

خواص ضد میکروبی، ضد اکسایشی و فیزیکی فیلم‌های بر پایه کیتوزان - کربوکسی متیل سلولز - اسید اولئیک حاوی اسانس دارچین

نوشین نوشیروانی¹، بابک قنبرزاده²، رضا رضایی مکرّم³، مهدی هاشمی⁴

1- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و منابع طبیعی توپسرکان، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
پست الکترونیکی: nooshin_noshirvani87@yahoo.com

2- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

3- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

4- دانشیار دانشکده شیمی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: 95/8/17

تاریخ پذیرش: 96/1/18

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی میکروبی مواد غذایی یکی از مهمترین دلایل از دست رفتن غذا در سراسر دنیا به شمار می‌رود. استفاده از بسته بندی فعال به منظور کاهش آلودگی میکروبی با هدف حذف افزودن مستقیم مواد نگهدارنده به ماده غذایی، روشی نوید بخش در نگهداری مواد غذایی به شمار می‌رود. لذا هدف از این پژوهش افزودن اسانس دارچین به نوعی بسته بندی زیستی و بررسی اثرات آن بر ویژگی‌های مختلف فیلم می‌باشد.

مواد و روش‌ها: فیلم‌های فعال بر پایه کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز- اسید اولئیک حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین به روش ریخته گری (casting) تهیه شدند. اثر غلظت‌های مختلف اسانس دارچین بر روی ویژگی‌های ساختاری، فیزیکی، حرارتی، ضد اکسایشی و ضد کپکی فیلم‌ها به وسیله انجام آزمون‌های پراش پرتو ایکس، طیف سنجی مادون قرمز، زاویه تماس، نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، کدورت، آزمون کششی، DSC، بازداري رادیکال آزاد DPPH و آزمون دیسک انتشار ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج XRD تغییر در اندیس کریستالی پلیمر با افزودن اسانس دارچین به فیلم‌های فعال را نشان داد. برقراری اتصالات جدید بین پلیمر و اسانس دارچین توسط FTIR نشان داده شد. افزودن اسانس دارچین باعث افزایش زاویه تماس، کدورت، ازدیاد طول تا نقطه شکست و خواص ضد اکسایشی و کاهش استحکام کشش نهایی و نفوذ پذیری نسبت به بخار آب فیلم‌ها شد. نتایج آزمون انتشار دیسک خواص ضد کپکی فیلم‌های بر پایه کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز-اسید اولئیک حاوی اسانس دارچین بر روی کپک آسپرژیلوس نایجر را نشان داد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج بدست آمده، فیلم‌های تولید شده به دلیل دارا بودن خواص ضد کپکی و ضد اکسایشی قابل توجه، گزینه مناسبی به منظور تولید بسته بندی‌های مورد استفاده در مواد غذایی به شمار می‌روند.

واژگان کلیدی: فیلم ضد میکروب، کیتوزان، کربوکسی متیل سلولز، اسانس دارچین

• مقدمه

آلودگی میکروبی مواد غذایی نقش مهمی در سلامت مصرف کنندگان دارد. افزودن مستقیم نگهدارنده‌های شیمیایی به مواد غذایی، روش معمول کنترل آلودگی میکروبی به شمار می‌رود. هر چند به دلیل مشکلات احتمالی نگهدارنده‌های مصنوعی بر روی سلامت مصرف کنندگان، توجه به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی و مجاز (GRAS) ضروری می‌باشد (1). استفاده از بسته بندی‌های فعال راهکار مناسبی به منظور حفاظت میکروبی مواد غذایی بدون افزودن مستقیم ترکیبات ضد میکروبی به غذا به شمار می‌رود. بسته بندی فعال نوعی

بسته‌بندی جدید با هدف بهبود مدت زمان ماندگاری، ایمنی و ویژگی‌های حسی مواد غذایی می‌باشد. این نوع بسته بندی در کنار نقش‌های معمول بسته بندی مانند بازدارندگی نسبت به رطوبت و گازها و همپنین محافظت فیزیکی ماده غذایی، به عنوان حامل بسیاری از ترکیبات فعال نظیر ترکیبات ضد اکسایش، مواد ضد میکروبی و طعم دهنده عمل می‌نماید (2). بسته بندی‌های ضد میکروبی یکی از انواع بسته بندی‌های فعال به شمار رفته که در آن ترکیبات ضد میکروبی با ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و مسمومیت در سطح

اسانس دارچین ویژگی‌های ضد میکروبی قوی نشان می‌دهد و به عنوان طعم دهنده در غذاها، همچنین در تولید محصولات آرایشی، بهداشتی و داروسازی کاربرد دارد (12). پژوهش‌های گذشته اثرات ضد میکروب اسانس دارچین را به اثبات رسانده است (13-15). اگر چه در مورد خواص ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی مطالعات زیادی صورت گرفته است؛ اما کاربرد این ترکیبات در فیلم‌های خوراکی محدود است. فعالیت ضد میکروبی فیلم کیتوزان حاوی اسانس برگ دارچین توسط Perdones و همکاران (10) و ویژگی‌های ضد باکتریایی فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس دارچین بر روی لیستریا منوسیتوزنز، اشرشیا کلی، لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس ساکی، سودوموناس فلئورسنس توسط اجاق و همکاران (16) نشان داده شده است. با توجه به مطالعات محدود بر روی اثرات ضد کپکی اسانس‌ها و همچنین اهمیت بسته بندی فعال در سلامت مصرف کنندگان، هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضد کپکی فیلم‌های حاوی اسانس دارچین بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* می‌باشد. همچنین اثر اسانس دارچین بر روی خواص ضد اکسایشی و فیزیکی فیلم‌های بر پایه کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز-اسید اولئیک حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

• مواد و روش‌ها

مواد: کیتوزان با وزن مولکولی پایین (190-50 کیلودالتون) و درجه داستیلاسیون 75-85% و کربوکسی متیل سلولز سدیم با متوسط وزن مولکولی 41000 گرم بر مول از شرکت سیگما آلدریج تهیه شد. گلیسرول، اسید اولئیک و توئین 80 از نماینده شرکت مرک تهیه شدند. همچنین محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار (PDA) از شرکت Biokar Diagnostics فرانسه تهیه شد. معرف 2و2 دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدریج تهیه شد. سولفات کلسیم، نیتريت کلسیم، سولفات پتاسیم، اسید استیک و سایر مواد به کار رفته دارای درجه آزمایشگاهی بود. چوب دارچین از بازار محلی شهر همدان تهیه شد.

استخراج اسانس دارچین: اسانس دارچین به روش تقطیر آبی و توسط دستگاه کلونجر تهیه شد. 500 گرم چوب دارچین آسیاب شده و به همراه 1 لیتر آب داخل مخزن دستگاه ریخته شده و به مدت 3 ساعت حرارت داده شد. سپس رطوبت موجود در اسانس بدست آمده توسط سولفات سدیم آنهیدرو خارج شده و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد.

غذا، آلودگی میکروبی را کنترل می‌نمایند. افزودن ترکیبات ضد میکروبی در ساختار فیلم در مقایسه با پاشش مواد ضد میکروبی بر روی سطح غذا، باعث کاهش نرخ انتشار ترکیبات ضد میکروبی از ماده بسته بندی به داخل محصول شده و بنابراین غلظت‌های نسبتاً بالای مواد فعال را در جایی که مورد نیاز است فراهم می‌نماید (3).

