

## بررسی خصوصیات فیزیکی و آنتی‌اکسیدانی فیلم فعال سلولز باکتریایی حاوی عصاره گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*)

شکوفه سوخته زاری<sup>۱</sup>، هادی الماسی<sup>۲\*</sup>، سجاد پیرسا<sup>۲</sup>، محسن زندی<sup>۲</sup> و میرخلیل پیروزی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۳۱

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

<sup>۲</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

<sup>۳</sup> دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

\* مسئول مکاتبه: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

### چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی خواص فیزیکی و آنتی‌اکسیدانی فیلم سلولز باکتریایی حاوی عصاره‌ی تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بود و تأثیر افزودن  $\beta$ -سیکلودکسترین ( $\beta$ -CD) و همچنین لامیناسیون و تولید فیلم سه لایه بر روی خواص فیلم، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فیلم‌های لامینه بیشترین ضخامت را نشان می‌دهند. میزان حلالیت در آب با افزودن عصاره و  $\beta$ -CD افزایش یافت اما این ویژگی در فیلم‌های لامینه کمتر بود. میزان جذب رطوبت و نفوذپذیری نسبت به بخار آب نیز با افزودن  $\beta$ -CD و همچنین تولید فیلم سه لایه کمتر شد. اندیس  $a$ ، اندیس زردی و اختلاف رنگ فیلم سلولز باکتریایی با افزودن عصاره تشنه‌داری بطور چشمگیری افزایش یافت اما اثر  $\beta$ -CD لامیناسیون بر روی خواص رنگی معنی دار نبود ( $p \geq 0.05$ ). فیلم سه لایه حاوی  $\beta$ -CD بیشترین مقادیر استحکام کششی (۱۵/۱۱MPa) و مدول یانگ (۱۳۹۴۵MPa) را نشان داد. فیلم سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه‌داری، قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH قابل توجهی از خود نشان داد (۵۴/۵٪) اما لامیناسیون باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شد. بطور کلی تشکیل کمپلکس عصاره تشنه‌داری با  $\beta$ -CD و همچنین تولید فیلم سه لایه توانست اثر منفی عصاره بر روی خواص فیزیکی فیلم سلولز باکتریایی را کاهش داده و به تولید فیلم فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا منجر شود.

واژگان کلیدی: فیلم سلولز باکتریایی،  $\beta$ -سیکلودکسترین، عصاره تشنه‌داری، لامیناسیون، خواص فیزیکی

### مقدمه

می‌باشد. یکی از موادی که اخیراً در این زمینه کاربرد

پیدا کرده است، سلولز باکتریایی<sup>۱</sup> است. سلولز

یکی از پیشرفت‌های اخیر در زمینه بسته بندی مواد

غذایی، تولید بسته بندی‌های زیست تخریب پذیر و فعال

1- Bacterial cellulose

همکاران، ۲۰۰۸)، سوربیک اسید (جیپا و همکاران، ۲۰۱۲)، وانیلین (استروسکو و همکاران، ۲۰۱۳) و نانوذرات فلزی نظیر  $TiO_2$  (وانگ و همکاران، ۲۰۱۳) و ZnO (شاه محمدی و الماسی، ۲۰۱۶) از جمله ترکیبات ضد میکروبی هستند که استفاده از آنها در بسته بندی فعال سلولز باکتریایی مورد بررسی قرار گرفته است.

امروزه بدلیل افزایش آگاهی مصرف کنندگان، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی طبیعی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی روند روبه‌رشدی یافته است. گیاه *Scrophularia striata* با نام محلی تشنه داری، یکی از گیاهان بومی ایران است که بصورت وحشی در مراتع، دامنه کوه‌ها و ارتفاعات استان ایلام رشد می‌کند. عصاره تشنه داری دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی متعددی است و پنج ترکیب شاخص شامل سینامیک اسید، سه ترکیب فلاونوئیدی (نپیتین، کوئرستین و ایزورامنتین - ۳-O - روتینوزید) و فنیل پروپانوئید گلیکوزید در عصاره اندام‌های هوایی این گیاه شناسایی شده است (منصف اصفهانی و همکاران، ۲۰۱۰). عصاره تشنه داری فعالیت ضد میکروبی بسیار قوی در مقابل باکتری‌های مختلف از خود نشان می‌دهد. همچنین ویژگی آنتی اکسیدانی قوی و قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد آن در منابع مختلف به اثبات رسیده است (زمانیان ازدی و همکاران، ۲۰۱۳؛ آزاد مهر و همکاران، ۲۰۱۳).

افزودن اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی غالباً باعث تضعیف خواص بیوپلیمرها می‌شوند (لوپز روبیو و همکاران، ۲۰۰۶). به منظور جبران این تأثیر منفی، راهکارهای مختلفی وجود دارد که یکی از آنها تشکیل کمپلکس عصاره و اسانس با ترکیبات سازگار کننده و سپس استفاده از آنها در ترکیب فیلم فعال می‌باشد. سیکلودکسترین‌ها از جمله ترکیبات تشکیل دهنده کمپلکس می‌باشند. سیکلودکسترین‌ها ترکیباتی متشکل از واحدهای  $D-\alpha$ -گلوکوپیرانوز می‌باشند که ساختار حلقوی بخود گرفته‌اند. یکی از مهمترین ویژگی‌های

