بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی و آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های خوراکی تولید شده از پولولان-نانورس حاوی نانو اسانس علف چشمه

محمدرضا عفیفی [۱]، پیمان آریایی [۲*]، مهدی شریفی سلطانی [۳]، سارا جعفریان [۴]

۱- دانشجوی دکتری،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی،دانشگاه آزاد اسلامی،آمل، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی،آمل، ایران

۳- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس، چالوس، ایران

۴- استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی،سوادکوه ، ایران

[*] مسئول مکاتبه:Email:p.aryaye@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش تولید فیلم‌های آنتی اکسیدانی بر پولولان– نانو رس حاوی اسانس و نانو اسانس علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بوده است. بدین منظور ابتدا اسانس علف چشمه با استفاده از تقطیر با بخار آب استخراج و توسط لیپوزیم ریزپوشانی شد. سپس ۶ فیلم خوراکی شامل، پولولان، پولولان+ نانو رس، پولولان+ نانو رس+ اسانس ۵۰۰ ppm، پولولان+ نانو رس+ اسانس ۱۰۰۰ ppm، پولولان+ نانو رس+ نانو اسانس ۵۰۰ ppm، پولولان+ نانو رس+ نانو اسانس ۱۰۰۰ ppm، تهیه و خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و آنتی‌اکسیدانی آنها مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی اسانس برابر با ۳۷۰/۰۱ میلی گرم/ گرم گالیک اسید و ۲۲۷/۶۴ میلی گرم/ گرم بوده است (به ترتیب). اندازه ذرات نانولیپوزیم و راندمان ریزپوشانی نانو اسانس برابر با ۹۲/۳۱ نانومتر و ۸۱/۲۹ درصد بوده است (به ترتیب). نتایج مربوط به ویژگی‌های فیلم نشان داد که با افزودن مقادیر مختلف اسانس و نانو اسانس به فیلم پولولان – نانو رس، از محتوای رطوبتی، مقاومت کششی و نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب به طور معنی‌داری کاسته شد ($P<0/05$). فیلم حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس و نانو اسانس، کمترین میزان محتوای رطوبتی، مقاومت کششی و نفوذپذیری نسبت به بخار آب را دارا بود. افزودن اسانس و نانو اسانس سبب افزایش معنی‌داری در میزان ضخامت و کدورت فیلم‌ها شده و از شفافیت فیلم‌ها کاسته شد ($P<0/05$). با اضافه شدن اسانس محتوای آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت و استفاده از نانو اسانس و افزایش غلظت به کار رفته از آن در ترکیب فیلم‌ها، سبب افزایش معنی‌داری در میزان محتوای آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها گردید ($P<0/05$). به طور کلی، فیلم‌های پولولان – نانو رس حاوی نانو اسانس علف چشمه در غلظت ۱۰۰۰ppm به دلیل مطلوب بودن خواص فیزیکی و آنتی‌اکسیدانی گزینه مناسبی جهت نگهداری مواد غذایی بسته‌بندی شده می‌باشد.

کلمات کلیدی: نانوکامپوزیت، نانو لیپوزیم، نانورس، رادیکال آزاد DPPH، علف چشمه

۱- مقدمه

بسته‌بندی یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای حفظ کیفیت فرآورده‌های غذایی به منظور نگهداری و ذخیره‌سازی، حمل و نقل و استفاده پایانی است و علاوه بر این مانع از بین رفتن کیفیت غذا می‌شود و روند توزیع و بازاریابی آن را آسان می‌سازد. از طرفی با توجه به طول عمر بالای پلاستیک‌ها و تقریبا زیست تخریب پذیر نبودن این بسپارها و مهاجرت مواد بسته‌بندی به مواد غذایی، محیط زیست دچار یک بحران شده است و باید این مشکل به نحوی حل گردد. یکی از راه حل‌های این مشکل، تولید و طراحی بسپارهای زیست تخریب پذیر است (۴). فیلم‌های خوراکی لایه نازکی از مواد بیوپلیمری با ضخامت کمتر از ۲۵۰ pm هستند که در سطح یا بین اجزای موادغذایی قرار گرفته و به عنوان سدی در برابر انتقال مواد (رطوبت، چربی وگازها) عمل می‌کند. این فیلم‌ها از محصول در برابر رشد میکروارگانیسم‌ها و ضربات مکانیکی محافظت کرده و به بهبود ظاهر، کیفیت و افزایش ماندگاری محصول کمک می‌کند (۱۳).

پولولان که به صورت خارج سلولی توسط مخمر قارچی مانند به نام *Aureobasidium pullulans* تولید می‌شود، این فیلم‌های مبتنی بر پولولان ویژگی‌های منحصر به فردی نظیر بی رنگ، بی مزه، بدون بو و پایدار در برابر گرما، نسبت به سایر پلی‌ساکاریدها و فیلم‌های پروتئینی دارند. به طور خاص، فیلم‌های بر پایه‌ی پولولان در برابر روغن و اکسیژن نفوذ ناپذیر هستند، بنابراین آنها اغلب برای محافظت از مواد فعال در برابر هوا، رطوبت و پوشاندن طعم و بوی نامطبوع ماده موجود در ماتریس پولولان استفاده می‌شوند (۷، ۱۷، ۲۷). با این وجود فیلم‌های به‌دست آمده از این ترکیبات علی‌رغم داشتن ویژگی‌های مطلوب مکانیکی، اغلب سد مناسبی در برابر عبور نور فرابنفش (UV) نمی‌باشند و نمی‌توانند به طور مناسب از اکسیداسیون چربی‌ها ممانعت نمایند که برای برطرف شدن این مشکل می‌توان از تکنولوژی نانو برای بهبود عملکرد این فیلم‌ها بهره جست. ذرات رس صفحات دو بعدی از مواد معدنی هستند که به شکل کریستال‌های هرمی شکل درآمده‌اند. نانورس به دلیل نسبت منظر بالا (۵۰-۱۰۰۰) سطح گسترده خود که بیش از ۷۵۰ متر مربع بر گرم می‌باشد و به طور موثری به عنوان یک پرکننده موجب تقویت بیوپلیمرها از طریق ایجاد فضای پرپیچ و خم در برابر عبور بخارآب می‌شود (۱، ۱۹، ۲۳). نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که اثر ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های خوراکی را می‌توان با اضافه کردن اسانس‌های گیاهی به آن به مقدار زیادی افزایش داد (۷، ۳۱). بعلاوه عوامل ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی وقتی به فیلم‌های خوراکی اضافه می‌شوند به آهستگی به سطح مواد غذایی رها می‌شوند بنابراین در یک مدت زمان طولانی و در یک غلظت بالا بر روی مواد غذایی باقی می‌مانند (۱۸).

