



بهینه سازی فیلم ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی گلو تن حاوی اسانس گلپر، نانو ذره ی منیزیم اکسید و

پلی پیرو ل به روش سطح پاسخ

منوچهر فاضلی<sup>۱</sup>، محمد علیزاده<sup>۲\*</sup>، سجاد پیرسا<sup>۳</sup>

۱- استاد تمام گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

۳- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴

کلمات کلیدی:

گلو تن،

اکسید منیزیم،

اسانس گلپر،

پلی پیرو ل،

فیلم فعال.

هدف از این مطالعه تهیه فیلمهای ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بر پایه گلو تن گندم بود و برای اصلاح ساختار فیلم از اسانس گلپر و نانو ذره ی منیزیم اکسید و پلی پیرو لاستفاده شد. از طرح آماری باکس بنکن برای بررسی تاثیر سه فاکتور اسانس گلپر، نانوذرات اکسید منیزیم و پلی پیرو ل بر روی خواص فیزیکوشیمیایی فیلم استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده، جذب رطوبت، انحلال پذیری و نفوذ پذیری نسبت به بخار آب فیلم ها با افزایش محتوای اسانس و پیرو ل کاهش یافت. افزایش مقادیر اسانس و پیرو ل در ساختار فیلم خواص مکانیکی فیلم ها را بهبود بخشید. سپس فیلم های بهینه (حاوی ۱۲ درصد اسانس، ۰/۹۰۴ درصد اکسید منیزیم و ۰/۲ پیرو ل) برای ارزیابی خواص ساختاری و ضد میکروبی مورد مطالعه قرار گرفتند. خاصیت آنتی باکتریال، آنتی اکسیدانی و هدایت الکتریکی فیلم در حضور هر سه افزودنی اسانس گلپر، نانوذرات اکسید منیزیم و پلی پیرو ل به شدت افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). فیلم کامپوزیت گلو تن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرو ل بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریال را داشت. فیلم بهینه دارای فعالیت ضد باکتریایی بالاتری در برابر *اشریشیاکلی* (ATCC13706) در مقایسه با *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC6538) بود. تصاویر SEM نشان داد اسانس و پلی پیرو ل ساختار فیلم گلو تن را منسجم تر کرده و آن را در برابر عبور بخار آب مقاوم تر کرده است. طیف های FTIR برهمکنش های الکترواستاتیک بین گلو تن با اسانس و پلی پیرو ل را تایید کرد. نتایج آنالیز حرارتی نشان داد پلی پیرو ل به شدت مقاومت حرارتی فیلم را افزایش داده و نانوذرات تاثیر چندانی بر روی مقاومت حرارتی نداشته اند. نتایج این پژوهش نشان داد که فیلم کامپوزیتی و زیست فعال گلو تنی با داشتن سه خاصیت مهم هدایت الکتریکی، آنتی باکتریالی و آنتی اکسیدانی پتانسیل استفاده به عنوان فیلم فعال و هوشمند در بسته بندی محصولات غذایی فساد پذیر را دارد.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.121

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.22.3

\* مسئول مکاتبات:

malizadeh@outlook.com

## ۱- مقدمه

از اواخر قرن نوزدهم استفاده از پلاستیک ها در صنعت بسته بندی گسترش یافته است و اخیراً ۴۲ درصد از کل مواد پلاستیکی در جهان را، مصرف پلاستیک ها در صنعت بسته بندی تشکیل می دهد که از این میان ۴۷ درصد آن به بسته بندی مواد غذایی مربوط می شود [۱]. پلیمرهای مصنوعی بر پایه مواد نفتی به دلیل کم هزینه بودن دسترسی آسان نقش عمده ای در زندگی روزمره فعالیت های انسانی دارند و علی رغم داشتن مزایایی همچون کارایی مکانیکی بالا، وزن کم، مقاومتشیمیایی نسبتاً خوب، تولید آسان، چاپ پذیری خوب و قابلیت دوخت حرارتی مناسب، به دلیل مهاجرت مونومرها، پلاستی سایزرها و دیگر ترکیبات موجود به درون ماده ی غذایی که بد طعمی و افت ایمنی بهداشتی مواد غذایی را به دنبال دارد و همچنین عدم تجزیه پذیر بودن و ایجاد آلودگی باعث نگرانی های زیست محیطی شده است [۲-۴] که برای غلبه بر این مشکل تلاش های قابل توجهی برای تولید بسته بندی زیست تخریب پذیر شده است و تحقیقات بر روی پلیمرهای زیستی، جایگزین های زیست تخریب پذیر طبیعی و غیر سمی مانند پروتئین ها، پلی ساکاریدها، چربی ها و ترکیب آنها را برای پلیمرهای نفتی پیشنهاد می کند که این بیوپلیمرها برای تولید مواد بسته بندی زیست تخریب پذیر مورد استفاده قرار بگیرند و امنیت غذایی انسان را فراهم کنند [۷-۹]. تولید کپک و واکنشهای میکروبی و اکسیداسیون عامل اصلی فساد مواد غذایی هستند و باعث خسارات اقتصادی و باعث بیماری های جدی می شوند. برای محدود کردن میکروارگانیزم های نامطلوب و واکنش های اکسیداتیو، استفاده مستقیم از مواد ضد میکروبی و یا آنتی اکسیدانی در سطح مواد غذایی به دلیل غیرفعال شدن یا تبخیر عوامل فعال و مهاجرت سریع به قسمت عمده ی ماده ی غذایی توصیه نمی شود. بنابراین ارائه یک بسته بندی پایدار حاوی ماده ضد میکروبی و یا آنتی اکسیدانی در مواد بسته بندی زیست تخریب پذیر پیشنهاد می شود [۱۰-۱۲]. در سال های اخیر بسته بندی فعال مواد غذایی به دلیل توانایی کنترل فساد میکروبی محصولات غذایی فاسد شدنی گسترش فراوانی یافته است. بسته بندی فعال دارای سیستم های رهایش کنترل شده می باشد که قادر به انتشار طولانی مدت ماده ضد میکروبی یا آنتی اکسیدانی از ماتریکس پلیمری به مواد غذایی برای رسیدن به غلظت از پیش تعیین شده است و می تواند از مواد غذایی به طور مداوم محافظت

نماید [۱۲-۱۶]. گلوتن گندم به عنوان یکی از منابع پروتئینی متعدد که خاصیت سد کنندگی در برابر اکسیژن و ترکیبات معطر دارد برای تهیه فیلمهای زیست تخریب پذیر استفاده می شود. پروتئین گلوتن از پروتئین های گیاهی هست که از مونومر های گلیدین و از پلیمرهای گلوٹنین که به ترتیب در الکل و محلول های رقیق اسید یا باز حل می شوند تشکیل شده است. گلوتن به عنوان یکی از محصولات صنعت نشاسته گندم به دلیل ویژگیهای جالب ویسکوالاستیک و قدرت تشکیل فیلم های خوب، قابلیت ایجاد اتصالات عرضی در اثر حرارت، حلالیت کم در آب، هزینه کم و در دسترس بودن مورد توجه قرار گرفته است [۱۷-۲۰]. گلوتن گندم به دلیل پیوندهای دی سولفید بین مولکولی در گلوٹنین و داخل مولکولی در گلوٹنین و گلیدین، به عنوان ماده مناسبی برای تولید پلیمرهای بسته بندی مورد نظر قرار می گیرند و این فیلم ها با داشتن خاصیت ممانعت کنندگی در برابر عبور گازهایمانند اکسیژن و دی اکسید کربن، مقاومت مکانیکی خوب و توانایی ترکیب شدن با مواد افزودنی مانند: آنتی اکسیدان ها، مواد ضد میکروبی و مواد عطر و طعمی به حفظ کیفیت مواد غذایی کمک کرده و در بسته بندی فعال مواد غذایی مورد توجه قرار می گیرند [۲۱-۲۴]. با وجود ویژگیهای برتر پلیمرهای زیستی، آنها دارای محدودیت هایی مثل: میل زیاد ترکیبی با رطوبت، پایداری حرارتی کم، خواص مکانیکی و سد کنندگی ضعیف می باشند که تحقیقات اخیر نشان می دهد که در میان نانوپرکننده های گسترده، اضافه کردن اکسیدهای فلزی در ماتریکس پلیمر علاوه بر بهبود خواص مکانیکی و سد کنندگی، ویژگی های ضد باکتری پلیمر را نیز بهبود می بخشد [۲۵]. اکسید منیزیم به طور طبیعی یک ماده معدنی جامد کریستالی و به رنگ سفید می باشد و به عنوان نانو پرکننده برای بهبود خواص مواد مورد استفاده قرار میگیرد و به دلیل خواص جالب توجه آن از جمله: ماهیت غیر سمی، قابلیت تولید مجدد، مناسب بودن برای تولید در مقیاس بزرگ، هدایت حرارتی و پایداری بالا، هزینه کم، ظرفیت جذب عالی، خواص ضد باکتریایی قوی و به عنوان مواد کاتالیزور قابلیت استفاده در صنعت پزشکی، داروسازی، بسته بندی مواد غذایی و غیرها دارد. در مطالعات اخیر گزارش شده است که نانوذرات اکسید منیزیم دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتریها، اسپورها و ویروسهای گرم مثبت و گرم منفی هستند و سازمان غذا و

شدو فیلم بهینه گلوتن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرول با خواص فیزیکوشیمیایی مناسب با قابلیت همزمان فعال-هوشمند در این مطالعه تهیه شده و خواص فیزیکوشیمیایی/الکتریکی آن مطالعه شد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد شیمیایی

گلوتن گندم از شرکت چی چست گلکز استان آذربایجان غربی، واقع در ایران تهیه شد. سوبه های میکروبی مورد استفاده شامل اشیرشیاکلی (ATCC13706) (*Escherichia Coli*)، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) ATCC6538 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی تهران و محیط کشت مولر هینتون آگار از شرکت، QUELAB کانادا تهیه شدند.  $MgO$ ،  $DPPH$ ،  $FeCl_3$  و دیگر ترکیبات شیمیایی از مرک آلمان تهیه شد. پیرول از فلوکا، سوئیس خریداری و تا قبل استفاده کردن در جای تاریک و در دمای یخچال نگهداری شد.