باکتریایی، یک پلی ساکارید میکروبی است که از ویژگی‌های منحصر بفردی برخوردار می‌باشد و باعث شده است که توجه بسیاری از محققین به استفاده از این ترکیب در کاربردهای مختلف غذایی، پزشکی، صنعتی و حتی الکترونیکی معطوف شود (شاه و همکاران، ۲۰۱۳؛ اسا و همکاران، ۲۰۱۴؛ راجواده و همکاران، ۲۰۱۵). در حال حاضر، باکتری‌های مختلفی برای تولید سلولز استفاده می‌شوند اما *استوباکتر گزلینیوم* به طور گسترده‌تری در تولید تجاری آن کاربرد دارد (شی و همکاران، ۲۰۱۴). غشای نانوالیاف سلولز باکتریایی، یک ماده زیست تخریب پذیر با ماهیت بسیار بلورین و با ظرفیت جذب مایعات بالا می‌باشد. مقاومت مکانیکی قابل توجه آن بدلیل ماهیت بلورین و قدرت تشکیل پیوند بین مولکولی زیاد، کاربردهای گسترده‌ای را پیش روی این بیوپلیمر میکروبی قرار داده است. مزیت مهم دیگر سلولز باکتریایی نسبت به سلولز گیاهی، درجه خلوص صددرصد و عدم وجود ناخالصی‌های همی سلولزی و لیگنینی در آن می‌باشد (فو و همکاران، ۲۰۱۲). سلولز باکتریایی به دلیل دارا بودن خواص رئولوژیکی و هیدروژلی قوی، در صنایع غذایی به عنوان یک ژل کننده، قوام دهنده، پایدار کننده و اصلاح کننده بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد (شی و همکاران، ۲۰۱۴).

یکی از کاربردهای سلولز باکتریایی استفاده در بسته بندی مواد غذایی است. در طی سالهای اخیر، از این بیوپلیمر در تولید بسته‌بندی‌های فعال استفاده فراوانی شده است. بسته بندی فعال نوعی بسته بندی است که علاوه بر داشتن خواص بازدارندگی اصلی بسته بندی‌های معمول، با تغییر شرایط بسته‌بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های حسی ماده غذایی را بهبود می‌بخشد و در عین حال کیفیت ماده غذایی حفظ می‌گردد (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸). نایسین (نگوین و

## مواد و روش‌ها

### مواد

فیلم سلولز باکتریایی (BC) تولید شده توسط *استوباکتر گزیلیوم*، بصورت آماده و به شکل ورقه‌های ژله مانند و کدر، از شرکت نانو نوین پلیمر (ساری، ایران) خریداری شد. ویژگی‌های BC عبارتند از: درجه بلورینگی  $\sim 78\%$ ، قطر متوسط الیاف  $\sim 45\text{nm}$  و درجه خلوص  $99\% \beta$  - سیکلودکسترین ( $\beta$ -CD) بصورت پودر سفید رنگ از شرکت Yasho industries (هند) خریداری شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده، دارای خلوص آزمایشگاهی بود و از شرکت Sigma (آلمان) خریداری شد.

### تهیه عصاره گیاهی

گیاه تشنه داری در اواخر فصل تابستان و اوایل فصل پاییز از دامنه‌های کوه‌های زاگرس واقع در شمال استان ایلام جمع آوری شد و پس از آبکشی و خشک کردن در سایه، اندام‌های هوایی آن پودر شده و سپس با نسبت وزنی ۱ به ۵ به آب مقطر در حال جوش اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد و در نهایت، عصاره حاصل شده توسط کاغذ صافی فیلتر شد و تا غلظت ۷۰ درصد تحت خلاء تغلیظ گردید. عصاره بدست آمده که دارای محتوای فنول کل برابر با  $52/31\text{ mg}/100\text{ g}$  بر حسب اسید گالیک (اندازه گیری شده به روش فولین سیوکالچو طبق روش مهدالی و همکاران (۲۰۱۱)) بود، در محل تاریک و خنک تا زمان استفاده نگهداری شد (عباسی و همکاران، ۲۰۰۷).

### تهیه فیلم‌های فعال

فیلم فعال سلولز باکتریایی (BC)، با ترکیب ۵ درصد وزنی عصاره تشنه داری به صورت فیلم تک لایه و سه لایه آماده شد. نمونه‌های تولیدی در این پژوهش بدین صورت بودند:

- فیلم شاهد: غشای نانوفیبر سلولز (با محتوای رطوبت  $93\%$ ) به قطر ۱۰ سانتی متر بریده شده و در داخل یک پلیت پلاستیکی در دمای محیط خشک شد. (BC)

سیکلودکسترین‌ها این است که می‌توانند ترکیبات زیست فعال را در درون خود جاداده و بدین ترتیب علاوه بر کاهش برهمکنش آنها با سایر ترکیبات مواد غذایی، باعث افزایش پایداری حرارتی و شیمیایی آنها نیز شوند. جای دادن ترکیبات آنتی اکسیدانی در داخل حفرات  $\beta$ -سیکلودکسترین و سپس افزودن آن به ترکیب فیلم فعال، می‌تواند به بهبود خواص و همچنین کنترل رهایش ترکیبات فعال از فیلم کمک کند (هیل و همکاران، ۲۰۱۳؛ سان و همکاران، ۲۰۱۴).

یکی دیگر از راهکارهای بهبود خواص فیزیکی فیلم‌ها، لامیناسیون و تولید فیلم چندلایه است. شاه محمدی و الماسی (۲۰۱۶) گزارش کردند که تولید فیلم سه لایه حاوی نانوذرات ZnO باعث بهبود قابل توجه در خواص مکانیکی و بازدارندگی به بخار آب فیلم سلولز باکتریایی می‌شود و همچنین رهایش نانوذرات به محیط آبی، در اثر لامیناسیون کاهش می‌یابد. استروسکو و همکاران (۲۰۱۳) نیز در مورد خواص فیلم سه لایه سلولز باکتریایی حاوی وانیلین به نتایج مشابهی دست یافتند.

تاکنون تأثیر عصاره گیاه تشنه داری بر روی خواص فیلم سلولز باکتریایی و هیچ بیوپلیمری دیگر مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین تأثیر  $\beta$ -سیکلودکسترین بر روی ویژگی‌های فیلم سلولز باکتریایی نیز بررسی نشده است. هدف این پژوهش، طراحی بسته بندی فعال آنتی اکسیدانی از ترکیب سلولز باکتریایی و عصاره آبی گیاه تشنه داری بود و تأثیر استفاده از  $\beta$ -سیکلودکسترین و تولید فیلم سه لایه، بر روی خواص فیزیکوشیمیایی (خواص مکانیکی، بازدارندگی در برابر رطوبت و ویژگی‌های رنگی) و خواص آنتی اکسیدانی فیلم فعال مورد ارزیابی قرار گرفته است.