از سوی دیگر، در سال‌های اخیر، افزایش مشکلات زیست محیطی به وجود آمده توسط پلاستیک‌های مشتق شده از ترکیبات نفتی، محدودیت منابع نفتی و همچنین مشکلات فنی بازیافت ضایعات مواد پلاستیکی، توجه محققان و صنعتگران را به یافتن جایگزین‌های مناسب برای پلیمرهای مشتق شده از ترکیبات نفتی معطوف ساخته است (4، 5). در این میان، استفاده از پلیمرهای زیستی بر پایه پروتئین و کربوهیدرات راهکار مناسبی به نظر می‌رسد. کیتوزان یک پلی ساکارید مشتق شده از کیتین بوده که به دلیل دارا بودن ویژگی‌های مناسب مانند قابلیت تشکیل فیلم، نفوذ پذیری انتخابی نسبت به گازها و ویژگی‌های ضد میکروبی در تولید بسته بندی‌های ضد میکروبی مورد توجه زیادی قرار دارد (6). هر چند فیلم خالص کیتوزان به تنهایی خواص مکانیکی، بازدارندگی نسبت به رطوبت، و ویژگی‌های ظاهری مناسبی نشان نمی‌دهد. همچنین قیمت بالای کیتوزان در مقایسه با سایر پلیمرهای زیستی، باعث یافتن راه حل مناسب برای این فیلم شده است. اختلاط کیتوزان با سایر پلیمرها می‌تواند روش مناسبی به منظور بهبود ویژگی‌های فیلم به شمار رود. کربوکسی متیل سلولز (CMC) یکی از پلیمرهای مشتق شده از سلولز بوده که دارای قیمت ارزان و قابلیت تشکیل فیلم بوده و همچنین بازدارندگی مناسبی نسبت به اکسیژن و چربی‌ها داشته و فیلم‌های شفاف تولید می‌نماید (7). لذا تولید فیلم مخلوط کیتوزان و CMC می‌تواند فیلم مطلوبی با ویژگی‌های بینابینی دو پلیمر ایجاد نماید. هر چند پژوهش‌ها نشان داده اند که فیلم‌های کربوهیدراتی بازدارندگی ضعیفی در برابر بخار آب نشان می‌دهند (7، 8). استفاده از ترکیبات لیپیدی در ساختار این فیلم‌ها و تولید فیلم‌های امولسیونه می‌تواند باعث بهبود ویژگی‌های بازدارندگی فیلم‌های کربوهیدراتی شود. به عنوان مثال اثر افزودن روغن‌های گیاهی و اسیدهای چرب در افزایش بازدارندگی نسبت به رطوبت فیلم‌های مختلف به اثبات رسیده است (8، 9).

اسانس‌های گیاهی ترکیبی از ترپن‌ها، ترپنوئیدها و سایر ترکیبات آلیفاتیک می‌باشند (10) اکثر این ترکیبات ویژگی‌های ضد میکروبی نشان می‌دهند و از زمان‌های قدیم به عنوان گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند (11).

ATRVERTEX 70 FTIR ساخت BRUKER فرانسه استفاده شد. در این روش فیلم‌ها به طور مستقیم روی محل نمونه دستگاه قرار گرفته و اسپکترا در محدوده $4000-400\text{ cm}^{-1}$ با 32 اسکن و وضوح 4 cm^{-1} اندازه گیری شد.

کدورت: کدورت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی-ماوراء بنفش (Speccord 210, Analytik AG, Jena, آلمان) و پنج تکرار برای هر آزمون توسط رابطه 2 محاسبه شد (18):

$$\text{کدورت (رابطه 2)} = \frac{\text{میزان جذب طول موج 600 نانومتر}}{\text{ضخامت فیلم}}$$

که در آن ضخامت فیلم بر حسب میلی متر محاسبه شد.

نفوذ پذیری نسبت به بخار آب (WVP): سرعت انتقال بخار بر اساس روش ارائه شده در پژوهش قبل (5) اندازه گیری شد. برای این کار از ظروف شیشه ویژه ای با قطر 2 سانتی متر و ارتفاع 4/5 سانتی متر استفاده شد. روی درپوش این ظرف‌ها منفذی به قطر 8 میلی متر قرار داشت که قطعه ای از فیلم مورد آزمون در این بخش قرار می‌گرفت. 3 گرم سولفات کلسیم که pH معادل صفر ایجاد می‌کند در داخل ظرف‌ها قرار داده شد. ابتدا فیلم‌ها در رطوبت نسبی 55% که با استفاده از کلسیم نیتريت ایجاد شده بود، به مدت 24 ساعت مشروط شدند. سپس قطعه ای از فیلم بریده شد و روی درپوش ظرف شیشه ای قرار گرفت و روی آن بسته شد. ظروف شیشه ای همراه با محتویات آن‌ها توزین شدند و درون خشکانه حاوی محلول سیر شده پتاسیم سولفات قرار گرفتند. پتاسیم سولفات سیر شده در دمای 25°C رطوبت نسبی 98% ایجاد می‌کند. خشکانه داخل انکوباتور با دمای 25°C قرار گرفت. ظروف طی مدت 4 روز هر چند ساعت یک بار توزین شدند. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ظرف‌ها معین شد. منحنی افزایش وزن ظرف‌ها با گذشت زمان، رسم و پس از محاسبه برگشت خطی، شیب خط حاصل محاسبه شد. از تقسیم شیب خط مربوط به هر ظرف به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، سرعت انتقال بخار آب (Water vapor transmission rate) WVTR بر حسب $\text{g/m}^2.\text{h}$ به دست آمد. سپس با استفاده از این (رابطه 3) نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) محاسبه شد:

$$\text{WVP} = \frac{WVTR \times X}{P(R_1 - R_2)} \quad (\text{g/m.h.Pa}) \quad (\text{رابطه 3})$$

در این رابطه X ضخامت فیلم (mm)، P فشار بخار آب خالص در 25°C ، R_2 رطوبت نسبی در خشکانه (98%) و R_1 رطوبت نسبی در داخل ظرف شیشه ای است. این آزمون برای هر یک از نمونه‌ها سه مرتبه تکرار شد.

آماده سازی فیلم‌ها: فیلم‌ها توسط روش Vargas و همکاران (8) با اندکی تغییر تهیه شدند. به طور خلاصه کیتوزان (0/2 گرم) در 50 میلی‌لیتر آب مقطر اسیدی (0/5% حجمی/حجمی اسید استیک) حل شده و به مدت یک شب توسط همزن مغناطیسی با دور 500 دور در دقیقه هم زده شد. سپس pH توسط سود 3 مولار به 6/8 تنظیم شد. 0/4 گرم کربوکسی متیل سلولز به طور جداگانه در 50 میلی‌لیتر آب مقطر

حل شده و سپس دو محلول با هم مخلوط شد. توپین 80 (0/2 گرم) به عنوان امولسیفایر اضافه شده و پس از 15 دقیقه اختلاط اسید اولئیک (0/3 میلی‌لیتر) اضافه شده و مجدداً تا 15 دقیقه همزده شد. سپس عمل تهیه امولسیون توسط پروب اولتراسوند (Bandelin Sonopuls، آلمان) صورت پذیرفت. غلظت‌های مختلف اسانس (25 و 50 و 75 میکرولیتر) به محلول اضافه شده و دوباره به مدت 15 دقیقه سونیکاسیون انجام شد. گلیسرول (0/3 میلی‌لیتر) به عنوان نرم کننده اضافه شده و مخلوط به مدت 15 دقیقه توسط همزن مغناطیسی همزده شد. در پایان 50 میلی‌لیتر از هر محلول داخل پلیت‌های شیشه ای (9 سانتی متر) ریخته شد و در دمای 25°C و رطوبت 50% به مدت 72 ساعت خشک شد. فیلم‌های تهیه شده دارای غلظت‌های 25 و 50 و 75 میکرولیتر به ترتیب با علامت اختصاری 25، 50 و 75 نشان داده شدند.

