

مطالعه تأثیر دما و حضور نانوتقویت کننده بر مهاجرت آنتی اکسیدان TBHQ از فیلم نانوکامپوزیت فعال بر پایه

پلی لاکتیک اسید

هادی الماسی^۱، بابک قنبرزاده^{۲*}، جلال دهقان نیا^۳، علی اکبر انتظامی^۴، اصغر خسروشاهی اصل^۵

۱. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۳. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۴. استاد گروه شیمی پلیمر دانشکده شیمی دانشگاه تبریز

۵. استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۲۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۲/۱۹)

چکیده

در این پژوهش فیلم نانوکامپوزیت فعال بر پایه پلی لاکتیک اسید (PLA) حاوی آنتی اکسیدان ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) تولید شد. به منظور تهیه فیلم فعال و فیلم نانوکامپوزیت فعال PLA، به ترکیب این بیوپلیمر به ترتیب TBHQ (۳ درصد وزنی) و مخلوط TBHQ (۳ درصد وزنی) و نانوفیبر سلولز اصلاح شده (MCNF) (۸ درصد وزنی) اضافه شد. مطالعه رهایش آنتی اکسیدان نشان داد که روند رهایش TBHQ به سمولانت اتانول ۹۵ درصد با افزودن MCNF کاهش می یابد. حضور MCNF اثر افزایشی دما بر روند رهایش را کاهش داد. با افزایش دما از ۴°C به ۴۰°C، ضریب انتشار برای فیلم PLA-TBHQ و PLA-MCNF-TBHQ به ترتیب از ۶/۷۵ و ۴/۳۴ × ۱۰^{-۸} cm².s⁻¹ به ۱۹/۸۵ و ۸/۴۹ × ۱۰^{-۸} cm².s⁻¹ افزایش یافت. همچنین حضور MCNF موجب افزایش انرژی فعال سازی انتشار (E_a) در فیلم نانوکامپوزیت فعال شد.

کلیدواژگان: پلی لاکتیک اسید، فیلم نانوکامپوزیت فعال، نانوفیبر سلولز اصلاح شده، نرخ رهایش.

شده است (Ahmed et al., 2011).

مقدمه

امروزه به منظور کاهش سرعت واکنش های اکسیداسیون در مواد غذایی از انواع گوناگونی از آنتی اکسیدان ها استفاده می شود که رایج ترین آنها آنتی اکسیدان های سنتزی چون بوتیل هیدروکسی آنیزول^۳ (BHA)، بوتیل هیدروکسی تولوئن^۴ (BHT)، ترت بوتیل هیدروکینون^۵ (TBHQ)، و پروپیل گالات^۶ (PG) هستند. به دلیل تأثیرات سوئی که مصرف دوز بالای این نوع آنتی اکسیدان ها بر سلامت مصرف کننده دارد و خاصیت سرطان زایی آنها که به اثبات رسیده است، مصرف آنتی اکسیدان های سنتزی به مقادیر کمتر از ۲۰۰ mg/kg محدود شده است (Restuccia et al., 2010). روشی جایگزین برای کاهش تأثیرات سوء مصرف آنتی اکسیدان های سنتزی، تهیه بسته بندی فعال آنتی اکسیدانی^۷ است. بسته بندی های فعال آنتی اکسیدانی نوعی سیستم نگهداری مواد غذایی است که در

پلی لاکتیک اسید^۱ (PLA) از پلیمرهای زیست تخریب پذیری است که به دلیل قابلیت تجدید پذیری و ویژگی های منحصر به فرد خود، به عنوان یکی از جایگزین های پلیمرهای با پایه نفتی به ویژه پلی اتیلن ترفتالات و پلی استایرن مطرح است. PLA پلی استر ترموپلاستیک با زنجیر خطی است که از منابع تجدید پذیر تولید می شود. لاکتیک اسید به عنوان مونومر تشکیل دهنده PLA، از تخمیر مواد اولیه گیاهی از جمله ذرت به دست می آید (Jamshidian et al., 2010). PLA ویژگی های مطلوبی مانند استحکام مکانیکی بالا، شفافیت، و بازدارندگی در مقابل عبور نور فرابنفش را دارد. این بیوپلیمر دارای انعطاف پذیری کمی است که می توان با استفاده از ترکیب با پلیمرهای زیست تخریب پذیر دیگر و نرم کننده ها، خواص آن را اصلاح کرد (Suprakas et al., 2002). همچنین استفاده از آن به عنوان ماده در تماس با مواد غذایی، از سوی سازمان غذا و دارو^۲ (FDA) آمریکا مجاز شمرده

3. Butylated hydroxyanisole

4. Butylated hydroxytoluene

5. Tert-butylhydroquinone

6. Propyl gallate

7. Antioxidant active packaging

* نویسنده مسئول: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir

1. Poly(lactic acid)

2. Food and Drug Administration

آن، یک یا مخلوطی از چند آنتی‌اکسیدان در داخل شبکه پلیمر ماده بسته‌بندی قرار گرفته است و در طول مدت نگهداری ماده غذایی، به‌صورت کنترل‌شده به داخل آن آزاد می‌شود و با افزایش پایداری اکسیداتیو محصول غذایی، ماندگاری آن را افزایش می‌دهد.

در طی سال‌های اخیر، فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی گوناگونی حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی طراحی شده و تأثیر آنها بر افزایش پایداری اکسیداتیو محصولات غذایی گوناگون به‌اثبات رسیده است (Jongjareonrak et al., 2008; Byun et al., 2010; Mastromatteo et al., 2009; Gemili et al., 2010; Souza et al., 2010; Decastillo et al., 2011). نکته مهمی که بایستی در طراحی بسته‌بندی فعال مدنظر قرار گیرد، کنترل مهاجرت ترکیب فعال و دستیابی به یک رهایش کنترل‌شده^۱ است (Koontz et al., 2010). به‌دلیل وزن مولکولی کم اکثر ترکیبات فعال، مهاجرت آنها از بستر پلیمری با سرعت بالایی انجام گرفته است و بنابراین پس از مدت کوتاهی، فیلم خاصیت فعال بودن خود را از دست می‌دهد و خروج مولکول‌های ترکیب فعال از فضای بین رشته‌های پلیمری، به تضعیف خواص پلیمر از جمله خواص بازدارندگی و مکانیکی آن منجر خواهد شد (Siro' et al., 2006). در طی سال‌های اخیر، مطالعات معدودی در زمینه کنترل رهایش ترکیبات فعال از مواد بسته‌بندی صورت گرفته است. تولید فیلم چندلایه (Han and Floros, 1998; Mastromatteo et al., 2009; Buonocore et al., 2005) درون‌پوشانی ترکیبات فعال با مواد گوناگون (Koontz et al., 2007; Zhang and Kosaraju, 2010)، و استفاده از ذرات آبگریز موم (Ozdemir and Floros, 2003) از مهم‌ترین روش‌های مورد استفاده برای کنترل رهایش ترکیبات فعال است.