گیاه علف چشمه *Nasturtium officinale* از تیره شب بو است و مکان‌های اصلی رویش آن در اروپای مرکزی و غربی بوده است، اما امروزه در تمامی دنیا گسترده شده است. این گیاه علفی و پایا می‌باشد که در کنار چشمه‌ها و آب‌های زلال می‌روید. به دلیل وجود بسیاری از ترکیبات شیمیایی مانند فلاونوئیدهای کوئرستین، کاروتنوئیدها، بتاکاروتن، لوتئین، ویتامین C ، زاگزانتین و فلاونوئید دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است (۲۰، ۲۷). ترکیبات فعال عصاره و اسانس‌های گیاهی فرار می‌باشد و برخی از آنها به سختی محلول در آب می‌باشند و همچنین به راحتی اکسید می‌شوند. یکی از راهکارها برای غلبه بر این محدودیت‌ها ریزپوشانی اسانس می‌باشد. برخی از مطالعات نشان داد ریز پوشانی قادر است خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی ترکیبات را افزایش می‌دهد و همچنین سبب حفظ پایداری خواص آن برای مدت طولانی‌تر می‌شود (۶، ۹، ۱۵).

هدف از تحقیق حاضر تهیه نانوکامپوزیت پولولان -نانورس حاوی اسانس و نانو اسانس علف چشمه و تعیین بهترین سطح اسانس و نانو اسانس بر خواص فیلم‌های تولیدی جهت کاربرد در بسته بندی مواد غذایی می‌باشد.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-آماده‌سازی اسانس

گیاه علف چشمه، از مناطق ییلاقی شهرستان آمل، مازندران، ایران تهیه، بعد از تأیید نام علمی از سوی گروه کشت و توسعه انستیتو گیاهان دارویی، قسمت‌های زائد آن جدا و بلافاصله پس از شستشو خشک گردید. سپس در آون تحت خلأ با درجه حرارت ۵۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه خشک و در ادامه توسط خردکن کاملا پودر و تا زمان انجام آزمایش در درجه حرارت ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس اسانس گیاه علف چشمه به روش تقطیر با بخار آب با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد برای استخراج اسانس حدود ۱۰۰ گرم اندام خشک شده گیاه در مخزن مخصوص دستگاه تقطیر با آب قرار گرفت و توسط جریان آب به مدت سه ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس‌های حاصل، بعد از صاف کردن و آبگیری با استفاده از سولفات سدیم، تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره در بسته، در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری گردید. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه و دارای درجه تجزیه‌ای بود.

۲-۲- تعیین محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی اسانس

محتوای فنل کل در اسانس بر اساس روش فولین سیوکالتیوو محتوای فلاونوئید بر اساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید انجام شد (۲۰).

۲-۳- تهیه اسانس ریزپوشانی‌شده

نانولیپوزم‌ها طبق روش Jiménez و همکاران (۲۰۱۴) با کمی تغییر یا اصلاح تولید شدند. ابتدا ۲ گرم لسیتین و ۲ گرم توئین ۸۰ در ۳۸ گرم آب مقطر مخلوط و برای ۵ ساعت تکان داده شدند. در مرحله بعد۴ گرم اسانس علف چشمه به دیسپرسیون آبی لسیتین اضافه شده و کل مخلوط به مدت ۶۰۰ ثانیه (۱ثانیه روشن و ۱ ثانیه خاموش در فرکانس ۴۰ کیلو هرتز و ۴۰ درصد قدرت دستگاه تحت شرایط سونیکاسیون قرار گرفت. نانولیپوزوم‌های تولیدی تا زمان استفاده در بطری‌های استریل و در شرایط تاریک نگهداری شد (۱۶).

۲-٤- سنجش اندازه ذرات

اندازه نانو ذرات با استفاده اسپکتروسکوپی همبستگی فوتونی[1] بر مبنای تفرق نور پویا توسط دستگاه آنالیز اندازه ی ذرات (Cordouan, VASCO Technologies, France) در دمای محیط، طول موج ۶۵۷ نانومتر و زاویه ۹۰ درجه تعیین شد. برای انجام این آزمون نانو لیپوزوم‌ها به نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه رقیق سازی شدند.Z-average به عنوان متوسط اندازه ی ذرات گزارش شد (۳۲).

۲-۵- تعیین راندمان ریز پوشانی

از طریق اندازه‌گیری میزان اسانس روغنی آزاد در دیسپرسیون نانو لیپوزوم‌ها با استفاده از روش سانتریفیوژاسیون تعیین گردید. بدین منظور ۰/۳ میلی لیتر از دیسپرسیون به دقت وزن شد و با ۱۰ میلی لیتر استون به عنوان حلال اسانس روغنی مخلوط گردید.

[1] Photon Correlation Spectroscopy

پس از آن، مخلوط حاصل به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. مقدار ترکیبات فنولی کل در محلول رویی با استفاده از روش فولین سیوکالتو و جذب در ۷۴۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر تعیین و راندمان ریزپوشانی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (۲۶).

رابطه ۱:

$$\text{راندمان ریز پوشانی (٪)} = \frac{w1-w2}{w2} \times 100$$

در این معادله w۱ مقدار اسانس در مایع فوقانی مقدار معین از نانوکپسول و w۲ مقدار اسانس افزوده شده برای آماده سازی همان مقدار نانوکپسول می باشد که بر حسب میلی گرم گالیک اسید به ازای هر گرم گیاه بیان می‌شوند.

۲-٦- تهیه فیلم مرکب پولولان- نانورس حاوی اسانس علف چشمه

۵ گرم پودر پولولان و ۱/۷۵ گرم گلیسرول (۳۵درصد وزن خشک پولولان) با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد و توسط همزن مغناطیسی حرارت داده و مخلوط گردید (۲۷). سپس محلول نانورس در سطح wt ۳درصد از طریق انحلال مقدار مناسبی از نانورس در ۱۰ میلی لیتر اسید استیک (۱درصد حجمی/حجمی) و هم زدن شدید به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط تهیه گردید. در مرحله بعد ۲۰۰ میلی لیتر از محلول پولولان به آرامی به محلول نانورس اضافه و پس از ۴ ساعت هم زدن، ۰/۲درصد وزنی/حجمی نبست به میزان اسانس، توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر به محلول ها اضافه گردید و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه‌سانتی‌گراد عمل همزدن آرام صورت گرفت تا امولسیفایر به طور یکنواخت درون محلول پخش شود. سرانجام اسانس علف چشمه به دو فرم آزاد و نانوکپسوله با غلظت ppm ۵۰۰، ۱۰۰۰ محلول ها اضافه گردید و به مدت دو دقیقه عمل همزدن به‌کمک هموژنایزر با دور ۷۰۰۰ دور در دقیقه صورت گرفت تا اسانس‌ها به طور یکنواخت در مجموعه پخش شوند. محلول حاصل به کمک پمپ خلا هواگیری گردید. سپس جهت تهیه فیلم‌ها، ۱۶۰ سی سی محلول حاصل روی قالبی با ابعاد ۲۸/۵×۲۸/۵/ پوشش شده بوسیله تفلون که از پیش طراحی و ساخته شده ریخته شد و به مدت ۷۲ ساعت برای خشک شدن در دمای محیط قرار گرفت. سرانجام پس از این مدت جهت انجام تست‌های بعدی از روی ظروف جداسازی شد. با توجه به اهمیت محتوای رطوبت در نتایج تست‌های بعدی جهت تعدیل رطوبتی (رسیدن به وزن ثابت) فیلم‌ها در دسیکاتور در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند. برای ایجاد رطوبت نسبی ۵۰ درصد از محلول اشباع نیترات منیزیم استفاده شد (۱).