آزمون پراش پرتو ایکس (X-Ray Diffraction): بررسی ساختار کریستالی فیلم‌ها توسط ارزیابی پراش پرتو ایکس به وسیله دستگاه APD 2000 (Ital structures) ساخت ایتالیا، صورت پذیرفت. برای انجام آزمون، مولد پرتو ایکس در 40 کیلو وات و 50 میلی آمپر تنظیم شد. پرتوهای بازتابشی از نمونه در دمای محیط و در محدوده زاویه $2\theta = 5-60^\circ$ جمع آوری شد. محاسبه اندیس کریستالی (%) توسط رابطه سگال به صورت زیر انجام شد:

$$\text{اندیس کریستالی (\%)} = \frac{I_t - I_a}{I_t} \times 100 \quad (\text{رابطه 1})$$

که در آن I_t ارتفاع پیک (200) بوده و بیانگر دو ناحیه کریستالی و آمورف می‌باشد و I_a کمترین ارتفاع منحنی بین پیک‌های (200) و (110) می‌باشد که نشانگر ناحیه آمورف می‌باشد (17).

آزمون طیف سنجی مادون قرمز Transform Infrared (Fourier Spectroscopy): به منظور بررسی پیوندهای شیمیایی بین پلیمر و اسانس دارچین از روش طیف سنجی مادون قرمز با استفاده از دستگاه ATR-FTIR توسط اسپکترومتر مدل PIKE technologies/Gladi

تهیه شد. فعالیت ضد کپکی فیلم‌ها بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* توسط روش دیسک انتشاری (Disc diffusion test) مورد بررسی قرار گرفت. 15 میلی‌لیتر محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار داخل پلیت‌ها ریخته شده و پس از جامد شدن، 100 میکرولیتر سوسپانسیون کپک که توسط لام نئوبار (Simax Kavalier، آلمان) تا غلظت 10^6 CFU/ml شمارش شده بود بر روی محیط کشت توسط آنس استریل گسترانده شد. سپس فیلم‌ها توسط پانچ استریل به صورت دوایری به قطر 4 میلی‌متر بریده شده بر روی سطح محیط کشت قرار گرفت. پلیت‌ها توسط پارافیلیم پوشش داده شده و داخل انکوباتور با دمای 25°C به مدت 6 روز قرار داده شد. سپس قطر هاله عدم رشد توسط خط کش دیجیتال اندازه‌گیری شد (18).

تجزیه و تحلیل آماری: اثر اسانس دارچین بر روی ویژگی‌های مختلف فیلم در قالب طرح کاملاً تصادفی و در 3 تکرار بررسی شد. نتایج به دست آمده با استفاده از روش تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ($p < 0/05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (V16) و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

• یافته‌ها

آزمون پراش پرتو ایکس: به منظور بررسی ساختار کریستالی فیلم‌های فعال آزمون پراش پرتو ایکس برای فیلم‌های مختلف انجام شد و نتایج در شکل 1 آورده شده است. همه فیلم‌ها دو پیک در زوایای به ترتیب $9^\circ = 02$ و $20^\circ = 20$ نشان دادند. همچنین محاسبه درصد نواحی کریستالی مطابق با فرمول سگال در جدول 1 نشان داد که اندیس کریستالی از 44% برای فیلم خالص CMC-CH-OL به ترتیب با افزودن اسانس دارچین و افزایش غلظت آن به 37/5، 33/2 و 31/2% کاهش یافت.

جدول 1. میزان اندیس کریستالی فیلم خالص CMC-CH-OL و حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (CEO1، CEO2 و CEO3)

نوع فیلم	اندیس کریستالی (%)
شاهد	44
فیلم دارچین 25	37/5
فیلم دارچین 50	33/2
فیلم دارچین 75	31/2

اندازه گیری خواص مکانیکی: برای بررسی خواص مکانیکی بر اساس روش ASTM-D 882-91 (19) از دستگاه آزمون کششی (MTS Qtest / 25 Elite controller)، ساخت فرانسه) استفاده شد. فیلم‌ها به صورت نوارهایی با ابعاد 60×5 میلی‌متر) بریده شده و استحکام کششی Tensile strength (TS) بر حسب MPa و ازدیاد طول تا نقطه شکست (EB) Elongation at break بر حسب درصد محاسبه شد. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب 50 mm و 5 mm/min تعیین شد. قبل از آزمون فیلم‌ها به مدت 72 ساعت در رطوبت نسبی 55% مشروط شدند.

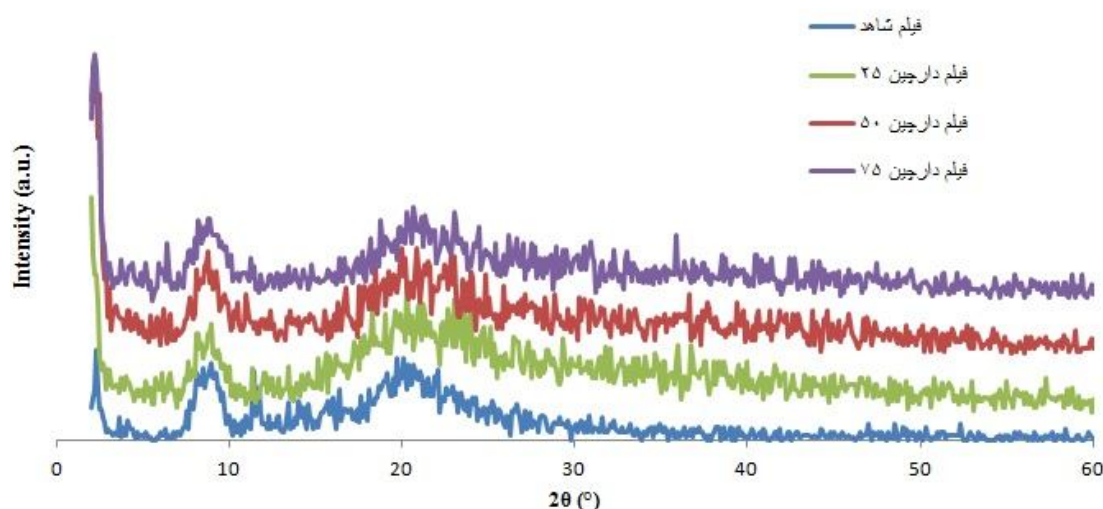
آزمون گرماسنجی روبشی افتراقی (Differential Scanning Calorimetry): بررسی خواص حرارتی فیلم‌های مختلف توسط دستگاه (TA Instruments) DSCQ100- RCS، ساخت آمریکا صورت پذیرفت. نمونه‌ها قبل از آزمون به مدت 72 ساعت در دمای 25°C و رطوبت نسبی 55% مشروط شدند. سپس در حدود 5 میلی گرم از هر فیلم داخل پن آلومینیومی در بسته قرار داده شد و با سرعت 10°C در دقیقه در بازه دمایی $0 - 230^\circ\text{C}$ در حضور گاز نیتروژن گرم و سرد شد. یک پن خالی آلومینیومی به عنوان رفرنس در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده توسط نرم افزار Thermal Analysis Universal 2000 صورت پذیرفت (20).

