
30. da Silva Malheiros P, Sant'Anna V, de Souza Barbosa M, Brandelli A and de Melo Franco BDG. Effect of liposome-encapsulated nisin and bacteriocin-like substance P34 on *Listeria monocytogenes* growth in Minas frescal cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 2012; 156(3): 272-277.
31. Almasi H, Zandi M, Beigzadeh S, Haghju S and Mehrnow N. Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: II. Antioxidant activity and release properties. *J. Microencapsul.* 2016; 33 (5): 449-459.
32. Wu H, Lei Y, Zhu R, Zhao M, Lu J, Xiao D, Jiao C, Zhang Z, Shen G and Li S. Preparation and characterization of bioactive edible packaging films based on pomelo peel flours incorporating tea polyphenol. *Food Hydrocoll.* 2019; 90: 41-49.
33. Astm, E. Standard test methods for water vapor transmission of materials. ASTM International: West, Conshohocken, PA (96).
34. Gómez-Estaca J, López de Lacey A, Gómez-Guillén M, López-Caballero M and Montero P. Antimicrobial activity of composite edible films based on fish gelatin and chitosan incorporated with clove essential oil. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 2009; 18(1-2): 46-52.
35. Jiménez A, Fabra MJ, Talens P and Chiralt A. Edible and biodegradable starch films: a review. *Food Bioprocess Tech.* 2012; 5(6): 2058-2076.
36. Mohammadi M, Ghanbarzadeh B and Hamishehkar H. Formulation of nanoliposomal vitamin D3 for potential application in beverage fortification. *Adv. Pharm. Bull.* 2014; 4 (Suppl 2): 569.

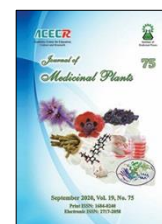
How to cite this article: Mahdizadeh A, Shahidi SA, Shariatifar N, Shiran MR, Ghorbani Hassan Sarai A. Preparation and evaluation of chitosan-zein film containing free and encapsulated ethanol extract of kak kosh biabani *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss. *Journal of Medicinal Plants* 2020; 19(75): 223-238.
[doi: 10.29252/jmp.19.75.223](https://doi.org/10.29252/jmp.19.75.223)



Institute of
Medicinal Plants

Journal of Medicinal Plants

Journal homepage: www.jmp.ir



Research Article

Preparation and evaluation of chitosan-zein film containing free and encapsulated ethanol extract of kak kosh biabani *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.

Abbas Mahdizadeh¹, Seyed Ahmad Shahidi^{1,*}, Nabi Shariatifar², Mohammad Reza Shiran³, Azadeh Ghorbani Hassan Saraei¹

¹ Department of Agriculture and Food Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran

² Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran

ARTICLE INFO

Keywords:

Edible film
Ethanol extract
Pulicaria gnaphalodes (Vent.)
Boiss.
Nanoliposomes
Chitosan
Zein

ABSTRACT

Background: Today, the tendency to use biodegradable biopolymers as one of the appropriate technologies to prevent food oxidation has received much attention. **Objective:** The aim of the present study was to produce a new biodegradable films containing free ethanolic extracts and nanocapsules of kak kosh biabani (*Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.), in order to investigate the antioxidant properties in laboratory conditions. **Methods:** In this study, the effects of different films on mechanical properties, antioxidant activities, encapsulation efficiency, water vapor permeability, microstructure and morphology and color characteristics were evaluated. **Results:** The average particle size was 153-166 nm and the encapsulation efficiency was 49.87-73.07%. Nanoliposomes with the lowest size and highest encapsulation efficiency were merged with the film samples. The results obtained from FT-IR spectra revealed new interactions between chitosan and nanoliposomes. Despite the increase in yellow color and decrease in whiteness indices, the nanoliposome composition improves the mechanical stiffness and results in reduced water vapor permeability (WVP). **Conclusion:** The properties of chitosan-zein films were affected by the amount of extract used, which generally improved the properties of the films and their antioxidant properties. Due to these features, this film can be used in food storage.

Abbreviations: FTIR, Fourier-transform infrared spectroscopy; WVP, Water vapor permeability; EOs, Essential Oils; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl SEM, Scanning Electron Microscope; TS, Tensile strength; ETB, Elongation at break

* Corresponding author: a.shahidi@iauamol.ac.ir

doi: [10.29252/jmp.19.75.223](https://doi.org/10.29252/jmp.19.75.223)

Received 13 January 2020; Received in revised form 29 July 2020; Accepted 2 August 2020

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)