### ۲-۲- استخراج اسانس گلپر

گیاه گلپر (*Heracleum persicum*) از استان گیلان تهیه و خشک شد. نمونه خشک شده دقایقی قبل استخراج اسانس برای افزایش سطح تماس آسیاب شده و در بالون ژوژه ریخته و دوسوم حجم بالون از آب مقطر پر شد و با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با بخار آب، اسانس گیاه گلپر گرفته شد. در نهایت اسانس بدست آمده با سولفات سدیم بی آب خشک و در ویال شیشه ای ریخته شده با فویل آلومینوم پوشانده شد و در جای تاریک و دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

### ۲-۲-۱- آنالیز اسانس با دستگاه کروماتوگرافی گازی-اسپکتروسکوپی جرمی

تجزیه و تحلیل و شناسایی اجزای شیمیایی اسانس گلپر با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies 6890N) جفت شده با یک آشکارساز اسپکتروسکوپی جرمی (MSD، Agilent 5973B) انجام شد. ستون موئین دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent HP-5MS) یک ستون غیر قطبی (۵ درصد متیل پلی سیلوکسان) بود که ابعاد ستون ۳۰ متر در ۰/۲۵ سانتی متر بود. گاز هلیوم (۹۹،۹۹۹٪، شرکت رهام گاز، تهران، ایران)

داروی ایالات متحده (FDA)<sup>۱</sup> استفاده از اکسید منیزیم را بی خطر اعلام کرده است [۲۶-۲۹]. گونه های *Heracleum* به عنوان افزودنی های غذایی، گیاهان دارویی و داشتن خواص بیولوژیکی زیاد مورد استفاده قرار میگیرند که *H. persicum* رایج ترین گونه *Heracleum* در ایران می باشد که مورد مطالعه قرار گرفته است. *Heracleum persicum* گیاهی گل دهنده، بومی و محبوب ایران است و به عنوان گلپر شناخته می شود و در مناطق کوهستانی شمال کشور در ارتفاع بیش از ۱۵۰۰ متر یافت می شود که در تولید غذا و ترشی به عنوان طعم دهنده مورد استفاده قرار می گیرد و همچنین دارای ویژگی هایی مانند: درمان نفخ معده و عفونت گوارشی، ضد عفونی کننده، ادرار آور، اشتها آور و مسکن می باشد. در مطالعات مختلف گزارش شده است که *H. persicum* دارای خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدان، ضد التهاب، ضد درد، ضد تشنج، ضد توموری و تنظیم کننده سیستم ایمنی بدن می باشد و اسانس روغنیا استخراج شده از گیاه *H. persicum* دارای منابع غنی ترکیبات فعال بیولوژیکی می باشد که می توان از آن برای افزایش عمر مواد غذایی در بسته بندی فعال مواد غذایی استفاده کرد [۳۰-۳۳]. پلی پیرول از تعدادی ساختارهای حلقه ای متصل به پیرول ایجاد شده و یک ترکیب غیر سمی می باشد که در آب و سایر حلال های آلی محلول نیست، این پلیمر به دلیل داشتن خصوصیتی مانند رسانایی الکتریکی بالا، فعالیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، زیست سازگاری خوب، تهیه و سنتز آسان، پایداری در محیط و مقاومت در برابر گرما، در طراحی و ساخت حسگرهای زیستی، استخراج گرها و فیلم های بسته بندی هوشمند استفاده می شود و جزئیکی از مهمترین پلیمرهای رسانا محسوب می شود. پلی پیرول و کامپوزیت های آن به دو روش شیمیایی و الکتروشیمیایی سنتز میشوند و عوامل مختلفی مانند: نوع حلال، اکسنده، دما، زمان واکنش و غلظت اکسنده تاثیر بسزایی روی میزان رسانندگی الکتریکی پلی پیرول سنتز شده به روش شیمیایی دارند [۳۴-۳۸]. در این مطالعه فیلم زیست تخریب پذیر گلوتن که با اسانس گلپر، نانوذرات اکسید منیزیم و پلی پیرول اصلاح شده است تهیه گردید. سپس با روش آماری سطح پاسخ فیلم بهینه همزمان دارای سه ویژگی مهم آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریالی و هادی الکتریسته تولید

1. Food and Drug Administration

مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. تمامی فیلم های تهیه شده در کیسه های پلاستیکی مخصوص زیپ دار تا زمان انجام آزمون های فیزیکوشیمیایی در تاریکی و دما ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

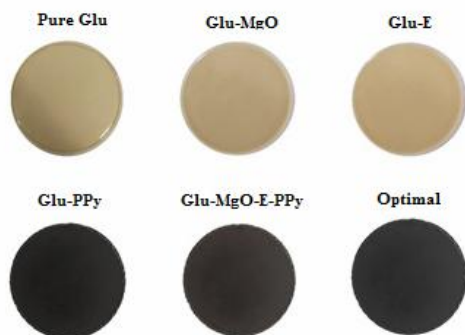


Fig 1Gluten film preparation steps and its composites

## ۲-۴- آزمون های فیزیکوشیمیایی فیلم

### ۲-۴-۱- ضخامت

برای اندازه گیری ضخامت از میکرومتر دیجیتالی (Fowler, USA) با دقت اندازه گیری ۰,۰۱ میلی متر استفاده شد. ضخامت فیلم ها در ۱۰ منطقه مختلف (۸ نقطهدرپیرامون۲ نقطه در مرکز) به صورت تصادفی اندازه گیری شد و میانگین ضخامت محاسبه شد. از ضخامت به دست آمده در محاسبه ی نفوذ پذیری بخار آب و تعیین مقاومت کششی استفاده شد.

### ۲-۴-۲- انحلال پذیری

برای بدست آوردن انحلال پذیری فیلم ها، ابتدا نمونه های اولیه فیلم در ابعاد ۲×۲ سانتی متر بریده شده و به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۱۰۵ °C خشک شدند. سپس قطعات فیلم به مدت ۶ ساعت در ۲۵ °C و در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شدند. از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ برای جدا کردن قطعات فیلم های باقی مانده از آب استفاده شد. وزن باقیمانده فیلم به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ °C خشک شد تا وزن آن ثابت شود. تفاوت اولیه و نهایی وزن فیلمها به عنوان درصد انحلال-پذیری با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (1)$$

$M_1$ : وزن اولیه نمونه

$M_2$ : وزن نمونه پس از خشک شدن

### ۲-۴-۳- توانایی جذب رطوبت

برای اندازه گیری میزان جذب رطوبت فیلمها، ابتدا نمونه هایی با ابعاد ۲×۲

با دبی ثابت ۱ میلی لیتر در دقیقه به عنوان گاز حتمل استفاده شد. دمای آون به مدت ۲ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد، سپس تا دمای ۷۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۵ درجه سانتیگراد در دقیقه افزایش داده شد. دمای آشکارساز و محل تزریق به ترتیب ۲۰۰ و ۳۰۰ درجه سانتیگراد بود. حجم تزریق، ۴ میکرولیتر اسانس، پتانسیل یونیازسیون دستگاه جرمی، ۷۰ ولت و دمای رابط ۲۰۰ °C بود.

## ۲-۳- تهیه فیلم گلوتن و کامپوزیت

### گلوتن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرو

برای تهیه فیلم گلوتن خالص و کامپوزیت های گلوتن با اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرو از روش زیر استفاده گردید: محلول گلوتن گندم توسط همزن مغناطیسیبا مخلوط کردن ۳۰ گرم پودر گلوتن گندم و ۹,۹ گرم گلیسرول در ۱۳۵ میلی لیتر اتانول تهیه شد و بعد از دستیابی به محلول همگن، ۹۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آرامی به محلول اضافه شد و تا رسیدن محلول به pH ۱۱ هیدروکسید سدیم ۰,۱ مولار به محلول اضافه شد. محلول بدست آمده در طی ۲۰ دقیقه تا ۷۵ درجه سانتیگراد گرم و در این شرایط به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد. سپس محلول داخل فالكون ریخته و با سرعت ۴۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول شفاف رویی به عنوان پایه فیلم از قسمت غیر محلول جدا شد. سه ترکیب اسانس گلپر (در محدوده غلظتی ۰ تا ۱۲ درصد)، نانوذرات اکسید منیزیم (در محدوده غلظتی ۰ تا ۴ درصد) و مونومر پیرو (در محدوده غلظتی ۰ تا ۰/۲ مولار) مطابق طرح آماری جدول ۱ به محلول اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد تا محلول یکنواختی حاصل شود. سپس ۰/۳ میلی لیتر Tween80 به عنوان یک امولسیون کننده به محلول اضافه شد و از دستگاه هموژنایزر (D9I12 شرکت هیدولف، آلمان) برای همگن سازی محلول به مدت ۲ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه استفاده شد. محلول نهایی تهیه شده در داخل پلیت های ۹/۵ سانتی ریخته و به مدت ۱ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۵۰ درصد خشک شد. فیلم های حاوی مونومر پیرو به داخل ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۲ مولار FeCl<sub>3</sub> انتقال داده شده و فرایند پلیمریزاسیون پلی پیرو به مدت ۲ ساعت در دمای محیط ادامه یافت (محلول در حین فرایند پلیمریزاسیون توسط شیکر هم زده میشد). در نهایت فیلم گلوتن حاوی پلی پیرو از محلول سنتزی خارج گردیده و در دمای محیط به

$$WVP = WVTR.X / P(R_1 - R_2) \quad (4)$$

X: ضخامت فیلم (متر)

P: فشار بخار آب خالص در ۲۵ درجه سانتیگراد

R1: رطوبت نسبی در دسیکاتور (RH= 97%)

R2: رطوبت نسبی در داخل ویال (RH= 0%)

#### ۲-۴-۶- مقاومت الکتریکی

برای اندازه گیری مقاومت الکتریکی فیلم ها از دستگاه مولتی متر دیجیتال (DT4252, Japan) استفاده شد. دو الکتروود مولتی متر با فاصله ۱ سانتی متر بر روی سطح فیلم ها قرار گرفته شد و به صورت تصادفی در ۵ نقطه (۴ نقطه در پیرامون و یک نقطه در مرکز) مقاومت الکتریکی خوانده و میانگین مقاومت الکتریکی ثبت شد.