اندازه گیری خواص ضد اکسایشی: فیلم‌ها به صورت نوارهایی به ابعاد $2 \times 1/5$ سانتی‌متر) بریده شده و داخل ویال‌های تیره رنگ قرار گرفت. سپس 5 میلی‌لیتر متانول اضافه شده و به مدت 5 روز توسط همزن مغناطیسی با دور 250 دور در دقیقه همزه شد. در ادامه 2 میلی‌لیتر از عصاره بدست آمده به 2 میلی‌لیتر معرف DPPH (محلول متانولی 150 میکرومول) اضافه و به مدت 2 دقیقه در تاریکی هم زده شد. سپس به مدت 60 دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداشته شد. مقدار جذب محلول در طول موج 517 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی-ماوراء بنفش (Speccord 210, Analytik AG, Jena, آلمان) اندازه گیری شد و میزان بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH توسط رابطه 4 محاسبه شد:

(رابطه 4)

$$\text{فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH} = \frac{\text{جذب کنترل} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

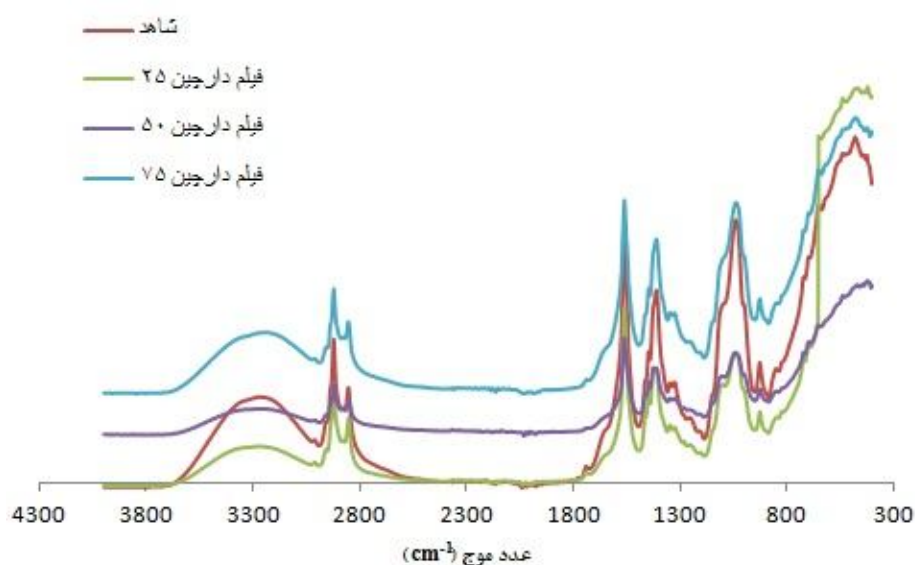
اندازه گیری خواص ضد کپکی: کپک *آسپرژیلوس نایجر* (PTCC 5298) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران



شکل 1. پراش پرتو ایکس برای فیلم شاهد (کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز-اسید اولئیک) و حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (25، 50 و 75)

خواص مکانیکی: نتایج اندازه گیری خواص مکانیکی در شکل 3 آورده شده است. افزودن اسانس دارچین باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) استحکام کششی (TS) از 6/97 به 4/8، 4/2 و 3/1 مگا پاسکال شد. همچنین ازدیاد طول تا نقطه شکست (EB) به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) از 28/99 به 89/56، 119/76 و 124/3 % افزایش یافت.

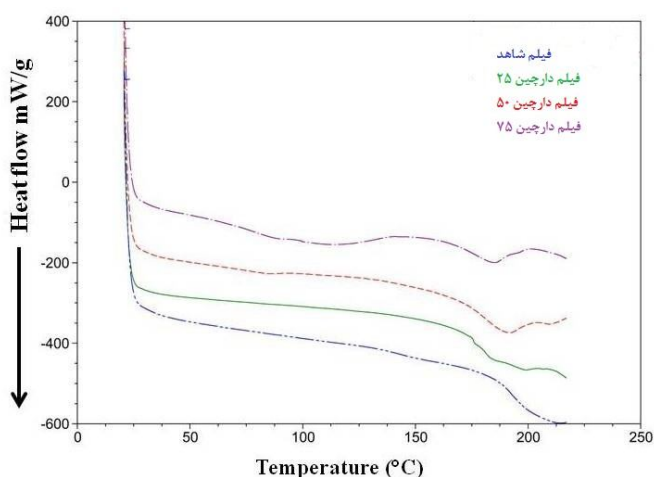
آزمون طیف سنجی مادون قرمز Transform Infrared (Fourier Spectroscopy): نتایج آزمون طیف سنجی مادون قرمز برای فیلم‌های مختلف در شکل 2 آورده شده است. پیک 3369 cm^{-1} که به گروه‌های آمین و هیدروکسیل مرتبط است، به عدد موج‌های 3367 ، 3342 و 3336 cm^{-1} انتقال یافت. همچنین شدت پیک‌های تند در عدد موج‌های 2927 cm^{-1} و 2856 cm^{-1} بعد از افزودن اسانس دارچین به فیلم، افزایش یافت.



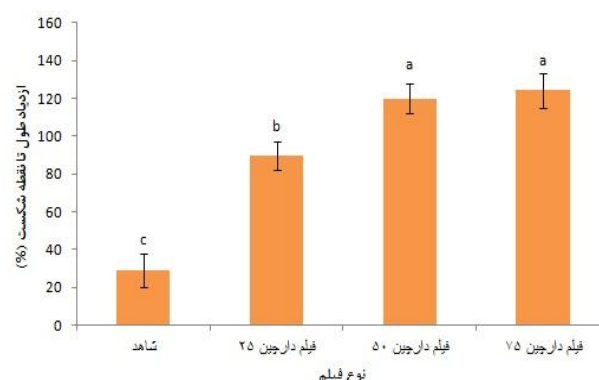
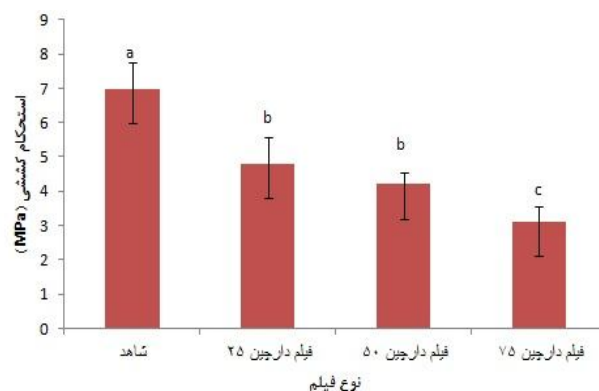
شکل 2. آزمون طیف سنجی مادون قرمز برای فیلم خالص (کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز-اسید اولئیک) و فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (25، 50 و 75)

$0/37 \times 10^{-7}$ و $0/26 \times 10^{-7}$ به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کاهش یافت. مقدار زاویه تماس فیلم خالص CMC-CH-OL بعد از افزودن اسانس دارچین و با افزایش غلظت آن از $22/9^\circ$ به $30/43^\circ$ ، $33/01^\circ$ و $35/6^\circ$ افزایش یافت. میزان کدورت فیلم خالص CMC-CH-OL بعد از افزودن اسانس دارچین و با افزایش غلظت آن از $4/87$ به ترتیب به $5/61$ ، $6/68$ و $6/94$ افزایش یافت.

خواص حرارتی: نتایج آزمون گرماسنجی روبشی افتراقی در شکل 4 آورده شده است. در همه فیلم‌ها یک فاز اندوترمیک بسیار جزئی در محدوده $90-100^\circ\text{C}$ به ویژه در فیلم‌های دارچین 50 و 75 و همچنین یک پیک اندوترمیک در محدوده $180-212^\circ\text{C}$ مشاهده شد که پیک اندوترمیک دوم با افزایش غلظت اسانس دارچین به دماهای پایین‌تر تغییر یافت.



