

The use of Thyme plant extract (*Zataria Multiflora*) to make antibacterial food packaging paper

Amir Hosein Ghasemi¹, Nouredin Nazarnezhad^{2*}, Shaghaygh Rezanezhad³
and Seyed Hasan Sharifi⁴

1-M. Sc., Wood and Cellulose Product Department, Sari Agricultural and Natural Resources University, Iran

2*-Corresponding Author, Associated Professor, Wood and Cellulose Product Department, Sari Agricultural and Natural Resources University, Iran, E-mail: nazarnezhad91@gmail.com

3-Ph.D., Pulp and Paper Industry, Wood and Cellulose Product Department, Sari Agricultural and Natural Resources University, Iran

4-Assistant Professor, Wood and Cellulose Product Department, Sari Agricultural and Natural Resources University, Iran

Received: May 2022

Revised: April 2023

Accepted: May 2023

Abstract

Background and objectives: Some medicinal herb extracts have the antibacterial capability. On the other hand, herb extract is one of the organic, natural, and environmentally friendly substances. In recent years, the production of environmental and safe packaging materials has attracted the attention of scientists and industrialists. Paper is one of the biodegradables and low-cost options for packaging in various industries, including the food industry. Also, the raw materials of paper can be modified and changed with different materials. As a result, paper fibers can be treated with herb extracts and used in the production of renewable papers with antibacterial properties.

Methodology: In this research, thyme plant residue (*Zataria Multiflora*) was used for extraction. The thyme obtained from the research farm was dried and then powdered. 10 grams of thyme powder was poured on 100 ml of ethanol and then it was treated with an ultrasonic probe. In this method, two amplitudes of 40 and 60 amplitudes and three time levels of 3, 6, and 9 minutes were used for extraction. Then the papers with 120 grammage were treated with herbal extract prepared using two dosages of 15 and 20% based on the dry weight of the paper by spraying. The antibacterial properties of the papers were investigated with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The chemical structure of the extract from the thyme was investigated by Fourier transform infrared spectrum (FTIR) analysis. Also, gas chromatography (GC-MASS) analysis was used to investigate the components of thyme extract. The optical properties of the paper, including brightness and opacity, and the strengths properties of the produced papers were measured by tensile, tear, and burst strengths.

Results: The highest inhibition zone diameter in the treated paper with the thyme extracted by ultrasonic method was 20 mm in 40 amplitude and 9 minutes for *Escherichia coli* bacteria. Also, the highest inhibition zone diameter for *Staphylococcus aureus* bacteria was 14 mm in 60 amplitude and 6 minutes. According to the results of the papers analysis, the papers showed better

antibacterial properties and higher inhibition zone against the *Escherichia coli* bacteria. The chemical compounds in the thyme extract including various substances such as hexane and furans. The most important chemical components that caused the antibacterial properties of the papers is carvenone, which was observed in the thyme extract. The results of the strength test of the treated papers showed that the sample of the thyme extracted by the ultrasonic method at 40 amplitudes, 3 minutes, and the 20% consumption amount based on the dry weight of the paper has the highest tensile and burst index. As well as, the highest tear index of the treated papers was in the treated sample with the thyme extracted at 60 amplitudes, 3 minutes, and 15% consumption amount based on the dry weight of the paper. The results of the optical tests showed that the opacity of the papers decreased and the brightness increased.

Conclusion: The results of this research showed that the paper as a biodegradable and environmentally friendly material has the ability to be treated with herbal and natural antibacterial materials such as the thyme extract. Also, the herbal extracts are a suitable alternative to inorganic and metallic materials in the production of materials with antibacterial properties due to the herbal extracts are cheap, available and natural materials.

Keywords: Antibacterial paper, herbal extract, ultrasonic, thyme.

استفاده از عصاره گیاه دارویی آویشن شیرازی (*Zataria Multiflora*) برای ساخت کاغذ بسته‌بندی مواد غذایی ضد باکتری

امیرحسین قاسمی کاسمان^۱، نورالدین نظرنژاد^{۲*}، شقایق رضانژاد^۳ و سیدحسین شریفی^۴

۱- کارشناس ارشد، گروه صنایع چوب و فراورده‌های سلولزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه صنایع چوب و فراورده‌های سلولزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران،

پست الکترونیک: nazarnezhad91@gmail.com

۳- دکتری صنایع خمیر و کاغذ، گروه صنایع چوب و فراورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۴- استادیار، گروه صنایع چوب و فراورده‌های سلولزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۱

تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: عصاره برخی از گیاهان دارویی، قابلیت ایجاد خاصیت ضد باکتریایی دارد. از سوی دیگر، عصاره گیاهی جزو مواد آلی و طبیعی و دوستدار محیط زیست می‌باشد. در سال‌های اخیر ساخت مواد بسته‌بندی زیست‌محیطی و ایمن مورد توجه دانشمندان و صنعتگران قرار گرفته است. کاغذ یکی از گزینه‌های زیست‌تخریب‌پذیر و ارزان برای بسته‌بندی در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی است. همچنین، مواد اولیه تشکیل دهنده کاغذ قابلیت اصلاح و تغییر با مواد مختلف را دارند. در نتیجه، می‌توان الیاف کاغذ را با عصاره‌های گیاهی تیمار کرده و در تولید کاغذهای تجدیدپذیر و با خاصیت ضد باکتریایی استفاده کرد. مواد و روش‌ها: در این پژوهش، از گیاه آویشن شیرازی برای استخراج عصاره استفاده شد. آویشن تهیه شده از مزرعه تحقیقاتی، خشک و بعد پودر شد. ۱۰ گرم پودر آویشن بر روی ۱۰۰ میلی لیتر اتانل ریخته شد و سپس با دستگاه التراسونیک پروب‌دار تحت تیمار قرار گرفت. در این روش، از دو دامنه ۴۰ و ۶۰ آمپلیتوت و در سه سطح زمانی ۳، ۶ و ۹ دقیقه برای عصاره‌گیری استفاده شد. سپس کاغذهای دست‌ساز ۱۲۰ گرمی با عصاره گیاهی تهیه شده در دو مقدار ۱۵ و ۲۰ درصد براساس وزن خشک کاغذ با روش اسپری کردن عصاره بر سطح کاغذ تیمار شدند. بررسی ویژگی ضد باکتریایی کاغذها با دو باکتری اشرشیاکلاسی و استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد. برای بررسی ساختار شیمیایی عصاره گیاهی و کاغذ از طیف زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR) استفاده گردید. همچنین، بررسی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره گیاه آویشن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC-MASS) انجام شد. ویژگی‌های نوری کاغذ شامل درجه روشنی و ماتی و ویژگی مقاومتی کاغذهای تولید شده با مقاومت به کشش، پاره شدن و ترکیدن اندازه‌گیری گردید.