#### ۲-۴-۷- خاصیت آنتی اکسیدانی

برای محاسبه خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم ها، ۲۵ میلی گرم از هر فیلم در ۴ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۲ دقیقه حل شد. سپس ۲/۸ میلی لیتر از محلول عصاره فیلم با ۰/۲ میلی لیتر از محلول های متانولی DPPH ۱ میلی مولار مخلوط شد. محلول ها به مدت ۱ در ورتکس ۲۰۰۰rpm دقیقه حل شده و به مدت ۱ ساعت در مکان تاریک نگهداری شدند. کاهش جذب در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Model T60 UV, USA) با فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{Antioxidant activity\%} = \frac{Ab - As}{Ab} \quad (5)$$

Ab: میزان جذب نمونه شاهد (محلول های متانولی DPPH ۱ میلی مولار)

As: میزان جذب نمونه

#### ۲-۴-۸- بهینه سازی

بهینه سازی ۱۶ فرمولاسیون مختلف فیلم با استفاده از طرح آماری باکس بنکن برای پیش بینی مقادیر مطلوب تاثیر سه متغیر درصد اسانس، درصد نانوذرات اکسید منیزیم و غلظت پیروول در فرمولاسیون فیلم، بر روی برخی ویژگی های فیلم گلوتن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیروول مانند: ضخامت، سد کنندگی در برابر رطوبت، فعالیت آنتی باکتریالی، فعالیت آنتی اکسیدان و خواص مکانیکی انجام شد (جدول ۱). سطح احتمال ۹۵ درصد در نظر گرفته شد و مقایسه میانگین ها و رسم منحنی های خطی و سه بعدی و برازش مدل های آماری با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت-۱۰ انجام شد.

سانتیمتر از فیلم های خشک شده تهیه شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دسیکاتور حاوی سولفات کلسیم  $\text{CaSO}_4$  با  $\text{RH}=0$  قرار داده شد. بعد از توزین اولیه، نمونه ها به دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیتريت کلسیم  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  با  $\text{RH}=55$  منتقل شدند و در دمای  $25-20^\circ\text{C}$  مشروط شدند. سپس وزن نمونه ها در فواصل زمانی مختلف تا رسیدن به وزن ثابت اندازه گیری شد و در نهایت میزان جذب رطوبت نمونه ها با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{Moisture absorption(\%)} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (3)$$

#### ۲-۴-۴- خواص مکانیکی

پارامترهای مکانیکی، از جمله tensile strength (TS) و elongation at break (EAB) فیلمها با استفاده از دستگاه آزمون مکانیکی (Zwick/Roell model FR010, Germany) اندازه گیری شد. ابتدا نمونه ها در رطوبت نسبی  $\text{RH}=55\%$  به مدت ۲۴ ساعت مشروط شدند. سپس از هر کدام از فیلم ها سه نمونه با ابعاد  $8 \times 1$  سانتیمتر به صورت دمبلی شکل برش داده شد و در بین دو فک دستگاه قرار داده شد. فاصله اولیه بین دوفک ۵۰ میلیمتر و سرعت حرکت فک بالایی ۵ میلیمتر بر دقیقه تعیین و داده های به دست آمده توسط یک کامپیوتر ثبت شد.

#### ۲-۴-۵- نفوذ پذیری نسبت به بخار آب

تعیین مقدار نفوذپذیری فیلمها نسبت به بخار آب طبق استاندارد ASTM E96/E96M-14 با کمی تغییرات انجام گرفت [۳۹]. نمونه هایی از فیلم ها در درپوش و بالهای شیشه ای حاوی سولفات کلسیم ( $\text{RH}=0\%$ ) با قطر متوسط ۲ سانتی متر و ارتفاع ۴٫۵ سانتی متر که قطر قطعه های فیلمها کمی بزرگتر از قطر ویال ها بود قرار داده شد. درب ویال هاپسازسفتکردن، مهر و موم شدند و همه آنها در داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم ( $\text{RH}=97\%$ ) و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. هر ۲۴ ساعت (تا ۷روز) ویال ها توزین شدند. منحنی افزایش وزن ویالها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه شد (Weight vs. Time). آهنگ انتقال بخار آب (WVTR) با تقسیم کردن شیب خط هر ویال به کل سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت محاسبه شد. WVP با تقسیم کردن WVTR به اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم و ضرب آن در ضخامت محاسبه شد و در نهایت WVP طبق رابطه زیر بدست آمد:

## ۲-۴-۹- خاصیت آنتی باکتریال

برای تعیین خاصیت ضد باکتریایی فیلم ها از روش انتشار آگار استفاده شد. نمونه های مورد نظر به شکل دیسک هایی به قطر ۱۵ میلی متر برش داده شدند و سپس بر روی صفحات مولر هیتون آگار حاوی اشیرشیاکلی (*Escherichia Coli*) ATCC13706، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) ATCC6538 قرار گرفتند. پس از این که پلیت ها در دمای ۳۷ (10<sup>7</sup>CFU/mL) درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند، شعاع هاله های عدم رشد باکتری در اطراف فیلم های آنتی بیوتیکی دیسکی شکل توسط کولیس دقیق اندازه گیری شد و مساحت آن بر حسب میلی متر گزارش شد.

## ۲-۴-۱۰- مطالعه طیف های FTIR

طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) برای بررسی ساختار شیمیایی و فعل و انفعالات ساختاری در نمونه های فیلم با دستگاه FT-IR (Tensor 27, Bruker, Germany) استفاده شد. برای تهیه نمونه ها از روش پلیت KBr استفاده شد. طیف نمونه ها در محدوده ۴۰۰۰-۴۰۰ cm<sup>-1</sup> و در وضوح 4 cm<sup>-1</sup> ثبت شد.

## ۲-۴-۱۱- مطالعه تصویر SEM

تکنیک میکروسکوپ الکترونی روبشی انتشار میدانی (FE-SEM) به منظور بررسی تأثیر افزودن اسانس، نانوذره و پلی پیرول بر مورفولوژی سطح و مقطع عرضی فیلم های گلوتن، با استفاده از دستگاه FE-SEM (ZEISS, SIGMA, Germany) استفاده شد.

(Germany) استفاده. قبل از عکس برداری از سطح و مقطع عرضی فیلم، فیلمها با استفاده از روش پاشش جریان مستقیم با لایه نازک طلا پوشانده شد. ولتاژ شتاب دهنده از ۱۰ تا ۲۰ کیلوولت بود.

## ۲-۴-۱۲- مطالعه طیف های TGA و DTA

آزمون TGA توسط آنالایزر حرارتی (Linseis - L81A1750, Germany) برای مشاهده ثبات حرارتی فیلم ها انجام شد. فیلم ها به صورت نمونه های ۱۰ میلی گرمی تهیه شدند و در فنجان های آلومینیومی با دامنه دمایی 30-600 °C و با سرعت حرارت دهی ۱۰ °C/min و تحت جو نیتروژن ۵۰ cm<sup>3</sup>/min قرار داده شدند. فنجان آلومینیومی خالی به عنوان مرجع در نظر گرفته شد و منحنی TGA و مشتق TGA (DTG) هر دو گزارش شدند.

## ۲-۵- مطالعات آماری

در این مطالعه برای بررسی تأثیر سه متغیر درصد اسانس، درصد نانوذرات اکسید منیزیم و غلظت پیرول بر روی برخی ویژگی های فیلم گلوتن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرول شامل ضخامت، محتوای رطوبت، انحلال پذیری، خواص مکانیکی و ... از طرح آماری باکس بنکن استفاده گردید (جدول ۱). سطح احتمال ۹۵ درصد در نظر گرفته شد و مقایسه میانگین ها و رسم منحنی های خطی و سه بعدی و برازش مدل های آماری با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت-۱۰ انجام شد.

Table 1 List of tests performed according to response surface design

Run	Factor 1	Factor 2	Factor 3
	A: Essence (%)	B: MgO (%)	C: Polypyrrole (M)
1	0	0	0
2	0	0	0.1
3	6	4	0.2
4	0	2	0
5	12	4	0.1
6	6	4	0
7	12	0	0.1
8	0	4	0.1
9	6	0	0
10	6	0	0.2
11	12	2	0
12	12	2	0.2
13	0	2	0.2
14	6	2	0.1
15	6	2	0.1
16	6	2	0.1

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- آنالیز ترکیب اسانس گلپر

ترینین (۳/۵۷ درصد)، بنزن (۳/۲۶ درصد) و لینالول (۴/۹۸) بود و سایر اجزا در مقادیر کمتر از ۳٪ وجود داشتند که با یافته های مطالعات قبلی تأیید شده است و مجموع مقادیر ترکیبات موثر اسانس ۶۹/۸۲ درصد بود. اختلافات مشاهده شده در ترکیبات اسانس گلپر با موارد مشابه گزارش شده به دلیل تفاوت در روش استخراج اسانس، زمان جمع آوری گیاه و تفاوت های اکولوژیکی و فنوتیپ گیاه می باشد [۴۰].

ترکیبات فرار اسانس گلپر توسط GC-MS بر اساس وزن خشک ارزیابی شد (جدول ۲). ۹۴ ترکیب در اسانس گلپر شناسایی شد. ترکیباتی که درصد آنها در اسانس بالای ۱ درصد بود در جدول ۲ گزارش شده است. مواد اصلی شامل بوتانویک اسید (۲۰/۸۱ درصد)، پروپانویک اسید (۱۰/۱ درصد)، گاما-

Table 2 List of volatile compounds in *Heracleum persicum* essence measured by GC-MS

Compound	Retention time (min)	Concentration (Peak area %)
Butanoic acid	3.773	20.82%
LINALOOL L	7.391	4.98%
Propanoic acid	8.112	10.10%
Gamma-Terpinene	6.647	3.57%
Benzene	11.263	3.26%
1,6-Cyclodecadiene	14.992	4.48%
3-Methyl,2-butenic acid, isopropyl ester	4.927	1.02%
Benzene	6.07	2.52%
3-methyl-, 1-methylethyl ester	4.051	1.01%
Cyclohexane	9.632	1.18%
Octamethylene	9.81	1.91%
HEXYL-2-METHYLBUTYRATE	10.198	2.65%
Linalyl isobutyrate	10.498	1.82%
1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol	17.078	2.35%
TRANS-ANETHOLE	11.352	1.48%
n-Octyl 2-methyl butyrate	14.004	1.12%
1,5-Cyclodecadiene	15.28	1.76%
Beta-cadinene	15.769	1.28%
Caryophyllene oxide	17.178	1.33%
Alpha-copaene-8-ol	18.01	1.18%