شکل 4. نتایج آزمون گرماسنجی افتراقی برای فیلم خالص (کیتوزان - کربوکسی متیل سلولز - اسید اولئیک) و فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (25، 50 و 75).



شکل 3. استحکام کششی (MPa) و ازدیاد طول تا نقطه شکست (%) برای فیلم شاهد (کیتوزان - کربوکسی متیل سلولز - اسید اولئیک) و فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (25، 50 و 75) (حروف مختلف نشانگر تفاوت معنی‌دار ($p < 0/05$) می‌باشد).

نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، زاویه تماس و کدورت: نتایج نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، زاویه تماس و کدورت در جدول 2 آورده شده است. نفوذ پذیری نسبت به بخار آب فیلم خالص CMC-CH-OL بعد از افزودن اسانس دارچین و با افزایش غلظت آن از $5/28 \times 10^{-7}$ به $0/73 \times 10^{-7}$.

جدول 2. نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، زاویه تماس و کدورت فیلم خالص کربوکسی متیل سلولز - کیتوزان - اسید اولئیک (CMC-CH-OL) و فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (25، 50 و 75).

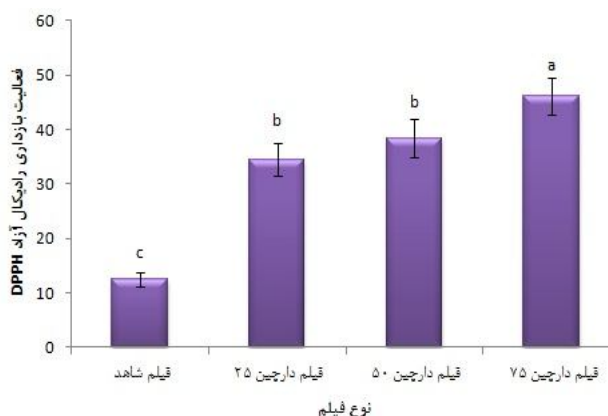
نوع فیلم	نفوذ پذیری نسبت به بخار آب $\times 10^{-7}$ (g/m.h.Pa)	زاویه تماس ($^\circ$)	کدورت ($600\text{nm} \times \text{mm}^{-1}$)
فیلم شاهد	$5/28 \pm 0/99^a$	$22/9 \pm 2/34^c$	$4/87 \pm 0/71^c$
فیلم دارچین 25	$0/73 \pm 0/15^b$	$30/43 \pm 1/78^b$	$5/61 \pm 0/82^b$
فیلم دارچین 50	$0/37 \pm 0/12^c$	$33/01 \pm 1/56^{a,b}$	$6/68 \pm 0/52^a$
فیلم دارچین 75	$0/26 \pm 0/14^c$	$35/6 \pm 2/32^a$	$6/94 \pm 0/11^a$

حروف مختلف در هر ستون نشانگر تفاوت معنی‌دار ($p < 0/05$) می‌باشد.

• بحث

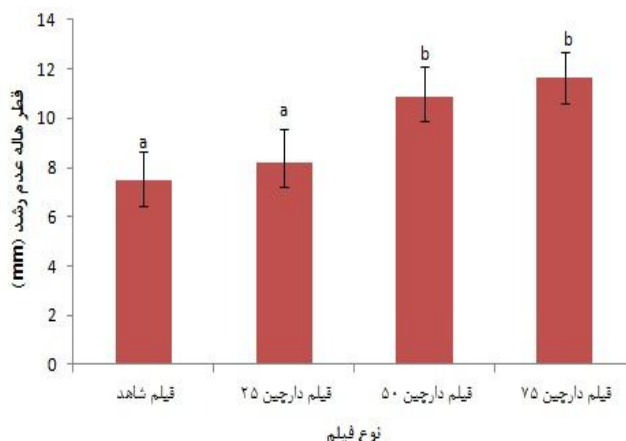
نتایج آزمون پراش پرتو ایکس حضور دو پیک در زوایای $2\theta = 9^\circ$ و $2\theta = 20^\circ$ برای همه فیلم‌ها نشان داد که به حضور پلیمرهای نیمه کریستالی ترکیب کیتوزان و کربوکسی متیل سلولز نسبت داده می‌شود (21، 22). محاسبه درصد کریستال بر اساس معادل سگال نشان داد اندیس کریستالی با افزودن اسانس دارچین و افزایش غلظت آن در فیلم‌های فعال کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد حضور اسانس دارچین باعث کاهش وسعت نواحی کریستالی فیلم مخلوط کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز شده باشد که شاید دلیل آن مربوط به اثر اسانس بر نواحی کریستالی و تغییر ساختار و آرایش پلیمر باشد. در آزمون طیف سنجی مادون قرمز حضور باند پهن در محدوده $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ مربوط به گروه‌های هیدروکسیل و آمین می‌باشد. تغییر در این پیک بعد از افزودن اسانس دارچین و همچنین با افزایش غلظت اسانس دارچین از 3369 cm^{-1} به عدد موج‌های کمتر 3367، 3342 و 3336 cm^{-1} مربوط به برقراری پیوندهای هیدروژنی بین بستر پلیمر و اسانس دارچین می‌باشد. پیک تند در 2927 cm^{-1} و همچنین پیک در 2856 cm^{-1} مربوط به گروه‌های متیلن متقارن و نامتقارن در گروه‌های CH_3 و CH_2 می‌باشد. این پیک‌ها در چربی‌ها حضور دارند (18). همانطور که انتظار می‌رفت، شدت این باندها بعد از افزودن اسانس دارچین افزایش یافت که بیانگر افزایش آب‌گریزی فیلم و همچنین برهم کنش بین بستر پلیمر و اسانس دارچین می‌باشد. این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش Arfat و همکاران (18)، Ferreira و همکاران (23) و Hormis و همکاران (24) مطابقت دارد. نتایج اندازه‌گیری خواص مکانیکی نشان داد که افزودن اسانس دارچین باعث کاهش معنی‌دار استحکام کششی (TS) و افزایش ازدیاد طول تا نقطه شکست (EB) شد ($p < 0/05$). بر اساس مطالعه شجاعی علی‌آبادی و همکاران (2) این اثر اولاً مربوط به جایگزینی بخشی از برهم کنش‌های قوی پلیمر-پلیمر با برهم کنش‌های ضعیف‌تر پلیمر-روغن در حضور اسانس در بستر فیلم بوده که باعث تضعیف ساختار پلیمر شده و بنابراین باعث کاهش استحکام کششی فیلم‌های امولسیون می‌شود. افزایش غلظت اسانس باعث افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) در ازدیاد طول تا نقطه شکست شد به طوری که در بالاترین غلظت دارچین (فیلم دارچین 75) 328% افزایش ازدیاد طول تا نقطه شکست مشاهده شد. این نتایج با مطالعه Benavides و همکاران (25) برای فیلم‌های آلزینات حاوی اسانس آویشن و مطالعه شجاعی علی‌آبادی (2) برای فیلم‌های کاپا کاراگینان حاوی اسانس

خواص ضد اکسایشی: نتایج آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH فعالیت ضد اکسایشی برای تمام فیلم‌ها نشان داد. هر چند فعالیت ضد اکسایشی به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) با افزودن اسانس دارچین و افزایش غلظت آن از 12/45% به 34/51%، 38/41% و 46/17% افزایش یافت.



