

## تأثیر اسانس پونه کوهی بر ویژگی‌های فیلم خوراکی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز

رضا قادرمزی<sup>۱\*</sup>، جواد کرامت<sup>۲</sup>، سید امیر حسین گلی<sup>۳</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۲، تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۲۸)

### چکیده

فیلم خوراکی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) دارای ویژگی‌های مناسبی برای تشکیل فیلم است، ولی به دلیل ماهیت آب‌دوست بودن آن، نفوذپذیری بالایی به بخار آب از خود نشان داده است. در این تحقیق، نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن، ویژگی‌های مکانیکی، نوری و توانایی فیلم‌های HPMC حاوی اسانس پونه کوهی، در محافظت روغن سویا از اکسیداسیون با تعیین عدد پراکسید مشخص شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی نیز توسط روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و قدرت احیاکنندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایشات تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مدل سیستم‌های مختلف نشان دادند که اسانس پونه کوهی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی نسبت به BHT است. افزودن اسانس پونه کوهی به فیلم HPMC، اثر قابل توجهی ( $p < 0/05$ ) در کاهش شفافیت و خواص مکانیکی، نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن فیلم‌ها داشت. به طوری که در فیلم حاوی اسانس پونه کوهی در مقایسه با فیلم شاهد، نفوذپذیری به بخار آب از  $230/19$  به  $161/21 \times 10^{-11} \text{ g.m}^{-2}.\text{s.Pa}$  و نفوذپذیری به اکسیژن از  $488/78$  به  $235/95 \text{ mL}.\mu\text{m}^2.\text{day.Kpa}$  کاهش یافت. اکسیداسیون در نمونه‌های روغن سویای بسته‌بندی شده با فیلم حاوی اسانس پونه کوهی نسبت به فیلم بدون اسانس کاهش معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) طی دوره انبارداری داشت.

واژه‌های کلیدی: اسانس پونه کوهی، فیلم خوراکی، نفوذپذیری، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC).

\* نویسنده مسئول: r.ghadermazy@ag.iut.ac.ir

## 1- مقدمه

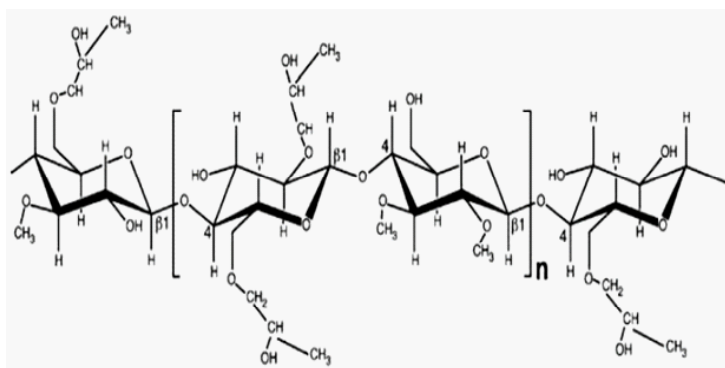
دلیل ساختار آب‌دوست آن نفوذپذیری بالایی به بخار آب دارند که یکی از مهم‌ترین مشکلات آن است [4]. HPMC از واکنش پروپیلن اکسید و متیل کلرید با سلولز در شرایط قلیائی به دست می‌آید. تعدادی از گروه‌های آزاد هیدروکسیل باقی‌مانده گلوکز سلولز با هیدروکسی پروپیل جایگزین شده‌اند که باعث باز شدن بیش‌تر ساختار HPMC می‌شوند (شکل 1). HPMC در آب سرد محلول است، اما دمای لخته شدن آن بالاتر از 82 درجه سانتی‌گراد است و با کاهش دما به دمای اتاق، دوباره نامحلول می‌شود. فیلم HPMC فیلمی قوی است ولی به اندازه متیل سلولز استحکام ندارد. ساختار غیر یونی و خطی آن برای تشکیل فیلم یا میسل یک مزیت می‌باشد. البته به‌جز زمانی که گروه‌های هیدروکسی پروپیل بزرگ در زنجیره قرار می‌گیرند که علت آن، ممانعت فضایی آن‌ها می‌باشد. زمانی که فیلمی با ضخامت 0/05 سانتی‌متر از محلول 3 درصد آن درست شود، فیلمی شفاف ایجاد می‌کند که به اندازه کافی برای پوشش دادن یک سطح مناسب می‌باشد [1]. پرز و همکاران (2005)، اثر فیلم‌های آب‌پنیر و HPMC را روی تغییرات رنگ تکه‌های برش داده شده سیب بررسی کردند و هر دو فیلم باعث جلوگیری از قهوه‌ای شدن و کاهش رطوبت شدند که البته پروتئین آب‌پنیر در این رابطه مؤثرتر بود [5]. پاستور و همکاران (2010)، در بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاهان روی فیلم HPMC، به این نتیجه رسیدند که این فیلم‌ها دارای اثر بازدارندگی قابل توجهی در مقابل بخار آب هستند و با افزایش غلظت عصاره‌ها این اثر هم بیشتر می‌شود. عصاره‌ها باعث افزایش مقاومت کششی و کدری، و از طرف دیگر باعث کاهش انعطاف‌پذیری و جلائیتم فیلم‌ها می‌شود. همچنین این فیلم‌ها اثر ضد قارچی قابل توجهی داشتند. با افزایش دما و کاهش رطوبت نسبی مقدار نفوذپذیری به بخار آب، مقاومت کششی (TS<sup>1</sup>) و سفتی یا مدول الاستیسیته (EM<sup>2</sup>) افزایش یافت ولی درصد کشش تا نقطه شکست (%E<sup>3</sup>) رفتار متفاوتی را نشان داد [6]. اختر و همکاران (2012)، اعلام کردند که عصاره طبیعی گیاهان یک افزودنی مفید است که باعث افزایش خواص عملکردی این فیلم‌ها می‌شود و با بررسی اثر رنگ‌های طبیعی موجود در چغندر قند و هویج روی

همواره بسته‌بندی‌ها نقش مهمی در نگهداری، توزیع و بازاریابی مواد غذایی داشته‌اند. به موازات پیشرفت صنعت بسته‌بندی، مشکلات زیست محیطی مرتبط با آن هم افزایش یافته است؛ چرا که به‌طور معمول از مواد پلاستیکی جهت بسته‌بندی استفاده می‌شود که غیر قابل تجزیه و بازیافت مجدد هستند. اما استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی و زیست تخریب‌پذیر این مشکل را تا حدودی برطرف کرده است و می‌تواند جایگزین تعداد زیادی از این مواد پلاستیکی شود [1]. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی کیفیت فراورده‌های غذایی را بالا می‌برند و آن‌ها را در برابر آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی محافظت می‌کنند. مطالعات گذشته نقش فیلم‌های خوراکی را از نظر ویژگی‌های مختلف کیفی و کمی، مانند ویژگی‌های مکانیکی، نوری، میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بررسی کرده‌اند. این فیلم‌ها باعث ایجاد یک اتمسفر اصلاح شده می‌شوند، به این صورت که در اثر تنفس میوه‌ها و سبزیجات پوشیده شده با این پلیمرها، از طریق کاهش نفوذپذیری به گازها، مقدار اکسیژن در سطح آن‌ها کاهش و مقدار دی‌اکسیدکربن افزایش می‌یابد و همچنین از طرف دیگر مانع عبور ترکیبات آروماتیک به محیط اطراف می‌شوند [2]. اکثر فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌توانند مانع عبور روغن‌ها، گازها و بخار آب شوند و همچنین می‌توانند به عنوان حامل ترکیبات فعالی از قبیل آنتی‌اکسیدان‌ها، ضد میکروبی‌ها، رنگ‌ها، ویتامین‌ها و مواد مغذی عمل می‌کنند [3]. بنابراین فناوری این نوع بسته‌بندی‌ها را می‌توان با افزودن ترکیبات مختلف با خواص کاربردی گوناگونی نظیر نرم‌کننده‌ها، رنگ‌ها، ویتامین‌ها، ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بهبود بخشید. در میان زیست پلیمرها، سلولز و مشتقاتش ترکیبات مناسبی هستند که برای ساخت فیلم‌های خوراکی به کار می‌روند، زیرا فاقد بو و مزه بوده و قابل تجزیه هستند. هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) نیز یکی از ترکیباتی است که به‌علت ساختار خطی آن ظرفیت بسیار عالی برای تشکیل فیلم دارد. این پلیمر دارای ویژگی‌های مناسب دیگری نیز می‌باشد. به‌عنوان مثال، فاقد سمیت بوده، بی‌بو و بی‌مزه است، هزینه تهیه پایینی دارد و سد بسیار خوبی در برابر اکسیژن، دی‌اکسیدکربن و لیپید است، ولی به