جدول۱: تیمار بندی

ردیف	تیمار	حروف اختصاری
۱	پولولان	P
۲	پولولان+نانو رس	P+C
۳	پولولان+نانو رس+ اسانس ppm۵۰۰	P+C+E500ppm
٤	پولولان+نانو رس+ اسانس ppm۱۰۰۰	P+C+E1000ppm
٥	پولولان+نانو رس+ نانو اسانس ppm۵۰۰	P+C+NE500ppm
٦	پولولان+نانو رس+ نانو اسانس ppm۱۰۰۰	P+C+NE1000ppm

۲-۷- اندازه گیری خواص فیلم‌ها

۲-۷-۱- اندازه گیری ضخامت فیلم‌ها

ضخامت نمونه‌ها با یک ریز سنج دیجیتالی (۰/۰۰۱ میلی متر،Mitutoyo ساخت ژاپن) اندازه گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین مقاومت کششی و نفوذ پذیری به بخار آب استفاده گردید (۵).

۲-۷-۲- اندازه‌گیری میزان رطوبت فیلم‌ها

قطعه‌های فیلم در ابعاد ۳×۳ میلی‌متر بریده شد و هرکدام وزن گردید. مقدار اندازه‌گیری شده به عنوان وزن اولیه قرار داده شد. سپس قطعه‌های نمونه در آون ۹۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن خشک نهایی قرار داده شد، سپس نمونه‌ها وزن و مقدار به عنوان وزن خشک در نظر گرفته شد (۲۴).

۲-۷-۳- اندازه‌گیری نرخ عبور بخار آب از درون فیلم‌ها

برای انجام این آزمایش از روش شماره E ۹۶ مصوب ASTM استفاده گردید (۵). برای انجام آزمایش درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذ پذیری، آب ریخته شد. سپس سطح سلول بوسیله روکش با استفاده از پارافین مذاب پوشانده شد. سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفت. آب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۱۰۰ درصد ایجاد می کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرادینت فشار بخاری معادل۱۰۳ × ۲/۳۳۷ پاسکال ایجاد می‌کند. تغییرات وزن سلول‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. در تمام نمونه‌ها با رسم منحنی تغییرات وزن سلول نسبت به زمان، یک خط راست (R2>۰/۹۹) حاصل شد. نرخ انتقال بخار آب معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول بود و از رابطه ۲ زیر حاصل شد. سطح سلول ها۰/۰۰۲۸۷ متر مربع بود.

رابطه ۲:

سطح سلول /شیب خط = نرخ انتقال بخار آب

۲-۷-٤- کدورت فیلم

نمونه‌های فیلم به صورت چهار گوش بریده شدند و در سمت درونی سلول اسپکتروفوتومتر (طیف نورسنج) قرار گرفتند. طیف جذب (۲۰۰-۸۰۰ نانومتر) برای هر نمونه با بکار گیری اسپکتروفوتومتر، ثبت شد و کدورت فیلم با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (۲۵).

رابطه ۳:

ضخامت فیلم (میلی متر) /جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر =کدورت فیلم

۲-۷-۵- اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم

آزمون‌های مکانیکی فیلم‌ها بر اساس روش اصلاح شده ASTM D0882-۰۲ صورت گرفت. فیلم‌ها در قطعات ۷۶۱ cm بریده و تحت شرایط رطوبت نسبی ۵۰ درصد و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشروط شدند. ضخامت آنها در ۵ نقطه اندازه‌گیری و ضخامت متوسط آنها تعیین شد. ویژگی‌های مکانیکی فیلم (میزان کشش پذیری (درصد)، مقاومت به کشش (مگاپاسکال) با

استفاده از اینستران اندازه‌گیری شد. در دستگاه اینستران فاصله بین دو فک ۵۰mm، سرعت حرکت فک بالایی ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه و فک پایینی ثابت بود (۵).

۲-۷-٦- قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم با استفاده از ظرفیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و روش تغییر یافته Siripatrawan & Harte (۲۰۱۰) انجام گرفت. ۲۵ میلی‌گرم از فیلم در ۳ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه به آرامی هم زده شد. سپس ۸/۲ میلی لیتر از فیلم به لوله‌های آزمون حاوی ۰/۲ میلی لیتر محلول یک میلی مولار DPPH در متانول افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در اتاق نگهداری شد. میزان جذب لوله‌های آزمون و شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. درجه بی رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان مربوطه بود. در نهایت با استفاده از رابطه ۴، درصد فعالیت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین شد (۳۰).

رابطه ۴:

$$\text{درصد بازداری} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به‌صورت میانگین با انحراف معیار گزارش گردید. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار (SPSS version 18) صورت گرفت. برای بیان اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد و نمودارها با نرم‌افزار Microsoft Excel ترسیم شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات فنلی و فلانوئیدی اسانس

میزان ترکیبات فنلی اسانس علف چشمه در مطالعه حاضر برابر با ۲۱/۹۵±۳۷۰/۰۱ میلی‌گرم/گرم گالیک اسید و ترکیبات فلاونوئیدی ۷/۶۲±۲۲۷/۶۴ میلی‌گرم/گرم بوده است. Zeb و همکاران (۲۰۱۵) مقادیر ترکیبات فنلی عصاره آبی و الکلی گیاه علف چشمه را ۲۹/۸-۳۲۱/۱ میلی‌گرم/گرم گالیک اسید اعلام نمودند (۳۳)، Hasandokht و همکاران (۲۰۱۴) مقادیر ترکیبات فنلی گیاه علف چشمه جمع آوری شده از ۵ منطقه مختلف در ایران را مابین ۷۰-۳۷۵ میلی‌گرم/گرم گالیک اسید اعلام نمودند (۱۴). از آنجا که علف چشمه گیاهی است که در تماس مستقیم با آب می روید و گیاهی آبزی به شمار می رود ترکیبات موجود در آب و میزان آلودگی آن می‌تواند یکی از عوامل بوجود آورنده‌ی تفاوت‌های موجود در نتایج باشد. از طرف دیگر ویژگی‌های جغرافیایی و محیطی رویشگاه آنها می‌تواند دلیلی دیگر بر این تفاوت‌ها باشد.