شکل 4. فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH در فیلم خالص (کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز-اسید اولئیک) و حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (25، 50 و 75). (حروف مختلف نشانگر تفاوت معنی‌دار ($p < 0/05$)).

اثرات ضد کپکی فیلم‌ها: نتایج فعالیت ضد کپکی فیلم خالص CMC-CH-OL و فیلم‌های حاوی درصد‌های مختلف اسانس دارچین در شکل 5 آورده شده است. همه فیلم‌ها فعالیت ضد کپکی بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* نشان دادند. هر چند با افزودن اسانس دارچین و غلظت آن فعالیت ضد میکروبی به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) افزایش یافت به طوری که فیلم حاوی بالاترین غلظت اسانس دارچین (75) بیشترین فعالیت ضد کپکی را با قطر هاله عدم رشد 11/62 میلی‌متر نشان داد.



شکل 5. فعالیت ضد کپکی فیلم شاهد (کیتوزان-کربوکسی متیل سلولز-اسید اولئیک) و حاوی غلظت‌های مختلف اسانس دارچین (25، 50 و 75) (حروف مختلف نشانگر تفاوت معنی‌دار ($p < 0/05$)).

مرزه مطابقت دارد. این پدیده اولاً ممکن است مربوط به اثر نرم کنندگی اسانس حتی در غلظت کم (2) و ثانیاً تغییر در ساختار پیوسته به ناپیوسته که باعث افزایش انعطاف پذیری فیلم شده و ثالثاً مربوط به بازآرایی ساختار فیلم در حضور اسانس باشد (26). کاهش استحکام کششی و افزایش ازدیاد طول تا نقطه شکست با نتایج اندیس کریستالی حاصل از پراش پرتو ایکس مطابقت دارد. بازدارندگی فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی نسبت به بخار آب ویژگی مهمی در بسته بندی مواد غذایی به شمار می‌رود. نفوذ پذیری فیلم نسبت به بخار آب، مستقیماً مربوط به ماهیت آبدوست فیلم است به طوری که فیلم آبدوست WVP بالاتری داشته که بیانگر بازدارندگی کمتر نسبت به بخار آب می‌باشد (9). نفوذ پذیری مولکول‌های بخار آب از درون فیلم بستگی به انتشار و حلالیت مولکول‌های آب از درون بستر پلیمر دارد. افزودن روغن‌های اسانسی WVP فیلم CMC-CH-OL حاوی اسانس دارچین را به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کاهش داد و رابطه مثبتی بین کاهش WVP و افزایش غلظت اسانس وجود داشت ($p < 0/05$) به طوری که فیلم حاوی اسانس دارچین در بالاترین غلظت (دارچین 75) کمترین WVP را در میان فیلم‌های مختلف نشان داد ($p < 0/05$). کاهش WVP بعد از افزودن اسانس قبلاً در مطالعات اجاق و همکاران (16) در فیلم کیتوزان حاوی دارچین و همچنین Shen و Kamdem (27) در فیلم کیتوزان حاوی سنبل هندی و چوب سدر گزارش شده بود. شجاعی علی آبادی و همکاران (2) پیشنهاد نمودند که کاهش WVP ممکن است مربوط به ماهیت آب گریز روغن‌های اسانسی باشد، همچنین وجود برخی پیوندهای هیدروژنی و کووالانسی احتمالی بین برخی ترکیبات روغن‌های اسانسی و یا اسید اولئیک با پلیمر می‌تواند علت این پدیده باشد که در آزمون FTIR به اثبات رسید. نتایج آزمون زاویه تماس نشان داد که افزودن اسانس دارچین باعث افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) زاویه تماس شد به طوری که با افزودن اسانس دارچین و افزایش غلظت آن افزایش زاویه تماس به ترتیب به اندازه 24 %، 30/62 % و 35/67 % در فیلم‌های دارچین 25، 50 و 75 نسبت به فیلم خالص CMC-CH-OL افزایش یافت. این پدیده به کاهش خاصیت آبدوستی فیلم به دلیل افزودن ترکیبات آب گریز در فرمولاسیون فیلم و همچنین کاهش گروه‌های آمین و کربوکسیل نسبت داده می‌شود (اجاق و همکاران، 2010). شفافیت فیلم‌های مورد استفاده در بسته بندی اثر مستقیمی بر روی ظاهر محصول بسته بندی شده دارد، لذا ویژگی مهمی به شمار می‌رود. کدورت پارامتری برای سنجش میزان

شفافیت فیلم‌های بسته‌بندی می‌باشد به طوری که هر چه میزان کدورت بالاتر باشد، شفافیت فیلم مورد استفاده کمتر خواهد بود (28). نتایج کدورت سنجی همانطور که انتظار می‌رفت نشان داد که افزودن اسانس دارچین باعث افزایش کدورت فیلم CMC-CH-OL شد. همچنین ارتباط مستقیمی بین افزایش کدورت با افزایش غلظت اسانس دیده شد. دلیل این مسئله احتمالاً مربوط به پخش قطرات روغن در بستر کربوهیدرات می‌باشد (9). واضح است که با افزایش میزان افزودنی‌ها به فیلم، شفافیت آن کاهش می‌یابد زیرا حضور فاز پراکنده میزان کدورت را به دلیل تفاوت در ضریب شکست بین دو فاز و همچنین غلظت و اندازه ذرات ماده افزودنی، افزایش می‌دهد (26). این نتایج با مطالعه شجاعی علی آبادی و همکاران (2) برای فیلم‌های کاپا کاراگینان حاوی اسانس مرزه و مطالعه Atares و همکاران (29) برای فیلم‌های هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی اسانس زنجبیل مطابقت دارد. نتایج آزمون گرماسنجی روبشی افتراقی در شکل 4 آورده شده است. در همه فیلم‌ها یک پیک اندوترمیک در محدوده $180-212^{\circ}\text{C}$ مشاهده شد که احتمالاً مربوط به تخریب پلیمر می‌باشد. همچنین یک فاز اندوترمیک بسیار جزئی در محدوده $90-100^{\circ}\text{C}$ به ویژه در فیلم‌های دارچین 50 و 75 مشاهده شد که احتمالاً تبخیر آب و مواد فرار موجود در ساختار فیلم باشد. پیک اندوترمیک دوم با افزایش غلظت اسانس دارچین به دماهای پایین‌تر تغییر یافت که احتمالاً مربوط به تغییر ساختار پلیمر بعد از افزودن اسانس و افزایش غلظت آن بوده است. این نتایج با نتایج پراش پرتو ایکس که تغییر ساختار و نواحی کریستالی بعد از افزودن اسانس دارچین به فیلم را نشان داد، مطابقت دارد. نتایج بدست آمده با نتایج حاصل از پژوهش حسینی و همکاران (30) برای فیلم‌های مخلوط ژلاتین و کیتوزان حاوی اسانس آویشن مطابقت دارد. اکسیداسیون یکی از مهمترین راه‌های تخریب مواد غذایی به شمار رفته که در هنگام فرآوری و نگهداری محصولات غذایی اتفاق افتاده و ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای مواد غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اکسیداسیون چربی مسئول طعم و بوی تندشدگی، کاهش کیفیت تغذیه‌ای و تشکیل ترکیبات سمی می‌باشد. به دلیل تصویر نامناسب استفاده از افزودنی‌های شیمیایی، تمایل به استفاده از ترکیبات ضد اکسایش طبیعی بدون اثرات منفی بر سلامت انسان در حال افزایش است (26). فعالیت ضد اکسایشی فیلم‌های مختلف توسط روش مهار رادیکال آزاد DPPH ارزیابی شده و فعالیت ضد اکسایشی برای همه فیلم‌ها مشاهده شد. فیلم