1. Tensile Strength

2. Elastic Modulus

3. Percentage Of Elongation At Break



شکل (1) ساختار مولکولی HPMC

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد

پونه کوهی از شرکت پاکان بذر اصفهان و روغن سویای تصفیه شده فاقد آنتی‌اکسیدان نیز از کارخانه روغن نباتی نهان گل بروجن تهیه گردید. ترکیبات شیمیایی شامل متانول، استیک اسید گلاسیال، کلروفرم، سدیم سولفات بدون آب، سدیم کربنات (بدون آب)، BHT (بوتیلات هیدروکسی تولوئن)، تری کلرو استیک اسید، فریک کلرید، پتاسیم یدید، سدیم تیو سولفات، معرف فولین سیو کالتو، نشاسته و پتاسیم فری سیانید از شرکت مرک و تانیک اسید، DPPH (2 و 2-دی فنیل بتا پیکریل هیدرازیل)، بتا کاروتن، لینولئیک اسید، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)، توئین 80 و گلیسرول از شرکت سیگما خریداری شد.

### 2-2- استخراج اسانس

برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت 3 ساعت استفاده شد. اسانس به دست آمده با سولفات سدیم بدون آب خشک کرده و در دمای 4-5 درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در شیشه‌های تیره رنگ که با فویل آلومینیومی پوشیده شده بود، نگهداری شد [11].

### 2-3- اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک کل

برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک از روش فولین-سیو کالتو استفاده گردید. در این روش 0/3 میلی‌لیتر از محلول متانولی اسانس (با غلظت 50 g/L) را به لوله‌های آزمایشی که حاوی 2/5 میلی‌لیتر محلول فولین سیو کالتو (10 بار رقیق

فیلم HPMC به این نتیجه رسیدند که این ترکیبات باعث افزایش مقاومت در برابر نور و در نتیجه باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌شوند [7]. تلفیق اسانس‌های روغنی با HPMC باعث تولید یک فیلم ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و نیز باعث کاهش تراوایی بخار آب فیلم به علت طبیعت آب‌گریز اسانس‌ها می‌شوند [1]. در میان ادویه‌جات، پونه کوهی اغلب به عنوان ادویه‌ای با عطر و طعم مورد پسند همه است که دارای اسانسی با ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مناسب است [8-9]. بیش‌ترین ترکیبات فعال اسانس پونه کوهی ترکیبات فنولیک مونوترپن کارواکرول (32٪) و تیمول (35٪) هستند که اثر آنتی‌اکسیدانی پونه کوهی مربوط به این ایزومرها می‌باشد [8]. هدف استفاده از اسانس‌های گیاهی در فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر، بهبود اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و نفوذپذیری فیلم‌های آبدوست است. از طرف دیگر ترکیب اسانس با فیلم باعث کاهش از دست رفتن ترکیبات فرار اسانس در طول زمان نگهداری می‌شود، لذا اسانس در یک غلظت بالا و برای مدت طولانی‌تر در سطح فرآورده باقی می‌ماند. بنابراین می‌توان سلامت محصول غذایی پوشیده شده را با غلظت‌های کم‌تری از اسانس تضمین کرد [10]. این مطالعه با هدف بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه پونه کوهی و تولید فیلم هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) حاوی این اسانس، بررسی خصوصیات فیزیکی، نوری، ممانعت‌کنندگی از عبور بخار آب و اکسیژن فیلم‌های حاصله و بررسی روند اکسیداسیون روغن سویای محافظت شده با این نوع از بسته‌بندی‌های فعال می‌باشد.

در 20 میلی‌لیتر کلروفورم حل کرده سپس 4 میلی‌لیتر از این محلول را با 40 میلی‌گرم لینولئیک اسید و 400 میلی‌گرم توئین 80 داخل بالن ریخته و به خوبی مخلوط شد. سپس کلروفورم را با روتاری در دمای 40 درجه سانتی‌گراد به‌طور کامل تبخیر و 100 میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن را به این بالن اضافه کرده و بالن را به شدت هم زده تا یک امولسیون زرد رنگ شفاف حاصل شود. سپس 5 میلی‌لیتر از این امولسیون به لوله‌های حاوی 0/2 میلی‌لیتر از محلول متانولی اسانس و BHT در غلظت‌های مختلف اضافه گردید و بلافاصله جذب در طول موج 470 نانومتر قرائت شد. سپس لوله‌ها در حمام با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و در بازه‌های زمانی 30 دقیقه جذب قرائت گردید. این کار تا زمانی که نمونه کنترل به‌طور کامل بی‌رنگ شد ادامه داشت. نمونه شاهد نیز حاوی همان مواد شیمیایی بجز اسانس بود. برای صفر کردن دستگاه 40 میلی‌گرم اسید لینولئیک و 400 میلی‌گرم توئین 80 و 100 میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن را به خوبی مخلوط کرده و 5 میلی‌لیتر از این امولسیون به لوله‌های حاوی 0/2 میلی‌لیتر متانول خالص اضافه گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی از رابطه 2 محاسبه شد:

$$\text{درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی} = \left(1 - \frac{As_0 - As_t}{Ac_0 - Ac_t}\right) \times 100 \quad (2)$$

در این معادله  $As_t$  و  $As_0$  به ترتیب جذب نوری نمونه‌ها در زمان‌های 0 و 180 دقیقه و  $Ac_t$  و  $Ac_0$  جذب شاهد در زمان‌های 0 و 180 دقیقه می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت 50IC ارائه شد که نشان دهنده غلظتی از اسانس است که 50% توانایی جلوگیری از بی‌رنگ شدن بتا کاروتن را دارد [9].

#### 2-4-3- بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با روش قدرت احیاکنندگی

در این روش 1 میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف محلول متانولی اسانس را با 2/5 میلی‌لیتر بافر فسفات (0/2 مولار با pH=6/6) و 2/5 میلی‌لیتر فری سیانید پتاسیم (1٪) مخلوط کرده و مخلوط حاصل به مدت 20 دقیقه در حمام 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس 2/5 میلی‌لیتر تری کلرو استیک

شده توسط آب مقطر) و 2 میلی‌لیتر کربنات سدیم (50 %w/v) بود اضافه کرده و به‌طور کامل مخلوط شد. سپس با پارافیلیم در لوله‌ها را پوشانده و به مدت 5 دقیقه در حمام با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و مقدار جذب نمونه‌ها در 760 نانومتر قرائت گردید. در این روش از اسید تانیک به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های 12/5، 25، 50، 100، 200 و 400 ppm استفاده شد. بعد از رسم منحنی کالیبراسیون و با استفاده از معادله خط رسم شده برای تانیک اسید، مقدار ترکیبات فنولیک کل گیاه به صورت میلی‌گرم تانیک اسید در لیتر نمونه بیان گردید و از متانول نیز به عنوان شاهد استفاده گردید [12].