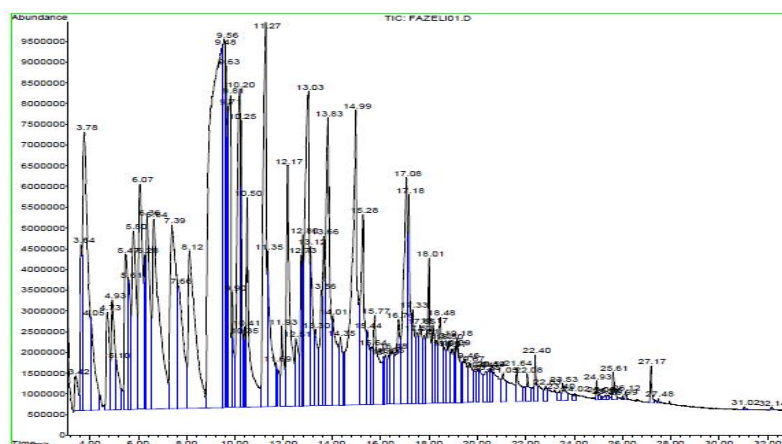


Fig 2 Heracleum persicum essence chromatogram by GC-MS device

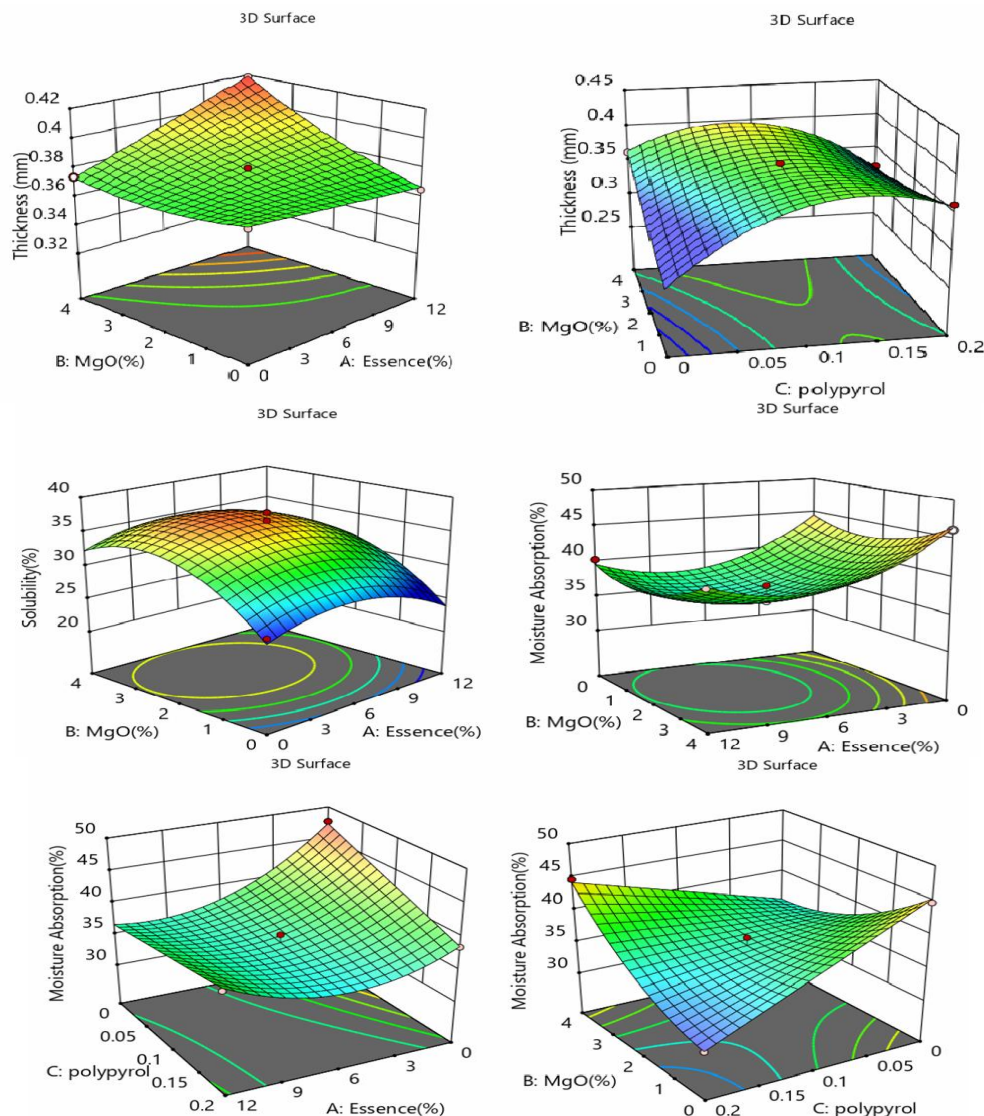
در فیلم های پلیمری و فیلم های بسته بندی ضخامت از اهمیت ویژه ای برخوردار است. زیرا این ویژگی فیلم برخی خصوصیات دیگر فیلم مانند انحلال پذیری، محتوای رطوبت و

۳-۲- ضخامت، انحلال پذیری و توانایی

جذب رطوبت

پذیری، محتوای رطوبت و توانایی جذب رطوبت فیلم گلوتن و کامپوزیت های آن را نشان می دهد. Guo و همکاران (۲۰۱۲) کامپوزیت های مختلف گلوتن گندم را تهیه کرده و تاثیر افزودنی های مختلف مانند زئین بر روی آن را مطالعه کرده اند که نتایج تحقیق آنها نتایج تحقیق حاضر را تا حدودی تایید می کند [۴۲].

همچنین خواص مکانیکی فیلم را تحت تاثیر قرار می دهد. در بسته بندی مواد غذایی، محصولاتی که نسبت به بخار آب حساس می باشند ضخامت فیلم بسیار مهم می باشد زیرا ضخامت فیلم نقش تعیین کننده ای در نفوذ بخار آب به داخل بسته مواد غذایی دارد. شکل ۳ منحنی های کانتور و خطی تاثیر اسانس، اکسید منیزیم و پیرول بر روی ضخامت، انحلال



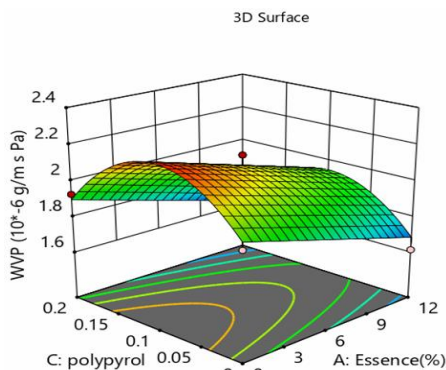
**Fig3** Contour plots of the effect of essence, magnesium oxide, and pyrrole on thickness, solubility and moisture absorption

فضاهای خالی زنجیره های پلیمری گلوتن را پر کرده و ضخامت آن را افزایش دهند. پیرول علاوه بر این که فضاهای خالی گلوتن را پر میکند، در سطح فیلم گلوتن نیز پخش شده و در حین پلیمریزاسیون پلیمرهای تقریباً ضخیم پلی پیرول را در سطح فیلم تشکیل داده و منجر به افزایش ضخامت آن می شوند. بررسی منحنی انحلال پذیری و همچنین مدل ریاضی

با بررسی منحنی های کانتور تاثیر اسانس، اکسید منیزیم و پیرول بر روی ضخامت، مشخص شد که افزودن هر سه ماده اسانس، اکسید منیزیم و پیرول به فیلم، ضخامت آن را افزایش می دهد. افزایش ضخامت فیلم در اثر افزودن هر سه ماده به این خاطر است که ماده خشک فیلم افزایش می یابد و بنابراین ضخامت نیز افزایش می یابد. همچنین نانوذرات میتوانند



همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که افزودن اسانس دارچین به فیلم های کیتوزان باعث کاهش نفوذ پذیری بخار آب در فیلم ها می شود [۴۳] و نتایج تحقیق، مرادی و همکاران (۲۰۱۲) که خواص ممانعت کنندگی فیلم های کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی در برابر عبور بخار آب را بررسی کردند، نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند [۴۴].



**Fig 4** Three-dimensional plots of the effect of essence, MgO and pyrrole on water vapor permeability

### ۳-۴- خواص مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم های زیست تخریب پذیر وابستگی شدیدی به ماهیت پلیمر، شرایط تهیه فیلم و مواد افزودنی آن دارد. خواص مکانیکی مانند مقاومت کششی و کشش پذیری تاثیر بسیار زیادی در استفاده از این فیلم ها در کاربردهای صنعتی دارد. گلوتن از جمله پلیمرهای زیست تخریب پذیر هست که تقریباً خواص مکانیکی مناسبی دارد ولی برای استفاده عملی و کاربردی از این فیلم نیاز هست که به صورت کامپوزیت با سایر مواد مانند نانوذرات مورد استفاده قرار گیرد. نفوذ پذیری به بخار آب فیلم های تخریب پذیر تحت تاثیر خواص مکانیکی آنها قرار می گیرد. شکل ۴ منحنی های سه بعدی تاثیر اسانس، اکسید منیزیم و پیرول بر روی خواص مکانیکی فیلم گلوتن و کامپوزیت های آن را نشان می دهد. بررسی منحنی های خواص مکانیکی نشان می دهد که افزودن نانوذرات اکسید منیزیم تاثیر معنی داری بر روی مقاومت کششی فیلم ندارد در حالیکه اسانس و پلی پیرول هر دو تاثیر معنی داری در افزایش مقاومت کششی فیلم دارند که احتمالاً دلیل افزایش مقاومت کششیدر فیلم حاوی پلی پیرول، افزایش ضخامت فیلم و انسجام فیلم می باشد که پلی پیرول با قرار گیری در حفره های سطحی و داخلی فیلم باعث استحکام زنجیره پلیمری فیلم می شود و اسانس با پر کردن حفره های