نتایج: در نمونه‌های کاغذ تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده به روش التراسونیک، بیشترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری اشرشیاکلاسی در دامنه ۴۰ و زمان ۹ دقیقه و به اندازه ۲۰ میلی‌متر بود. همچنین، بیشترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در دامنه ۶۰ و زمان ۶ دقیقه و به اندازه ۱۴ میلی‌متر بود. با توجه به نتایج کاغذهای تولید شده نسبت به باکتری اشرشیاکلاسی پاسخ ضد باکتریایی بهتری نشان داده و هاله عدم رشد بزرگ‌تری تشکیل شد. ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره گیاه آویشن با دستگاه کروماتوگرافی گازی شامل مواد مختلف مانند هگزان و فورانها است. مهم‌ترین ماده شیمیایی که موجب ایجاد ویژگی ضد باکتریایی در کاغذها شد، ماده ضدباکتری کارونون (Carvenone) بود که در عصاره آویشن شیرازی مشاهده شد. نتایج آزمون‌های مقاومتی نشان داد که کاغذ تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده با روش التراسونیک در دامنه ۴۰ و زمان ۳ دقیقه و مقدار مصرف ۲۰ درصد براساس وزن خشک کاغذ بیشترین مقاومت به کشش و ترکیدن را نسبت به نمونه‌های تیمار شده دیگر نشان دادند.

همچنین، بیشترین مقاومت به پاره شدن کاغذ در نمونه تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۶۰ و زمان ۳ دقیقه و مقدار مصرف ۱۵ درصد براساس وزن خشک کاغذ مشاهده شد. نتایج آزمون‌های نوری نشان داد که کاغذهای تیمار شده با عصاره‌های گیاهی کاهش درجه روشنی و افزایش ماتی داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که کاغذ به‌عنوان یک ماده زیست‌تخریب‌پذیر و دوستدار محیط‌زیست قابلیت تیمار با مواد ضد باکتریایی گیاهی و طبیعی مانند عصاره گیاه آویشن شیرازی را دارد. همچنین، عصاره‌های گیاهی با توجه به اینکه جزو مواد ارزان، در دسترس و طبیعی محسوب می‌شوند، جایگزین مناسبی برای مواد غیرآلی و فلزی در تولید مواد با ویژگی ضد باکتریایی هستند.

واژه‌های کلیدی: کاغذ آنتی‌باکتریال، عصاره گیاهی، التراسونیک، آویشن شیرازی.

مقدمه

عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی دارای ترکیباتی هستند که می‌توانند علیه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها استفاده شوند (Ahmadpour et al., 2018). ایران از لحاظ آب‌وهوا و موقعیت جغرافیایی در زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌شود و از زمان‌های قدیم یکی از منابع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است (Cowan, 1999). گیاهان دارویی جزو ذخایر طبیعی هستند که به فراوانی یافت می‌شوند. نوع، تعداد و تنوع گونه‌ها براساس شرایط و موقعیت جغرافیایی هر منطقه متفاوت است. استفاده از فراورده‌های گیاهی در سال‌های اخیر به دلیل اثبات اثرهای مخرب و جانبی داروهای شیمیایی و ایجاد آلودگی‌های زیست‌محیطی، افزایش چشمگیری داشته است (Akhbari et al., 2015). از میان تمام مواد شناسایی شده موجود در ترکیبات اندام گیاهی، ترکیبات فنولی یا ترکیبات ثانویه بدون نیتروژن، بیشترین و مهمترین موادی هستند که دارای آثار گوناگون بیولوژیک از جمله فعالیت ضد باکتریایی هستند. مطالعات انجام شده نشان داده است که بسیاری از گیاهان خانواده نعناع مانند رزماری، آویشن و پونه دارای خاصیت ضد میکروبی هستند. عصاره این گیاهان حاوی ترکیباتی مانند فنیل پروپانویید گلوکوزید، پلی‌استیلن، دی-ترین‌ها، فلاونوئید، پلی‌فنول‌ها و فلاون‌گلیکوزید است. این ترکیبات در فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند (Ahmadi et al., 2016). اسانس گیاهان با عملکردهای مختلف موجب ایجاد خاصیت ضد باکتریایی می‌

شود. از جمله ایجاد ویژگی آب‌گریزی که سبب نفوذ اسانس گیاهی در لیبیدهای غشای سلولی باکتری شده و سبب اختلال عملکرد و خروج یون‌ها و محتویات از سلول می‌شود. همچنین، اتصال گروه کربونیل در اسانس گیاه به پروتئین‌های سلولی و واکنش آلدئیدها با گروه‌های SH- از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند. یکی از مهمترین ترکیبات موجود در اسانس گیاهان آلفا ترپیتین است که سبب عدم رشد ۱۱ نوع باکتری می‌شود (Razavi et al., 2015).

گیاه آویشن شیرازی (*Zataria Multiflora*)، یکی از اعضای خانواده نعناعیان بوده و بومی ایران، پاکستان و افغانستان است و بیشتر به‌عنوان طعم‌دهنده غذایی به کار می‌رود و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. فعالیت ضد میکروبی گونه‌های مختلف این گیاه مربوط به ترکیبات فنولیک مانند تیمول، کارونون و گاما ترپیتین است. طبق مطالعات انجام شده، این گیاه در برابر فعالیت باکتری‌های گرم مثبت و مخمرها اثر ضد میکروبی خوبی از خود نشان می‌دهد (Moosavi et al., 2008 و Rota et al., 2008). همچنین، اسانس آویشن شیرازی بر روی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک مانند تتراسیکلین، اریترومایسین، تری متوپریم، سولفات متوکسازول و متی سیلین نیز اثرهای خوبی داشته و می‌تواند مانع رشد این باکتری‌ها گردد (Soltan Dallal et al., 2014). از عصاره و اسانس گیاه آویشن به دلیل وجود مواد ضد باکتریایی فراوان و ویژگی‌های زیستی این گیاه می‌توان در تولید محصولات ضد باکتریایی مانند کاغذ ضد باکتری استفاده کرد.