#### 2-4-4- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

##### 1-4-4-2- بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH

ابتدا مقدار 3 میلی‌لیتر از محلول متانولی اسانس با غلظت‌های مختلف با 1 میلی‌لیتر از محلول 90 میکرو مولار DPPH مخلوط گردید و به مدت 60 دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شدند. میزان جذب نوری محلول‌های حاصله و نمونه شاهد (حاوی همان مواد شیمیایی به‌جز اسانس)، در طول موج 517 نانومتر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. از متانول نیز به عنوان شاهد استفاده گردید. برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس نیز از BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. کم‌ترین جذب نشان دهنده بیش‌ترین قدرت ضد رادیکالی است. درصد بازدارندگی به وسیله رابطه 1 محاسبه گردید:

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (1)$$

که در این رابطه  $A_c$  جذب شاهد و  $A_s$  جذب نمونه می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت 50IC ارائه شد که نشان دهنده غلظتی از اسانس است که 50% توانایی بازدارندگی رادیکال DPPH را دارد. [11].

##### 2-4-4-2- بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با روش بی‌رنگ شدن

بتا کاروتن در این آزمایش ابتدا 2 میلی‌گرم از کریستال‌های بتا کاروتن

اسید (10٪) را به آن اضافه کرده و به مدت 10 دقیقه با

دور 1500 g سانتیفریژ شد. 2/5 میلی‌لیتر از لایه بالایی این محلول را با 2/5 میلی‌لیتر آب مقطر و 0/5 میلی‌لیتر فریک کلرید (1٪) داخل لوله آزمایش ریخته و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و در نهایت جذب محلول‌ها در طول موج 700 نانومتر قرائت گردید. از BHT نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. نمونه شاهد نیز حاوی همان مواد شیمیایی به جز اسانس بود. نتایج بر حسب 50IC گزارش شد که برابر غلظتی از نمونه است که مقدار جذب برابر 0/5 می‌باشد [13].

#### 2-4-4- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن سویا با روش پراکسید

برای تعیین مقدار پراکسید، ابتدا 5 گرم روغن در یک ارلن 250 میلی‌لیتر ریخته و 30 میلی‌لیتر محلول اسید استیک-کلروفرم به ترتیب با نسبت 3 حجم اسید استیک، 2 حجم کلروفرم، به آن افزوده و خوب هم زده شد تا روغن در آن حل شود. به این محلول 0/5 میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع شده و همچنین پس از 1 دقیقه، 30 میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. محلول حاصل به آرامی با سدیم تیوسولفات 0/1 نرمال تیتیر شده و پس از آن که رنگ زرد از بین رفت، 0/5 میلی‌لیتر شناساگر نشاسته 1٪ به آن افزوده و تیتراسیون ادامه داده شد تا رنگ آبی از بین برود. در ضمن تیتراسیون محلول به شدت تکان داده شد تا لایه کلروفرم آزاد شود. باید توجه کرد که اگر کم‌تر از 0/5 میلی‌لیتر سدیم تیوسولفات 0/1 نرمال مصرف شود، می‌بایست آزمایش را با سدیم تیوسولفات 0/01 نرمال تکرار کرد. هم‌زمان با انجام آزمایش، یک نمونه شاهد (فاقد روغن) نیز مورد سنجش قرار گرفت. عدد پراکسید از رابطه 3 محاسبه گردید:

$$PV = (S(s) - S(b)) \times N \times 1000 / (m) \quad (3)$$

در این معادله PV عدد پراکسید (میلی اکی والانت اکسیژن بر کیلوگرم نمونه)، S(s) حجم سدیم تیوسولفات مصرفی برای نمونه (میلی‌لیتر)، S(b) حجم سدیم تیوسولفات مصرفی برای شاهد (میلی‌لیتر)، N نرمالیت سدیم تیوسولفات و m نیز وزن

#### 2-5- تهیه فیلم‌های خوراکی حاوی اسانس

برای ساختن فیلم از روش تعریف شده توسط آتارس و همکاران (2011)، [15] که کمی اصلاح شده استفاده گردید. ابتدا 10 گرم پودر HPMC را در 200 میلی‌لیتر آب دیونیزه با دمای 80 درجه سانتی‌گراد در حین هم زدن، به آهستگی اضافه کرده و مدت یک شب روی هم‌زن مغناطیسی گذاشته شده تا یک محلول یکنواخت و زرد رنگ شفاف ایجاد شود. سپس 5 گرم گلیسرول و 0/5 گرم توئین 80 را به آن اضافه کرده و دوباره 30 دقیقه روی هم‌زن مغناطیسی گذاشته شده تا به‌طور کامل، مخلوط شود. سپس 2 گرم از اسانس پونه کوهی را به آن اضافه کرده (نسبت‌های وزنی HPMC: گلیسرول: توئین 80: اسانس به ترتیب شامل 1: 0/5: 0/05: 0/2) و به‌وسیله هم‌زنایزر با دور 13600 rpm به مدت 10 دقیقه هم‌گن شد. بعد از هم‌زن‌نیزاسیون با آن تحت خلأ در دمای اتاق تخلیه گاز محلول انجام شد. محلول آماده شده را به ظروف شیشه‌ای مکعب مستطیل با طول 20، عرض 17/6 و ارتفاع 5 سانتی‌متر ریخته و به مدت 36 ساعت داخل آن با دمای 30 درجه سانتی‌گراد گذاشته شده تا خشک شود. بعد از این مدت نگهداری رطوبت داخل آن با هوای اتاق برابر شد که نشان‌دهنده خشک شدن فیلم است. در نهایت فیلم تشکیل شده به راحتی از ظروف جدا گردید و تا زمان انجام آزمایش‌ها در داخل پلاستیک‌ها با درب پرس شده که هیچ‌گونه تبادل هوایی با بیرون نداشت، در یخچال با دمای 4-5 درجه سانتی‌گراد جهت انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد.

#### 2-6- ساخت قالب‌های استوانه‌ای از فیلم برای انبارداری روغن

ورقه‌های فیلم به شکل ظروف استوانه‌ای شکل به ارتفاع 7/57 و قطر 3 سانتی‌متر، ساخته شد تا شرایط به‌طور تقریبی مشابه ظروف معمولی موجود در بازار باشد. بعد از مشروط کردن فیلم‌ها، به مدت 24 ساعت در دمای 25 درجه و رطوبت نسبی 50 درصد، داخل هر کدام از آن‌ها مقدار 50 گرم روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان ریخته و داخل آن با دمای  $40 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌ها شامل فیلم HPMC