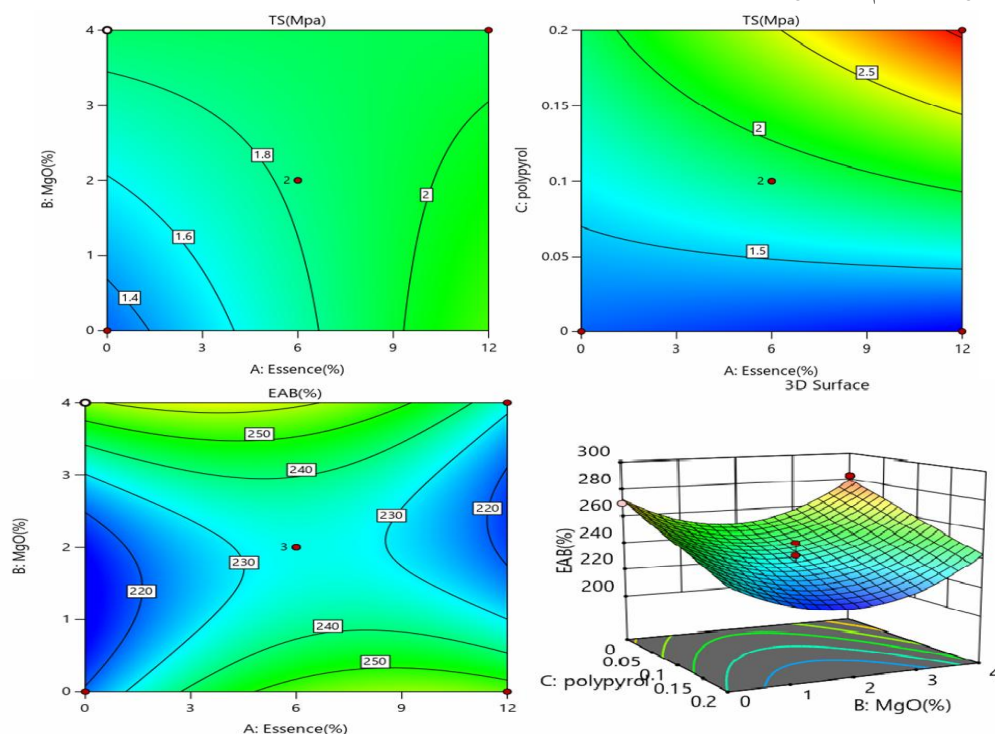
مربوط به انحلال پذیری (جدول ۳) نشان داد، پلی پیرول و اسانس احتمالاً به دلیل داشتن خاصیت آبگریزی و تشکیل پیوندهای مختلف بین اجزای اسانس و پلی پیرول با پروتئین های فیلم گلوتن باعث کاهش انحلال پذیری فیلم های کامپوزیت گلوتن می شوند، ولی اکسید منیزیم تا حدودی باعث افزایش حلالیت فیلم شده است. افزایش انحلال پذیری فیلم در حضور اکسید منیزیم احتمالاً به این خاطر می باشد که نانوذرات با قرارگیری در بین زنجیره های پلیمری گلوتن انسجام زنجیره ها را کاهش داده و زمینه را برای ایجاد برهمکنش بین مولکول های گلوتن و مولکول های آب فراهم می کند. منحنی های تاثیر اسانس، اکسید منیزیم و پیرول بر روی جذب رطوبت نشان داد، اکسید منیزیم تاثیری در جذب رطوبت فیلم گلوتن و کامپوزیت های آن ندارد در حالیکه اسانس و پیرول باعث کاهش جذب رطوبت فیلم می شود که دلیل آن هم این است که اسانس و پیرول هر دو خاصیت آبگریزی دارند و با قرارگیری در حفره های فیلم باعث کاهش جذب رطوبت می شوند. Chavoshizadeh و همکاران (۲۰۲۰) فیلم گلوتن اصلاح شده با رنگدانه کلرو فیل و نانوذرات را تهیه کرده و خواص فیزیکی شیمیایی آن را بررسی کرده اند. نتایج تحقیق حاضر از لحاظ تاثیر ترکیبات آب گریز و افزودنی های نانوذره بر روی ضخامت، انحلال پذیری و جذب رطوبت با نتایج Chavoshizadeh و همکاران مطابقت نسبی دارد [۴۱].

### ۳-۳- نفوذپذیری نسبت به بخار

خصوصیات سد کنندگی فیلم ها در مقابل آب و رطوبت در کاربرد آنها به عنوان بسته بندی مواد غذایی نقش مهمی دارد، زیرا رطوبت می تواند بر کیفیت کلی غذا تأثیر منفی بگذارد و باعث ایجاد انواع تغییرات نامطلوب میکروبی، فیزیکی و شیمیایی گردد. بررسی منحنی های نفوذپذیری نسبت به بخار آب نشان داد که پلی پیرول و نانوذره ویژگی نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم را تحت تاثیر قرار نداده است ولی نفوذ-پذیری نسبت به بخار آب فیلم ها تحت تاثیر اسانس قرار می-گیرد و با افزایش اسانس به طور معنی داری نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم ها کاهش پیدا می کند و دلیل آن هم احتمالاً خاصیت آبگریزی اسانس می باشد و همچنین اسانس می تواند با پیچیده تر کردن مسیر های نفوذ بخار آب فیلم ها، نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم را کاهش دهد. Ojagh و

طول نمونه های فیلم در نقطه شکست با افزایش مقادیر اسانس، نانوذرات اکسید منیزیم و پلی پیرول کاهش یافت. با توجه به یافته های Grande-Tovar و همکاران (۲۰۱۸) کاهش افزایش طول نمونه ها در نقطه شکست می تواند ناشی از اثر اتصالات عرضی ناشی از فعل و انفعالات بین گلوتن گندم و اسانس، نانوذرات اکسید منیزیم و پلی پیرول باشد که می تواند باعث ایجاد ساختار فشرده ورق مانند شود و مقادیر افزایش طول در نقطه شکست را کاهش دهد و Olabbarrieta و همکاران (۲۰۰۶) تاثیر مونت موریلینیت بر روی خواص مکانیکی فیلم را بررسی کرده و تاثیر نانوذرات بر روی خواص مکانیکی فیلم را تایید کرده اند [۴۶].

فیلم باعث کاهش جذب رطوبت فیلم می شود و با کاهش مولکول های آب در فیلم، بر هم کنش بین مولکول های آب و گلوتن کاهش می یابد و در نتیجه مقاومت کششی فیلم افزایش می یابد که نتایج تحقیق Grande-Tovar و همکاران (۲۰۱۸) نتایج این تحقیق را تا حدودی تایید می کند [۴۵]. نمودار اثر متقابل اسانس و پلی پیرول نشان داد که تاثیر اسانس روی مقاومت کششی فیلم به غلظت پلی پیرول وابسته است و زمانی که غلظت پلی پیرول پایین است، اسانس تاثیر چندانی بر روی کشش پذیری فیلم ندارد و زمانی که غلظت پلی پیرول در فیلم بالا می باشد با افزایش غلظت اسانس مقاومت کششی فیلم افزایش پیدا می کند. کشش پذیری فیلم تا حدودی تحت تاثیر افزودنی های فیلم قرار می گیرد به طوری که افزایش



**Fig5** Three-dimensional plots of the effect of essence, MgO and pyrrole on mechanical properties

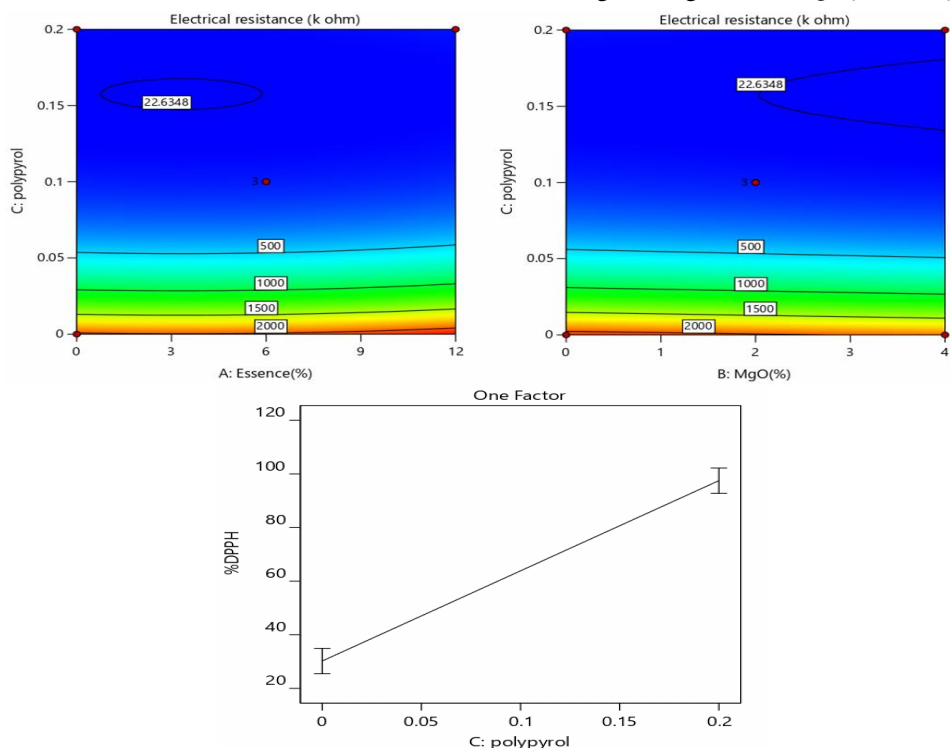
را غیر فعال سازند و به این ترتیب خاصیت آنتی اکسیدانی داشته باشند. فیلم های هادی الکتریسیته که خاصیت آنتی اکسیدانی هم داشته باشد می تواند به راحتی در بسته بندی های فعال و هوشمند مورد استفاده قرار گیرد. شکل ۶ منحنی های سه بعدی و خطی تاثیر اسانس، اکسید منیزیم و پیرول بر روی خواص الکتریکی و آنتی اکسیدانی فیلم های گلوتن را نشان می دهد. همانطور که مشخص است اسانس و نانوذرات اکسید منیزیم تأثیری بر روی مقاومت الکتریکی فیلم ندارد. با توجه به اینکه اسانس و نانوذرات اکسید منیزیم توانایی هدایت

### ۳-۵- خواص الکتریکی و آنتی اکسیدانی

پلی پیرول از جمله پلیمرهای هادی الکتریسیته هست که قابلیت سازگاری مناسبی با پلیمرهای زیست تخریب پذیر دارد و میتواند خواص فیزیکوشیمیایی، الکتریکی، آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریالی فیلم ها را تغییر دهد. خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریالی پلی پیرول در مطالعات پیشین تایید شده است. اسانس ها نیز به خاطر داشتن ترکیبات پلی فنولی خاصیت آنتی اکسیدانی دارند زیرا حلقه های فنلی این ترکیبات توانایی جذب رادیکال های آزاد را دارند و میتوانند رادیکال های آزاد

بیشتر از اسانس می باشد. خاصیت آنتی اکسیدانی پلی پیرول از دو جهت قابل بررسی می باشد، وجود حفرات الکتریکی بار مثبت بر روی زنجیره کربنی پلی پیرول توانایی جذب رادیکال های آزاد را دارد که باعث خاموشی رادیکال های آزاد شده و خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم را به شدت افزایش می دهد. همچنین وجود حفرات فیزیکی ریز موجود در ساختار پلی پیرول توانایی جذب فیزیکی رادیکال های آزاد را دارد. تقریباً اکثر اسانس ها به دلیل داشتن حلقه های پلی فنولی توانایی غیر فعال سازی رادیکال های آزاد را داشته و باعث ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی در فیلم های حاوی اسانس می شوند. Bideau و همکاران (۲۰۱۷) فیلم کامپوزیت سلولوز/پلی پیرول را سنتز کرده و خاصیت آنتی اکسیدانی آن را بررسی کرده اند. آنها خاصیت آنتی اکسیدانی پلی پیرول را تایید کرده اند که نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند [۴۷]. WU و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی خاصیت آنتی اکسیدانی چند اسانس را بررسی کرده اند آنها گزارش کردند که اکثر اسانس ها خاصیت آنتی اکسیدانی دارند که نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند [۴۸].