گردید تا الیاف خیس شود. مخلوط آب و خرده کاغذ به مدت ۲۴ ساعت کنار گذاشته شد و پس از آن به وسیله همزن، به خوبی هم زده شد تا الیاف از هم جدا شود. خمیر کاغذ با دستگاه پالایشگر آزمایشگاهی PFI-MILL ساخت اتریش برای رسیدن به درجه روانی ۴۵۰ میلی لیتر پالایش شد.

تهیه عصاره به روش التراسونیک

۱۰ گرم از پودر خشک اندام هوایی گیاه آویشن به همراه ۱۰۰ میلی لیتر از حلال اتانول در بشر ریخته شد. سپس مخلوط در دمای آزمایشگاه و در سه سطح زمانی ۳، ۶ و ۹ دقیقه به وسیله التراسونیک با دو دامنه (Amplitude) ۴۰ و ۶۰ تیمار شد. در نهایت حلال تبخیر شده و ماده جامد آن جمع آوری گردید (Majidaee et al., 2020).

آماده سازی نشاسته کاتیونی

بدین منظور درصد رطوبت نشاسته کاتیونی محاسبه و ۰/۰۴۸ گرم بر مبنای وزن خشک خمیر کاغذ به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده و در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۳۰ دقیقه در وضعیت هم زدن پیوسته قرار داده شد. پس از طی زمان آزمایش، ۱۰۰ میلی لیتر آب هم دما به محلول اضافه شد. سپس برای همگن شدن، محلول نشاسته کاتیونی به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد.

ساخت کاغذ دست ساز

کاغذ دست ساز با گراماژ ۱۲۰ گرم بر مترمربع طبق استاندارد شماره T205 sp-97 از آیین نامه TAPPI تهیه شد. بدین جهت ۲۴ گرم خمیر کاغذ پالایش شده با درجه روانی حدود ۴۵۰ میلی لیتر و بر اساس وزن خشک به بشر انتقال داده و بعد نشاسته کاتیونی به آن افزوده شد. تمامی نمونه ها با نشاسته کاتیونی تیمار شدند. برای اختلاط بهتر نشاسته کاتیونی، سوسپانسیون خمیر کاغذ و نشاسته به مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس عصاره گیاه دارویی به مقدار ۱۵ و ۲۰ درصد بر اساس وزن خشک خمیر کاغذ روی سطح کاغذ مرطوب بعد از پرس اسپری شده و به مدت ۲۴

کاغذ نقش مهمی در رفع نیازهای روزمره زندگی انسان دارد. یکی از مهمترین موارد استفاده از کاغذ، در صنایع بسته بندی می باشد. در بسته بندی مواد غذایی باید از فاسد نشدن و از بین رفتن موادی که بسته بندی شده اند از مرحله تولید تا رسیدن به دست مشتری اطمینان حاصل کرد (Afra & Narchin, 2016). از آنجا که کاغذ از الیاف سلولزی تشکیل شده و این الیاف به عنوان یک منبع غنی از انرژی برای برخی از میکروارگانیسم ها محسوب می شود (Sukumaran et al., 2005) و کاغذهای آلوده به باکتری منجر به گسترش بیماری می شوند، تولید کاغذهایی با ویژگی ضد باکتریایی ضروری به نظر می رسد. استفاده از عصاره گیاهی به عنوان یک ماده سازگار با محیط زیست و طبیعی که کمترین اثر منفی را بر سلامتی انسان دارد، شاید بتواند گزینه مناسبی برای تولید کاغذ ضد باکتری باشد.

هدف از این مطالعه، تهیه عصاره گیاه آویشن شیرازی با روش التراسونیک و بررسی تأثیر میزان ترکیبات موجود در عصاره ها بر فعالیت ضد باکتریایی کاغذهای بسته بندی تهیه شده علیه سویه های استاندارد باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلا می باشد.

مواد و روش ها

مواد

ورق خمیر کاغذ کرافت الیاف بلند سفید از کارخانه چوب و کاغذ مازندران تهیه شد. پودر خشک گیاه آویشن شیرازی از محوطه آموزشی و گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه گردید. اتانول (با خلوص ۹۹ درصد) از شرکت مرک و نشاسته کاتیونی از شرکت چوب و کاغذ مازندران تهیه شد.

روش ها

آماده سازی خمیر الیاف بلند

ابتدا ورق کاغذ کرافت الیاف بلند به اندازه های کوچک و حدود یک دریک سانتی متر خرد شد و به آن آب مقطر اضافه

ساعت هوا خشک شد.

آزمون مقاومتی و نوری کاغذ

آزمون‌های مقاومت به کشش، پاره شدن و ترکیدن کاغذ به ترتیب طبق استاندارد شماره T414OM-، T494OM-01، T403OM-04، 04 و ویژگی‌های نوری کاغذ شامل درجه روشنی و ماتی به ترتیب طبق استاندارد شماره T452-om98 و T425-om96 استاندارد TAPPI انجام شد.

آزمون ضد باکتری

در این آزمون، هاله عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس اندازه‌گیری و نتایج به‌دست‌آمده ثبت شد.