انجام شد [17]. نمونه‌ها پیش از اندازه‌گیری به مدت 1 ساعت در رطوبت نسبی 50 درصد نگهداری شدند. ساختار دستگاه به این صورت است که از دو استوانه با جنس استیل ضد زنگ توخالی درست شده است. این مجموعه نیز داخل یک محفظه که دمای آن قابل کنترل است قرار دارد. نمونه فیلم در بین استوانه‌ها قرار می‌گیرد و با گیره دو استوانه به‌طور کامل روی هم محکم می‌شوند. برای این‌که نمونه در اثر فشار اعمالی گاز پاره نشود، یک قطعه استوانه‌ای شکل از جنس تفلون که مشبک است داخل استوانه زیری قرار دارد و نمونه فیلم روی آن جای می‌گیرد. استوانه بالایی به کپسول گاز که فشار آن قابل کنترل است وصل شده و استوانه زیری به یک شلنگ باریک عمودی وصل است که داخل آن مقداری آب وجود دارد و در اثر فشار گاز عبوری از فیلم ارتفاع آن بالا می‌رود. بعد از باز کردن شیر گاز باید مقداری صبر کنیم تا تغییرات ارتفاع آب در طی زمان ثابت شود و از آن لحظه به بعد تغییرات ارتفاع آب را اندازه‌گیری کنیم. ضریب تراوایی گاز در فیلم طبق رابطه 5 محاسبه شد:

$$OP = \frac{Q \times L}{A \times (P_1 - P_2)} \quad (5)$$

که در این رابطه OP نفوذ پذیری فیلم به اکسیژن (mL·μm/m<sup>2</sup>·day.KPa)، Q دبی گاز عبوری از فیلم (mL/day)، L ضخامت غشا (μm)، P<sub>1</sub> و P<sub>2</sub> فشار گاز در بالا دست و پایین دست فیلم (KPa) و A سطح مقطع غشا (m<sup>2</sup>) است.

## 2-10- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری به بخار آب

برای انجام این آزمایش از روش استاندارد ASTM, E96 با اندکی تغییر استفاده گردید [18]. در این روش از یک سری فنجان‌های آزمایشگاهی با ارتفاع 8/5 و قطر داخلی 2/5 استفاده گردید. داخل هر فنجان 10 میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. این مقدار آب در دمای 25 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی معادل 100٪ ایجاد می‌کند. سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند. اختلاف فشار رطوبت در دو سمت فیلم در دمای 25 درجه سانتی‌گراد فشار بخاری معادل 3/179 کیلو پاسکال (با استفاده از جدول بخار اشباع) ایجاد می‌کند. کاهش وزن فنجان‌ها طی زمان اندازه‌گیری شد تا فنجان‌ها به وزن

ترکیب شده با اسانس پونه کوهی و فیلم HPMC بدون اسانس بود. علاوه بر این نمونه‌ها، برای کنترل بهتر شرایط یک نمونه روغن در داخل یک ظرف شیشه‌ای با همان شرایط فیلم‌ها و بدون هیچ گونه افزودنی نیز استفاده شد. در فواصل زمانی 15 روزه به مدت دو ماه آزمون پراکسیداز روغن داخل این بسته‌ها انجام شد.

## 2-7- تعیین ضخامت

برای اندازه‌گیری ضخامت نمونه‌ها از میکرومتر دیجیتالی مدل DC-516 با حساسیت 0/001 mm استفاده شد. در پنج نقطه به صورت تصادفی برای هر فیلم اندازه‌گیری انجام شد. میانگین ضخامت‌ها محاسبه شده و در اندازه‌گیری مقدار مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخار آب و نفوذپذیری به اکسیژن استفاده گردید.

## 2-8- تعیین ویژگی‌های مکانیکی

برای این کار از روش استاندارد شماره ASTM, D882 استفاده شد [16]. قبل از انجام آزمایش‌های کشش، تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل گردیدند. برای اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی از دستگاه آنالیز بافت STM، مدل STM-20 استفاده شد. فیلم‌ها به شکل مستطیل‌های با ابعاد 2/5×10 سانتی‌متر با استفاده از تیغ جراحی بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه 10 سانتی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها روی 50 میلی‌متر بر دقیقه تنظیم و از لود سل 50 نیوتنی استفاده شد. فاکتورهای درصد کشش و مدول الاستیسیته (مگا پاسکال) را با دستگاه اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه 4 نیز مقاومت کششی فیلم‌ها محاسبه شد:

$$TS = \frac{F}{w \times d} \quad (4)$$

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

## 2-9- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری به اکسیژن

اندازه‌گیری نفوذپذیری به اکسیژن بر اساس روش استاندارد ASTM, D1434 با مقداری تغییر در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

ممانعت از بی رنگ شدن بتا کاروتن و قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها با میانگین سه بار تکرار در جدول 1 آمده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، پونه کوهی دارای ترکیبات فنولیک بالایی می‌باشد و این به معنی قدرت آنتی‌اکسیدانی مناسب این گیاه می‌باشد. مارتوس و همکاران (2011) [12]، مقدار ترکیبات فنولیک کل را برای اسانس میخک، پونه کوهی و مریم گلی، به ترتیب 898/98، 763/97 و 122/98 میلی گرم گالیک اسید در لیتر نمونه گزارش کردند. هیدروکربن‌های مونوترپن (کارواکرول و تیمول) عامل اصلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی می‌باشد که 50 تا 80 درصد ترکیبات فنولیک اسانس را به خود اختصاص داده‌اند [9]. روچاگوزمن و همکاران (2007) [19]، گزارش کردند مقدار ترکیبات فنولیک اسانس پونه کوهی برابر 151 میلی گرم اسید گالیک بر میلی لیتر اسانس بود.

هرچه مقدار 50IC کم‌تر باشد نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر اسانس می‌باشد. همان‌طور که در جدول 1 معلوم است در تمام مدل سیستم‌ها کم‌ترین ( $p > 0/05$ ) مقدار 50IC مربوط به BHT می‌باشد. در این‌جا مقادیر لازم از پونه کوهی در مقایسه با BHT برای این که 50 درصد اثر مهارکنندگی داشته باشد، بیش‌تر است و این به معنی قدرت بالاتر BHT است. گلشین و همکاران (2012) [13]، قدرت بازدارندگی رادیکال DPPH را در غلظت 45 میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس پونه کوهی، BHT، آلفا توکوفرول، BHT و تورولوکس را به ترتیب 83/6، 67/8، 64/9، 62/5 و 29/4 درصد و مقدار 50IC پونه کوهی را 21/5 میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند. مارتوس و همکاران (2011) [12]، مقدار 50IC در بازدارندگی رادیکال DPPH را برای اسانس‌های میخک، پونه کوهی، مریم گلی و BHT به ترتیب برابر 0/38، 3/9، 4/2 و 0/53 گرم بر لیتر گزارش کردند. هم‌چنین در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پونه کوهی با روش DPPH در مقابل BHT به عنوان کنترل مثبت توسط ساهین و همکاران (2004) [20] مشاهده شد که مقادیر 50IC برای BHT، اسانس و عصاره پونه کوهی به ترتیب برابر با 19/8، 8900 و 9/9 است. آن‌ها دلیل قوی‌تر بودن عصاره را به خاطر وجود اسیدهای فنولیک مانند اسید رزمارینیک و پلی فنول‌ها که به خوبی فلاونوئیدها قادر به بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH هستند و

ثابتی برسند و با رسم منحنی تغییرات وزن فنجان نسبت به زمان، یک خط راست حاصل شد و شیب آن محاسبه گردید. میزان نفوذپذیری از رابطه 6 محاسبه شد.

$$WVP = \frac{S \times L}{\Delta P \times A \times 3600} \quad (6)$$

که در این رابطه WVP نفوذپذیری به بخار آب (g/Pa.m.s)، S شیب خط تغییرات وزن در طی زمان (g/h)، A سطح ( $m^2$ )، L میانگین ضخامت (m) و ( $\Delta P$ ) گرادیان فشار جزئی بخار آب در دو طرف فیلم (Pa) و عدد ثابت 3600 برای تبدیل ساعت به ثانیه است.