الکتریکی ندارند بنابراین افزودن این مواد به فیلم هدایت الکتریکی فیلم را تغییر نمی دهد. افزودن پلی پیرول به شدت مقاومت الکتریکی فیلم را کاهش داده است و یا به عبارت دیگر هدایت الکتریکی را افزایش داده است. با توجه به ماهیت هدایت الکتریکی بالای پلی پیرول، افزودن این پلیمر به فیلم خاصیت هدایت الکتریکی را به فیلم گلو تن القا کرده است. پلی پیرول نیمه هادی از نوع p می باشد و مکانیسم انتقال بار از طریق حفرات موجود در ساختار زنجیره کربنی پلیمر اتفاق می افتد. هر چه غلظت مونومر پیرول در حین سنتز بیشتر باشد مقدار پلی پیرول سنتز شده بیشتر بوده و حفرات انتقال بار نیز افزایش می یابد و بنابراین قدرت انتقال الکتریکی افزایش یافته و مقاومت الکتریکی کاهش می یابد. با بررسی نتایج آزمایشات و منحنی های خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم نشان داد که نانوذرات اکسید منیزیم تاثیر معنی داری بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم ندارد در حالیکه اسانس و پلی پیرول خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم را افزایش می دهند. در مقایسه تاثیر اسانس و پلی پیرول بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی مشخص شد که تاثیر پلی پیرول در افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار



**Fig 6** Three-dimensional plots and linear curves of the effect of essence, magnesium oxide and pyrrole on the electrical and antioxidant properties

### ۳-۶- بهینه سازی و مطلوبیت

یکی از اهداف اصلی این مطالعه تعیین مقادیر بهینه متغیرهای مستقل (منیزیم اکسید، اسانس گلپر و پلی پیرول) برای تولید فیلم هایبر پایه گلوتن گندم با بهترین خواص فیزیکیوشیمیایی بود. روش سطح پاسخ Response Surface Methodology یا به صورت اختصاری RSM. یک مجموعه از تکنیک های آماری و ریاضیات کاربردی برای

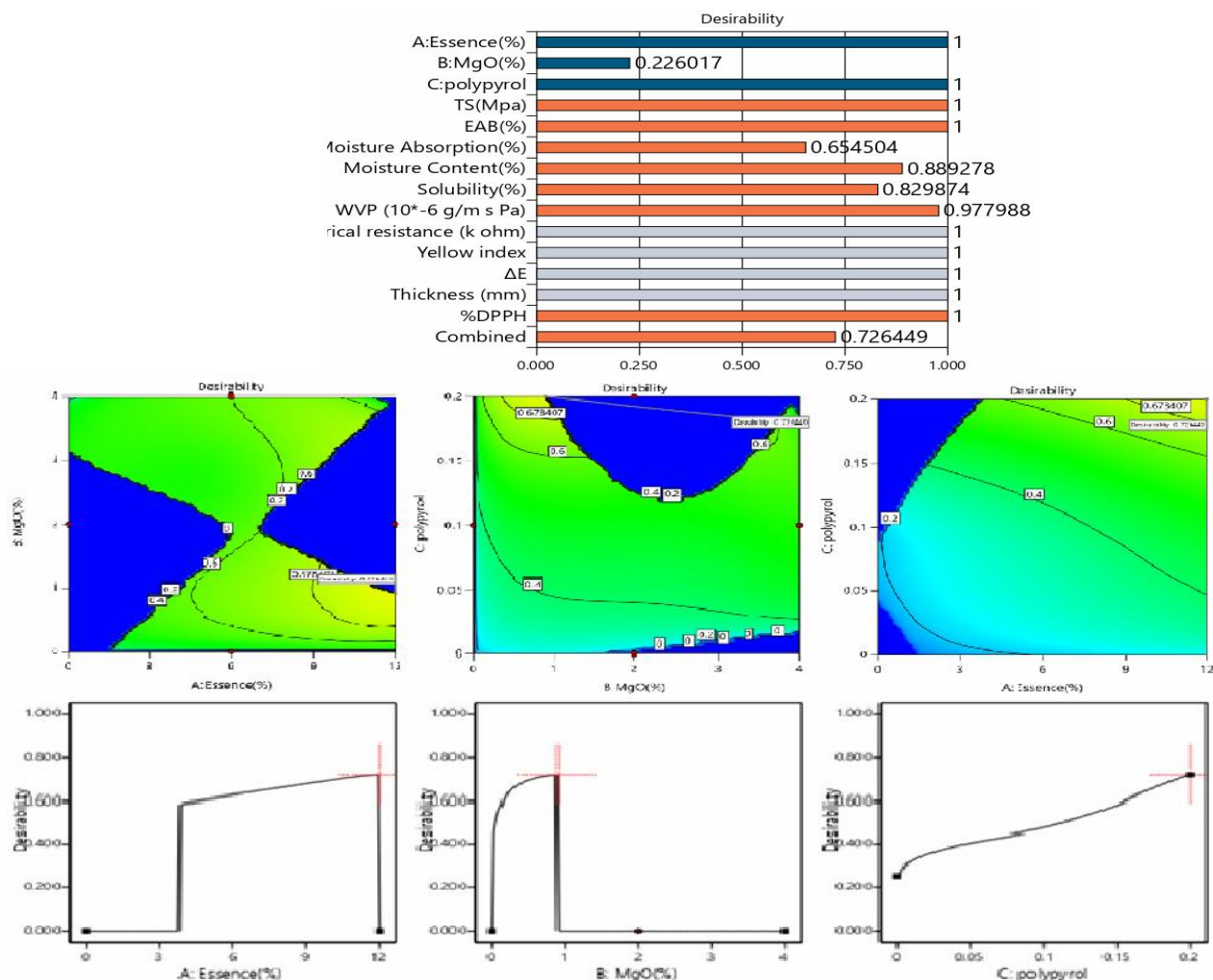
ساخت مدل های تجربی است. هدف در طرح های سطح پاسخ ، بهینه سازی پاسخ (متغیر خروجی) است که متأثر از چندین متغیر مستقل (متغیر های ورودی) می باشد. جدول ۳، روابط ریاضی (مدل های ریاضی) بین متغیرهای مستقل (درصد اسانس، درصد نانوذرات اکسید منیزیم و غلظت پیرول) و متغیرهای وابسته (خواص فیزیکیوشیمیایی فیلم) را نشان می دهد.

**Table 3** Mathematical relationships between independent variables and dependent variables

Response	Equations
Thickness (mm)	$= 0.278-0.000*Essence(\%)+0.009*MgO(\%)+1.506*polypyrrole+0.001*Essence(\%)*MgO(\%)-0.156*MgO(\%)*polypyrrole+0.001*MgO(\%)^2-5.437*polypyrrol^2$
Solubility (%)	$= 26.05+0.954167*Essence(\%)+6.3625*MgO(\%)-0.094*Essence(\%)^2-1.2*MgO(\%)^2$
Moisture absorption (%)	$=+54.745-2.253*Essence(\%)-4.927*MgO(\%)-102.184*polypyrrole+4.830*Essence(\%)*polypyrrole+29.242*MgO(\%)*polypyrrole+0.113*Essence(\%)^2+0.6159*MgO(\%)^2$
WVP ( $10^{-6}g/m s Pa$ )	$=1.96158-0.023*Essence(\%)+5.564*polypyrrole-9.390*polypyrrole^2$
TS (MPa)	$=+0.999+0.018*Essence(\%)+0.144*MgO(\%)+3.012*polypyrrole-0.017*Essence(\%)*MgO(\%)+0.566*Essence(\%)*polypyrrole$
EAB (%)	$=+239.614+8.098*Essence(\%)-16.464*MgO(\%)-183.636*polypyrrole-1.227*Essence(\%)*MgO(\%)-0.441*Essence(\%)^2+6.435*MgO(\%)^2$
Electrical resistance (k ohm)	$= +46.036-0.168*Essence(\%)-0.449*MgO(\%)-511.883*polypyrrole+0.025*Essence(\%)^2+1624.61026 polypyrrol^2$

درصد اکسید منیزیم و ۰/۲ پیرول بدست آمد. مقدار مطلوبیت کلی شرایط بهینه پیش بینی شده ۰/۷۲۶ بود. در مرحله بعدی، ۶ نمونه فیلم برای بررسیهای مختلف در مورد ویژگی های ساختاری و همچنین کاربردهای بسته بندی مواد غذایی تهیه گردید. نمونه های تهیه شده شامل نمونه شاهد، نمونه شامل بیشترین درصد منیزیم اکسید، نمونه شامل بیشترین درصد اسانس، نمونه شامل بیشترین غلظت پیرول، نمونه شامل بیشترین مقدار هر سه متغیر مستقل و نمونه بهینه تهیه شده در شرایط مطلوب (۱۲ درصد اسانس، ۰/۹۰۴ درصد اکسید منیزیم و ۰/۲ پیرول) بودند.