در ۵ نقطه مختلف انجام شد و میانگین آنها بعنوان ضخامت فیلم گزارش شد.

#### اندازه گیری میزان حلالیت در آب

حلالیت در آب عبارت است از درصد ماده خشک فیلم که پس از ۲۴ ساعت غوطه وری در آب، به حالت محلول درمی‌آید. برای تعیین میزان حلالیت، از روش اندازه گیری اختلاف وزن خشک فیلم‌ها قبل و بعد از قرارگیری درون آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد (آنجلس و همکاران، ۲۰۰۱).

#### اندازه گیری میزان جذب رطوبت

برای اندازه گیری میزان جذب رطوبت، نمونه‌هایی از فیلم‌ها با ابعاد ۲۰mm×۲۰mm تهیه شد و در دسیکاتور حاوی سولفات کلسیم (RH=۰٪) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از توزین اولیه، نمونه‌ها به دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیتريت کلسیم در RH=۵۵٪ منتقل شده و در دمای °C ۲۵-۲۰ قرار گرفتند. سپس وزن نمونه‌ها در زمان‌های مختلف تا رسیدن به وزن ثابت اندازه گیری شد (الماسی و همکاران، ۲۰۱۰). میزان جذب رطوبت از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$(1) \quad (\%) \text{ جذب رطوبت} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

$W_t$  وزن نمونه پس از زمان  $t$  در RH=۵۵٪ و  $W_0$  وزن اولیه نمونه است.

#### اندازه گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

برای اندازه گیری WVP، از روش ASTM E96-05 (۲۰۰۵) استفاده شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ظرف‌های حاوی درپوشی از جنس فیلم‌های مختلف تعیین شد.

#### تعیین خواص رنگی

رنگ نمونه‌ها توسط دستگاه رنگ سنج هانتربل<sup>۲</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان رنگ، با استفاده از پارامترهای هانتربل بر حسب روشنایی ( $L^*$ )، سرخی-سبزی ( $a^*$ ) و زردی-آبی ( $b^*$ ) محاسبه و از روی آنها

- فیلم فعال حاوی عصاره: عصاره تشنه داری (با غلظت ۵٪ وزن خشک سلولز) درون پلیت ریخته شده و غشای سلولزی در آن غوطه‌ور شد و خشک گردید. در حین خشک شدن تمامی عصاره جذب ساختار سلولز می‌شود. (فیلم BC/E)

- فیلم فعال حاوی کمپلکس عصاره و  $\beta$ -CD: عصاره (۵٪ وزن سلولز) و پودر  $\beta$ -CD (۲۰٪ وزن عصاره) در آب مقطر حل شده و پس از ۲۰ دقیقه تیمار اولتراسوند (ASONE مدل USD 4R ساخت کشور ژاپن) با فرکانس ۴۰ kHz، غشای سلولزی در آن غوطه‌ور شده و خشک گردید. (فیلم BC/E/ $\beta$ -CD)

- فیلم فعال لامینه شده<sup>۱</sup> (سه لایه) حاوی عصاره: فیلم‌هایی چند لایه (ML) با ۲ لایه از سلولز باکتریایی خالص و یک لایه‌ی درونی حاوی عصاره تهیه شدند. لایه حاوی عصاره مشابه نمونه قبلی تهیه شد و سپس در زیر یک لایه فیلم سلولزی فاقد عصاره قرار گرفت و مجدداً لایه بیرونی در معرض هوا خشک شد. در ادامه، یک لایه فیلم خالص دیگر به شکل مرطوب در سمت دیگر فیلم فعال قرار گرفت و مجدداً خشک گردید تا فیلم سه لایه حاصل شود. (فیلم BC/ML/E)

- فیلم فعال لامینه شده (سه لایه) حاوی عصاره کمپلکس شده با  $\beta$ -CD: فیلم‌هایی با ۲ لایه از غشای سلولز باکتریایی خالص و یک لایه‌ی درونی حاوی کمپلکس عصاره- $\beta$ -CD تهیه شدند. تیمار فراصوت تنها بر روی کمپلکس و قبل از اضافه کردن به فیلم انجام شد. (فیلم BC/ML/E/ $\beta$ -CD)

فیلم‌های خشک شده در لفاف‌های پلاستیکی تا زمان انجام آزمون‌های بعدی نگهداری شدند.

#### اندازه گیری ضخامت فیلم‌ها

برای اندازه گیری ضخامت فیلم‌ها از میکرومتر Altone (چین) با دقت ۰/۰۱ میلی متر استفاده شد. اندازه گیری

2- Hunterlab colorimeter

1- Laminated film

مولار ترکیب شده و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$DPPH (\%) = \frac{Abs_c - Abs_s}{Abs_c} \times 100 \quad (5)$$

$Abs_s$  میزان جذب نمونه‌ی متانولی DPPH و  $Abs_c$  میزان جذب نمونه‌ی فیلم است.

### تحلیل آماری

همهٔ آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری SPSS 21 در سطح احتمال ۵٪ ( $p < 0.05$ ) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام می‌گیرد.

### نتایج و بحث

#### ضخامت

جدول ۱ ضخامت و ویژگی‌های بازاریابی فیلم‌های سلولزی را نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که غشاهای مرطوب سلولزی با ضخامت یکسان برای تهیه فیلم‌ها انتخاب شده بودند. همان طور که مشخص است، فیلم شاهد و بدون عصاره، کمترین ضخامت را نشان داد. با افزودن عصاره، ضخامت فیلم تا حدودی افزایش یافت و این افزایش در حضور  $\beta$ -CD باز هم بیشتر شد اما این تغییرات از نظر آماری معنادار نبوده و بین ضخامت نمونه‌ها تحت تأثیر افزودن عصاره و  $\beta$ -CD تغییر معناداری مشاهده نشد ( $p \geq 0.05$ ). با این وجود، در فیلم‌های لامینه، ضخامت بطور چشمگیری افزایش یافت. مسلم است که با تهیه فیلم سه لایه، ضخامت فیلم نهایی نسبت به حالتی که تنها یک لایه از فیلم سلولزی تهیه شده باشد بسیار بیشتر خواهد بود.  $\beta$ -CD در فیلم‌های لامینه نیز بر روی ضخامت تأثیرگذار بود و فیلم سه لایه حاوی عصاره تشنه داری و  $\beta$ -CD بیشترین ضخامت را نشان داد. جیپا و همکاران (۲۰۱۲)، فیلم یک

اختلاف رنگ کلی ( $\Delta E$ )، اندیس زردی ( $YI$ ) و اندیس سفیدی ( $WI$ ) برای فیلم‌ها محاسبه شد (الماسی و همکاران، ۲۰۱۰).