آنتی‌اکسیدان TBHQ رایج‌ترین آنتی‌اکسیدان استفاده‌شده در تولید روغن‌های خوراکی در ایران و قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان در صنعت روغن است. با توجه به ماهیت آبگریز آنتی‌اکسیدان TBHQ، استفاده از نانوتقویت‌کننده‌های رشته‌ای آبگریز در ترکیب فیلم PLA می‌تواند روش مناسبی برای کنترل رهایش TBHQ از شبکه این فیلم تلقی شود. نانوفیبر سلولز^۲ (CNF) از نانورشته‌هایی است که در طی سال‌های اخیر، تأثیر آن به‌عنوان نانوتقویت‌کننده، در پلیمرهای گوناگون مطالعه شده است (Kaushik et al., 2010; Ibrahim et al., 2010; Dobрева et al., 2011; Cherian et al., 2010; et al., 2010). مقاومت مکانیکی بالا، نسبت سطح به حجم زیاد، چگالی پایین، سهولت دسترسی، قیمت مناسب، و زیست‌تخریب‌پذیری از مهمترین ویژگی‌هایی است که CNF را به یک نانوپرکننده مناسب بدل می‌کند (Abdul Khalil et al., 2012). مهمترین محدودیت CNF در تولید نانوکامپوزیت‌ها ویژگی آبدوستی و سطح قطبی فیبرهای سلولز است که موجب کاهش سازگاری بین‌سطحی^۳ آن با پلیمرهای غیرقطبی، جذب رطوبت، و همچنین تجمع و توده‌شدن نانوفیبرها در شبکه پلیمر در اثر ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین‌رشته‌ای می‌شود. اصلاح سطحی رشته‌های CNF و کاهش ماهیت قطبی آنها از مهمترین راهکارهایی است که در جهت رفع این معایب استفاده شده است (Cunha et al., 2010). تاکنون مطالعات متعددی در زمینه اصلاح سطحی CNF و استفاده از آن در تهیه نانوکامپوزیت بر پایه PLA گزارش شده است (Bondeson & Oksman., 2007; Lin et al., 2011; Yu et al., 2013; Frone et al., 2010; et al., 2010). تمامی این محققان به تأثیر مثبت نانوفیبر سلولز اصلاح‌شده^۴ (MCNF) بر خواص فیزیکوشیمیایی فیلم PLA اشاره کرده‌اند. روشی مطلوب برای تهیه نانوتقویت‌کننده کاملاً زیست‌تخریب‌پذیر، استریفیکاسیون سلولز با اسیدهای چرب (به‌عنوان موادی زیست‌تخریب‌پذیر و تجدیدپذیر) است. اسیدهای چرب به‌صورت کووالانسی و به‌وسیله واکنش استریفیکاسیون به سطح رشته‌های سلولز متصل می‌شوند و استفاده از آنها می‌تواند به تقویت خواص فیلم PLA کمک کند (Freire et al., 2006).

طبق بررسی‌های انجام‌شده، تاکنون مطالعه مشخصی در زمینه تولید نانوکامپوزیت PLA حاوی CNF اصلاح‌شده با اسید چرب گزارش نشده است. همچنین تولید نانوکامپوزیت فعال بر پایه PLA که همزمان حاوی یک نانوتقویت‌کننده و یک ترکیب فعال باشد، تاکنون بررسی نشده است. مطابق نتایج اولیه این پژوهش، افزودن ۸ درصد وزنی MCNF می‌تواند به بهبود خواص فیزیکوشیمیایی فیلم PLA (همچون افزایش درجه بلورینگی) منجر شود (Almasi et al., 2013, 2014). هدف از این پژوهش، تهیه فیلم نوین نانوکامپوزیت فعال آنتی‌اکسیدانی بر پایه پلی‌لاکتیک‌اسید بوده است و تأثیر حضور داشتن یا نداشتن MCNF بر کنترل رهایش TBHQ در دماهای گوناگون مطالعه شد. آزمون مهاجرت با استفاده از سیمولانت اتانول ۹۵ درصد

1. Controlled release
2. Cellulose Nanofiber

3. Interfacial compatibility
4. Modified cellulose nanofiber

یکدیگر، دیسپرسیون MCNF در کلروفورم به مدت ۶ ساعت در دمای اتاق در حمام اولتراسوند (USD 4R، ژاپن) قرار گرفت. محلول ۴ درصد وزنی PLA در کلروفورم تهیه شد و به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق هم‌زده شد تا گرانول‌ها به صورت کامل حل شوند و محلول یکنواختی به دست آید. برای تهیه فیلم‌های بیوپلیمری از روش حلال^۳ استفاده شد. برای تهیه فیلم‌های PLA ۳۵ گرم از محلول PLA روی پلیتی شیشه‌ای با قطر ۱۰ سانتی‌متر ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شد تا فیلم‌هایی با ضخامت حدود $300 \pm 5 \mu\text{m}$ اندازه‌گیری شده توسط میکرومتر Alton با دقت 0.1 mm (ساخت چین) تولید شود. با توجه به آزمون‌های اولیه که روی فیلم‌های PLA حاوی TBHQ و MCNF صورت گرفته بود، مشخص شد که در غلظت ۳ درصد TBHQ و ۸ درصد MCNF مطلوب‌ترین فیلم‌ها از نظر ویژگی‌های بازدارندگی، خواص حرارتی، و ویژگی‌های مکانیکی حاصل می‌شود (Almasi et al., 2013, 2014). به همین منظور در ادامه پژوهش نیز غلظت این دو ترکیب ثابت در نظر گرفته شد. بنابراین برای تهیه فیلم فعال حاوی آنتی‌اکسیدان، مقدار ۳ درصد وزنی، TBHQ به محلول PLA اضافه و پس از ۴ ساعت هم‌زدن، بر سطح پلیت شیشه‌ای پخش شد تا خشک شود. برای تهیه فیلم‌های نانوکامپوزیت فعال، دیسپرسیون ۸ درصد MCNF به محلول PLA اضافه شد. پس از ۴ ساعت هم‌زدن، مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت تحت تیمار اولتراسوند قرار گرفت و سپس TBHQ به میزان ۳ درصد وزنی به آن اضافه و طبق روش مذکور خشک شد. فیلم‌های فعال و نانوکامپوزیت فعال که به ترتیب حاوی ۳ درصد TBHQ و مخلوط ۸ درصد MCNF و ۳ درصد TBHQ بودند، به ترتیب با علائم اختصاری PLA-TBHQ و PLA-MCNF-TBHQ نشان داده شدند. فیلم خالص PLA نیز با نام PLA مشخص شد.