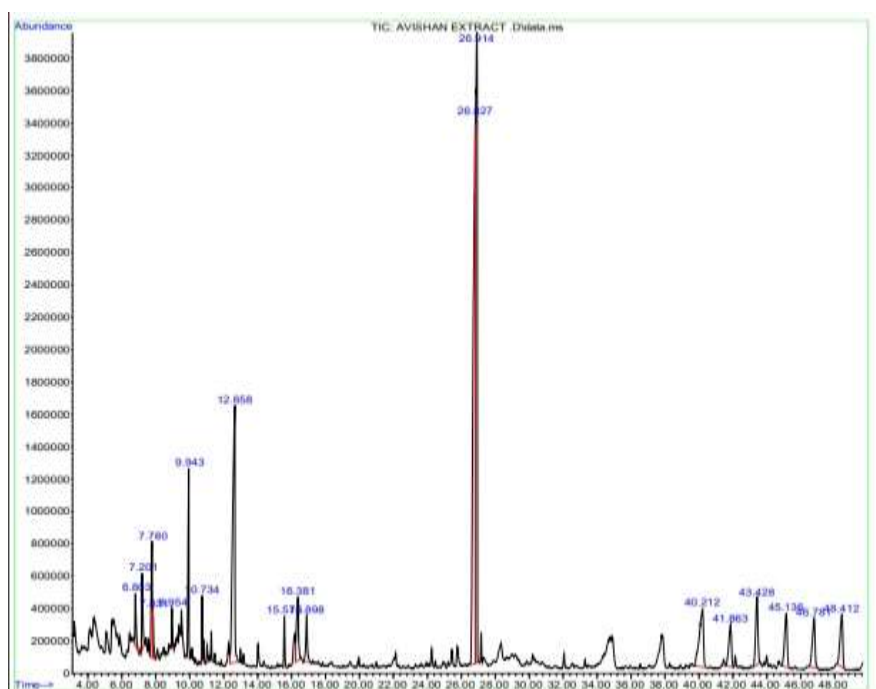
نتایج

کروماتوگرافی گازی عصاره آویشن استخراج شده با دستگاه التراسونیک

شکل و جدول ۱ کروماتوگرام گازی و ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره گیاه آویشن استخراج شده با دستگاه التراسونیک را نشان می‌دهد. در طیف کروماتوگرافی مربوط به گیاه آویشن شیرازی، در مجموع ۱۷ ترکیب شناسایی شد که بیشترین آنها در جدول ۱ نشان داده شده است. مهمترین ترکیبات مشاهده شده که دارای ویژگی ضد باکتریایی هستند، ماده کارونون می‌باشد.

آزمون طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR) و کروماتوگرافی گازی (GC-MASS)

برای بررسی ساختار شیمیایی عصاره گیاهی و کاغذ از طیف زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR) استفاده شد. طیف نمونه ها با دستگاه طیف‌سنج زیر قرمز تبدیل فوریه مدل Cary 630، ساخت شرکت Agilent گرفته شد. همچنین، بررسی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره گیاه آویشن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC-MASS) مدل N7890 ساخت شرکت Agilent انجام شد.



شکل ۱- کروماتوگرام ترکیبات عصاره گیاه آویشن شیرازی استخراج شده با روش التراسونیک

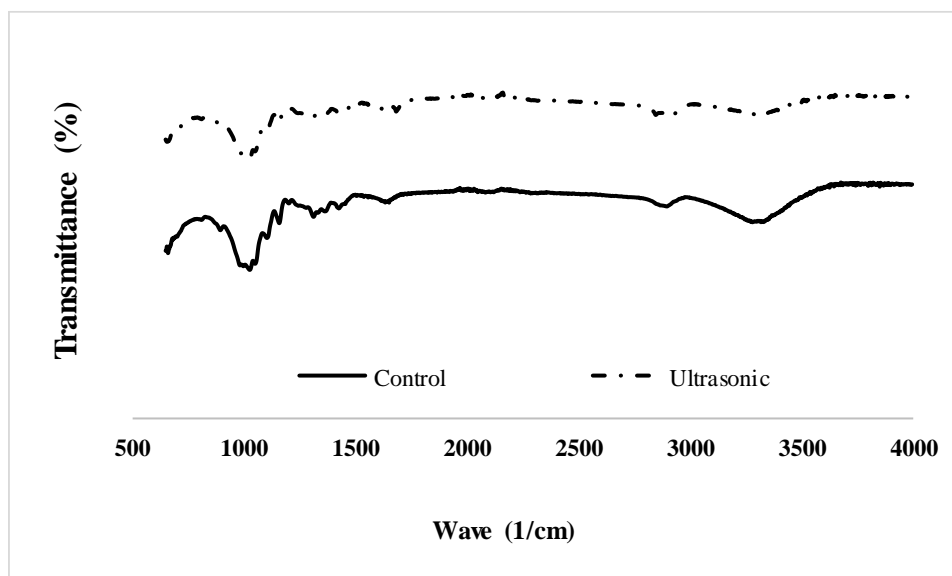
Figure 1. The components chromatogram of thyme extraction by ultrasonic

جدول ۱- ترکیبات عصاره گیاه آویشن شیرازی استخراج شده با التراسونیک

Table 1. The components of thyme extraction by ultrasonic

Components	Time (min)	Percentage (%)
Carvenone	6.802	1.33
2(4H)-Benzofuranone	7.210	1.92
Dodecanoic acid	70782	2.97
n-Hexadecanoic acid	12.660	13.38
Phytol	15.576	1.09
Phthalic acid	26.825	25.64
Diisooctyl phthalate	26.913	22.44
2-Propyn-1-one	45.136	3.16

طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR) استخراج شده از گیاه آویشن شیرازی با روش اولتراسونیک
 شکل ۲ طیف حاصل از کاغذهای تیمار شده با عصاره برای دو نمونه کاغذ را نشان می‌دهد.



شکل ۲- طیف FTIR کاغذ حاوی عصاره گیاه آویشن شیرازی استخراج شده با روش التراسونیک و کاغذ شاهد

Figure 2. FTIR of papers with thyme extraction by ultrasonic methods and control paper