(۲)

$$\Delta E = [(L_s - L)^2 + (a_s - a)^2 + (b_s - b)^2]^{0.5}$$

$$YI = \frac{142/17b}{L} \quad (3)$$

$$WI = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5} \quad (4)$$

$L_s$  و  $a_s$  و  $b_s$  مولفه‌های صفحه سفید استاندارد و  $L$  و  $a$  و  $b$  مقادیر نمونه‌ها هستند. ( $b = -3/41$  و  $a = 1/77$ ,  $L = 89/9$ )

#### اندازه گیری خواص مکانیکی

برای مطالعه‌ی خواص مکانیکی، دستگاه آزمون مکانیکی مدل Roell FR010 ساخت شرکت Zwick آلمان مورد استفاده قرار گرفت. استحکام کششی نهایی<sup>۱</sup> (UTS)، کرنش تا نقطه شکست<sup>۲</sup> (STB) و مدول یانگ<sup>۳</sup> (YM) فیلم‌ها طبق استاندارد ASTM D882-10 (۲۰۱۰) اندازه گیری شد. ابتدا نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵٪ (نیتريت کلیسم اشباع) واجد شرایط شدند و سپس سه نمونه از هر کدام از فیلم‌ها به شکل دمبلی با ابعاد  $8 \times 0.5 \text{ cm}^2$  بریده شد و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصلهٔ اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب ۵۰ mm و ۳ mm/min تعیین و داده‌ها توسط یک رایانه ثبت گردید.

#### تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد

فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها با استفاده از روش تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) به روش سریپاتراوان و هارت (۲۰۱۰) مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمون ۰/۰۲۵ گرم از هر فیلم در ۴ میلی لیتر آب مقطر حل شده و بمدت ۵ دقیقه تکان داده شد. سپس محلول حاصل با ۱ میلی لیتر از محلول DPPH ۱ میلی

1- Tensile strength

2- Elongation at break

3- Young's modulus

لایه حاوی عصاره در بین دو لایه خالص سلولزی، انحلال عصاره در آب کمتر شده و در نتیجه مانع افزایش حلالیت می‌شود. جیپا و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کرده‌اند که با افزودن نایسین به فیلم سلولزی، حلالیت افزایش یافته و با تولید فیلم سه لایه حاوی نایسین، حلالیت کمتر می‌شود.

#### جذب رطوبت

میزان جذب رطوبت فیلم‌ها نیز روند تغییرات مشابه حلالیت نشان داد (جدول ۱). افزودن عصاره و  $\beta$ -CD تغییر معناداری بر روی جذب رطوبت فیلم‌ها نداشت ( $p \geq 0.05$ ). از یک طرف، عصاره قادر است با کاهش اتصالات بین رشته‌ای در بین زنجیرهای سلولز، گروه‌های OH آزاد را افزایش داده و به جذب رطوبت کمک کند و از طرف دیگر، ترکیبات فنولی و آبگریز موجود در عصاره مانع جذب رطوبت زیاد توسط فیلم می‌شوند. چن و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کرده‌اند که افزودن اسانس خردل و همچنین استفاده از  $\beta$ -CD باعث کاهش میزان جذب رطوبت فیلم سولفات سلولز می‌شود. اما بدلیل آبگریزی کمتر عصاره تشنه داری نسبت به اسانس، این تأثیر در پژوهش حاضر، مشاهده نشد.

لایه و سه لایه سلولز باکتریایی حاوی آنتی بیوتیک نایسین تهیه کردند و به روند تغییرات مشابهی در ضخامت فیلم‌ها دست یافتند.

#### حلالیت در آب

همان طور که در جدول ۱ مشخص است، فیلم خالص سلولز باکتریایی، حلالیت در آب کمی از خود نشان داد. درجه خلوص بالای سلولز باکتریایی و عدم حلالیت آن در آب باعث کاهش حلالیت فیلم سلولز باکتریایی در آب می‌شود. با افزودن عصاره تشنه داری، حلالیت بطور معناداری افزایش یافت ( $p \leq 0.05$ ). نفوذ ترکیبات فنولی عصاره به فضای بین رشته‌های سلولزی باعث کاهش اتصالات بین مولکولی می‌شود و در نتیجه حلالیت افزایش می‌یابد. همچنین خود عصاره نیز ممکن است در آب حل شده و خارج شود و در افزایش میزان حلالیت فیلم تأثیرگذار باشد.  $\beta$ -CD تأثیر معناداری بر روی حلالیت فیلم حاوی عصاره نداشت که نشان می‌دهد این ترکیب در کنترل حلالیت و کاهش نشسته عصاره به داخل آب ناتوان است. همچنین در فیلم‌های سه لایه، حلالیت در آب بطور قابل توجهی کاهش یافت. این امر نشان دهنده تأثیر لامیناسیون در افزایش تراکم ساختاری و کاهش انحلال فیلم در آب می‌باشد. همچنین با قرارگیری

جدول ۱- ضخامت، حلالیت در آب، میزان جذب رطوبت و WVP فیلم‌های سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه داری

نمونه ها	ضخامت (mm)	حلالیت در آب (%)	میزان جذب رطوبت (%)	WVP ( $\times 10^{-5}$ g/m.s.Pa)
BC	$0.04 \pm 0.00^a$	$25.00 \pm 0.00^c$	$12.50 \pm 0.00^a$	$3.75 \pm 0.07^c$
BC/E	$0.06 \pm 0.00^a$	$54.79 \pm 2.06^a$	$12.13 \pm 0.52^a$	$6.65 \pm 0.42^a$
BC/E/ $\beta$ -CD	$0.08 \pm 0.01^a$	$56.25 \pm 0.00^a$	$12.13 \pm 0.52^a$	$5.90 \pm 0.63^b$
BC/ML/E	$0.34 \pm 0.00^b$	$39.64 \pm 0.05^b$	$3.45 \pm 0.16^b$	$2.90 \pm 0.42^e$
BC/ML/E/ $\beta$ -CD	$0.39 \pm 0.01^b$	$39.70 \pm 2.07^b$	$2.94 \pm 0.00^b$	$2.25 \pm 0.70^d$

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.