با استفاده از روش آماری سطح پاسخ، مطلوبیت کلی محاسبه شده و به دست آمد (شکل ۷). بهینه سازی بر اساس بیشینه و کمینه مقدار فاکتور های مهم برای بسته بندی مواد غذایی انجام شد به طوری که مقدار فاکتور هایمقاومت کششی، کشش پذیریو خاصیت آنتی اکسیدانیبر اساس بیشینه و مقدار فاکتور های انحلال پذیری، نفوذپذیری نسبت به بخار آب و مقاومت الکتریکی بر اساس کمینه انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری منجر به یافتن غلظت های مطلوب و بهینه اسانس گلپر، نانوذرات اکسید منیزیم و غلظت پیرول برای تمام ویژگی های مهم فیلم ها شد و با در نظر گرفتن نتایج همه آزمون ها، نمونه بهینه با افزودن ۱۲ درصد اسانس، ۰/۹۰۴



**Fig7** Three-dimensional plots and linear curves of the effect of essence, magnesium oxide and pyrrole on the desirability

پیرول بیشتر از اسانس و آن هم بیشتر از اکسید منیزیم می باشد. بیشترین هاله عدم رشد باکتری (بیشترین خاصیت آنتی باکتریالی) در فیلم گلوتن حاوی هر سه ماده اسانس، اکسید منیزیم و پلی پیرول مشاهده می شود که نشان می دهد این سه ماده اثر هم افزایش داشته و اثر همدیگر را تقویت کرده اند. همچنین خاصیت آنتی باکتریالی فیلم های گلوتنی حاوی اسانس، اکسید منیزیم و پلی پیرول در برابر باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) بیشتر از باکتری گرم منفی (اشریشیا کلی) بوده است که علت این پدیده به ساختار دیواره سلولی باکتری ها مربوط می باشد. باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی دیواره سلولی ساده تری دارد. به عبارت دیگر ساختار فیزیکی و شیمیایی باکتری های گرم منفی پیچیده تر می باشد و عوامل آنتی باکتریال توانایی کمتری به نفوذ به داخل سلول باکتری های گرم منفی دارند و بنابراین

### ۷-۳- خاصیت آنتی باکتریال

یکی از مهمترین ویژگی های فیلم های فعال خاصیت آنتی باکتریالی آنهاست. فیلم های فعال آنتی باکتریال استفاده شده در بسته بندی محصولات غذایی با مهار رشد باکتری ها، فساد ماده غذایی را به تاخیر انداخته و باعث افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی می شود. شکل ۸ هاله عدم رشد دو نوع باکتری گرم منفی (اشریشیا کلی) و گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) در حضور فیلم گلوتن و کامپوزیت های آن را نشان می دهد. همانطور که مشخص است فیلم گلوتن خالص خاصیت آنتی باکتریالی خاصی نسبت به هیچ کدام از باکتری ها ندارد. افزودن هر سه ماده اسانس، اکسید منیزیم و پلی پیرول باعث ایجاد خاصیت آنتی باکتریالی در فیلم گلوتن شده است. در مقابل هر دو نوع باکتری خاصیت آنتی باکتریالی پلی

را مختل سازند. Ramirez و همکاران (۲۰۱۹) خاصیت آنتی باکتریالی پلیمرهای اصلاحشده با پلی پیرول را بررسی کرده اند. آنها گزارش کرده اند که پلی پیرول به شدت خاصیت آنتی باکتریالی دارد که نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند [۴۹]. Jin و همکاران (۲۰۱۱) خاصیت آنتی باکتریالی نانوذرات اکسید منیزیم را بررسی کرده اند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Jin و همکاران همخوانی مناسبی دارد [۵۰].

توانایی کمتری در غیر فعال سازی آنها دارند. در حالیکه باکتری های گرم مثبت دیواره ساده تری دارند و عوامل آنتی باکتریال به راحتی نفوذ کرده و باکتری را غیر فعال می سازند. خاصیت آنتی باکتریالی پلی پیرول احتمالاً به این خاطر هست که سطح پلی پیرول از بارهای الکتریکی مثبت و منفی و همچنین حفرات الکتریکی پر شده است که این بارهای الکتریکی میتوانند با بار الکتریکی نسبی سطح باکتری برهمکنش های الکترواستاتیکی برقرار کرده و عملکرد باکتری

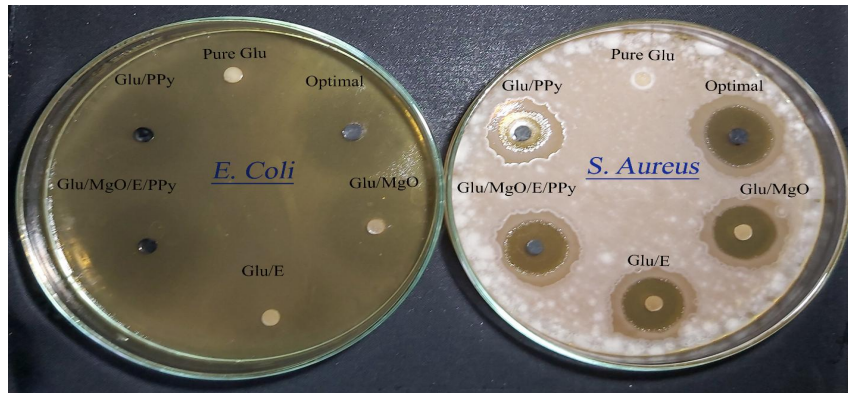


Fig 8 Effect of essence, magnesium oxide and pyrrole on the antibacterial properties

بوده است. همچنین در طیف فیلم گلوتن-اسانس پیک های جدیدی در ناحیه ۸۸۲ و ۸۷۲ ظاهر شده است که این پیک ها مربوط به ارتعاشات حلقه های پلی فنولی اسانس می باشد که حضور اسانس در ساختار فیلم را تایید می کند. طیف گلوتن-اکسید منیزیم نیز نشان می دهد که طیف این فیلم با طیف گلوتن خالص تفاوت چندانی ندارد و فقط پیک های مربوط به گلوتن خالص به عدد های موجی متفاوتی شیفته شده اند که برهمکنش های الکترواستاتیک ضعیف بین گلوتن و اسانس تایید می شود. همچنین در طیف فیلم گلوتن-اکسید منیزیم پیک جدیدی در ناحیه ۶۸۰ ظاهر شده است که این پیک مربوط به ارتعاشات خارج از صفحه  $\text{CH}_2$  می باشد که این نوع ارتعاشات احتمالاً به خاطر حضور اکسید منیزیم در ساختار فیلم می باشد. طیف گلوتن-پلی پیرول و گلوتن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرول نسبت به طیف گلوتن خالص بسیار متفاوت می باشد و پیک های مربوط به گروه های عاملی مختلف در گلوتن خالص به عددهای موجی بسیار متفاوتی در این دو فیلم شیفته شده اند که این مسئله برهمکنش های

### ۳-۸-۳- طیف های FTIR فیلم های گلوتنی

برای بررسی ساختار شیمیایی فیلم ها، طیف های FTIR فیلم گلوتن و کامپوزیت های آن مورد بررسی قرار گرفت. بررسی طیف FTIR فیلم گلوتن خالص نشان داد، پیک ۳۴۳۳ مربوط به ارتعاشات گروه های OH و NH می باشد. در این طیف پیک ۲۹۲۱ و ۲۸۵۲ مر بوط به ارتعاشات  $\text{-CH}_2$ - آلکانی می باشد. پیک شارپ ۱۵۱۷ ارتعاشات گروه های N-O و N=O را نشان می دهد. پیک شارپ ۱۶۱۴ نیز ارتعاشات  $\text{R-NH}_2$  را تایید می کند. پیک ۱۰۴۵ نیز ارتعاشات  $\text{R}_2\text{-NH}$  را نشان می دهد. پیک ۱۷۳۸ نیز ارتعاشات گروه های  $\text{R-CO-}$  را تایید می کند. بررسی طیف گلوتن-اسانس نشان داد که طیف این فیلم با طیف گلوتن خالص تفاوت چندانی ندارد و فقط پیک های مربوط به گلوتن خالص به عدد های موجی متفاوتی شیفته شده اند که این مسئله نشان می دهد برهمکنش های الکترواستاتیک خیلی ضعیفی بین گلوتن و اسانس اتفاق افتاده است و برهمکنش اصلی بین گلوتن و اسانس به صورت فیزیکی

آنها انواع مختلف گروه‌های OH و NH وجود دارد که باعث می‌شود چندین پیک در نزدیکی هم ظاهر شوند. Li و همکاران (۲۰۰۶) ساختار شیمیایی گلوتن را با FTIR مورد بررسی قرار داده اند که نتایج آنها نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند [۵۱]. Yanping در سال ۲۰۰۶ ساختار شیمیایی کامپوزیت های گلوتن و گلوتن اصلاح شده را بررسی کرده اند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Yanping مطابقت خوبی نشان می دهد [۵۲].