۳-۲- بررسی آزمون های اسانس ریزپوشانی

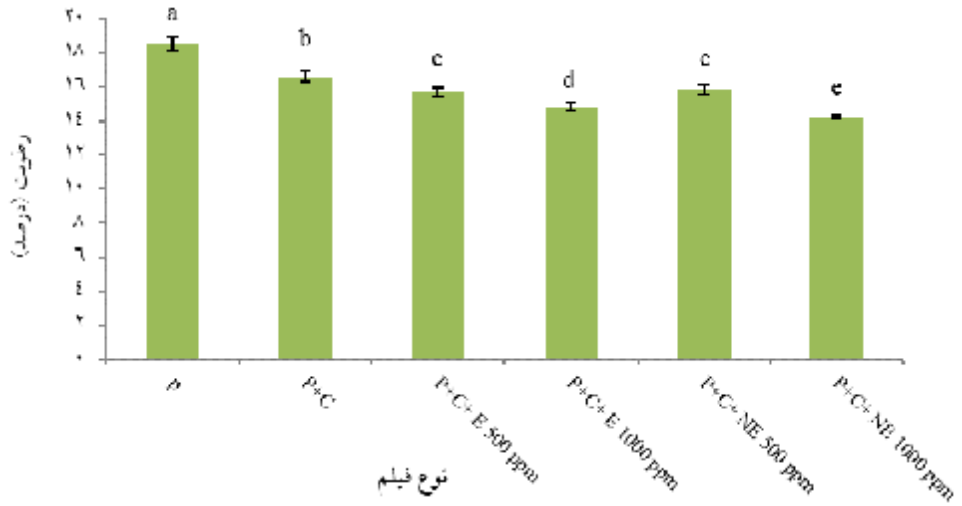
نتایج مربوط به اندازه ذرات نانولیپوزیم اسانس علف چشمه در مطالعه حاضر برابر با ۲/۸۳±۹۲/۳۱ نانومتر بوده است، نشان دهنده کوچک بودن نانو ذرات تولیدی می‌باشد، اندازه کوچک لیپوزیم نشان دهنده پایداری بالاتر آن می‌باشد، که به دلیل مقاومت

بالاتر نسبت به نیروی ثقل به واسطه حرکت برآونی است (۱۱). راندمان ریزپوشانی نانولیپوزیم‌ها در مطالعه حاضر برابر با ۸۱/۲۹±۰/۷۳ درصد بوده است. در ساختار لیپوزوم دو بخش آبدوست و آبگریز وجود دارد، ترکیبات آبدوست در محیط آبی درون لیپوزوم و ترکیبات آبگریز در بین دو لایه فسفولیپیدی محصور می‌گردند؛ بنابراین دولایه‌ی فسفولیپیدی به عنوان مخزنی برای اسانس روغنی عمل می‌کند. نتایج اندازه نانو ذرات و راندمان ریزپوشانی گزارش شده در این پژوهش تقریبا مشابه نتایج در پژوهش Eslamian و همکاران (۲۰۲۱) در ارتباط با نانو لیپوزوم‌های حاوی اسانس برگ بو می باشد (۹).

۳-۳- بررسی ویژگی‌های فیزیکی فیلم

۳-۳-۱- بررسی مقادیر رطوبت

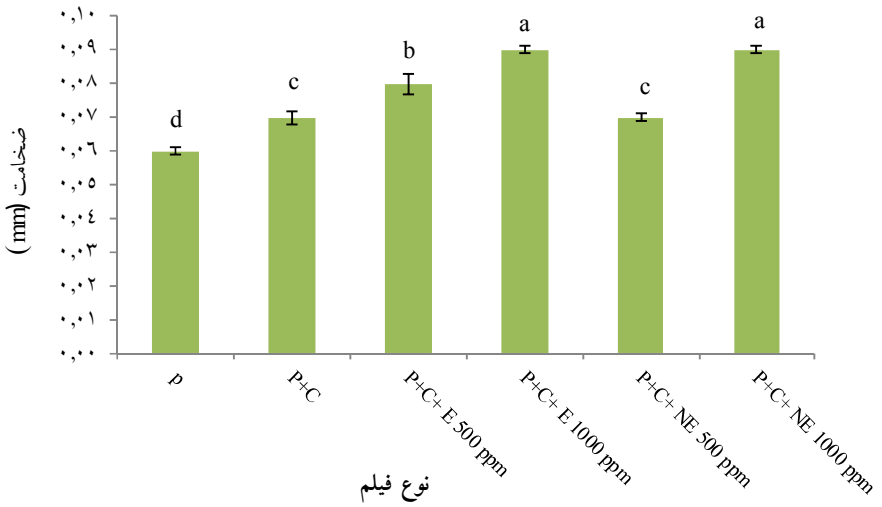
با توجه به نتایج بیشترین مقادیر رطوبت (شکل ۱) در فیلم پولولان بوده است (۱۸/۵۳درصد). با افزودن نانورس به فیلم پولولان میزان رطوبت به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). که دلیل آن ممکن است افزایش برهمکنش بین زنجیره پلیمر (پولولان) و نانورس اضافه شده به آن و به دنبال آن کاهش گروه هیدروکسیل باشد (۲). به‌طوری که ممکن است افزودن نانوذرات رس باعث تشکیل پیوند قوی هیدروژنی بین گروه های هیدروکسیل بیوپلیمر و نانورس شده باشد (۲). همچنین با افزودن اسانس به فیلم مذکور میزان رطوبت کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین میزان رطوبت در فیلم پولولان+ نانورس+ نانو اسانس ppm ۱۰۰۰مشاهده شد (۱۴/۲۳درصد) ($P<0/05$). این پدیده می‌تواند به علت تشکیل اتصالات کووالانسی بین زنجیره‌ای پولولان – نانورس و اسانس باشد ایجاد این اتصالات منجر به کاهش گروه‌های هیدروکسیل و آمین آزاد موجود در شبکه فیلم می‌شود. بر این اساس می‌توان گفت افزودن اسانس گیاهی به ماتریس فیلم، میزان اتصالات هیدروژنی موجود بین مولکول‌های آب و گروه‌های عاملی زنجیرهای پلیمری را کاهش داد که در نهایت کاهش اتصالات هیدروژنی منجر به کاهش میزان رطوبت فیلم های حاوی اسانس علف چشمه شد (۲۸).



شکل ۱: درصد رطوبت در فیلم ها

۳-۳-۲- بررسی ضخامت فیلم ها

ضخامت از فاکتورهای مهم فیلم است که به طور مستقیم روی ویژگی‌های بیولوژیکی و ماندگاری محصول بسته بندی شده تأثیر می‌گذارد. با توجه به نتایج کمترین مقادیر ضخامت (شکل ۲) در فیلم پولولان بوده است (۰/۰۶ میلی‌متر) (P<۰/۰۵). با افزودن نانورس ضخامت فیلم افزایش یافت، Ojagh و همکاران (۲۰۱۸) نیز اعلام نمودند، افزودن نانو رس، سبب افزایش ضخامت فیلم دولایه آگار /ژلاتین ماهی شد (۲۳). همچنین افزودن اسانس علف چشمه به فیلم پولولان- نانورس میزان ضخامت افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان ضخامت در فیلم پولولان+ نانورس+ نانو اسانس ۱۰۰۰ ppm (۰/۰۵۶ میلی‌متر) و فیلم پولولان+ نانورس+ اسانس ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد (P<۰/۰۵). علت افزایش ضخامت فیلم‌ها با افزودن نانو رس و اسانس، افزایش ماده خشک فیلم‌ها و همچنین جذب آب در ناحیه تک لایه توسط این ترکیب هیدروکلوئیدی می‌باشد، به‌طوری‌که نسبت به نمونه کنترل هنگام خشک کردن رطوبت کمتری از فیلم‌ها خارج می‌گردد و مجموع این تغییرات سبب افزایش ضخامت فیلم‌های تولیدی می‌گردد و همچنین ترکیبات شیمیایی مختلف موجود در اسانس نیز باعث بیرون زدن ساختار فیلم و افزایش ضخامت فیلم می‌شوند (۸).