CD کمترین جذب رطوبت را نشان داد. با افزایش ضخامت فیلم، نفوذ رطوبت به لایه‌های زیرین کمتر شده

تولید فیلم سه لایه باعث کاهش قابل توجه در میزان جذب رطوبت شد و فیلم سه لایه حاوی عصاره و  $\beta$ -

معنی دار آن شدند. اختلاف رنگ کلی فیلم‌های سلولزی با افزودن عصاره افزایش یافت. حضور  $\beta$ -CD در ترکیب فیلم‌ها مقداری از اثر حضور عصاره در افزایش اختلاف رنگ را خنثی کرد. لامینه کردن فیلم‌ها نیز تا حدودی اختلاف رنگ کلی را نسبت به فیلم‌های تک لایه کاهش داد. اندیس زردی همانند اختلاف رنگ کلی، با افزودن عصاره به طور قابل توجهی افزایش یافت و در فیلم‌های لامینه بیشتر از فیلم‌های تک لایه بود. افزودن عصاره، اندیس سفیدی را کاهش داد. وجود  $\beta$ -CD این مولفه را نسبت به فیلم‌های بدون  $\beta$ -CD مقدار کمی افزایش داد. همچنین لامینه کردن فیلم‌ها باعث افزایش آن شد. عصاره‌های گیاهی بدلیل دارا بودن رنگ‌های با شدت زیاد، معمولاً باعث تضعیف خواص ظاهری فیلم‌های فعال می‌شوند. بعنوان مثال، افزودن عصاره پوست انار به فیلم کیتوزان شاخص‌های شفافیت و سفیدی را کاهش و اختلاف رنگ کلی و اندیس زردی را افزایش داد (مهدی زاده و همکاران، ۱۳۹۱).

#### خواص مکانیکی

مقادیر UTS، STB و YM فیلم‌های فعال در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. افزودن عصاره باعث کاهش استحکام کششی فیلم‌ها شد. UTS در فیلم حاوی  $\beta$ -CD بیشتر از فیلم حاوی عصاره خالص بود. لامیناسیون نیز باعث افزایش قابل توجه در استحکام کششی شد. این نتایج نشان می‌دهد که فیلم‌های سه لایه مقاومت کششی بیشتری نسبت به فیلم‌های تک لایه دارند. مسلم است که افزایش ضخامت فیلم می‌تواند بر روی استحکام کششی آن موثر باشد. مقادیر استحکام کششی بدست آمده، تقریباً مشابه با نتایجی است که جیپا و همکاران (۲۰۱۲) برای فیلم سلولزی یک و سه لایه حاوی سوربیک اسید گزارش کردند. اما در فیلم‌های سه لایه،  $\beta$ -CD اثر قابل توجهی بر افزایش استحکام کششی نداشت. مقادیر YM نیز روند تغییراتی مشابه UTS نشان داد. عصاره باعث کاهش YM و لامیناسیون باعث افزایش آن شد. مقادیر بالای YM در

و بنابراین جذب رطوبت کلی در فیلم کاهش می‌یابد. نتایج این آزمون‌ها نشان داد که تولید فیلم سه لایه، بیشتر از استفاده از  $\beta$ -CD قادر است در کاهش جذب رطوبت فیلم سلولزی حاوی عصاره موثر باشد.

#### نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

انتقال بخار آب از فیلم‌ها به دو فاکتور حلالیت و نفوذپذیری مولکولهای آب در ماتریکس فیلم بستگی دارد. نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) با افزودن عصاره به فیلم‌ها به طور معنا داری افزایش یافته است ( $p \leq 0.05$ ) که دلیل آن نقش عصاره در کاهش پیوستگی ماتریکس فیلم و افزایش خلل و فرج در آن است. اما کمپلکس شدن عصاره با  $\beta$ -CD باعث کاهش WVP نسبت به فیلم بدون  $\beta$ -CD شده است. این امر نشان می‌دهد که برقراری اتصالات بین  $\beta$ -CD و رشته‌های بیوپلیمر قادر است با افزایش تراکم ساختاری، مسیرهای آزاد برای عبور مولکول‌های بخار آب را کاهش دهد. تولید فیلم سه لایه باعث کاهش WVP در فیلم‌ها شد که این کاهش نیز می‌تواند بدلیل افزایش تراکم ساختاری و کاهش خلل و فرج در این فیلم‌ها باشد. فیلم لامینه حاوی کمپلکس عصاره- $\beta$ -CD کمترین WVP را در بین فیلم‌ها داشت که می‌تواند حاصل از اثر توام  $\beta$ -CD و عمل لامیناسیون باشد.

#### خواص رنگی

مقایسه تغییرات رنگی نشان داد که افزودن عصاره باعث ایجاد اختلاف معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) در تمام شاخص‌های رنگی با نمونه شاهد (BC) می‌شود (جدول ۲). افزودن عصاره باعث کاهش معنی داری در مولفه  $L$  (شاخص روشنایی) شد اما افزودن  $\beta$ -CD و لامینه کردن فیلم‌ها این مولفه را نسبت به فیلم حاوی عصاره افزایش داد. اندیس  $a$  نیز با افزودن عصاره بیشتر شد که دلیل آن قرمزی طبیعی موجود در رنگ عصاره بود. با این وجود،  $\beta$ -CD و لامینه کردن تأثیری بر روی اندیس  $a$  نداشت. عصاره تشنه داری تأثیری بر روی اندیس  $b$  نداشت اما  $\beta$ -CD و لامیناسیون باعث کاهش

فیلم سلولز باکتریایی در مقایسه با سایر بیوپلیمرها نشان دهنده ویژگی‌های مکانیکی بسیار عالی این بیوپلیمر می‌باشد.