بررسی مهاجرت آنتی‌اکسیدان از فیلم‌های فعال

آزمون رهایش آنتی‌اکسیدان

اتحادیه اروپا اتانول ۹۵ درصد را به عنوان سیمولانت غذاهای چرب پیشنهاد و تأیید کرده است (Veraart, 2010). به همین دلیل در این پژوهش نیز از سیمولانت اتانول ۹۵ درصد برای انجام آزمون رهایش آنتی‌اکسیدان استفاده شد. آزمون مهاجرت دوطرفه^۴ با غوطه‌وری کامل^۵ به عنوان روش استفاده شده انتخاب

به عنوان مشابه غذایی غذاهای چرب انجام شد و ضریب انتشار^۱ (D) آنتی‌اکسیدان از دو نوع فیلم فعال (حاوی TBHQ) و نانوکامپوزیت فعال (حاوی MCNF و TBHQ) در سه دمای متفاوت (40°C ، 25°C ، 4°C) محاسبه شد.

مواد و روش‌ها

مواد

CNF حاصل از درخت سوزنی‌برگ از شرکت نانونین پلیمر (ایران) به صورت ژلی سفیدرنگ با ماده خشک ۲ درصد خریداری شد و به وسیله خشک‌کن انجمادی (Shimidzu، ژاپن) خشک و به پودر تبدیل شد. مهمترین ویژگی‌های CNF تهیه شده عبارت‌اند از: میانگین قطر $\sim 28 \text{ nm}$ ، درجه بلورینگی ~ 72 درصد، و اندازه کریستال $4/6 \text{ nm}$. پلی‌لاکتیک‌اسید PLA.2.4100.CL ($M_w=140000$) به صورت گرانول از شرکت (Kunststoff GmbH) آلمان، کلروفورم به عنوان حلال PLA از شرکت Merck (آلمان)، و TBHQ با درجه خلوص ۹۹ درصد از شرکت Yasho Industries (هند) خریداری شد. مواد شیمیایی استفاده شده برای اصلاح CNF (پیریدین، پاراتولون سولفونیل کلراید، و اولئیک‌اسید) همگی از شرکت Sigma-Aldrich (آلمان) خریداری شد.

روش‌ها

اصلاح سطحی CNF

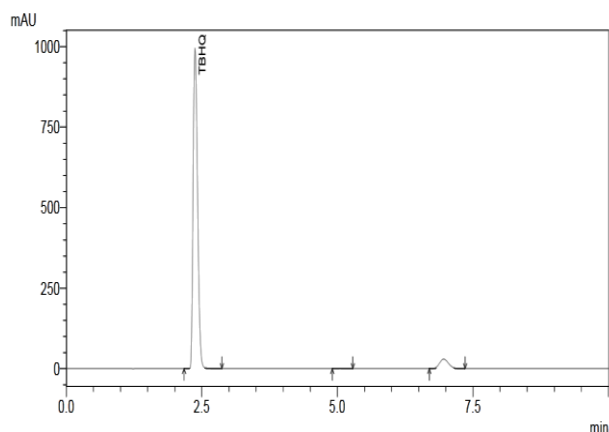
برای اصلاح CNF با اولئیک‌اسید، از سیستم حلال پیریدین/پاراتولون سولفونیل کلراید استفاده شد (Shimizu & Hayashi, 1989). $0/5$ گرم CNF با 15 میلی‌لیتر پیریدین و $3/5$ گرم پاراتولون سولفونیل کلراید مخلوط شد و به‌ازای هر $0/5$ گرم نانوفیبر، 5 گرم اولئیک‌اسید (نسبت مولی ۱:۱ با پاراتولون سولفونیل کلراید) استفاده شد و این میزان اولئیک‌اسید به آهستگی به مخلوط فوق اضافه شد. مخلوط حاصل، در دمای 50°C قرار داده شد و واکنش به مدت ۴ ساعت ادامه یافت. سپس CNF اصلاح‌شده، با اتانول، متانول، و استون شستشو داده شد و به مدت ۶ ساعت با روش سوکسله، اسیدهای چرب آزاد باقی‌مانده در آن جدا شد. در ادامه CNF اصلاح‌شده (MCNF)^۲، در دمای 60°C به مدت ۸ ساعت خشک شد.

تهیه فیلم فعال و نانوکامپوزیت فعال

MCNF در غلظت ۸ درصد وزنی PLA در کلروفورم پخش شد و به منظور پخش بهتر رشته‌های نانوفیبر و جداسازی کامل آنها از

3. Casting method
4. Double sided migration
5. Total immersion

1. Diffusion coefficient
2. Modified cellulose nanofiber



شکل ۱. کروماتوگرام HPLC محلول اتانولی TBHQ و پیک‌های ظاهر شده در آن

اندازه‌گیری ضریب انتشار (D)

ضریب D آنتی‌اکسیدان TBHQ با تعیین میزان آنتی‌اکسیدان مهاجرت‌کرده در زمان‌های متفاوت محاسبه شد. برای این منظور، از حل قانون دوم فیک برای انتشار یک‌بعدی و حجم‌های محدود ماده بسته‌بندی و ماده غذایی می‌توان استفاده کرد (Ortiz-Vazquez *et al.*, 2011; Jamshidian *et al.*, 2012b)

(رابطه ۱)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{1}{(2m+1)^2} \exp\left[-\frac{D(2m+1)^2 \pi^2 t}{l^2}\right]$$

M_t مقدار آنتی‌اکسیدان مهاجرت‌کرده در زمان t ، M_∞ مقدار آنتی‌اکسیدان مهاجرت‌کرده در زمان تعادل، l ضخامت فیلم، D ضریب انتشار (cm^2/s)، و t زمان است. شایان ذکر است از آنجا که آزمون مهاجرت آنتی‌اکسیدان به صورت دوطرفه و حالت غوطه‌وری کامل انجام می‌گیرد اما در عمل، فقط یکی از سطوح پلیمر با ماده غذایی تماس پیدا خواهد داشت، به همین دلیل l که نشان‌دهنده ضخامت فیلم است، به صورت $l/2$ (نصف ضخامت فیلم) در رابطه قرار داده شد تا D برای انتشار از یکی از سطوح فیلم محاسبه شود و به واقعیت نزدیک‌تر باشد.