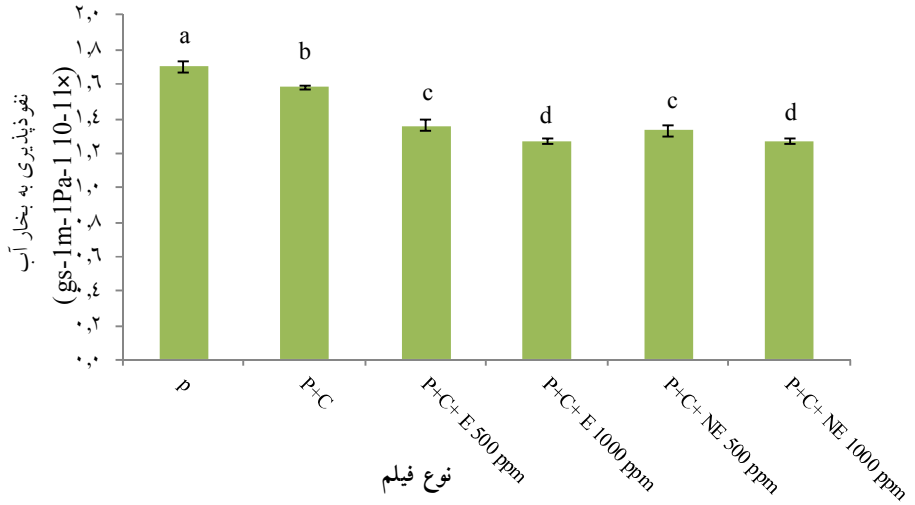


شکل ۲: ضخامت فیلم ها

۳-۳-۳- بررسی نفوذ پذیری به بخار آبWVP

نفوذپذیری به بخار آب یک روش ساده برای اندازه‌گیری مقدار نفوذ و عبور رطوبت به داخل یک ماده است. انتقال بخار آب از فیلم‌ها به دو فاکتور حلالیت و نفوذپذیری مولکول های آب در ماتریکس فیلم بستگی دارد. WVP یکی از پارامترهای مهم فیلم‌های زیست تخریب پذیر به شمار می‌رود. این پارامتر به منظور بررسی اثر ترکیبی نانورس و اسانس علف چشمه بر روی خواص ممانعتی فیلم پولولان مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به نتایج بیشترین مقادیر WVP (شکل ۳) در فیلم پولولان بوده است ($۱/۷۰ \times 10^{-11}$ $gs^{-1}m^{-1}Pa^{-1}$) (P<۰/۰۵). با افزودن نانورس و همچنین اسانس علف چشمه به فیلم پولولان میزان WVP کاهش یافت به طوری که کمترین میزان WVP در فیلم پولولان+ نانورس+ نانو اسانس ۱۰۰۰ ppm ($۱/۲۷\times10^{-11}$ $gs^{-1}m^{-1}Pa^{-1}$) و فیلم پولولان+ نانورس+ اسانس ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد ($۱/۲۸\times10^{-11}$ $gs^{-1}m^{-1}Pa^{-1}$) (P<۰/۰۵). بهبود خصوصیت ممانعتی فیلم پولولان به دلیل غیرمستقیم شدن مسیر عبور بخار آب توسط ذرات نانورس غیرقابل نفوذ و پراکنده شده در شبکه پروتئینی

می‌باشد. این ذرات طول مسیر انتشار مولکول‌های بخار آب را با پر پیچ و خم کردن مسیر عبورشان افزایش می‌دهند و از این رو سبب کاهش نفوذ پذیری به بخار آب فیلم‌ها می‌شوند (۱). همچنین می‌توان علت کاهش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در اثر افزودن اسانس را این گونه بیان کرد که گاهی اوقات زنجیره‌های پلیمری سبب کاهش ترک پلیمر می‌شود از این رو با کاهش انتشار آب از طریق فضای میانی زنجیره‌های نشاسته موجب کاهش نفوذپذیری می‌شود. این موضوع می‌تواند با شکل گیری شبکه برهم کنشی چربی در ساختار فیلم کربوهیدراتی توضیح داده شود. حضور یک فاز پراکنده آب گریز، هرچند در نسبت‌های کوچک با افزایش چروکیدگی میان زنجیره‌ها سبب کاهش انتقال جرم و در نتیجه کاهش نفوذپذیری فیلم‌ها می‌شود (۲۸، ۲۹). همان طور که در بالا نیز به آن اشاره شده است فیلم‌های دارای اسانس علف چشمه به علت افزایش خاصیت آب گریزی در فیلم نسبت به نمونه‌های بدون اسانس در ممانعت از عبور بخار آب بهتر عمل کرده‌اند و از آنجا که در حین خشک کردن فیلم، مقداری از اسانس به سطح فیلم می‌آید، باعث تشدید بیشتر خصوصیات آب گریزی در سطح این فیلم‌ها می‌شود.