STB با افزودن عصاره، افزایش معناداری نسبت به نمونه شاهد نشان داد ( $p \leq 0.05$ ). افزایش STB و کاهش YM و UTS نشان می‌دهد که عصاره بدلیل ایفای نقش نرم‌کنندگی و دخالت در ایجاد برهمکنش‌های کافی بین رشته‌های سلولزی باعث تضعیف خواص مکانیکی فیلم می‌شود. افزودن عصاره هسته انگور به فیلم کیتوزان نیز باعث کاهش استحکام کششی و افزایش کرنش در نقطه شکست شد (مرادی و همکاران، ۱۳۹۱). در مورد تأثیر وانیلین (استرواسکو و همکاران، ۲۰۱۳) و نایسین (نگوین و همکاران، ۲۰۰۸) بر روی تضعیف خواص مکانیکی فیلم سلولز باکتریایی نیز نتایج مشابهی گزارش شده است. و افزودن  $\beta$ -CD باعث کاهش STB شد. بطور کلی استفاده از  $\beta$ -CD تأثیر قابل توجهی در افزایش مقاومت مکانیکی و کاهش انعطاف پذیری فیلم نشان داد. احتمالاً تشکیل کمپلکس عصاره و  $\beta$ -CD قادر است نقش منفی آن را در کاهش اتصالات بین رشته‌ای کمتر کند. لامیناسیون نیز قادر بود STB را

نسبت به فیلم شاهد افزایش دهد. اما تأثیر منفی عصاره بر روی STB را کاهش داد. بطور کلی لامیناسیون و افزایش ضخامت قادر بود استحکام کششی و انعطاف پذیری را بطور همزمان افزایش دهد. پلیمری از نظر خواص مکانیکی مطلوب محسوب می‌شود که دارای بیشترین UTS و درعین حال بیشترین STB باشد. این یک تأثیر خوب و منحصر به فرد برای لامیناسیون محسوب می‌شود که قادر است همزمان هم UTS و YM و هم STB فیلم سلولز باکتریایی را افزایش دهد.

#### فعالیت آنتی‌اکسیدانی

همانطور که در شکل ۴ آمده است قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد فیلم‌های حاوی عصاره اختلاف معنی داری با فیلم شاهد نشان داد. این مولفه در فیلم‌های لامینه کمتر از فیلم‌های تک لایه بود. اما وجود  $\beta$ -CD تأثیر چندانی در این روند نداشت. صفدری و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی عصاره بادام با افزودن نانوذره نقره کاهش می‌یابد.

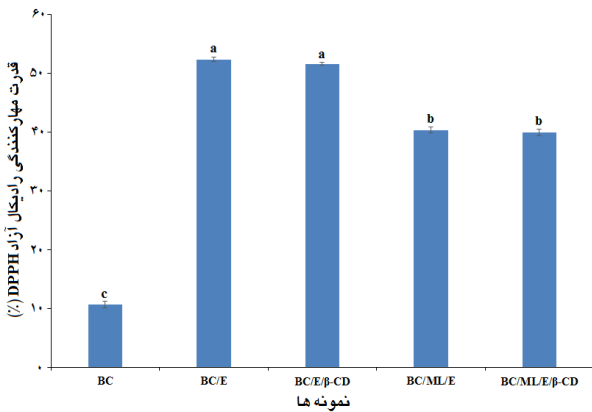
جدول ۲- ویژگی‌های رنگی فیلم‌های سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه داری

WI	YI	$\Delta E$	b	a	L	نمونه
۸۹/۰۱±۰/۱۷ <sup>a</sup>	۲/۲۶±۰/۱۵ <sup>c</sup>	۵/۳۱±۰/۱۲ <sup>d</sup>	۲۶/۶۱±۰/۶۶ <sup>c</sup>	۰/۱۵±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۸۹/۱۱±۰/۱۶ <sup>a</sup>	BC
۵۳/۳۱±۰/۷۵ <sup>c</sup>	۵۹/۷۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۴۰/۸۸±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۲۵/۳۹±۱/۵۴ <sup>c</sup>	۲/۰۷±۰/۱۶ <sup>b</sup>	۶۰/۸۹±۱/۲۶ <sup>d</sup>	BC/E
۵۸/۱۲±۰/۷۲ <sup>b</sup>	۵۶/۱۴±۰/۷۵ <sup>a</sup>	۳۷/۳۹±۰/۴۹ <sup>b</sup>	۲۰/۷۱±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۲/۵۵±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۶۷/۶۶±۰/۹۴ <sup>b</sup>	BC/E/ $\beta$ -CD
۵۸/۱۲±۰/۳۶ <sup>b</sup>	۴۶/۲۴±۰/۶۳ <sup>b</sup>	۳۵/۶۰±۰/۸۰ <sup>c</sup>	۲۲/۰۰±۰/۹۰ <sup>b</sup>	۲/۳۱±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۶۳/۶۴±۰/۹۰ <sup>c</sup>	BC/ML/E
۵۷/۵۶±۰/۹۸ <sup>b</sup>	۴۹/۰۲±۰/۸۷ <sup>b</sup>	۳۶/۴۰±۰/۱۱ <sup>b,c</sup>	۲۱/۷۰±۰/۴۰ <sup>b</sup>	۲/۳۱±۰/۴۰ <sup>b</sup>	۶۳/۷۰±۰/۴۰ <sup>c</sup>	BC/ML/E/ $\beta$ -CD

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است



این تغییرات به این سبب است که نانوذرات با ایجاد پیوند با ترکیبات زیست فعال به نوعی بعنوان محافظ ترکیبات فنلی عمل می‌کنند و آزاد شدن آنها از بستر فیلم را کاهش می‌دهند. اما در این پژوهش اختلاف معناداری بین فیلم حاوی عصاره و فیلم حاوی عصاره و  $\beta$ -CD مشاهده نشد. احتمالاً تشکیل کمپلکس عصاره و  $\beta$ -CD از کارایی پایینی برخوردار بوده و نتوانسته است به مهار مهاجرت عصاره از فیلم سلولزی به داخل متانول کمک کند. اثبات تأثیر  $\beta$ -CD در کنترل رهائش عصاره به مطالعات بیشتری نیاز دارد که در بخش دوم این پژوهش انجام خواهد شد. اما لامیناسیون قادر بود بعنوان یک روش موثر به کاهش نرخ رهائش عصاره کمک کند و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های سه لایه به طور معناداری کمتر از فیلم‌های یک لایه بود. لامیناسیون با ایجاد لایه‌های حائل در اطراف لایه فعال، نرخ آزادسازی عصاره را کاهش می‌دهد و به همین دلیل، فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های سه‌لایه کاهش می‌یابد.