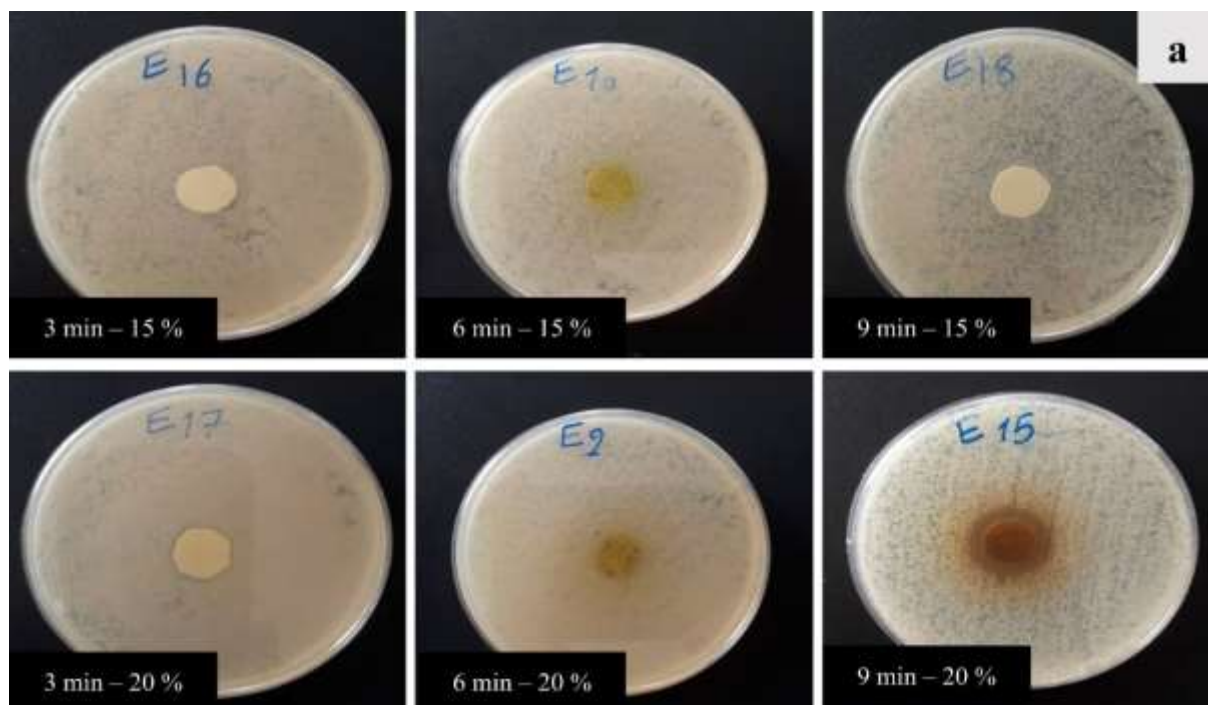
کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده با التراسونیک دیده شد، بیشترین اندازه قطر هاله عدم رشد در دامنه ۴۰ برای باکتری اشرشیاکلاهی در زمان ۹ دقیقه و در غلظت ۲۰ درصد وزن خشک کاغذ و به مقدار ۱۵ میلی‌متر است.

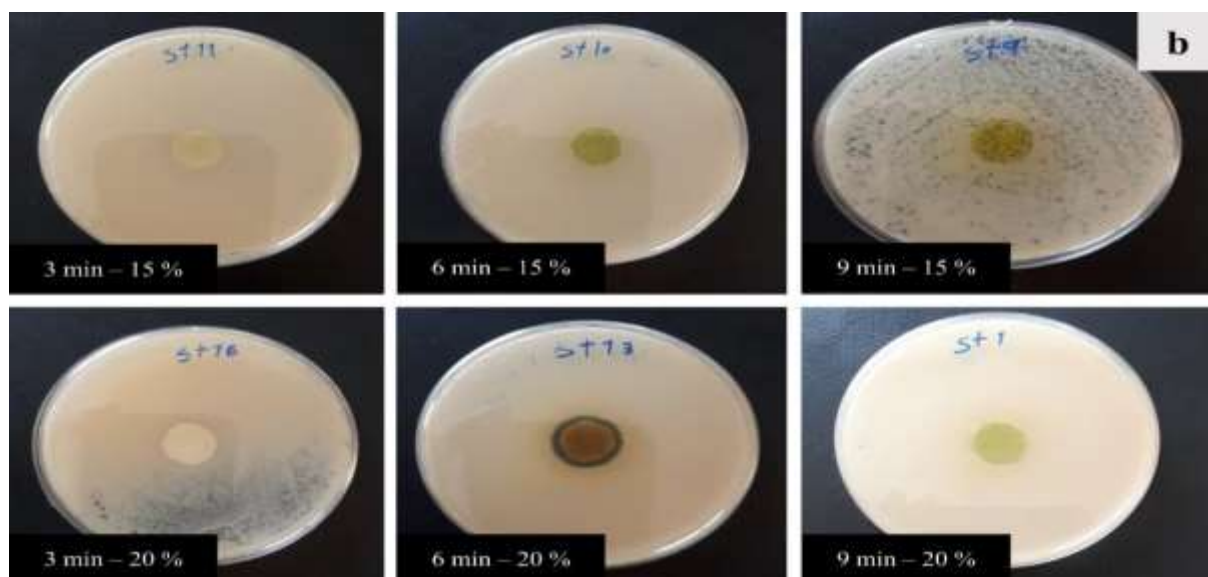
ضد باکتریایی کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۴۰ جدول ۲ قطر هاله عدم رشد و شکل ۱ کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۴۰ را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل‌های مربوط به واکنش باکتری‌های اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس با

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس با کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۴۰

Table 2- The inhibition zone diameter of papers with thyme extraction for Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria by ultrasonic method with 40 amplitudes

amplitudes	Time (min)	Extraction amount (%)	Escherichia coli	Staphylococcus aureus
40 A	3	15%	11	0
		20%	12	0
	6	15%	13	0
		20%	13	14
	9	15%	14	0
		20%	15	0





شکل ۳- آزمون ضد باکتریایی کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۴۰ برای باکتری‌های اشرشیاکلای (a) و استافیلوکوکوس اورئوس (b)