به منظور برازش داده‌های تجربی با رابطه ۱، از نرم‌افزار MATLAB R2010b (Mathworks, Natick, MA, USA) برنامه رگرسیون غیرخطی در این نرم‌افزار استفاده شد و پس از به حداقل رساندن میانگین مربعات خطا^۳ (SSE)، D به دست آمده به عنوان D قابل قبول برای یک نمونه و در یک دمای خاص گزارش شد (Manzanarez-López *et al.*, 2011).

شد (Jamshidian *et al.*, 2012a) و قطعاتی به ابعاد $2\text{cm} \times 4\text{cm} \times 200\mu\text{m}$ از فیلم‌های فعال PLA-TBHQ و نانوکامپوزیت فعال PLA-MCNF-TBHQ بریده شد و درون ویال‌های شیشه‌ای به حجم ۱۰ ml قرار گرفتند. سپس ۱۰ ml اتانول ۹۵ درصد در آب مقطر (حجمی/حجمی) به عنوان سیمولانت غذاهای چرب (مانند روغن مایع) به درون ویال‌ها ریخته شد، به طوری که فیلم‌ها کاملاً درون آن غوطه‌ور باشند. در ادامه، در آلومینیومی ویال‌ها به صورت کاملاً درزبندی شده روی آنها بسته شد. ویال‌های حاوی فیلم‌ها به منظور قرار گرفتن در سه دمای متفاوت ۴۰، ۲۵، ۴ و سانتی‌گراد به درون یخچال (4°C) و انکوباتور با دمای ۲۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در طول آزمون، هر روز دوبار ویال‌ها تکان داده می‌شدند تا در اثر هم‌خوردن اتانول، مقاومت در برابر انتقال جرم آنتی‌اکسیدان کاهش یابد.

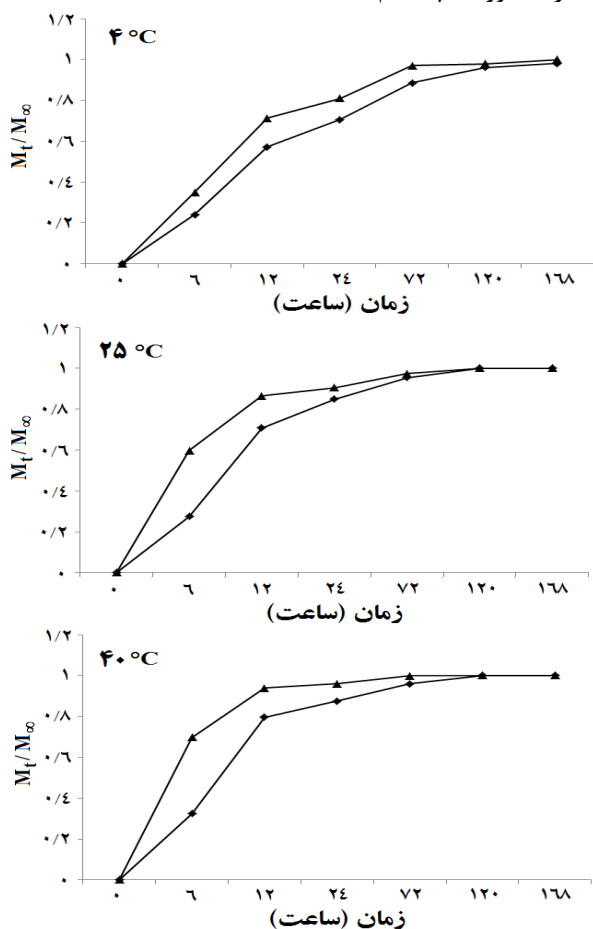
اندازه‌گیری میزان آنتی‌اکسیدان مهاجرت‌کرده به سیمولانت غلظت آنتی‌اکسیدان آزاد شده از فیلم‌ها به داخل سیمولانت، در طول مدت ۷ روز و پس از گذشت ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۲۰، و ۱۶۸ ساعت با آزمون کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. آزمون HPLC با سیستم HPLC (ژاپن، Shimadzu) با این مشخصات انجام گرفت: پمپ LC-20AD، تزریق‌کننده خودکار^۱ SIL-20AC HT، شناساگر UV-Vis (UV-Vis PDA, SPD-M20A)، ستون AltimaTM HP C18, $3\mu\text{m}$ ($150 \times 3\text{mm}$)، و نرم‌افزار پردازش داده Labsolution. برای تعیین میزان آنتی‌اکسیدان موجود در داخل سیمولانت، مقدار ۲۰ μl از هر کدام از نمونه‌ها در دمای 25°C به داخل ستون تزریق شد. با مقایسه زمان بازداری^۲ طیف‌های مربوط به نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد در محدوده ۸۰۰-۲۰۰ nm، پیک مربوط به TBHQ تشخیص داده شد (شکل ۱). به منظور کمی‌سازی داده‌ها و تعیین غلظت TBHQ در سیمولانت‌ها، منحنی کالیبراسیون رسم شد. به این صورت که مقادیر گوناگون حاصل به داخل ستون HPLC تزریق شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون، با تزریق نمونه‌های اصلی و مقایسه آنها با نمونه‌های استاندارد، غلظت TBHQ در نمونه‌ها بر حسب mg/l یا ppm تعیین شد. آزمون مهاجرت نمونه‌های گوناگون در سه تکرار انجام گرفت.