شاهد CMC-CH-OL نیز فعالیت ضد اکسایشی نشان داد که این پدیده به حضور کیتوزان و اسید اولئیک در این فیلم نسبت داده می‌شود. مطابق با نتایج بدست آمده در این پژوهش، Siripatrawan و Harte (31) و Beikzadeh و Ghelejlou و همکاران (32) نیز فعالیت ضد اکسایشی فیلم‌های کیتوزان را نشان دادند. فعالیت ضد اکسایشی فیلم کیتوزان احتمالاً به دلیل واکنش بین رادیکال‌های آزاد با گروه‌های آمین (NH_2) کیتوزان و تشکیل رادیکال‌های ماکرومولکول پایدار و همچنین جذب یون‌های هیدروژن توسط گروه‌های NH_2 و تشکیل آمونیوم می‌باشد (33). بعد از افزودن اسانس دارچین و همچنین با افزایش غلظت آن، ویژگی‌های ضد اکسایشی فیلم به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) افزایش یافت، به طوری که فعالیت ضد اکسایشی فیلم حاوی بالاترین غلظت اسانس دارچین (فیلم دارچین 75) نسبت به فیلم شاهد 5/46 مرتبه افزایش یافت. این نتایج با نتایج پژوهش Atares و همکاران (34) که فعالیت ضد اکسایشی قابل توجه اسانس دارچین را در فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی اسانس دارچین را مشاهده نمودند، مطابقت دارد. اسانس‌های گیاهی حاوی ترکیباتی با فعالیت زیستی مانند ترپنوئیدها و اسیدهای فنولیک بوده که به عنوان منبع غنی از ترکیبات ضد اکسایش به شمار رفته و مسئول اثرات ضد اکسایشی می‌باشند (35، 26). نتایج آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH نشان داد که اسانس دارچین از فعالیت ضد اکسایش بالایی برخوردار بوده و افزودن آن به فیلم‌های بسته بندی باعث تولید فیلم‌های با فعالیت ضد اکسایش مطلوب شده است که این ویژگی در بسته بندی مواد غذایی در محافظت مواد غذایی در اکسیداسیون ویژگی مطلوبی به شمار می‌رود.

ویژگی‌های ضد کپکی فیلم‌های CMC-CH-OL حاوی سطوح مختلف اسانس دارچین بر روی کپک آسپرژیلوس نایجر توسط تست انتشار و با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تست انتشار نشان داد که همه فیلم‌ها ویژگی‌های ضد میکروبی بر روی کپک مورد بررسی نشان دادند هر چند خواص ضد کپکی به طور معنی‌داری در فیلم‌های حاوی اسانس دارچین و همچنین با افزایش غلظت اسانس دارچین افزایش یافت ($p < 0/05$). ویژگی‌های ضد میکروبی فیلم خالص کیتوزان به برهم کنش بین گروه‌های مثبت کیتوزان و بارهای منفی غشاء سلولی میکروبی نسبت داده شده که باعث به هم ریختن ساختار دیواره سلولی

می‌شود. همان طور که انتظار می‌رفت اثر ضد کپکی فیلم‌ها با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت. دارچین در بالاترین غلظت (فیلم دارچین 75) بالاترین اثر ضد کپکی را در میان سایر نمونه‌ها نشان داد ($p < 0/05$). این نتایج با نتایج مطالعه Bansod و Rai (36) بر روی کپک‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نایجر مطابقت دارد. در این مطالعه اثرات ضد میکروبی بالای اسانس دارچین گزارش شده بود. در مطالعه‌ای دیگر Guynot و همکاران (37) فعالیت برخی از روغن‌های اسانسی شامل دارچین و زنجبیل را بر روی کپک‌های آلوده کننده محصولات نانویی را مورد مطالعه قرار داده و فعالیت ضد میکروبی اسانس دارچین را به ویژه بر روی آسپرژیلوس نایجر را نشان دادند. مهم‌ترین مکانیسم برای فعالیت ضد میکروبی روغن‌های اسانسی "مکانیسم شکستن Disruption mechanism" می‌باشد. به دلیل داشتن ساختار آب گریز، روغن‌های اسانسی به غشاء سلولی حمله نموده و آن را شکسته که منجر به تخلیه محتویات سلولی می‌گردد، همچنین روغن‌های اسانسی سیستم آنزیمی را تحت تاثیر قرار داده که منجر به ممانعت از تنفس و در نتیجه مرگ سلول خواهد شد (38). به دلیل اینکه روغن‌های اسانسی از ترکیبات فرار متعددی تشکیل شده اند، نسبت دادن فعالیت ضد میکروبی به یک ترکیب یا مجموعه از ترکیبات دشوار است (39). در واقع فعالیت ضد میکروبی روغن‌های اسانسی نتیجه بسیاری از ترکیبات است که به طور هم افزا فعالیت می‌نمایند (40) حتی در حالتی که سینام آلدئید مهمترین ترکیب ضد میکروبی روغن اسانسی دارچین به شمار می‌رود (41). هر چند Xing و همکاران (12) پیشنهاد نمودند که اثر ضد کپکی سینام آلدئید مربوط به از بین رفتن سیتوپلاسم، تخریب میتوکندری و غشاء پلاسم، تا شدن سلولی و از دست رفتن نظم دیواره سلولی می‌باشد. به علاوه سینام آلدئید فعالیت بازدارندگی بر روی آنزیم‌های سنتز کننده دیواره سلولی بتا 1 و 3 گلوکان سنتتاز (β -1,3-glucan synthase) و کیتین سنتتاز (Chitin synthase) نشان می‌دهد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری دکتر ورونیکا کوما و مدیریت محترم آزمایشگاه‌های شیمی آلی پلیمر (LCPO) واقع در دانشگاه بوردو 1 کشور فرانسه به دلیل در اختیار گذاشتن امکانات لازم جهت انجام برخی از آزمون‌های این پژوهش قدردانی می‌شود.