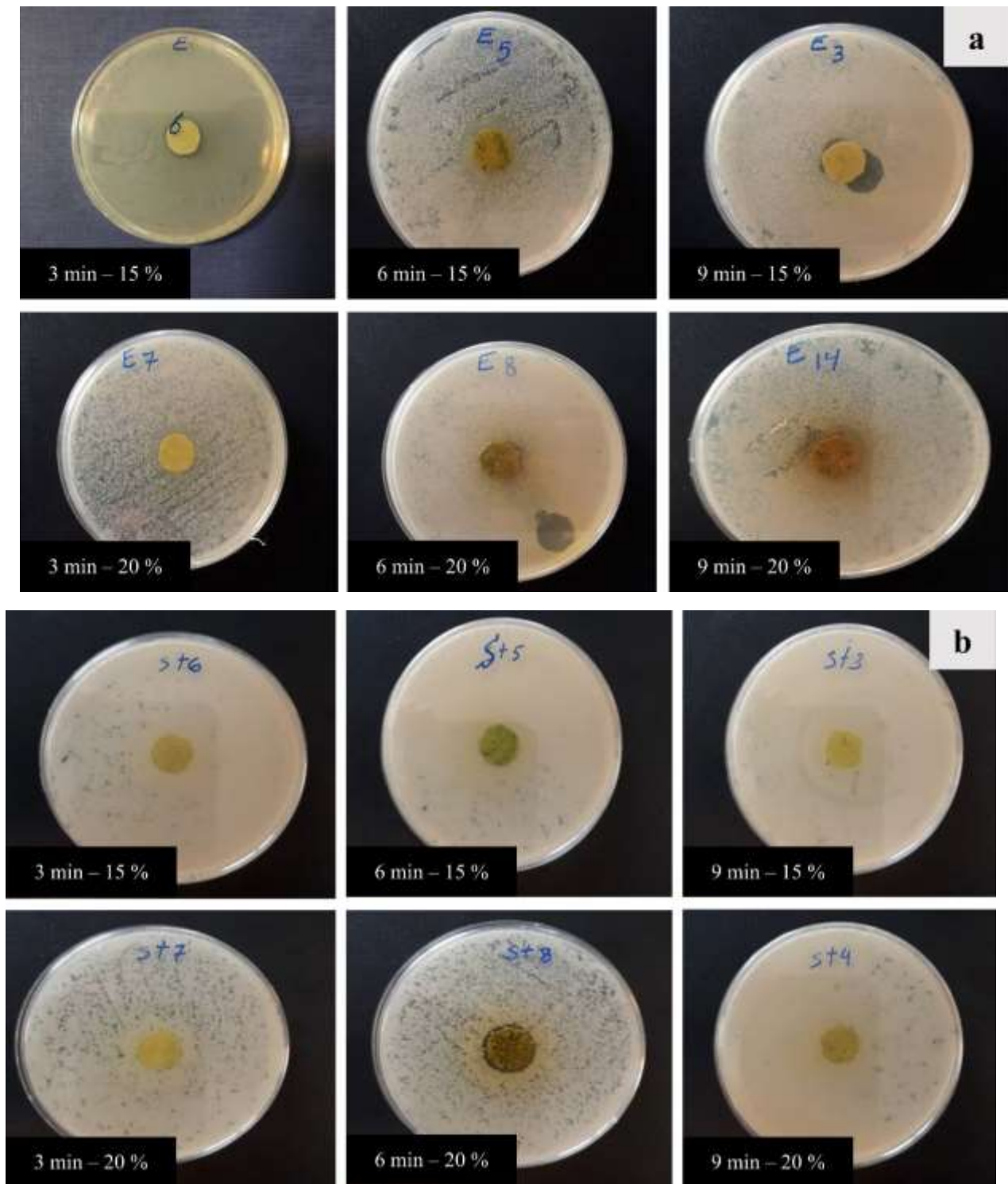
Figure 3. The antibacterial reaction for papers with thyme extraction for Escherichia coli (a) and Staphylococcus aureus bacteria (b) by ultrasonic method with 40 amplitudes

واکنش ضد باکتریایی کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۶۰ جدول ۳ قطر هاله عدم رشد و شکل ۲ کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۶۰ را نشان می‌دهد. بیشترین اندازه قطر هاله عدم رشد در دامنه ۶۰ برای باکتری اشرشیاکلای در زمان ۹ دقیقه و در غلظت ۲۰ درصد وزن خشک کاغذ و به مقدار ۲۰ میلی‌متر است.

جدول ۳- قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های اشرشیاکلای و استافیلوکوکوس اورئوس با کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در دامنه ۶۰

Table 3. The inhibition zone diameter of papers with thyme extraction for Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria by ultrasonic method with 60 amplitudes

amplitudes	Time (min)	Extraction amount (%)	Escherichia coli	Staphylococcus aureus
60 A	3	15%	0	0
		20%	0	0
	6	15%	0	0
		20%	0	17
	9	15%	0	0
		20%	20	0



شکل ۴- آزمون ضد باکتریایی کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن استخراج شده در دامنه ۶۰ برای باکتری‌های اشرشیاکلاسی (a) و استافیلوکوکوس اورئوس (b)

Figure 4. The antibacterial reaction for papers with thyme extraction for *Escherichia coli* (a) and *Staphylococcus aureus* bacteria (b) by ultrasonic method with 60 amplitudes

ویژگی‌های مقاومتی و نوری در کاغذهای تیمار شده با عصاره گیاه آویشن شیرازی
 جدول ۴ نتایج حاصل از آزمون مقاومت به کشش،
 ترکیدن، پاره شدن، درجه روشنی و ماتی در کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده با التراسونیک را نشان می‌دهد.

جدول ۴- ویژگی‌های مقاومتی و نوری کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی

Table 4. The strengths and optical properties of papers treated with thyme extraction

amplitudes	Time (min)		Tensile index (N.m/g)	Burst index (kPa.m ² /g)	Tear index (mN.m ² /g)	Opacity (%)	Brightness (%)
	Control			26.11	6.59	17.19	82
40 A	3 min	15%	30	2	14	98	30
		20%	30	2	14	98	30
	6 min	15%	30.39	2.05	14/84	99	21
		20%	34.32	2.39	14.4	99	22
	9 min	15%	14.38	2.39	15.75	100	16
		20%	34.59	2.24	17.31	100	16
60 A	3 min	15%	32.62	2.44	17.12	100	25
		20%	36.9	2.65	9.02	98	24
	6 min	15%	30.18	1.82	14.3	98	23.18
		20%	22.38	1.61	12.88	98	22.38
	9 min	15%	31.59	2.65	14.87	98	15
		20%	26.79	2.72	13.01	99	15

بحث

کروماتوگرافی گازی عصاره آویشن استخراج شده با دستگاه التراسونیک تفکیک ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در دستگاه کروماتوگرافی گازی، براساس نقطه جوش است. هرچه وزن ترکیب مولکولی کمتر و فرارتر باشد زودتر از دستگاه خارج می‌شود و اگر ترکیبی سنگین‌تر باشد، دیرتر خارج می‌گردد. به‌طورکلی عمده‌ترین ترکیبات موجود در آویشن را سینئول، بورنتول، کاروانون، سیمن، آلفا پی‌نن و تیمول تشکیل می‌دهند (Soltan Dallal et al., 2014). در طیف کروماتوگرافی مربوط به گیاه آویشن شیرازی، در مجموع ۱۷ ترکیب شناسایی شد که مهمترین ترکیب مشاهده شده که دارای ویژگی ضد باکتریایی است، ماده کارونون می‌باشد.

طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

پیک‌هایی در هر سه نمونه کاغذ شاهد و تیمار شده در محدوده ۱۰۵۹ و ۳۴۱۴-۳۳۱۱ مشاهده شد که به ترتیب مربوط به پیوند کششی لرزشی کربن-اکسیژن-کربن و گروه هیدروکسیل آزاد می‌باشد (Haniffa et al. و Li et al., 2016). پیک در محدوده ۲۹۰۰ مربوط به گروه کششی کربن-هیدروژن است. همچنین، پیک در محدوده ۱۳۸۵ مربوط به پیوند گلوکوزیدی بین واحدهای سلولز می‌باشد (Liu et al., 2016). در دو نمونه تیمار شده با عصاره آویشن، پیک‌های در طول موج‌های ۱۰۲۷/۷۱۲، ۱۶۸۵/۸۰۳ و ۲۸۵۱/۵۲۲ cm⁻¹ نشان‌دهنده ساختارهای کربن-نیتروژن، کربن-اکسیژن و گروه‌های هیدروکسیل هستند (Haniffa et al., 2017).

باکتری اشرشیاکلاهی در زمان ۹ دقیقه و در غلظت ۲۰ درصد وزن خشک کاغذ و به مقدار ۲۰ میلی‌متر است. در کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در زمان های ۳ و ۶ دقیقه و غلظت مصرف ۱۵ درصد هاله عدم رشد مشاهده نشد. تنها هاله عدم رشد در دامنه ۶۰ برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در زمان ۶ دقیقه و در غلظت ۲۰ درصد وزن خشک کاغذ و به مقدار ۱۷ میلی‌متر است. با توجه به نتایج می‌توان گفت که عملکرد ضد باکتریایی عصاره استخراج شده با التراسونیک در دامنه ۴۰ بهتر بوده، همچنین کاغذهای تیمار شده در برابر باکتری اشرشیاکلاهی عملکرد بهتری نشان دادند. این عملکرد ممکن است به دلیل تخریب کمتر ساختار مواد موجود در عصاره، طی فرایند التراسوند با دامنه کمتر باشد. از مهمترین ترکیبات موجود در گیاه آویشن شیرازی، الکل بورنتول، کارونون و انواع ترین‌ها می‌باشد. این ترکیبات ترینی و پارتنوئیدی علاوه بر اینکه یک آنتی‌پاتوزن در رفع عفونت‌های باکتریایی، قارچ و آفات هستند، به‌عنوان یک ماده مؤثر در درمان میگرن و سرطان محسوب می‌شوند (Ahmadi et al., 2016).

ویژگی‌های مقاومتی و نوری در کاغذهای تیمار شده با عصاره گیاهان آویشن

براساس نتایج حاصل از آزمون‌های مکانیکی، مقاومت به کشش نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد افزایش پیدا کرد. این افزایش مقاومت به کشش ناشی از ایجاد پیوند و واکنش قوی بین گروه‌های هیدروکسیل در ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاهی با گروه‌های هیدروکسیلی و هیدروژن‌های موجود در ساختار الیاف سلولزی است (Wu et al., 2013). اما مقاومت‌های پاره شدن و ترکیدن نمونه‌های تیمار شده با عصاره در مقایسه با نمونه شاهد کمتر شده است. در کل، افزودن مواد شیمیایی محلول به کاغذ مرطوب و نفوذ این ترکیبات در فضای بین الیاف، باعث کاهش اتصال بین الیاف و کاهش مقاومت‌ها می‌گردد. ولی بدلیل تشکیل لایه نازک بر روی الیاف کاغذ، مقاومت به کشش کاغذ

واکنش ضد باکتریایی کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن استخراج شده با دستگاه التراسونیک

همان‌طور که در شکل‌های مربوط به واکنش باکتری‌های اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس با کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن استخراج شده با التراسونیک دیده شد، بیشترین اندازه قطر هاله عدم رشد در دامنه ۴۰ برای باکتری اشرشیاکلاهی در زمان ۹ دقیقه و در غلظت ۲۰ درصد وزن خشک کاغذ و به مقدار ۱۵ میلی‌متر است. تنها هاله عدم رشد در دامنه ۴۰ برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در زمان ۶ دقیقه و در غلظت ۲۰ درصد وزن خشک کاغذ و به مقدار ۱۴ میلی‌متر است. در کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی استخراج شده در زمان‌های ۳ و ۹ دقیقه و غلظت مصرف ۱۵ درصد که با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس آزمون شدند، هاله عدم رشد مشاهده نشد. فعالیت ضد میکروبی گونه‌های مختلف گیاه آویشن شیرازی مربوط به وجود ترکیبات شیمیایی مانند تیمول و کارونون و گاما تریپتین است (Razavi et al., 2015). اثرهای این اسانس بر روی تولید انترتوکسین E باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که عصاره آویشن شیرازی می‌تواند در غلظت‌های بازدارنده رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس باعث جلوگیری از تولید انترتوکسین E شود و قابلیت استفاده به عنوان نگهدارنده را در صنایع غذایی دارد. همچنین، آویشن شیرازی بر روی منحنی رشد شیگلا توکسیک اشرشیاکلاهی نیز اثر مهارکنندگی دارد و از تولید توکسین جلوگیری می‌کند (Atayi et al., 2014). Koushki و همکاران (۲۰۱۸) نیز در نتایج پژوهش خود به اثربخشی گیاه آویشن در ممانعت از رشد باکتری‌ها اشاره کردند. آنان اشاره کردند که وجود آویشن در فیلم‌های تهیه شده سبب از بین رفتن بیش از ۹۹ درصد باکتری‌های موجود در ظرف آزمایش شد. همچنین، علت ویژگی ضد باکتریایی در گیاه آویشن را به وجود ترکیبات فنولی در ساختار این گیاه نسبت دادند (Koushki et al., 2018).