1. Auto-injector

2. retention time

3. Sum of the squares errors

را می‌توان به این صورت خلاصه کرد: ۱. حضور ذرات آبرگیز MCNF، با کاهش هرچه بیشتر قطبیت پلیمر، سازگاری TBHQ را (به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی آبرگیز) با بستر فیلم PLA افزایش و تمایل آن را برای خروج از شبکه پلیمر کاهش می‌دهد، ۲. برهمکنش‌های فیزیکی یا شیمیایی احتمالی بین TBHQ و MCNF، با کاهش تحرک مولکولی TBHQ، موجب کاهش آهنگ مهاجرت آن می‌شود، ۳. افزایش تراکم ساختاری و کاهش تخلخل فیلم در حضور MCNF با کاهش آزادی عمل و تحرک آنتی‌اکسیدان، آهنگ رهایش آن را کاهش می‌دهد، و ۴. حضور فیبرهای سلولزی در بستر PLA موجب ایجاد مسیرهای پرپیچ و خم در مسیر انتشار TBHQ شده است و سرعت حرکت عرضی آن در فیلم PLA را کاهش می‌دهد. نتایج مشابهی توسط Ozdemir و Floros (2003) در زمینه تأثیر ذرات آبرگیز موم بر روند مهاجرت سوربات پتاسیم از فیلم پروتئین آب پنیر گزارش شده است. آنها ادعان داشتند که ایجاد مسیرهای پرپیچ و خم در داخل بستر در حضور ذرات موم دلیلی برای کاهش روند مهاجرت سوربات پتاسیم است.



شکل ۲. روند رهایش TBHQ از فیلم فعال PLA-TBHQ (▲) و فیلم نانوکامپوزیت فعال PLA-MCNF-TBHQ (◆) به سیمولانت اتانول ۹۵ درصد در سه دمای گوناگون

محاسبه انرژی فعال‌سازی انتشار (E_a)

به‌منظور تعیین تأثیر دما بر انتشار TBHQ از فیلم‌های PLA، انرژی فعال‌سازی با استفاده از رابطه آرنیوس^۱ برای انتشار محاسبه شد:

$$D = D_0 \exp\left[-\frac{E_a}{RT}\right] \quad (\text{رابطه ۲})$$

D ضریب انتشار، D₀ ضریب پیش‌نمایی^۳ (ضریب ثابت)، E_a انرژی فعال‌سازی انتشار، R ثابت ایده‌آل گازها (J/K.mol) و T دما برحسب کلون (K) است.

منحنی lnD در مقابل معکوس دما (1/T) رسم و از روی شیب خط آن، E_a محاسبه شد (E_a = -slope.R) (Ortiz- Vazquez et al., 2011).

نتایج و بحث

تأثیر ساختار پلیمر بر رهایش TBHQ

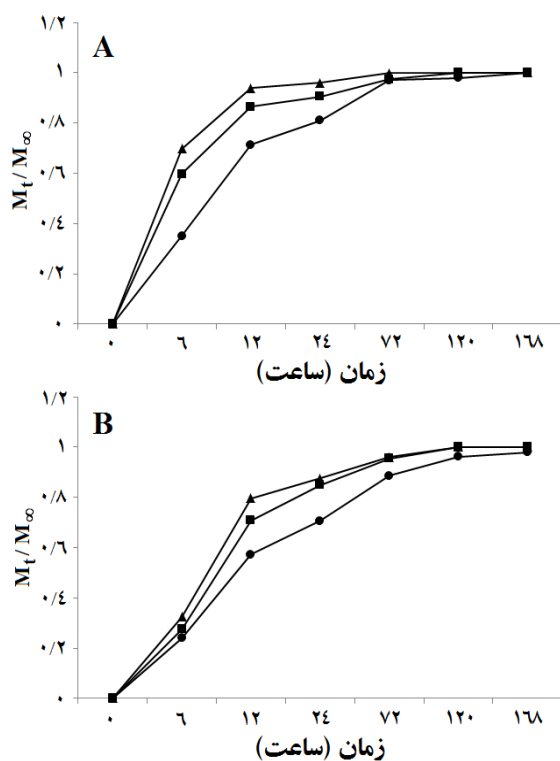
مطابق یافته‌های محققان پیشین، سیمولانت اتانول ۹۵ درصد هرچند از نظر قطبیت مشابه روغن مایع است، اما ویسکوزیته کمتر آن موجب می‌شود که انتشار ترکیب فعال با سرعت بالاتری اتفاق افتد و غلظت TBHQ در سیمولانت اتانول ۹۵ درصد و پلیمر، بسیار زودتر از سیمولانت روغن و پلیمر به حالت تعادل برسد. به‌همین دلیل و با توجه به پیش‌آزمون‌هایی که انجام شد، زمان یک هفته به‌عنوان طول زمان آزمون مهاجرت انتخاب شد.

شکل ۲ سینتیک مهاجرت TBHQ از دو فیلم PLA-TBHQ و PLA-MCNF-TBHQ به سیمولانت اتانول ۹۵ درصد را در دماهای ۴، ۲۵، و ۴۰ درجه سانتی‌گراد با یکدیگر مقایسه می‌کند. همان‌طور که مشخص است، روند مهاجرت TBHQ از فیلم فعال PLA-TBHQ در هر سه دما به‌طور شایان توجهی بیشتر از فیلم نانوکامپوزیت فعال PLA-MCNF-TBHQ است. با توجه به اینکه در یک دمای ثابت آزمون، تنها متغیر موجود، نوع فیلم و تفاوت در ترکیب شیمیایی آن است، بنابراین این اختلاف در سرعت انتشار را می‌توان به ریزساختار و ماهیت فیلم PLA نسبت داد. در نتیجه کاهش آهنگ رهایش TBHQ در فیلم PLA-MCNF-TBHQ به نسبت فیلم PLA-TBHQ را می‌توان به حضور نانوفیبرهای سلولزی آبرگیز نسبت داد. مکانیسم‌های احتمالی کاهش آهنگ مهاجرت TBHQ در اثر حضور MCNF

1. Activation energy
2. Arrhenius equation
3. Pre-exponential factor

تأثیر دما بر رهایش TBHQ

MCNF، T_g فیلم PLA افزایش می‌یابد و بنابراین کاهش تحرک رشته‌های پلیمر و همچنین کاهش هیدرولیز حرارتی PLA نیز دلیل دیگری برای کنترل مهاجرت TBHQ در دماهای بالا است (Almasi *et al.*, 2013, 2014). بنابراین به‌طور کلی می‌توان گفت که حضور MCNF موجب کاهش روند انتشار TBHQ از فیلم PLA تحت تأثیر دماهای بالا می‌شود و فیلم نانوکامپوزیت فعال PLA-MCNF-TBHQ برای مدت‌های طولانی‌تری خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان خواهد داد.