• References

- Gutierrez L, Sanchez C, Batlle, R., Nerin C. New antimicrobial active package for bakery products. Trends Food Sci Tech 2009; 20: 92-99.
- Shojaee-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar MA, Mohhamadi A, Ghasemlou M, Ojagh, SM, Hosseini SM, Khaksar MA. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. Int. J. Biol. Macromolec 2013; 52: 116-124.
- Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Rezaei Mokarram R, Hashemi M, Coma V. Preparation and characterization of active emulsified films based on chitosan-carboxymethyl cellulose containing zinc oxide nano particles. Int. J. Biol. Macromolec 2017; 99: 530-538.
- Coma V, Freire CSR, Silvestre AJD. Recent advances on the development of antibacterial polysaccharide-based materials, Chitosan, cellulose and starch. In Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology. Eds J.M Merillon and K.G. Ramawat, Springer Int 2015: 1751-1803.
- Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Fasihi, H, Almasi H. Starch-PVA nanocomposite film incorporated with cellulose nanocrystals and MMT: a comparative study. International Journal of Food Engineering 2016; 12: 37-48.
- Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Rezaei Mokarram R, Hashemi M. Novel active packaging based on carboxymethyl cellulose-chitosan-ZnO NPs nanocomposite for increasing the shelf life of bread. Food Packaging and Shelf Life 2017; 11: 106-114.
- Fasihi H, Fazilati M, Hashemi M, Noshirvani N, 2017. Novel carboxymethyl cellulose-polyvinyl alcohol blend films stabilized by Pickering emulsion incorporation method. Carbohydr polym 2017; 167: 79-89.
- Vargas M, Albors A, Chiralt A, Gonzalez-Martinez C. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. Food Hydrocoll 2009; 23: 536-547.
- Wang Z, Zhou J, Wang XX, Zhang N, Sun XX, Ma ZS. The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the water vapor barrier properties of soybean protein isolate-based oleic acid/stearic acid blend edible films. Food Hydrocoll 2014; 35: 51-58.
- Perdones A, Vargas, M, Atares L, Chiralt A. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. Food Hydrocoll 2014; 36: 256-264.
- Rubilar JF, Cruz RMS, Silva HD, Vicente AA, Khmelinskii I, Vieira MC. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grapeseed extract. J Food Eng 2013; 115: 466-474.
- Xing F, Hua H, Selvaraj JN, Zhao Y, Zhou L, Liu X, Liu Y. Growth inhibition and morphological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde. Food Control 2014; 46: 343-350.
- Singh G, Maurya S, deLampasona MP, Catalan CAN. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. Food Chem Toxicol 2007; 45: 1650-1661.
- Kaskatepe B, Kiymaci ME, Suzuk S, Erdem SA, Cesur S, yildiz S. Antibacterial effects of cinnamon oil against carbapenem resistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates. Ind Crop Prod 2016; 81: 191-194.
- Nielsen PV, Rios R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. Int J Food Microbiol 2000; 60: 219-229.
- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. Food Chem 2010; 122: 161-166.
- Noshirvani N, Hong W, Ghanbarzadeh B, Fasihi H, Montazami R. Study of cellulose nanocrystal doped starch-polyvinyl alcohol bionanocomposite films. Int. J. Biol. Macromolec 2018; 107: 2065-2074.
- Arfat YA, Benjakul S, Prodpran T, Sumpavapol P, Songtipya P. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. Food Hydrocoll 2014; 41: 265-273.
- Noushirvani, N, Ghanbarzadeh B, Entezami AA. Comparison of tensile, permeability and color properties of starch-based bionanocomposites containing two types of fillers: sodium montmorillonite and cellulose nanocrystal. Iran. Polym. J. Sci. Technol 2011; 24: 391-402.
- Noushirvani, N., Ghanbarzadeh, B. Entezami. A.A. Effect of cellulose nanocrystal and polyvinyl alcohol on the physical properties of starch based bionanocomposite films. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2012; 7(1): 63-74.
- Li XH, Xing YG, Li WL, Jiang YH, Ding YL. Antibacterial and physical properties of poly (vinyl chloride)-based film coated with ZnO nanoparticles. Food Sci Technol Int 2010; 16(3): 225-232.
- Lin S, Chen L, Huang L, Cao S, Luo X, Liu K. Novel antimicrobial chitosan-cellulose composite films bioconjugated with silver nanoparticles. Ind Crop Prod 2015; 70: 395-403.
- Ferreira AS, Nunes C, Castro A, Ferreira P, Coimbra MA. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. Carbohydr Polym 2014; 113: 490-499.
- Hormis NM, Lazic VL, Markov SL, Vastag ZG, Popovic SZ, Suput DZ, Dzinic NR, Velicanski AS, Popovic LM. Optimization of chitosan biofilm properties by addition of caraway essential oil and beeswax. J Food Eng 2015; 158: 86-93.
- Benavides S, Villalobos-Carvajal R, Reyes JE. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. J Food Eng 2012; 110: 232-239.

26. Atares L, Chiralt A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends Food Sci Tech* 2016; 48: 51-62.
27. Shen Z, Kamdem DP. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *Int. J. Biol. Macromolec* 2015; 74: 289-296.
28. Perede M, Amica G, Racz I, Marcovich NE. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *J Food Eng* 2011; 103: 76-83.
29. Atares L, Perez-Masia R, Chiralt A. The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. *J Food Eng* 2011; 104, 649-656.
30. Hosseini SF, Rezaei M, Zandi M, Farahmandghavi F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Ind Crop Prod* 2015; 67: 403-413.
31. Siripatrawan U, Harte BR. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocoll* 2010; 24(8): 770-775.
32. Beikzadeh Ghelejkou S, Esmaili M, Almasi H. Characterization of chitosan-nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract. *Int. J. Biol. Macromolec* 2016; 86: 613-621.
33. Ruiz-Navajas Y, Viuda-Martos M, Sendra E, Perez-Alvarez JA, Fernandez-Lopez J. *In vitro* antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control* 2013; 30: 386-392.
34. Atares L, Bonilla J, Chiralt A. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *J Food Eng* 2010; 100: 678-687.
35. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 223-253.
36. Bansod S, Rai M. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *World Journal of Medical Sciences* 2008; 3: 81-88.
37. Guynot ME, Ramos AJ, Seto L, Purroy P, Sanchis V, Marin S. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. *J. Appl. Microbiol* 2003; 94: 893-899.
38. Carson CF, Mee BJ, & Riley TV. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother* 2002; 46: 1914-1920.
39. Ramos M, Beltran A, Valdes A, Peltzer M, Jimenez A, Garrigos M, Zaikov G. Active packaging for fresh food based on the release of carvacrol and thymol. *Chem Chem Technol* 2013; 7: 295-303.
40. Ownagh A, Hasani A, Mardani K, Ebrahimzadeh S. Antifungal effects of thyme, agastache and satoreja essential oils on *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium solani*. *Vet Res Forum* 2010; 1: 99-105.
41. Ooi LS, Li Y, Kam SL, Wang H, Wong EYL, Ooi VEC. Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. *Am J of Chin Med* 2006; 34(3): 511-522.

Antimicrobial, Antioxidant and Physical Properties of Chitosan-Carboxymethyl Cellulose-Oleic Acid Based Films Incorporated with Cinnamon Essential Oil

Noshirvani N^{*1}, Ghanbarzadeh B², Rezaei Mokarram R³, Hashemi M⁴

1 -*Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, Tuyserkan Faculty of Engineering & Natural Resources, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. Email: Nooshin_noshirvani87@yahoo.com

2- Professor, Dept. of Food Science and Technology, Tabriz University, Tabriz, Iran

3- Associate Prof., Food Sciences and Technology, Tabriz University, Tabriz, Iran

4- Associate Prof., Faculty of Chemistry, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received 7 Nov, 2016

Accepted 7 Apr, 2017

Background and Objectives: Microbial contamination of food is one of the most reasons for the loss of food products around the world. Use of active packaging to reduce the microbial contamination of food, in order to eliminate the direct addition of chemical preservatives, is a promising method for preservation of food products.

Materials & Methods: Active films based on chitosan-carboxymethyl cellulose-oleic acid incorporated with different concentrations of cinnamon essential oil (CEO) were produced by casting method. The effect of different concentrations of CEO were examined on the structural, physical, thermal, antioxidant and antifungal properties of the films by methods of XRD, FTIR, contact angle, water vapor permeability, opacity, tensile test, DSC, DPPH and disc diffusion tests.

Results: XRD results revealed a change in the crystalline index of polymer by adding CEO to the films. New bonding formation between the polymer and CEO were shown by FTIR. Addition of CEO increased the contact angle, opacity, elongation to break, and antioxidant properties and decreased ultimate tensile strength, and water vapor permeability of the films. Disc diffusion test results showed antifungal properties of the films containing CEO against *Aspergillus niger*.

Conclusion: According to the obtained results, due to the high antifungal and antioxidant properties, the produced films are favorable option to use in food packaging applications.

Keywords: Antimicrobial film, Chitosan, Carboxymethyl cellulose, Cinnamon essential oil