بیشترین اندازه قطر هاله عدم رشد در دامنه ۶۰ برای

- effects and physical properties of paper coated with nanoclay and homogenized nanoclay. *Iranian Wood & Paper Industries*, 7(2): 561-572.
- Ahmadi, E., Abdollahi, A., Najafipour, S., Meshkibaf, M.H., Fasihi-Ramandi, M., Namdar, N., Abdollahi S., Mousavi, S.M., SamiZadeh, B. and Allahverdi, G.H., 2016. Surveying the effect of the phenol compounds on antibacterial activity of herbal extracts: in vitro assessment of herbal extracts in Fasa-Fars province. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 6(2): 210-220.
- Ahmadpoor, H., Masoomi, M., Tohidi, F. and Farhadi, P., 2018. Comparison of the effect of methanolic extract and oil of zenian plant on *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 23(82): 15-24.
- Akhbari, M., Aghajani, Z., Karimi, A. and Mazoochi, A., 2015. Composition analysis of essential oil and biological activity of oily compounds of *Mentha longifolia*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 6(12): 59-66.
- Atayi, M., Akhoondzade Basti, A., Zahrai Salehi, T., Hoseini, H., Gandomi Nasrabadi, H. and Nouri, N., 2014. The antimicrobial effect of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss on the growth and Shiga toxin 2 producing bacteria O157: H7 *E. coli*. *Journal of Medicinal Plants*, 12(4): 62-71.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.
- Haniffa, M.A.C.M., Ching, Y.C., Chuah, C.H., Ching, K.Y., Nazri, N., Abdullah, L.C. and Nai-Shang, L., 2017. Effect of TEMPO – oxidization and rapid on thermo – structural properties of nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, 173: 91–99.
- Hosseyini Talei, S.R., Gholamnezhad, S. and Ebrahimzadeh, M.A., 2020. Comparing the Effect of Different Extraction Methods and the Role of Solvent Polarity on Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activities of *Ferula persica*. *Journal of Mzandaran University of Medicine Science*, 30 (188): 26-39.
- Koushki, P., Bahrami, S.H. and Ranjbar-Mohammadi, M., 2018. Coaxial nanofibers from poly (caprolactone)/ poly (vinyl alcohol)/Thyme and their antibacterial properties. *Journal of Industrial Textiles*, 47(5): 834-852.
- Li, Y., Zhu, H., Gu, H., Dai, H., Fong, Zh., Weadock, J.N., Gou, Zh. and Hu, L., 2013. Strong transparent magnetic nanopaper prepared by immobilization of Fe_3O_4 nanoparticles in a nanofibrillated cellulose network. *Journal of materials chemistry A*, 1: 15278-15283.
- بدلیل هم‌افزایی مقاومت این لایه با مقاومت لیاف، افزایش یافته است. البته، ترد و شکننده بودن این لایه نازک (بدلیل عدم استفاده از مواد نرم کننده) بر روی مقاومت به ترک‌یدن تأثیر نداشته است. در آزمون ماتی کاغذ، کاغذهای تیمار شده با عصاره گیاه آویشن، ماتی بیشتری نسبت به کاغذ شاهد داشتند. ولی درجه روشنی کاغذهای تیمار شده با عصاره آویشن کمتر از نمونه شاهد بوده است. با توجه به اینکه عصاره گیاه رنگی می‌باشد، افزودن آنها به کاغذها باعث رنگی شدن کاغذها و افزایش ماتی و کاهش درجه روشنی شده است.
- ### نتیجه‌گیری
- در این مطالعه، عصاره گیاه دارویی آویشن شیرازی بوسیله دستگاه التراسونیک استخراج شده و برای ضدباکتری کردن کاغذ بسته‌بندی استفاده گردید. نتایج تحقیق نشان داد که کاغذ تیمار شده با عصاره آویشن استخراج شده بوسیله التراسونیک در دامنه ۴۰ در مقایسه با دامنه ۶۰ عملکرد بهتری داشته است. این عملکرد ناشی از تخریب کمتر ساختار مواد ضد باکتریایی موجود در عصاره، طی فرایند التراسوند با دامنه کمتر می‌باشد. همچنین، این کاغذهای ضد باکتری شده عملکرد بهتری بر روی باکتری اشرشیاکلائی نشان دادند. بهترین تیمار برای مواد استخراج شده در هر دو دامنه ۴۰ و ۶۰ مربوط به زمان ۹ دقیقه و مقدار مصرف عصاره ۲۰ درصد براساس وزن خشک کاغذ بود. کاغذهای تیمار شده با این عصاره دارای مقاومت کششی بیشتر و مقاومت‌های ترک‌یدن و پاره شدن کمتر از شاهد بودند. همچنین، افزودن عصاره گیاهی منجر به کاهش درجه روشنی و افزایش ماتی در کاغذهای تیمار شده گردید؛ بنابراین استفاده از عصاره آویشن استخراج شده با روش التراسونیک بدلیل سرعت بالای عصاره‌گیری و ایجاد هاله عدم رشد، برای ضدباکتری کردن کاغذهای بسته‌بندی در صورت استفاده از مواد بهبوددهنده مؤثرتر مقاومت‌ها پیشنهاد می‌گردد.
- ### منابع مورد استفاده
- Afra, A. and Narchin, P., 2016. Study of antibacterial

- and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19(7): 681-687.
- Soltan Dallal, M., Yazdi, M., Aghaamiri, S., Haghghat Khajavi, S., Abedi Mohtasab, T. and Amin Harati, F., 2014. Antimicrobial effect of *Zataria multiflora* and *Rosemarinus officinalis* on antibiotic-resistant staphylococcus aureus strains isolated from food. *Journal of Medical Plants*, 4(52): 41-47.
- Sukumaran, R.K., Singhanian, R.R. and Pandey, A., 2005. Microbial celluloses-production, application and challenges. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64: 832-844.
- Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J. and Zhang, Q., 2013. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 32: 42-51.
- Liu, K., Nasrallah, J., Chen, L., Huang, L. and Ni, Y., 2015. Preparation of CNC-dispersed Fe_3O_4 nanoparticles and their application in conductive paper. *Carbohydrate Polymers*, 126: 175-178.
- Moosavy, M.H., Basti, A.A., Misaghi, A., Salehi, T.Z., Abbasifar, R., Mousavi, H.A.E., Alipour, M., Razavi, N.E., Gandomi, H. and Noori, N., 2008. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. *Food Research International*, 41: 1050-1057.
- Razavi, N., Molavi Choobini, Z., Salehian-Dehkordi, M. and Saleh Riyahi, S., 2016. Overview of the antibacterial properties of essential oils and extracts of medicinal plants in Iran. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 17: 41-52.
- Rota, M.C., Herrera, A., Martínez, R.M., Sotomayor, J.A. and Jordán, M.J., 2008. Antimicrobial activity