شکل ۳. روند رهایش TBHQ از فیلم فعال (A) PLA-TBHQ و فیلم نانوکامپوزیت فعال (B) PLA-MCNF-TBHQ در دماهای ۴۰°C (●) و ۲۵°C (■)، و ۴۰°C (▲) به سیمولانت اتانول ۹۵ درصد

محاسبه ضریب انتشار (D)

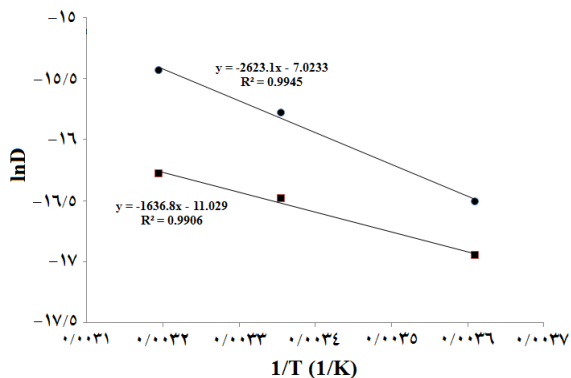
جدول ۱ ضرایب انتشار TBHQ از دو نوع فیلم فعال در سه دمای متفاوت را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است، با ۲۱°C افزایش دما (۲۵-۴°C) مقدار D برای انتشار از فیلم PLA-TBHQ حدود ۲ برابر افزایش می‌یابد و با افزایش مجدد ۱۵ درجه‌ای در دمای آزمون (۴۰-۲۵°C) افزایش D در حدود ۱/۵ برابر است. در زمینه فیلم PLA-MCNF-TBHQ نیز، افزایش D با افزایش دما کاملاً مشخص است با این تفاوت که در این فیلم میزان تغییرات D کمتر از فیلم PLA-TBHQ است. به‌طوری که با ۲۱°C و ۱۵°C افزایش دما، مقدار D به ترتیب ۱/۶ و ۱/۲ برابر افزایش می‌یابد. همان‌طور که مشخص است، تغییرات دما بر فیلم PLA-TBHQ بیشتر از فیلم PLA-

شکل ۳ تأثیر دما بر روند مهاجرت TBHQ از هر دو فیلم را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است، در هر دو نوع فیلم فعال و نانوکامپوزیت فعال با افزایش دما روند رهایش TBHQ افزایش می‌یابد. به‌عنوان مثال، در فیلم PLA-TBHQ نگهداری‌شده در دمای ۴°C، در روز هفتم حالت تعادلی در غلظت TBHQ ایجاد می‌شود در حالی که در نمونه نگهداری‌شده در دمای ۲۵°C در روز پنجم غلظت TBHQ در سیمولانت و پلیمر متعادل می‌شود و همچنین در دمای ۴۰°C این امر سریع‌تر رخ می‌دهد و از روز سوم به بعد، شرایط تعادلی در محیط برقرار می‌شود. تأثیر دما بر افزایش سرعت انتشار ترکیبات فعال، صرف‌نظر از نوع ترکیب فعال، نوع پلیمر، و یا نوع سیمولانت و ماده غذایی، یک اصل کلی در پدیده انتشار محسوب می‌شود به‌طوری که (Ortiz-Vazquez *et al.*, 2011) Manzanarez-López, (2010) Graciano-Verdugo *et al.*, (2011) al. و (2011) al. و (2012a,b) Jamshidian *et al.* درباره تأثیر دما بر روند مهاجرت انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی به سیمولانت‌ها یا مواد غذایی متفاوت به نتایج مشابهی دست یافته‌اند.

با افزایش دما و نزدیک شدن آن به دمای T_g پلیمر، تحرک زنجیرهای PLA افزایش می‌یابد و زمینه برای خروج راحت‌تر و سریع‌تر مولکول‌های TBHQ از داخل شبکه پلیمر فراهم می‌شود. از طرفی، افزایش دما موجب کاهش ویسکوزیته و تحرک بیشتر و مولکول‌های مهاجرت‌کننده می‌شود. این امر مهمترین دلیلی است که در تمامی منابع ذکر شده و به‌عنوان علت افزایش روند مهاجرت آنتی‌اکسیدان با افزایش دما به آن اشاره شده است. هیدرولیز PLA در دماهای بالاتر از ۴۰°C نیز به‌عنوان دلیلی برای افزایش روند انتشار ترکیبات فعال پیشنهاد شده است (Ortiz-Vazquez *et al.*, Jamshidian *et al.*, 2012a). (2011) گزارش کردند که میانگین وزن مولکولی فیلم PLA و فیلم فعال PLA-BHT پس از ۳۰ روز قرارگیری در سیمولانت اتانول ۹۵ درصد در دمای ۴۵°C به ۴۴ درصد میزان اولیه کاهش می‌یابد.

تشکیل بلورهای چگال و افزایش تراکم ساختاری شبکه پلیمر PLA در اثر افزودن MCNF (Almasi *et al.*, 2013, 2014) موجب کاهش تحرک مولکولی آنتی‌اکسیدان در دماهای بالا می‌شود و به این ترتیب، روند رهایش TBHQ از فیلم PLA-MCNF-TBHQ در دماهای بالا کمتر از فیلم PLA-TBHQ خواهد بود. همچنین نتایج مطالعات پیشین نویسندگان نشان داد که به‌دلیل برهمکنش‌های بین‌مولکولی بیشتر بین PLA و

E_a نشان‌دهنده انرژی لازم برای حرکت مولکول‌های ماده مهاجر در بین رشته‌های پلیمر است. مقادیر E_a کمتر برای فیلم PLA-TBHQ نشان‌دهنده این است که انرژی لازم برای انتشار مولکول‌های آنتی‌اکسیدان از بین رشته‌های پلیمر، کمتر از فیلم PLA-MCNF-TBHQ است. به عبارت دیگر، در فیلم PLA-MCNF-TBHQ انرژی لازم برای ایجاد حفرات خالی جهت حرکت مولکول‌های TBHQ بیشتر است و به همین دلیل افزایش دما تأثیر کمتری بر افزایش ضریب D دارد. به‌طور کلی می‌توان گفت که حضور MCNF موجب کاهش حساسیت ضریب انتشار به تغییرات دمایی می‌شود. به عبارت دیگر، در حضور MCNF کاهش یا افزایش دما، کمتر بر تغییرات ضریب انتشار مؤثر خواهد بود.