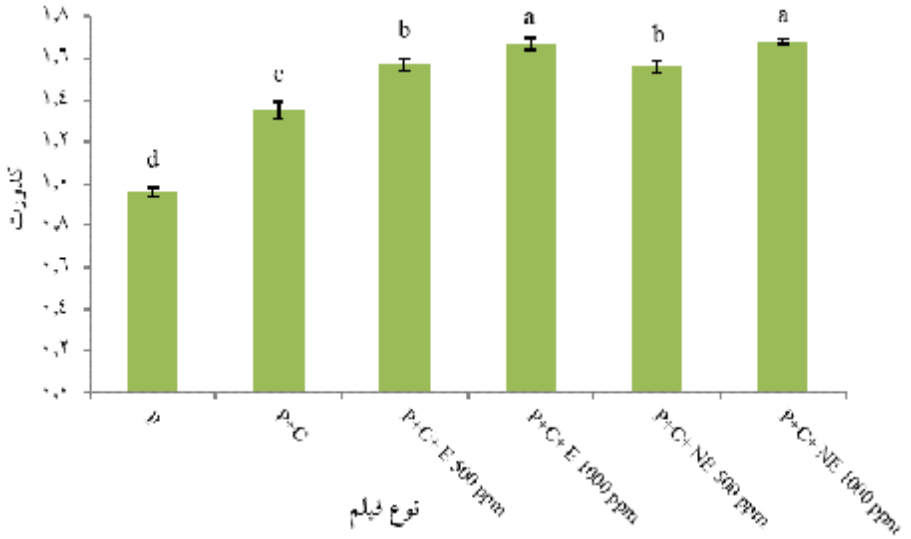


شکل ۳: نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخارآب

۳-۳-٤- بررسی مقادیر کدورت

شفافیت یک ویژگی بسیار مهم برای فیلم‌هایی است که به عنوان پوشش یا بسته‌بندی برای مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به نتایج کمترین مقادیر کدورت (شکل ۴) در فیلم پولولان بوده است (۰/۹۶) ($P<۰/۰۵$). با افزودن نانورس کدورت به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). فیلم پولولان خالص شفاف‌تر از سایر فیلم‌ها می‌باشند که نشان دهنده اندازه ذرات کوچتر از گرانول‌های پولولان می‌باشد. ظاهر مات و غیرشفاف در فیلم‌های کامپوزیتی محتوی نانورس مسیر عبور نور را از میان شبکه فیلم مسدود می‌نماید و در نتیجه سبب کاهش شفافیت فیلم‌های کامپوزیتی دارای نانورس می‌شود و همچنین افزودن اسانس علف چشمه به فیلم پولولان میزان کدورت فیلم افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان کدورت در فیلم پولولان+ نانورس+ نانو اسانس ۱۰۰۰ ppm (۱/۶۷) و فیلم پولولان+ نانورس+ اسانس ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد (۱/۶۸) ($P<۰/۰۵$). این تغییرات احتمالا به دلیل رنگ تیره اسانس می‌باشد و همچنین ممکن است به علت وجود ترکیبات پلی فنولی موجود در اسانس‌ها باشد، علاوه بر این، علت این پدیده را علاوه بر اثر پراکندگی نور در برخورد با اسانس می‌توان به افزایش زبری و ضخامت فیلم‌های حاوی نانورس و

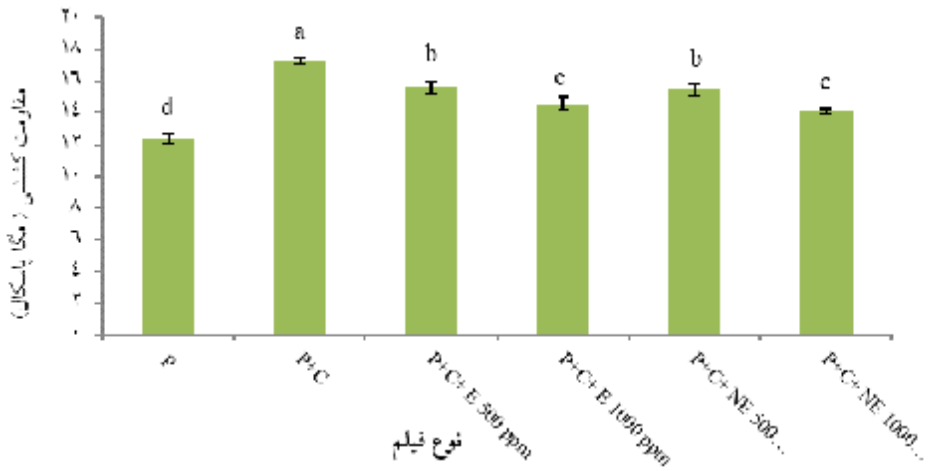
اسانس نسبت داد، از آنجایی‌که ضخامت یکی از عوامل تاثیرگذار بر میزان شفافیت فیلم‌ها می‌باشد، بنابراین میزان کدورت افزایش می‌یابد (۲۹).



شکل ٤: کدورت فیلم‌ها

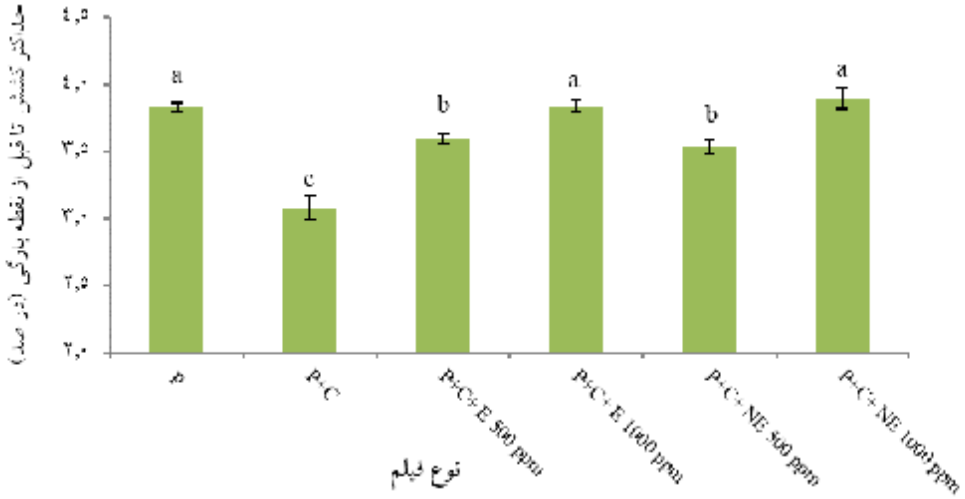
۳-٤- بررسی ویژگی‌های مکانیکی فیلم

استحکام یا مقاومت کششی، از طریق حداکثر تنش لازم برای پاره شدن فیلم طی آزمون کششی بررسی می‌شود (۲۲). با توجه به نتایج کمترین مقادیر مقاومت کششی (شکل ۵) در فیلم پولولان بوده است (۱۲/۳۲ مگاپاسکال) ($P<۰/۰۵$). با افزودن نانورس مقادیر مقاومت کششی افزایش یافت. افزایش در استحکام کششی ممکن است به استحکام و سفتی ذاتی زنجیره نانورس، توزیع یکنواخت نانو پرکننده‌ها در بسترماتریس پروتئینی و سازگاری بالا بین ذرات نانو و شبکه پروتئینی به دلیل مساحت سطح بالا و برهمکنش‌های ایجادشده بین نانو رس و شبکه پروتئینی مربوط شود (۱). اما افزودن اسانس علف چشمه به فیلم پولولان–نانورس میزان مقاومت کششی، فیلم افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان کدورت در فیلم پولولان+ نانورس مشاهده شد (۱۷/۲۷ مگا پاسکال) ($P<۰/۰۵$). دلیل این کاهش این‌است که مولکول‌های اسانس کشش مولکول های فیلم را با کاهش دادن اتصالات درون ملکولی در زنجیره‌های پروتئینی کمتر می‌کنند. به‌عبارت دیگر، بدلیل کم شدن دانسیته ملکولی، انعطاف پذیری در غلظت‌های بالاتر اسانس بیشتر می‌شود. بنابراین، اسانس به‌عنوان یک پلاستی‌سایزر عمل کرده و کشش مکانیکی فیلم پولولان را کاهش می‌دهد (۱۲).