## 11-2- اندازه‌گیری رنگ سطحی فیلم‌ها

اندازه‌گیری رنگ نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ سنج RGB (مدل RGB-1002) صورت گرفت. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار easyRGB به سیستم CIE به صورت پارامترهای  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  تبدیل شدند. اختلاف رنگ فیلم‌های حاوی اسانس پونه کوهی با فیلم بدون اسانس نیز از رابطه 7 محاسبه شد [7]:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (7)$$

## 12-2- آزمون‌های آماری نتایج

کلیه آزمایشات حداقل در سه تکرار انجام شدند. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد گزارش شد. نتایج حاصله توسط نرم افزار SAS-2000 (Version 9.00) با استفاده از آزمون فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی و روش آزمون مقایسه میانگین حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال 95 درصد استفاده گردید. 50IC به‌وسیله آنالیز همبستگی خطی به‌دست آمده از مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای غلظت‌های مختلف نمونه تعیین شد.

## 3- نتایج و بحث

### 1-3- مقدار ترکیبات فنولیک کل و خواص آنتی‌اکسیدانی

اسانس‌ها در مدل سیستم‌های مختلف آزمایشگاهی نتایج مقدار ترکیبات فنولیک کل، مهار رادیکال آزاد DPPH،

جدول (1) مقدار کل ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50 ± SD, µg/mL) اسانس پونه کوهی و BHT در مدل سیستم‌های مختلف.

آزمایش	TP*	DPPH	BCB	RP
پونه کوهی	276/5 ± 2/7	834/3 ± 5/3	373/1 ± 2/4	888/9 ± 1/7
BHT	-	12/9 ± 1/7	62/9 ± 1/6	61/6 ± 0/9

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

معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) با BHT بود. گلشین و همکاران (2012) [13]، مقدار جذب در طول موج 700 نانومتر را برای غلظت 45 میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس پونه کوهی BHA، BHT و آلفا توکوفرول را به ترتیب حدود 1/6، 1/2، 1/3 و 0/7 گزارش کرده‌اند.

### 3-2- بررسی ویژگی‌های فیلم

در جدول 2 مقایسه میانگین ضخامت، نفوذپذیری به بخار آب و نفوذ پذیری به اکسیژن فیلم‌ها نشان داده شده است. ضخامت از فاکتورهای مهم فیلم است که به طور مستقیم روی ویژگی‌های بیولوژیکی و ماندگاری محصول بسته‌بندی شده تأثیر می‌گذارد.

همان‌طور که مشاهده می‌شود در این‌جا اختلاف معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) بین ضخامت فیلم‌های بدون اسانس و فیلم ترکیب شده با اسانس پونه کوهی پس از خشک‌شدن وجود دارد. دلیل ضخامت کم‌تر فیلم حاوی اسانس به احتمال زیاد به خاطر قرار گرفتن اسانس در فضاهای خالی بین زنجیره‌های پلیمر است و بنا به ماهیت آب‌گریزی اسانس می‌تواند در جلوگیری از جذب رطوبت زیاد توسط گلیسرول ترکیب شده با فیلم نیز موثر باشد. در حالی‌که گلیسرول در فیلم بدون اسانس بدون هیچ مانعی می‌تواند حداکثر رطوبت را جذب خود کند و باعث افزایش ضخامت فیلم گردد.

### 3-3- نفوذپذیری به بخار آب

میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های خوراکی با نوع کاربرد آن‌ها مرتبط است؛ به طوری‌که نمی‌توان هر نوع غذایی را با یک پلیمر یکسان بسته‌بندی نمود. مقایسه میانگین داده‌های نفوذپذیری به بخار آب نشان می‌دهد که بین فیلم‌ها اختلاف معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) دیده می‌شود (جدول 2).

قادر به بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH هستند و هم‌چنین به خاطر مقدار خیلی پایین ترکیبات فنولیک تیمول و کارواکرول (کم‌تر از 1٪) در اسانس دانستند. در روش بتا کاروتن، هم اسانس و هم عصاره اثر ضعیفی داشتند؛ به طوری‌که غلظت 2 mg/mL اسانس دارای 43٪ اثر بازدارندگی و عصاره 32٪ بود که نسبت به BHT (96٪) ضعیف‌تر عمل کرده‌اند. روچاگوزمن و همکاران (2007) [19] گزارش کردند که غلظت 100 µg/mL اسانس و عصاره پونه کوهی، BHT و اسید آسکوربیک به ترتیب دارای حدود 28، 45، 15 و 5 درصد اثر بازدارندگی رادیکال DPPH هستند. کولیسک و همکاران (2004) [9]، گزارش کردند که مقدار 50IC را در روش DPPH برای اسانس پونه کوهی، BHT، آلفا توکوفرول و اسید آسکوربیک به ترتیب برابر 0/018، 0/0086 و 0/0044 g/L می‌باشد.

در این مطالعه با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش بتا کاروتن مشاهده شد که کم‌ترین مقدار 50IC مربوط به BHT است. با افزایش غلظت اسانس و BHT درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز بیش‌تر شد، که دلیل این امر به خاطر افزایش غلظت ترکیبات فنولیک در امولسیون و در نتیجه افزایش قدرت آن‌ها در جلوگیری از بی‌رنگ شدن بتا کاروتن است. البته در طی انجام آزمایش، تفاوت معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) بین غلظت‌های 800 میکروگرم بر میلی‌لیتر به بالاتر از اسانس پونه کوهی در مقایسه با غلظت 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر BHT مشاهده نشد. اما در غلظت‌های کم‌تر اسانس ضعیف‌تر از BHT بود. کولیسک و همکاران (2004) [9]، مقدار 50IC را در تست بتا کاروتن برای اسانس پونه کوهی 2 گرم بر لیتر و برای BHT کم‌تر از 1 گرم بر لیتر اعلام کردند. در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت احیا کنندگی، مشاهده شد که با افزایش غلظت‌ها بر مقدار جذب نیز افزوده می‌شود. میزان جذب اسانس پونه کوهی در تمامی غلظت‌ها دارای تفاوت



### 3-4- نفوذپذیری به اکسیژن

نفوذپذیری به گازها و بخارهای محیط روی خواص مکانیکی بسته‌بندی و نیز افت ترکیبات فرار غذا نظیر طعم دهنده‌ها یا گازها ( $O_2$  و  $CO_2$ ) به همراه انتقال احتمالی ترکیبات نامطبوع محیطی به ماده بسته‌بندی شده تأثیر می‌گذارند. از این رو، در اغلب موارد، نفوذپذیری کم نسبت به گازها مزیت بزرگی در حفظ کیفیت ماده غذایی به‌شمار می‌رود. همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری ( $p>0/05$ ) بین نمونه‌های فیلم حاوی اسانس و بدون اسانس پونه کوهی وجود دارد و با افزودن اسانس، مقدار نفوذپذیری به اکسیژن کاهش یافته است. بیش‌ترین نفوذپذیری مربوط به فیلم بدون اسانس و کم‌ترین مقدار مربوط به فیلم حاوی اسانس پونه کوهی بود. به احتمال زیاد، اسانس‌ها در این‌جا با پر کردن فضاهای خالی ایجاد شده در شبکه بزرگ با ساختار خطی HPMC، که به علت وجود گلیسرول در ترکیب فیلم مقدار این فضاهای خالی بیش‌تر نیز شده، باعث ایجاد ساختاری با فضاهای خالی شبکه‌ای کم‌تری در مقابل عبور گاز شده است. در این زمینه اطلاعات محدودی در دسترس است، ولی به‌طور کلی افزودن اسانس باعث بهبود نفوذپذیری به گازها می‌شود [10].