شکل ۴. نمودار $\ln D$ در مقابل معکوس دما ($1/T$) و نحوه محاسبه انرژی فعال‌سازی انتشار برای فیلم فعال PLA-TBHQ3 (●) و فیلم نانوکامپوزیت فعال PLA-MCNF8-TBHQ3 (■)

نتیجه‌گیری

در این پژوهش مقایسه‌ای بین روند انتشار آنتی‌اکسیدان TBHQ از دو فیلم فعال و نانوکامپوزیت فعال بر پایه PLA صورت گرفت و تأثیر حضور MCNF به‌عنوان نانوپرکننده و همچنین تأثیر دما روی نرخ رهایش آنتی‌اکسیدان مطالعه شد. نتایج نشان داد که افزودن ۸ درصد MCNF قادر است نرخ رهایش TBHQ از شبکه فیلم PLA را کاهش دهد. از طرف دیگر، افزایش دما نیز سرعت انتشار را افزایش داد. با وجود این، تأثیر دما بر افزایش سرعت انتشار از فیلم PLA-MCNF-TBHQ کمتر از فیلم PLA-TBHQ بود. محاسبه انرژی فعال‌سازی انتشار طبق رابطه آرنیوس نیز این نکته را تأیید کرد. به‌طور کلی می‌توان گفت که استفاده از یک نانوتقویت‌کننده سازگار با پلیمر استفاده‌شده در تولید فیلم فعال، علاوه بر بهبود خواص فیزیکوشیمیایی پلیمر، می‌تواند نرخ رهایش ماده مهاجر را کاهش دهد و به‌صورت کنترل‌شده درآورد و در این صورت، فیلم فعال برای مدت طولانی‌تری خاصیت آنتی‌اکسیدانی یا ضد میکروبی خود را حفظ خواهد کرد.

MCNF-TBHQ مؤثر است. مقایسه مقادیر عددی D تأثیر حضور نانوذرات MCNF را بر کاهش روند انتشار TBHQ نشان می‌دهد. در تمامی دماها مقادیر D در فیلم نانوکامپوزیت فعال به‌طور شایان توجهی کمتر از فیلم فعال بود که دلیل آن همان‌طور که قبلاً اشاره شد، برهمکنش‌های بین‌مولکولی بیشتر در اثر حضور MCNF و همچنین تأثیر آن بر ریزساختار و افزایش انسجام و تراکم بستر PLA و کاهش تحرک مولکولی TBHQ است. از روی داده‌های جدول ۱ می‌توان دریافت که در دماهای 4°C ، 25°C و 40°C ، D محاسبه‌شده برای فیلم PLA-MCNF-TBHQ به ترتیب $1/5$ ، 2 و $2/4$ برابر کمتر از فیلم PLA-TBHQ است. از این واقعیت می‌توان چنین استنتاج کرد که تأثیر حضور MCNF بر کاهش سرعت انتشار TBHQ از فیلم PLA، در دماهای بالاتر، بیشتر از دماهای پایین نگهداری است. به عبارت دیگر، با افزایش هرچه بیشتر دما و نزدیکی آن به دمای T_g پلیمر نقش MCNF در کاهش و کنترل تحرک و مهاجرت TBHQ از بستر PLA پررنگ‌تر می‌شود و این امر مزیت فیلم نانوکامپوزیت فعال را در تعدیل و حفظ یکنواخت ویژگی آنتی‌اکسیدانی و کنترل رهایش TBHQ در دماهای گوناگون نگهداری محصول (حتی دماهای بالای مناطق گرمسیری) نشان می‌دهد.

جدول ۱. ضریب انتشار TBHQ از دو فیلم فعال و نانوکامپوزیت فعال PLA به سیمولانت اتانول ۹۵ درصد در دماهای گوناگون

$D(\times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s})$			نوع فیلم
40°C	25°C	4°C	
$19/85 \pm 0/88$	$14/04 \pm 1/01$	$6/75 \pm 0/76$	PLA-TBHQ
$8/49 \pm 1/00$	$6/94 \pm 0/98$	$4/34 \pm 0/33$	PLA-MCNF-TBHQ

محاسبه انرژی فعال‌سازی انتشار (E_a)

در نبود پدیده‌هایی همچون ذوب یا انتقال شیشه‌ای (زیر T_g و بالای T_m)، تأثیر دما بر انتشار یک ماده افزودنی از بستر پلیمر، با استفاده از رابطه آرنیوس به‌خوبی توصیف می‌شود (بین T_g و T_m رابطه^۱ WLF جواب بهتری می‌دهد). شکل ۴ وابستگی D به دما را با استفاده از رابطه آرنیوس نشان می‌دهد. لگاریتم نپری مقادیر ضریب انتشار ($\ln D$) در مقابل عکس دما ($1/T$) برای هر دو فیلم رسم شد و از روی شیب خطوط، انرژی فعال‌سازی انتشار (E_a) محاسبه شد. مقدار E_a برای فیلم‌های PLA-TBHQ و PLA-MCNF-TBHQ به ترتیب برابر $13/6 \text{ kJ/mol}$ و $13/6 \text{ kJ/mol}$ به‌دست آمد.