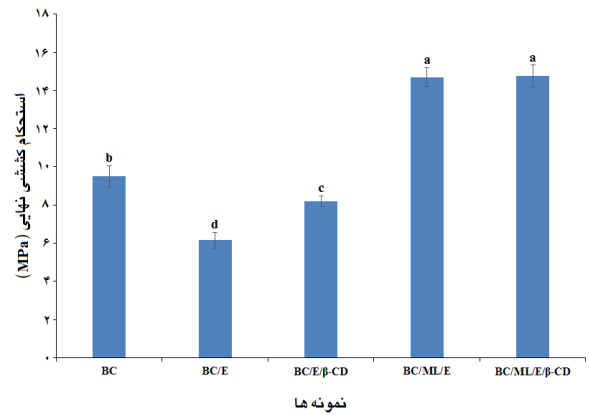


شکل ۴ - قدرت آنتی اکسیدانی فیلم‌های سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه داری

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.

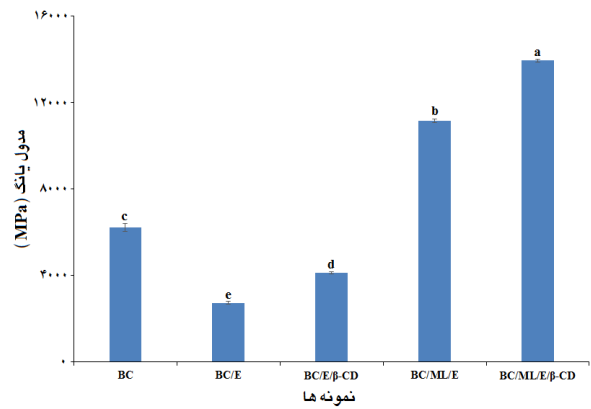
**نتیجه گیری**

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از عصاره تشنه داری در ترکیب فیلم سلولز باکتریایی باعث تضعیف خواص کاربردی فیلم می‌شود اما تشکیل



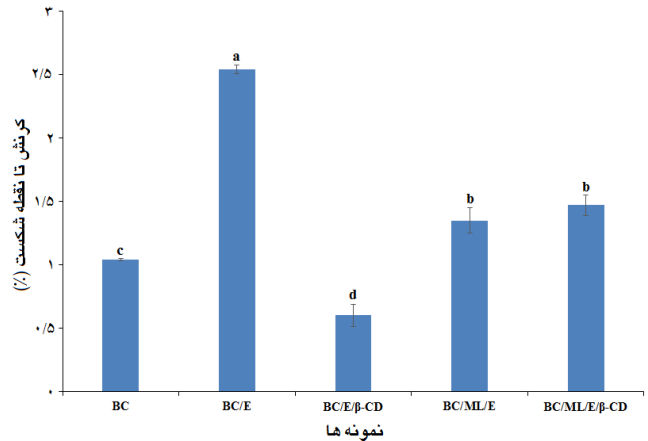
شکل ۱ - استحکام کششی نهایی فیلم‌های سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه داری

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.



شکل ۲ - مدول یانگ فیلم‌های سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه داری

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.



شکل ۳ - گرمش تا نقطه شکست فیلم‌های سلولز باکتریایی حاوی عصاره تشنه داری

سلولز باکتریایی سه لایه حاوی کمپلکس عصاره تشنه داری و  $\beta$ -CD (به شرط تقویت خواص مکانیکی و بهبود انعطاف پذیری) می‌توان بعنوان یک بسته بندی آنتی اکسیدانی خوب و موثر و با رهایش کنترل شده، در افزایش پایداری اکسیداتیو مواد غذایی استفاده نمود.

کمپلکس عصاره با  $\beta$ -CD و همچنین تولید فیلم سه لایه قادر است این تضعیف خواص را جبران نماید. علاوه بر تأثیر این دو راهکار در بهبود خواص فیلم فعال سلولز، لامیناسیون همچنین توانست به کنترل رهایش عصاره و در نتیجه کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم در طول زمان کمک کند. پژوهش حاضر نشان داد که از فیلم