شکل ۵: مقاومت کششی فیلم ها

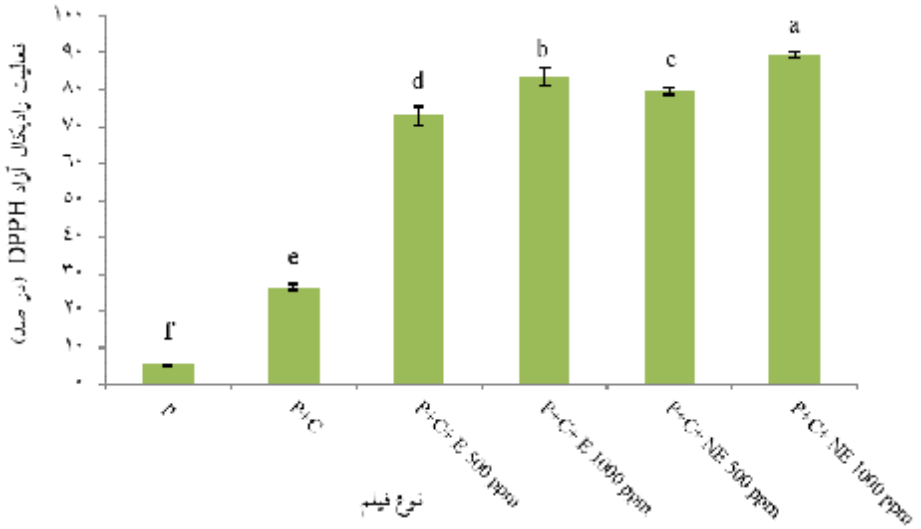
نتایج مربوط به حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی (شکل ۶) با نتایج مربوط به مقاومت کششی نسبت عکس داشت، افزودن نانورس به فیلم پولولان سبب کاهش حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی شد اما با افزودن اسانس به فیلم پلولان-نانورس سبب شد، حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی افزایش یافت به طوری که کمترین مقادیر حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی در فیلم پلی لاکتیک اسید +نانورس مشاهده شد (۳/۰۸ درصد) ($P<0/05$). بیشترین مقادیر حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی در فیلم پلولان (۳/۸۳ درصد)، پولولان+ نانورس+ نانو اسانس ppm ۱۰۰۰ (۳/۸۴ درصد) و فیلم پولولان+ نانورس+ اسانس ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد (۳/۹۰ درصد) ($P<0/05$). همانطور که ذکر شد، حضور اسانس در بستر پلیمر می‌تواند از طریق کاهش نیروهای بین مولکولی در زنجیره‌های پلیمر سبب افزایش انعطاف پذیری و تحرک زنجیره‌ای پلیمر گردد، بنابراین اسانس می‌تواند در نقش نرم کننده باعث افزایش ازدیاد طول فیلم تا لحظه پاره شدن و کاهش مقاومت کششی فیلم شود.



شکل ٦: حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی فیلم ها

۳-۵- اندازگیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

با توجه به نتایج کمترین مقادیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی (شکل ۷) در فیلم پولولان بوده است (۵/۳۱ درصد). با افزودن نانورس و همچنین اسانس به فیلم پلولان مقادیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی در فیلم پولولان+ نانورس+ نانو اسانس ppm ۱۰۰۰ (۸۹/۵۰ درصد) مشاهده شد. اسانس‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتا به دلیل ویژگی‌های اکسیداسیون احیای آن‌ها می‌باشد، بنابراین به عنوان عوامل احیا کننده، دهنده هیدروژن و درگیر کننده اکسیژن فعال عمل می‌کنند (۲۹). با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، فعالیت مهار رادیکالی اسانس نیز افزایش می‌یابد. همچنین نانوپوشانی باعث حفاظت هیدروکلوئیدهای به کار برده از فاکتورهای محیطی نظیر pH، اکسیژن، نور و ... می‌شود. همچنین مولکول‌های فرار با این روش پایدار مانده و باعث حفاظت آنها از تغییرات اکسیداتیو، نوری و فراریت می‌شود. بنابراین نانوپوشانی پتانسیل بیشتری به منظور افزایش فراهمی زیستی، بهبود کنترل انتشار، هدف قراردادن دقیق ترکیبات زیستی در نتیجه بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۱۰، ۲۱).



شکل ۷: خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها

٤- نتیجه گیری نهایی

امروزه آلودگی‌های ناشی از پلیمرهای سنتزی، توجه همگان را به استفاده از مواد زیست تخریب پذیر معطوف کرده است و در طی دو دهه اخیر مطالعه بر روی مواد زیست تخریب پذیر حاصل از پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها گسترش وسیعی یافته است. این ماکرومولکول‌ها به طور بالقوه می‌توانند جایگزینی مناسب برای پلیمرهای سنتزی حاصل از مشتقات نفتی به شمار روند. در همین راستا در تحقیق حاضر به تولید فیلم‌های آنتی‌اکسیدانی بر پایه پولولان پرداخته شد و اثر نانورس به همراه اسانس و نانو اسانس علف چشمه (ppm ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) بر ویژگی‌های مختلف آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیق به صورت خلاصه در زیر آورده شده است. نتایج آزمون مکانیکی نشان داد افزایش غلظت اسانس علف چشمه سبب کاهش مقاومت کششی افزایش کشش تا قبل از نقطه پارگی فیلم پولولان شد و نتایج حاصل از آزمون های فیزیکی نشان داد افزودن اسانس علف چشمه سبب بهبود خواص فیزیکی فیلم شد و با افزایش غلظت اسانس، خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. در مجموع بهترین ویژگی‌های فیلم در

پولولان+ نانو رس+ اسانس ppm ۱۰۰۰ و پولولان+ نانو رس+ نانو اسانس ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد، همچنین بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم در پولولان+ نانو رس+ نانو اسانس ppm ۱۰۰۰ مشاهد شد. با توجه به نتایج بدست آمده میتوان از فیلم‌های حاصله برای تهیه بسته‌بندی‌های زیست تخریب پذیر فعال جهت نگهداری مواد غذایی استفاده کرد.