### 3-5- تغییرات رنگ در فیلم

مشخصات رنگی فیلم‌های خوراکی یکی از عوامل مهم در انتخاب محصول برای مشتری می‌باشد و به نوع ترکیبات به‌کار رفته و فرایندی که در ساخت فیلم به‌کار رفته است بستگی دارد. در جدول 3 میانگین پارامترهای رنگ سنجی برای فیلم‌ها نشان داده شده است. این نتایج اندازه‌گیری بر اساس 4 تکرار برای نمونه‌های فیلم و تبدیل از سیستم RGB به سیستم

بیش‌ترین نفوذپذیری به بخار آب مربوط به فیلم فاقد اسانس و کم‌ترین نفوذپذیری مربوط به فیلم حاوی اسانس پونه کوهی بود. فیلم‌های دارای اسانس به علت افزایش خاصیت آب‌گریزی در فیلم نسبت به فیلم بدون اسانس در ممانعت از عبور بخار آب بهتر عمل کرده‌اند. سانچز-گونزالز و همکاران (2009) [21]، در بررسی اثر اسانس درخت چای در فیلم خوراکی HPMC اعلام کردند که با افزایش غلظت اسانس، دانسیته و pH در محلول فیلم و نفوذپذیری به بخار آب کاهش می‌یابد ولی ویسکوزیته و شفافیت افزایش می‌یابد. سانچز-گونزالز و همکاران (2011) [22]، اعلام کردند که افزودن 3 درصد اسانس ترنج به فیلم کیتوزان باعث کاهش 50 درصدی در نفوذپذیری به بخار آب فیلم می‌شود که دلیل این امر به خاطر افزایش خاصیت آب‌گریزی فیلم حاوی اسانس می‌باشد. آتارس و همکاران (2011) [15]، در بررسی افزودن اسانس زنجبیل به فیلم HPMC واکنش‌های مختلفی را مشاهده کردند به این صورت که در دماهای پایین اسانس اثر ممانعت‌کنندگی خوبی در مقابل بخار آب دارد، اما با افزایش دما به بیش‌تر از 35 درجه سانتی‌گراد اثر آن ضعیف شده که این به دلیل حرکت فاز روغنی اسانس به سطح و ایجاد ساختاری ناهمگون در فیلم است به صورتی که حتی از فیلم بدون افزودنی نیز اثر کم‌تری داشته است. در بررسی اثر اسانس‌های گشنیز، سنبل هندی، ترخون و آویشن به فیلم پروتئینی که توسط پیرز و همکاران (2013) [23] انجام شد، تمام اسانس‌ها باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب شدند. بررسی سایر تحقیقات نشان می‌دهد که نفوذپذیری به بخار آب می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف مانند دما و رطوبت بوده و بسته به نوع پلیمر نیز با افزودن اسانس‌های مختلف نتایج مختلفی خواهد داشت.

جدول (2) مقایسه میانگین ( $\pm SD$ ) ضخامت، نفوذپذیری به بخار آب و نفوذپذیری به اکسیژن برای فیلم

آزمایش	ضخامت ( $\mu m$ )	نفوذپذیری به بخار آب ( $g.m/m^2.s.Pa$ ) $\times 10^{-11}$	نفوذپذیری به اکسیژن ( $mL.\mu m/m^2.day.Kpa$ )
HPMC	135/4 $\pm$ 2/4 <sup>a</sup>	230/2 $\pm$ 3/0 <sup>a</sup>	488/8 $\pm$ 20/5 <sup>a</sup>
HPMC-EO	115/2 $\pm$ 3/2 <sup>b</sup>	161/2 $\pm$ 4/7 <sup>b</sup>	235/9 $\pm$ 28/6 <sup>b</sup>

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها می‌باشد ( $p>0/05$ ).

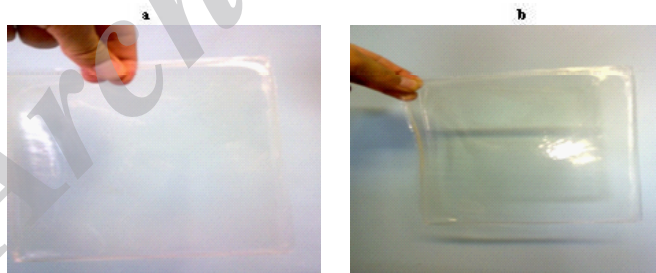
فیلم‌ها به‌طور معمول باعث کاهش شفافیت و حالت شیشه‌ای فیلم می‌شود که این امر به دلیل ایجاد یک سطح ناهموار در سطح فیلم در زمان خشک کردن است که اسانس به‌طور معمول در سطح فیلم جمع شده و باعث ایجاد ناهمگونی در سطح می‌شود (شکل 2). البته در غلظت‌های پایین اسانس این تغییرات چندان قابل ملاحظه نمی‌باشد [10]. در بررسی اثر اسانس‌های مختلف به فیلم پروتئینی که توسط پیرز و همکاران (2013) [23] انجام شد، تمام اسانس‌ها باعث کاهش در مقدار پارامترهای  $L^*$  و  $a^*$  و  $b^*$  شدند، و تنها اسانس آویشن باعث افزایش در پارامتر  $b^*$  شد و شفافیت تمام فیلم‌ها نیز کاهش نشان داد، ولی از نظر کدورت اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند.

### 3-6- ویژگی‌های مکانیکی فیلم

ویژگی‌های مکانیکی، تحت تأثیر چند عامل از جمله برهم‌کنش‌های بین ترکیبات فیلم، شرایط دمایی، فیزیکی و شیمیایی است [10]. میانگین درصد کشش، استحکام کششی و مدول الاستیسیته فیلم‌ها در شکل 3 نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که اسانس پونه کوهی باعث کاهش معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) روی درصد کشش و استحکام کششی و مدول الاستیسیته فیلم‌ها شده و این به خاطر تغییر در یکنواختی ساختار شبکه فیلم توسط اسانس است. بعد از افزودن اسانس پونه کوهی درصد کشش حدود 4 درصد،

$CIEL^*a^*b^*$  تعیین گردید.  $L^*$  نشان دهنده روشنایی (0=سیاهی تا 100=سفیدی)،  $a^*$  شاخصی از میزان قرمزی (+) یا سبزی (-) و  $b^*$  شاخصی از میزان زردی (+) یا آبی (-) است. همان‌طور که مشاهده می‌شود مقایسه میانگین داده‌ها از لحاظ پارامتر  $L^*$ ، اختلاف معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) بین نمونه‌ها وجود دارد و فیلم بدون اسانس دارای بالاترین مقدار است؛ اما بعد از آن فیلم حاوی اسانس پونه کوهی فیلمی با رنگ متمایل به زرد ایجاد کرده است. دلیل این تفاوت‌ها به خاطر رنگ اسانس می‌باشد که با ایجاد کدورت روی میزان روشنایی و یکنواختی ساختار سطحی فیلم اثر گذاشته است. داده‌ها از نظر پارامتر  $a^*$  برای فیلم بدون اسانس و فیلم حاوی اسانس پونه کوهی اختلاف معنی‌داری با هم نداشته‌اند ( $p > 0/05$ ). ولی نمونه‌ها از لحاظ پارامتر  $b^*$  اختلاف معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) داشتند و همگی در ناحیه آبی قرار گرفتند، چرا که همگی مقداری منفی به خود گرفته‌اند. فیلم بدون اسانس، منفی‌ترین مقدار را به خود اختصاص داده است که این به دلیل عدم وجود اسانس و تأثیر آن روی این پارامتر رنگی است.