1. Williams-Landel-Ferry Equation

REFERENCES

- Abdul Khalil, H.P.S., Bhat, A.H. & Ireana Yusra, A.F. (2012). Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers*, 87, 963-979.
- Ahmed, J. & Varshney, S.K. (2011). Polylactides: chemistry, properties and green packaging technology: A review. *International Journal of Food Properties*, 14(1), 37-58.
- Almasi, H., Ghanbarzadeh, B. & Dehghannia, J. (2014). Properties of Poly(lactic acid) nanocomposite film containing modified cellulose nanofiber. *Iranian Journal of Polymer*, 26(6), 483-495 (In Farsi).
- Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannia, J., Entezami, A.A. & Khosrowshahi Asl, A. (2013). Studying the effect of modified cellulose nanofibers on the functional properties of poly(lactic acid) biodegradable packaging. *Journal of research and innovation in Food Science and Technology*, 2(3), 205-218 (In Farsi).
- Bondeson, D. & Oksman, K. (2007). Polylactic acid/cellulose whisker nanocomposites modified by polyvinyl alcohol. *Composites: Part A*, 38, 2486-2492.
- Buonocore, G.G., Conte, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M. & Nobile, M.A. (2005). Mono- and multilayer active films containing lysozyme as antimicrobial agent. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(4), 459-464.
- Byun, Y., Kim, Y.T. & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, 100, 239-244.
- Cherian, B.M., Leao, A.L., de Souza, S.F., Costa, L.M.M., de Olyveira, G.M. & Kottaisamy, M. (2011). Cellulose nanocomposites with nanofibres isolated from pineapple leaf fibers for medical applications. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1790-1798.
- Cunha, A.G. & Gandini, A. (201). Turning polysaccharides into hydrophobic materials: a critical review. Part 1. Cellulose. *Cellulose*, 17, 875-889.
- Decastillo, C.L., Alonso, J.M., Catala, R., Gavara, R. & Munoz, P.H. (2010). Improving the antioxidant protection of packaged food by incorporating natural flavonoids into ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10958-10964.
- Dobrev, T., Benavente, R., Perena, J. M., Perez, E., Avella, M. & Garcia, M. (2010). Effect of different thermal treatments on the mechanical performance of poly(l-lactic acid) based eco-composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 116, 1088-1098.
- Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Pascoal Neto, C., Belgacem, M.N. & Gandini, A. (2006). Controlled heterogeneous modification of cellulose fibers with fatty acids: Effect of reaction conditions on the extent of esterification and fiber properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 100(2), 1093-1102.
- Frone, A.N., Berlioz, S., Chailan, J.F. & Panaitescu, D.M. (2013). Morphology and thermal properties of PLA-cellulose nanofibers composites. *Carbohydrate Polymers*, 91, 377-384.
- Gemili, S., Yemenicioglu, A. & Altinkaya, S.A. (2010). Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties. *Journal of Food Engineering*, 96, 325-332.
- Graciano-Verdugo, A.Z., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Cruz-Zárate, P., Islas-Rubio, A., Sánchez-Valdes, S., Sánchez-Escalante, A., González-Méndez, N. & González-Ríos, H. (2010). Migration of α -tocopherol from LDPE films to corn oil and its effect on the oxidative stability. *Food Research International*, 43, 1073-1078.
- Han, J.H. & Floros, J.D. (1998). Simulating diffusion model and determining diffusivity of potassium sorbate through plastic to develop antimicrobial packaging films. *Journal of Food Processing and Preservation*. 22(2), 107-122.
- Ibrahim, M.M., El-Zawawy, W.K. & Nassar, M.A. (2010). Synthesis and characterization of polyvinyl alcohol/nanospherical cellulose particle films. *Carbohydrate Polymers*, 79, 694-699.
- Jamshidian, M., Arab Tehrany, E. & Desobry, S. (2012a). Release of synthetic phenolic antioxidants from extruded poly lactic acid (PLA) film. *Food Control*, 28, 445-455
- Jamshidian, M., Arab Tehrany, E., Desobry, S. (2012b). Antioxidants release from solvent-cast PLA film: investigation of PLA antioxidant-active packaging. *Food Bioprocess Technology*, 141, 830-344.
- Jamshidian, M., Arab Tehrany, E., Imran, M., Jacquot, M. & Desobry, S. (2010). Poly(lactic acid): production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 552-571.
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Tanak, M. (2008). Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. *Food Hydrocolloids*, 22, 449-458.
- Kaushik, A., Singh, M. & Verma, G. (2010). Green nanocomposites based on thermoplastic starch and steam exploded cellulose nanofibrils from wheat straw. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 337-345.
- Koontz, J.L., Moffitt, R.D., Marcy, J.E., O'Keefe, S.F., Duncan, S.E. & Long, T.E. (2010). Controlled release of α -tocopherol, quercetin, and their cyclodextrin inclusion complexes from linear low-density polyethylene (LLDPE) films into a

- coconut oil model food system. *Food Additives and Contaminants*, 27(11), 1598-1607.
- Lin, N., Huang, J., Chang, P.R., Feng, J. & Yu, J. (2011). Surface acetylation of cellulose nanocrystal and its reinforcing function in poly(lactic acid). *Carbohydrate Polymers*, 83, 1834-1842.
- Manzanarez-López, F., Soto-Valdez, Auras, R. & Peralta, E. (2011). Release of a Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Engineering*, 104, 508-517.
- Mastromatteo, M., Barbuzzi, G., Conte, A. & Del Nobile, M.A. (2009). Controlled release of thymol from zein based film. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 222-227.
- Ortiz-Vazquez, H., Shin, J., Soto-Valdez, H. & Auras, R. (2011). Release of butylated hydroxytoluene (BHT) from Poly(lactic acid) films. *Polymer Testing*, 30, 463-471.
- Ozdemir, M. & Floros, J.D. (2003). Film composition effects on diffusion of potassium sorbate through whey protein films. *Journal of Food Science*, 68, 511-516.
- Restuccia, D., Spizzirri, U.G., Parisi, O.I., Cirillo, G., Curcio, M., Iemma, F., Puoci, F., Vinci, G. & Picci, N. (2010). New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. *Food Control*, 21, 1425-1435.
- Shimizu, Y.I. & Hayashi, J. (1989), Acylation of cellulose with carboxylic acids. *Cellulose Chemistry and Technology*, 23, 661-670.
- Siripatrawan, U. & Harte, B.R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24, 770-775.
- Siro', I., Fenyvesi, E', Szente, L., De Meulenaer, B., Devlieghere, F., Orgova'nyi, J., Se'nyi, J. & Barta, J. (2006). Release of alphatocopherol from antioxidative low-density polyethylene film into fatty food simulant: influence of complexation in beta-cyclodextrin. *Food Additives and Contaminants*, 23(8), 845-853.
- Souza, C.O., Silva, L.T., Silva, J.R., Lopez, J.A., Veiga-Santos, P. & Druzian, J.I. (2011). Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava starch bio-based Film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 2248-2254.
- Suprakas, S.R., Pralay, M., Masami, O., Kazunobu, Y. & Kazue, U. (2002). New polylactide/ layered silicate nanocomposites. 1. Preparation, characterization, and properties. *Macromolecules*, 35, 3104-10.
- Veraart, R. (2010). Compliance testing, declaration of compliance, and supporting documentation in the EU. In: R. Rijk and R. Veraart (eds.). *Global legislation for food packaging materials*. (pp. 199-201) Wiley-VCH Publishing, Germany.
- Yu, T., Ren, J., Li, S., Yuan, H. & Li, Y. (2010). Effect of fiber surface-treatments on the properties of poly(lactic acid)/ramie composites. *Composites: Part A*, 41, 499-505.
- Zhang, L. & Kosaraju, S.L. (2007). Biopolymeric delivery system for controlled release of polyphenolic antioxidants. *European Polymer Journal*, 43, 2956-2966.