۵- منابع

1. Abdollahi, M., Rezaei, M. Farzi, G. 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 847–853.
2. Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., and Behrooz, R. 2013. Comparing physico-mchanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocolloids*, 32(2): 416-424.
3. Abdollahi, M., Rezaei, M., Farzi, G. 2014. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *International Journal of Food Science & Technology*, 49: 811–818.
4. Alvesa, V., Costab, N., Hillioub, L., Larotondab, F., Gonçalvesb, M., Serenob, A., Coelhosoa, I. 2006. Design of biodegradable composite films for food packaging. *Desalination*, 199: 331–333.
5. ASTM. 1996. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-91. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American society for Testing and Material.
6. Bagheri, R., Izadi Amoli, R., Tabari Shahndash, N., Shahosseini, S. R. 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in the mince. *Food science and nutrition*, 4(2): 216–222.
7. Chu, Y., Cheng, W., Feng, X., Gao, C., Wu, D., Meng, L., Zhang, Y., Tang, X. 2020. Fabrication, structure and properties of pullulan -based active films incorporated with ultrasound-assisted cinnamon essential oil nanoemulsions. *Food Packag and Shelf Life*, 25: 100-127.
8. Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K., Khaksar, R. 2015. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72: 606-613.
9. Eslamian Amiri, M., Ahmady, M., Ariaii, P., Golestan, L., Ghorbani-HasanSaraei, A. G. 2021. Use composite coating of chitosan-chia seed gum enriched with microliposomes of Bay laurel essential oil to increase the shelf life of quail fillets. *Food Science & Nutrition*, 21: 1–14.
10. Ezhilarasi, P., Karthik, P., Chhanwal, N., Anandharamakrishnan, C. 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 628-647.
11. Fathi, M., Mozafari, M. R. Mohebbi, M. 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in Food Science and Technology*, 23: 13-27.
12. Fattahi, R., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Hosseini, M., Falcone, P. M. 2020. The effect of Macro and Nano-emulsions of cinnamon essential oil on the properties of edible active films. *Food Sci Nutr*, 8: 6568– 6579.
13. Han, j. H. 2014. Edible Films and Coatings: Chapter 9 - A Review. In "Innovations in Food Packaging. *Academic Press, San Diego*, 26: 213-255.
14. Hasandokht, M., Saadati. M, Jafari, S. 2014. Evaluation of antioxidant capacity, total phenolic compounds and vitamin C content of some watercress (*Nasturtium Officinale* L.) populations of Iran. *Applied Biology*, 26(2): 25-36.
15. Javadian, S. R., Shahoseini, S. R., Ariaii, P. 2017. The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and *Escherichia coli* O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26 (1): 115-123.
16. Jiménez, A., Sánchez-González, L., Desobry, S., Chiralt, A. 2014. Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 35: 159-169.
17. Kraśniewska, K., Pobiega, K., Gniewosz, M. 2019. Pullulan –biopolymer with potential for use as food packaging. *International Journal of Food Engineering*, 15(9): 201-239.

18. Liu, C., Zhang, S., Liu, J., Gao, S. W., Cui, W., Xia, M. 2020. Coating white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) with edible fully deacetylated chitosan incorporated with clove essential oil and kojic acid improves preservation during cold storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162: 1276–1282.
19. López-Rodríguez, D., Micó-Vicent, B., Jordán-Núñez, J., Bonet-Aracil, M., Bou-Belda, E. 2021. Uses of Nanoclays and Adsorbents for Dye Recovery: A Textile Industry Review. *Appl. Sci,* 11: 114-126..
20. Mahdavi, S., Kheyrollahi, M., Sheikhloei, H., Isazadeh, A. 2019. Antibacterial and Antioxidant Activities of Nasturtium officinale Essential Oil on Food Borne Bacteria. *The Open Microbiology Journal*, 13: 81- 85.
21. Moghadam, R. M., Ariaii, P., Ahmady, M. 2021. The effect of microencapsulated extract of pennyroyal (*Mentha pulegium*. L) on the physicochemical, sensory and viability of probiotic bacteria in yogurt. *Food Measure*, 15: 2625–2636.
22. Noronha, C. M., Carvalho, S. M., Lino, R. C. Barreto, P. L. 2014. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α-tocopherol nanocapsules. *Food Chemistry*, 159: 529–535.
23. Ojagh, S.M., Vejdan, M., Abdollahi. M. 2018. Effect of nanoclay addition on the properties of agar/fish gelatin bilayer film containing TiO2 nanoparticles. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 14 (1): 27-38.
24. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122 (1): 161-166.
25. Peng, Y., Li, Y. 2014. Food Hydrocolloids Combined effects of two kinds of essential oils on physical , mechanical and structural properties of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 36: 287–293.
26. Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., Saenz, C. 2015. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International journal of food science & technology*, 45: 1386-1394.
27. Shahosseini, S. R., Safari, R., Javadian, S. R. 2021. Evaluation antioxidant effects of Pullulan edible coating with watercress extract (*Nasturtiumn officinale*) on the chemical corruption of fresh beluga sturgeon fillet during storage in a refrigerator. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 30 (2): 123-146.
28. Shakour, N., Khoshkhoo, Z., Akhondzadeh Basti, A., Khanjari, A., Mahasti Shotorbani, P. 2021. Investigating the properties of PLA-nanochitosan composite films containing Ziziphora Clinopodioides essential oil and their impacts on oxidative spoilage of Oncorhynchus mykiss fillets. *Food Sci Nutr*, 23:1–13.
29. Shojaee Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M., Hosseini, S. M., Khaksar, R. 2013. Characterization of antioxidant antimicrobial kcarrageenan films containing *satureja hortensis* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 52: 116- 124.
30. Siripatrawan, U., Harte, B. R. 2010. Food Hydrocolloids Physical properties and antioxidant activity of an active fi lm from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24 (8): 770–775.
31. Valipour, F., Ariaii, P., Khademi, D., Nemati. M. 2017. Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α-tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 37(1): e12295.
32. Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J., Nasirpour, A. 2014. Design and characterization of astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 21: 366-374.
33. Zeb, A. 2015. Phenolic profile and antioxidant potential of wild watercress (*Nasturtium officinale* L.). *Springer Plus*, 4: 714.

Investigation of physical, mechanical and antioxidant properties of edible films produced from pullulan- nanoclay containing nano essential oil of watercress

Mohammad Reza Afifi [1], Peiman Ariaii[2]*, Mahdi Sharifi Soltani [3], Sara Jafarian [4]

[1]PhD student, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[2] Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[3] Department of veterinary, Agriculture faculty, Islamic Azad University, Chalous Branch, Chalous, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, savadkooh Branch, Islamic Azad University, savadkooh, Iran

*Corresponding author: Email: p.aryaye@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to produce antioxidant films on pullulan-nanoclay containing nano-essential oil and nano-essential oil of watercress (*Nasturtium officinale*). For this purpose, first the essential oil of watercress was extracted using water vapor distillation and microcoated with liposome. Then 6 edible films including: pullulan, pullulan+ nano-clay, pullulan+ nano-clay+ essential oil 500 ppm, Pullulan+ nano-clay+ essential oil 1000 ppm, Pullulan+ nano-clay+ nano-essential oil 500 ppm, Pullulan+ nano-clay+ nano essential oil 1000 ppm, were produced and physical, mechanical and antioxidant properties of them were investigated. According to the results, the amount of phenolic and flavonoid compounds of essential oil was equal to 370.01 mg/ g gallic acid and 227.64 mg/ g (respectively). The particle size of nanoliposomes and the microcoating efficiency of nano-essential oils were 92.31 nm and 81.29% (respectively). The results related to the film properties showed that by adding different amounts of essential oil and nano-essential oil to the pullulan -nano-clay film, the moisture content, tensile strength and water vapor permeability of the films were significantly reduced ($P < 0.05$). The film contained 1000 ppm of essential oil and nano essential oil, had the lowest moisture content, tensile strength and water vapor permeability. Addition of essential oil and nano-essential oil caused a significant increase in the thickness and turbidity of the films and decreased the transparency of the films ($P < 0.05$). With the addition of essential oil, the antioxidant content of the films increased significantly and the use of nano-essential oil and increasing the concentration used in the composition of the films caused a significant increase in the antioxidant content of the films ($P < 0.05$). In general, pullulan-nanoclay films containing nano-essential oil of watercress are a good option for storing packaged food due to their desirable physical and antioxidant properties.

Keywords: Nanocomposite, Nano liposome, Nanoclay, DPPH free radical, *Nasturtium officinale*