در مورد اختلاف رنگ نمونه‌ها ( $\Delta E$ ) با فیلم بدون اسانس به عنوان مرجع، اختلاف بالایی مشاهده می‌شود که این اختلاف به خاطر حرکت فاز روغنی اسانس به سطح فیلم HPMC طی خشک کردن و تأثیر آن روی ویژگی‌های رنگی است. اسانس پونه کوهی دارای رنگ زرد روشن است. افزودن اسانس به



شکل (2) فیلم HPMC بدون اسانس (a) و فیلم حاوی اسانس پونه کوهی (b).

جدول (3) مقایسه میانگین ( $\pm SD$ ) پارامتر  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$  و  $\Delta E$  رنگ سنجی برای فیلم

صفت	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
HPMC	$95/5 \pm 0/2^a$	$0/45 \pm 0/1^a$	$-1/3 \pm 0/2^b$	0
HPMC-EO	$89/3 \pm 0/1^b$	$0/2 \pm 0/1^a$	$-0/1 \pm 0/1^a$	$38/9 \pm 2/1$

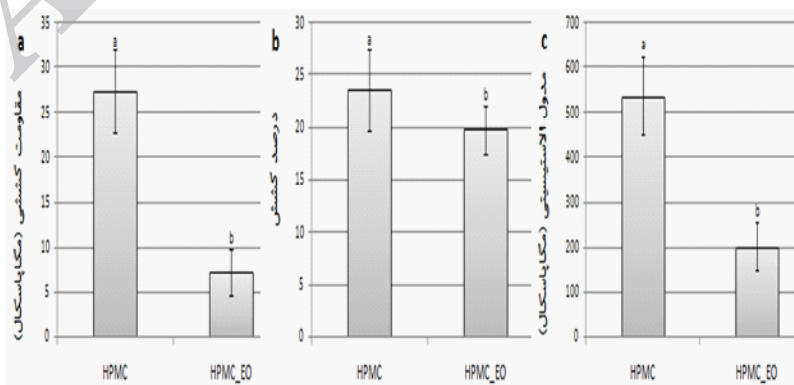
حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها می‌باشد ( $p > 0/05$ ).

یکسانی را برای استفاده از اسانس‌ها در فیلم‌ها مشاهده کرد.

### 3-7- بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

یکی از کاربردهایی که برای فیلم‌های حاوی اسانس به تازگی به آن توجه شده، توانایی محافظتی آن‌ها در برابر اکسیداسیون چربی‌ها است. اسانس‌ها در طی زمان این توانایی را دارند که از سطح فیلم به داخل محیط وارد شوند و به این ترتیب در طی زمان با آزاد شدن تدریجی اسانس باعث جلوگیری از واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد در داخل روغن می‌شوند. در شکل 4 تغییرات عدد پراکسید روغن سویای نگهداری شده توسط فیلم بدون اسانس، فیلم حاوی اسانس پونه کوهی و بدون محافظ (روغن داخل شیشه) طی انبارداری در دمای 40 درجه سانتی‌گراد دیده می‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود در طی انبارداری بر مقدار پراکسید تمام نمونه‌ها افزوده شده است. مقدار پراکسید در نمونه شاهد، یعنی روغن بسته‌بندی شده توسط شیشه، روز اول 1/53 میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن و در روز آخر دارای بیش‌ترین مقدار برابر 92/67 میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن، نسبت به نمونه‌های بسته‌بندی شده توسط فیلم خوراکی بود. هم‌چنین مقدار پراکسید در نمونه‌های پوشیده شده توسط فیلم‌های بدون اسانس و فیلم حاوی اسانس پونه کوهی در روز آخر به ترتیب برابر با 85/89 و 59/78 میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود. در پایان دوره نگهداری بیش‌ترین مقدار عدد پراکسید به ترتیب مربوط به نمونه بدون پوشش فیلم خوراکی (روغن داخل شیشه) و روغن پوشیده شده توسط فیلم بدون اسانس و کم‌ترین مقدار مربوط به روغن پوشیده شده

مقاومت کششی حدود 20 مگا پاسکال و مدول الاستیسیته حدود 335/5 مگا پاسکال کاهش نشان داد. در واقع اسانس باعث کاهش میزان استحکام رشته‌های پلیمر HPMC به علت تجمع قطرات روغن اسانس در فضاها بین پلیمر می‌شود [24، 15]. نتایج مشابهی نیز توسط سایر محققان گزارش شده است. سانچز-گونزالز و همکاران (2009) [21]، در بررسی اثر اسانس درخت چای در فیلم خوراکی HPMC اعلام کردند که در غلظت 2٪ اسانس درصد کشش فیلم تغییرات معنی‌داری نداشته ولی مقاومت کششی و مدول الاستیسیته به صورت معنی‌داری کاهش یافته‌اند. حسینی و همکاران (2009) [24]، در بررسی خواص فیلم‌های خوراکی تولید شده از کیتوزان محتوی اسانس‌های آویشن و میخک اعلام کردند با افزایش غلظت اسانس مقاومت کششی به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند. حضور اسانس، سبب به‌هم خوردن تراکم ساختاری و کاهش مقاومت نمونه‌های حاوی اسانس در برابر کشش شد. به‌طور کلی فیلم‌های حاوی اسانس میخک خواص مکانیکی بهتری نسبت به فیلم‌های حاوی اسانس آویشن نشان دادند. پیرز و همکاران (2013) [23]، در بررسی اثر چند نوع اسانس در فیلم پروتئینی مشاهده کردند که همه اسانس‌ها بجز سنبل هندی، باعث کاهش مقاومت کششی و اسانس آویشن باعث کاهش درصد کشش تا نقطه شکست می‌شود. هم‌چنین اسانس ترخون تفاوت معنی‌داری با فیلم بدون اسانس نداشت، اما سایر اسانس‌ها باعث افزایش درصد کشش شدند. از آن‌جا که در هر نوع اسانس، ترکیبات مختلفی وجود دارد و تنها چند نوع از این ترکیبات در اسانس غالب هستند، بنابراین نتایج مختلفی در اثر کاربرد هر نوع اسانس مشاهده می‌شود. بنابراین نمی‌توان روند



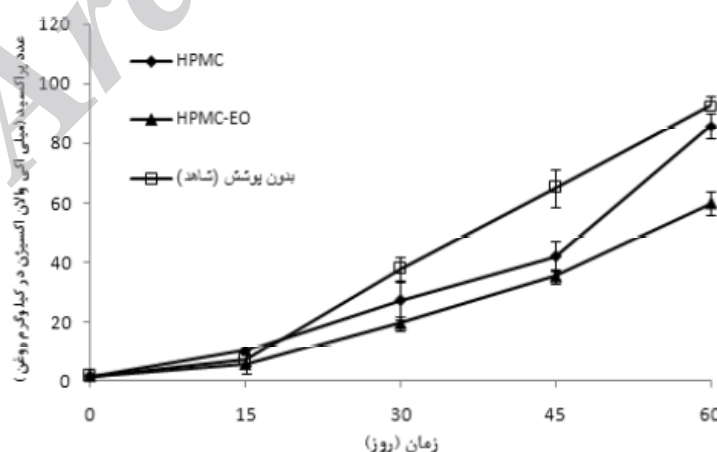
شکل (3) تأثیر اسانس پونه کوهی بر (a) مقاومت کششی، (b) درصد کشش و (c) مدول الاستیسیته فیلم HPMC