### منابع مورد استفاده

- قنبرزاده ب، الماسی ه و زاهدی ی، ۱۳۸۸، بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه صنعتی امیرکبیر. چاپ اول، صفحات ۱۰-۱۴.
- مرادی م، تاجیک ح، رضوی روحانی م، ارومیه ای ع، ملکی نژاد ح، قاسم مهدی ه، ۱۳۹۱، تهیه و ارزیابی خصوصیات فیلم آنتی اکسیدان کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور، فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۱، ۵۱-۴۲.
- مهدی زاده ت، تاجیک ح، رضوی روحانی م، ارومیه ای ع، ۱۳۹۱، ارزیابی ویژگی‌های ضدباکتریایی، آنتی اکسیدانی و نوری فیلم خوراکی نانوکامپوزیتی نشاسته- کیتوزان حاوی عصاره الکی پوست انار، مجله پزشکی ارومیه، (۳) ۲۲، ۳۱۵-۳۲۳.
- Abbasi N, Azizi Jalilian F, Abdi M and Saifmanesh MA, 2007. Comparative study of the antimicrobial effect of *Scrophularia striata* Boiss: extract and selective antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Medical Plants 1(6): 10-18.
- Almasi H, Ghanbarzadeh B and Entezami AA, 2010. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. International Journal of Biological Macromolecules 46: 1-5.
- Angles MN and Dufresne A, 2001. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. Macromolecules 34: 2921-2931.
- ASTM. 1995. Standard test methods for water vapor transmission of material, E96-95. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM. 2010. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-10. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Azadmehr A, Alizadeh Oghyanous K, Hajiaghvae R, Amirghofran Z and Azadbakht M, 2013. Antioxidant and neuroprotective effects of *Scrophularia striata* extract against oxidative stress-induced neurotoxicity. Cellular Molecular Neurobiology 33: 1135-1141.
- Chen G and Liu B, 2016. Cellulose sulfate based film with slow-release antimicrobial properties prepared by incorporation of mustard essential oil and  $\beta$ -cyclodextrin. Food Hydrocolloids 55: 100-107.
- Esa F, Tasirin SM and Rahman NA, 2014. Overview of bacterial cellulose production and application. Agriculture and Agricultural Science Procedia 2: 113-119.
- Fu L, Zhang Y, Li C, Wu Z, Zhuo Q and Huang X, 2010. Skin tissue repair materials from bacterial cellulose by a multilayer fermentation method. Journal of Materials Chemistry 22(24): 12349-12357.
- Hill L, Gomes C, and Taylor TM, 2013. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. LWT - Food Science and Technology 51: 86-93.
- Jipa IM, Stoica-Guzun A and Stroescu M, 2012. Controlled release of sorbic acid from bacterial cellulose based mono and multilayer antimicrobial films. LWT-Food Science and Technology 47: 400-406.
- Lopez-Rubio A, Gavara R and Lagaron JM, 2006. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. Trends in Food Science & Technology 17: 567-575.

- Mohdaly AA, Smetanska I, Ramadan MF, Sarhan MA and Mahmoud A, 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Industrial Crops and Products* 34: 952–959.
- Monsef-Esfahani HR, Hajiaghaee R, Shahverdi AR, Khorramizadeh MR and Amini M, 2010. Flavonoids, cinnamic acid and phenyl propanoid from aerial parts of *Scrophularia striata*. *Pharmaceutical Biology* 48(3): 333–336.
- Nguyen VT, Gidley MG and Dykes GA, 2008. Potential of a nisin-containing bacterial cellulose film to inhibit *Listeria monocytogenes* on processed meats. *Food Microbiology* 25: 471–478.
- Rajwade JM, Paknikar KM, and Kumbhar JK, 2015. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99: 2491–2511.
- Safdari L, Dehghan, G and Hemmati A, 2013. Effect of silver nanoparticles and almond bark extract on the physical properties of biodegradable starch-PVA films. 1<sup>st</sup> international life science conference and 12<sup>th</sup> Iran biophysical chemistry conference. Tabriz, Iran, 22-24 May.
- Shah N, Ul-Islam M, Khattak WA and Park JK, 2013. Overview of bacterial cellulose composites: a multipurpose advanced material. *Carbohydrate Polymers* 98: 1585–1598.
- Shahmohammadi Jebel F and Almasi H, 2016. Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films. *Carbohydrate Polymers* 149: 8–19.
- Shi Z, Zhang Y, Phillips GO and Yang G, 2014. Utilization of bacterial cellulose in food. *Food Hydrocolloids* 35: 539-545.
- Siripatrawan U and Harte H, 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 24: 770-775.
- Stroescu M, Stoica-Guzun A and Jipa IM, 2013. Vanillin release from poly(vinylalcohol)-bacterial cellulose mono and multilayer films. *Journal of Food Engineering* 114: 153–157.
- Sun X, Sui S, FERENCE Ch, Zhang Y, Sun Sh, Zhou N, Zhu W and Zhou K, 2014. Antimicrobial and mechanical properties of  $\beta$ -Cyclodextrin inclusion with essential oils in chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(35): 8914–8918.
- Wang J, Liu W, Li H, Wang H, Wang Z and Zhou W, 2013. Preparation of cellulose fiber–TiO<sub>2</sub> nanobelt–silver nanoparticle hierarchically structured hybrid paper and its photocatalytic and antibacterial properties. *Chemical Engineering Journal* 228: 272–280.
- Zamanian-Azodi M, Ardeshirylajimi A, Ahmadi N, Rezaee MB, Azizi Jalilian F and Khodarahmi R, 2013. Antibacterial effects of *Scrophularia striata* seed aqueous extract on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Paramedical Sciences* 4: 4978-4984.

## Investigation of the physical and antioxidant properties of bacterial cellulose active film containing *Scrophularia striata* extract

Sh Sukhtezari<sup>1</sup>, H Almasi<sup>\*2</sup>, S Pirsai<sup>2</sup>, M Zandi<sup>2</sup> and MKh Pirouzifard<sup>3</sup>

Received: June 14, 2016 Accepted: August 21, 2016

<sup>1</sup>MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>3</sup>Associate Professor Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

\*Corresponding author: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

### Abstract

The aim of this research was to study the physical and antioxidant properties of bacterial cellulose based active films containing *Scrophularia striata* extract. The effect of  $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD) and lamination process was investigated on the properties of films. Results showed that the laminated films had the highest thickness. Water solubility of the films was increased by incorporation of the extract, but this property was decreased after lamination. Moisture uptake and water vapour permeability were decreased by  $\beta$ -CD inclusion and lamination process. *a* value, Yellowness index and total colour difference were increased significantly by addition of extract ( $p \leq 0.05$ ). But the effect of  $\beta$ -CD and lamination was not significant on colour properties.  $\beta$ -CD containing three-layer film had the highest tensile strength (15.11 MPa) and Young modulus (13945 MPa). Bacterial cellulose film containing extract showed a good DPPH radical scavenging activity (54.5%), but lamination process caused to decrease the antioxidant activity. Generally complex formation of extract with  $\beta$ -CD and also lamination was able to decrease the negative effects of extract on physical properties of bacterial cellulose film and to fabricate an active film with high antioxidant activity.

**Keywords:** Bacterial cellulose film,  $\beta$  cyclodextrine, *Scrophularia striata* extract, lamination, physical properties