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس توانایی خوبی نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT از خود نشان داد. اسانس پونه کوهی به دلیل افزایش خاصیت آب‌گریزی فیلم باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب می‌شود. مقدار نفوذپذیری به اکسیژن نیز با افزودن اسانس کاهش یافت، چون که اسانس باعث پرکردن فضاهای خالی شبکه فیلم و در نتیجه کاهش نفوذپذیری به اکسیژن شده است. افزودن اسانس باعث کاهش شفافیت و روشنایی فیلم‌ها شده و تغییرات رنگ آن در مقایسه با فیلم بدون اسانس توسط چشم نیز به خوبی قابل مشاهده بود. در بررسی خواص مکانیکی فیلم‌ها، اسانس باعث کاهش درصد کشش، مقاومت کششی و مدول الاستیسیته شده‌اند، یعنی به‌طور کلی باعث کاهش سفتی فیلم‌ها شدند. در بررسی تغییرات عدد پراکسید فیلم‌های حاوی اسانس پونه کوهی اثر بهتری در جلوگیری از اکسیداسیون روغن در مقایسه با نمونه پوشیده شده توسط فیلم بدون اسانس از خود نشان دادند. با این حال تحقیقات بیش‌تری درباره کاربرد این فیلم‌ها و خواص ضد میکروبی آن‌ها مورد نیاز است. اسانس‌های مختلف دارای ترکیبات مختلفی هستند که یک یا چند ترکیب در آن‌ها غالب است و می‌توانند باعث تغییرات مختلفی در ویژگی‌های فیلم شوند. بنابراین نیاز به بررسی تأثیر هر کدام از این ترکیبات به تنهایی و به صورت مشترک در ترکیب با فیلم است.

توسط فیلم حاوی اسانس پونه کوهی بود. همان‌طور که در شکل 4 معلوم است، تغییرات عدد پراکسید از روز پانزدهم به بعد در تمام نمونه‌ها دارای شیب بیش‌تری است، اما این روند افزایش عدد پراکسید برای فیلم حاوی اسانس پونه کوهی نسبت به سایرین کم‌تر بوده و در تمام دوره نگهداری دارای شیب به نسبت ثابتی است و این به معنی آزادسازی تدریجی اسانس در طول مدت نگهداری است. میانگین عدد پراکسید نیز در کل دوره انبارداری نشان می‌دهد که کم‌ترین میانگین میزان پراکسید به ترتیب به فیلم‌های حاوی اسانس پونه کوهی با میانگین 24/3، فیلم بدون آنتی‌اکسیدان با میانگین 33/3 و نمونه شاهد داخل شیشه برابر با 40/8 میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود. تحقیقات سایر محققان نشان داده است که فیلم‌های حاوی اسانس و ترکیبات فعال دیگر توانایی خوبی در کاهش روند اکسیداسیون داشته‌اند [15، 23].

#### 4- نتیجه‌گیری

به علت مشکلات پلیمرهای نفتی در آلودگی محیط زیست، فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر شاید نتوانند به جای همه انواع بسته‌بندی‌ها به کار روند، اما توانایی جایگزینی بسیاری از این بسته‌بندی‌ها را دارند. این فیلم‌ها دارای توانایی منحصر به فرد حمل افزودنی‌های غذایی نیز هستند که باعث کاربرد آن‌ها در سطحی بالاتر از سایر بسته‌بندی‌ها می‌شود. در اندازه‌گیری



شکل (4) تغییرات عدد پراکسید روغن بسته‌بندی شده با فیلم خوراکی HPMC با و بدون اسانس پونه کوهی و نمونه پوشیده نشده با فیلم

antioxidative activity of oregano essential Oil. *Food Chem.*, 85, 633-40.

[10] Sánchez-González, L., Vargas, M.a., González-Martínez, C., Chiralt, A., Cháfer, M. (2011). Use of essential oils in bioactive edible coatings. *J. Food Eng. Rev.*, 3, 1-16.

[11] Ebrahimabadi, A.H.A., Mazoochi, F.J., Kashi, Z., Djafari-Bidgoli, Batooli., H. (2010). Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of the aerial parts of *salvia eremophila boiss.* Iran. *Food Chem. Toxicol.*, 48, 1371-6.

[12] Viuda-Martos, M.M.A., Mohamady, J., Fernández-López, K.A., Abd ElRazik., E.A., Omer, J.A., Pérez-Alvarez, Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from egyptian aromatic plants. *Food Control.*, 22, 1715-22.

[13] Gulcin, I., Elmastas, M., Enein., H.Y.A. (2012). Antioxidant activity of clove oil - a powerful antioxidant source. *Arab J. Chem.*, 5, 489-99.

[14] AOCS. (1998). Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society method Cd 8-53, Fifth Ed. Champaign, American oil chemists-Society (USA).

[15] Atarés, L., Pérez-Masiá, R., Chiralt, A. (2011). The role of some antioxidants in the hpmc film properties and lipid protection in coated toasted almonds. *J. Food Eng.*, 104, 649-56.

[16] ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In standards designations: D882. Annual book of ASTM. Philadelphia, Pa: American society for testing and materials.

[17] ASTM. (1983). Standard test method for determining gas permeability characteristics of plastic film and sheeting. In standards designations: D1434-82. Annual book of ASTM standards. Philadelphia, Pa: American society for testing and materials.

## منابع

[1] Embuscado, M.E., Huber, K.C. (2009). *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Springer, Dordrecht Heidelberg, New York.

[2] Miller, K.S., Krochta, J.M. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films. *Trends. Food Sci. Technol.*, 8, 228-37.

[3] Kester, J.J., Fennema, O. (1986). Edible films and coatings: A Review. *J. Food Sci.*, 40, 47-59.

[4] Krochta, J.M., Mulder-Johnston, C.D. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.*, 51(2), 61-74.

[5] Perez-Gago, M.B., Serra, M., Alonso, M., Mateos, M., Del Río, M.A. (2005). Effect of whey protein- and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. *Post-harvest Biol. Technol.*, 36, 77-85.

[6] Pastor, C., Sanchez-Gonzalez, L., Chafer, M., Chiralt, A., Gonzalez-Martinez, C. (2010). Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Carbohydr Polym.*, 82, 1174-83.

[7] Akhtar, M.J., Jacquot, M., Jasniewski, J., Jacquot, C., Imran, M., Jamshidian, M., Paris, C., Desobry, S. (2012). Antioxidant capacity and light-aging study of hpmc films functionalized with natural plant extract. *Carbohydr Polym.*, 25, 1-9.

[8] Lagouri, V., Blekas, G., Tsimidou, M., Kokkini, S., Boskou, D. (1993). Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung.*, 197, 20-23.

[9] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing

- [18] ASTM. (1995). Standard test methods for water vapour transmission of materials. In standards designations: E96-95. Annual book of ASTM standards. Philadelphia, Pa: American society for testing and materials.
- [19] Rocha-Guzma'n, N.E., Gallegos-Infante, J.A., Gonzalez-Laredo, R.F., Ramos-Go'mez, M., Rodriguez-Mun'oz, M.E., Reynoso-Camacho, R., Rocha-Urbe, A., Roque-Rosales, M.R. (2007). Antioxidant effect of oregano (*lippia berlandieri* V. shauer) essential oil and mother liquors. *Food Chem.*, 102, 330-5.
- [20] Sahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *origanum vulgare* ssp. Vulgare in the eastern anatolia region of Turkey. *Food Control.*, 15, 549-57.
- [21] Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., Cháfer, M. (2009). Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloid.*, 23, 2102-9.
- [22] Sánchez-González, L., Chiralt, A., González-Martínez, C., Cháfer, M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *J. Food Eng.*, 105, 246-53.
- [23] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M.L.A.M. (2013). Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties *Food Hydrocolloid.*, 30, 224-31.
- [24] Hosseini, M.H., Razavi, S.H., Mousavi, M.A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *J. Food Process. Preserv.*, 33, 727-43.