بسیار قوی الکترواستاتیکی بین گلوتن و پلی پیرول را نشان می دهد. نکته مهمی که در طیف های گلوتن و کامپوزیت های آن وجود دارد این است که معمولا پیک مربوط به OH و NH در محدوده عدد موجی ۳۳۰۰ تا ۳۵۰۰ به صورت یک پیک پهن ظاهر می شود، در حالیکه در طیف های گلوتن و کامپوزیت های آن در ناحیه ۳۳۰۰ تا ۳۵۰۰ پیکهای شارپ زیادی دیده می شود که احتمالا این پیک ها به این خاطر هست که در ساختار گلوتن، اسانس و پلی پیرول و کامپوزیت های

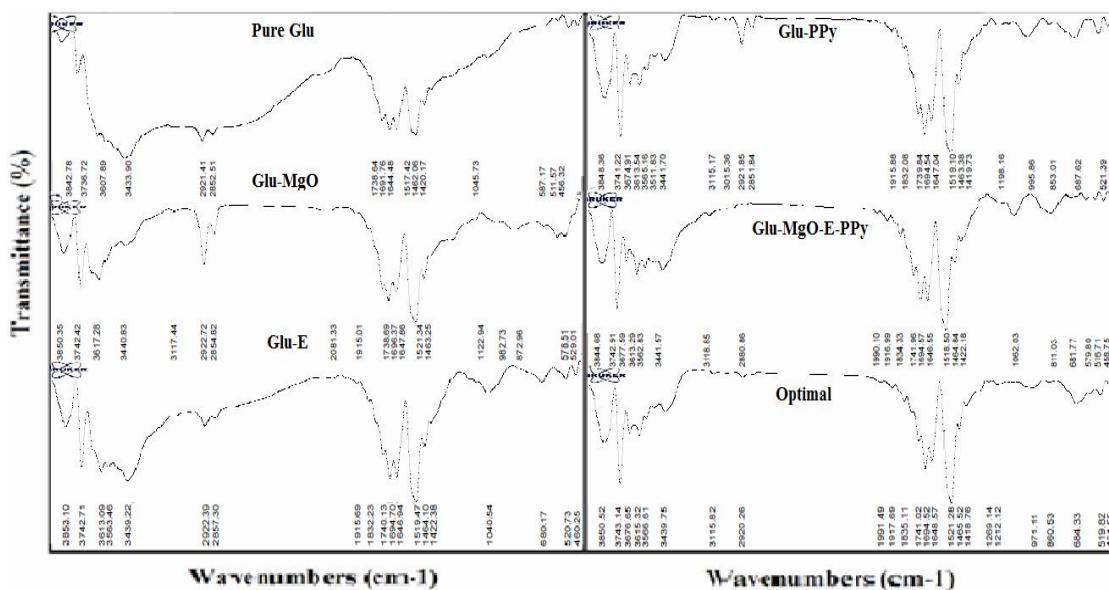


Fig 9 FTIR spectra of gluten film and its composites

فیلم گلوتن حاوی نانوذرات اکسید منیزیم ترک های سطحی و داخلی فیلم تا حدود زیادی کاهش یافته است که میتوان گفت که نانوذرات شکاف های بین زنجیره پلیمری را پر کرده است. مورفولوژی سطحی فیلم گلوتن حاوی اسانس نشان می دهد که اسانس انسجام پلیمری گلوتن را افزایش داده و شکاف های سطحی و درونی را کاملا پر کرده است و بنابراین می توان ادعا کرد در فیلم گلوتن حاوی اسانس نفوذ پذیری فیلم نسبت به گازهای مختلف بسیار کمتر خواهد بود که این مسئله شرایط ایده آلی را برای بسته بندی مواد غذایی ایجاد می کند. مطالعه مورفولوژی فیلم گلوتن-پلی پیرول و گلوتن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرول نشان می دهد نانوذرات پلی پیرول در ابعاد ۴۰ تا ۱۰۰ نانومتر کاملا سطح فیلم را پوشانده است. همچنین در این دو فیلم شکاف های سطحی و درونی فیلم به شدت کاهش یافته و انسجام پلیمری افزایش یافته است. همچنین در این دو فیلم ذرات کروی پلی پیرول در سطح فیلم

### ۳-۹- مطالعه مورفولوژی فیلم های گلوتنی

مورفولوژی سطحی فیلم های بسته بندی، نحوه توزیع نانوذرات، افزودنی های کامپوزیتی و ویژگی های فیزیکوشیمیایی فیلم مانند قدرت آنتی باکتریال یا نفوذ پذیری به بخار آب را تحت تاثیر قرار می دهد. از این رو در این مطالعه مورفولوژی سطح فیلم با استفاده از تصاویر SEM مورد مطالعه قرار گرفت. شکل ۱۰ تصاویر SEM (سطحی) فیلم گلوتن و کامپوزیت های آن را نشان می دهد. بر اساس تصاویر SEM فیلم گلوتن خالص سطحی صاف دارد که دارای شکاف و شکستگی در سطح می باشد که این شکاف ها میتواند منجر به نفوذ بخار آب و سایر گازها از این فیلم شود. در فیلم گلوتن حاوی نانوذرات اکسید منیزیم وجود نانوذرات در سطح مشاهده میشود که به صورت ناهمگن پخش شده اند. علت پخش ناهمگن نانوذرات در ساختار گلوتن به این دلیل است که پخش شدگی صرفا به صورت فیزیکی بوده است. همچنین در

[۴۱]. Rezaei و همکاران فیلم گلوتن اصلاح شده با نانوذرات اکسید روی را بررسی کرده اند. نتایج تحقیق آنها نتایج تحقیق حاضر را از لحاظ مورفولوژی فیلم را تایید می کند [۵۳].

قابل تشخیص هست. Chavoshizadeh و همکاران (۲۰۲۰) فیلم گلوتن اصلاح شده با پلی پیرول را تهیه کرده و مورفولوژی آن را بررسی کرده اند. نتایج تحقیق حاضر از ویژگی های سطحی پلیمر و اندازه و شکل ذرات پلی پیرول با نتایج Chavoshizadeh و همکاران مطابقت نسبی دارد

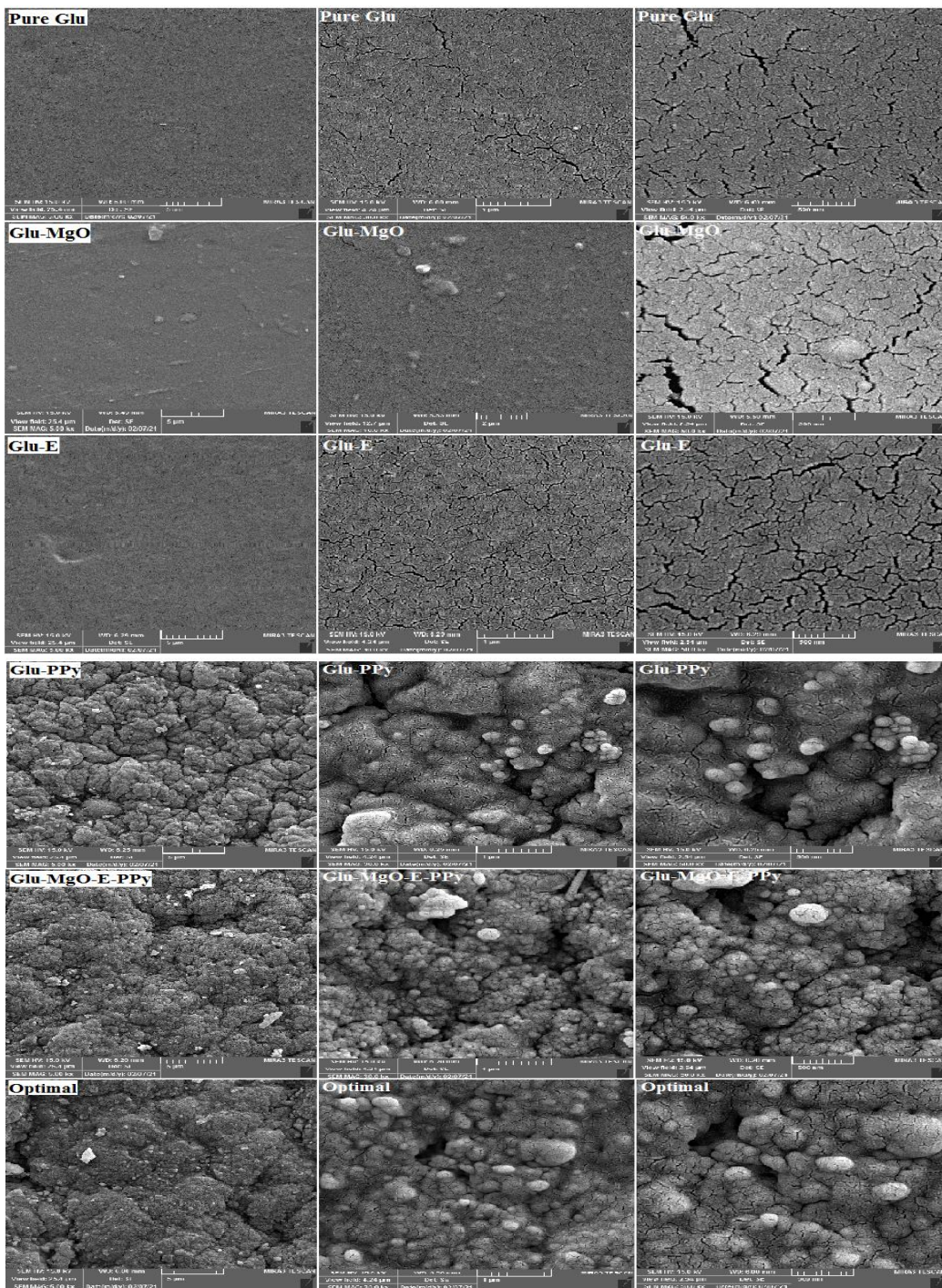


Fig10 SEM images (surface) of gluten film and its composites



### ۳-۱۰- طیف های TGA فیلم های گلوتهنی

طیف TGA فیلم گلوتهن خالص و کامپوزیت های آن در دو ناحیه کاهش وزن نشان می دهند. در ناحیه اول که تقریباً در محدوده دمایی ۹۵ تا ۱۰۵ درجه سانتی گراد اتفاق می افتد فیلم ها کاهش وزنی در حدود ۵ تا ۱۰ درصد وزنی را نشان می دهند. افت وزنی این ناحیه مربوط به تبخیر مولکول های آب، اسانس های فرار و سایر مواد فرار موجود در ساختار فیلم می باشد. در ناحیه دوم افت وزنی که تقریباً ۸۰ تا ۹۰ درصد وزن فیلم از بین می رود در محدوده دمایی ۲۳۰ تا ۳۳۰ درجه اتفاق می افتد. با مقایسه منحنی های دیفرانسیل تغییرات وزنی-دما مشخص شد که نانوذرات اکسید منیزیم تاثیر معنی داری بر روی مقاومت حرارتی فیلم ها ندارد در حالیکه پلی پیروول و اسانس مقاومت حرارتی فیلم گلوتهن را به طور معنی داری افزایش دادند. پیک مربوط به فیلم گلوتهن خالص در منحنی های دیفرانسیل تغییرات وزنی-دما در دمای ۲۵۴ درجه سانتی گراد اتفاق افتاده است در حالیکه پیک تخریب فیلم گلوتهن-اسانس و گلوتهن-پلی پیروول به ترتیب در دماهای ۳۰۲ و ۳۰۱ درجه سانتی گراد بوده است که بیانگر افزایش مقاومت

حرارتی فیلم گلوتهن در حضور پلی پیروول و اسانس می باشد. فیلم کامپوزیت گلوتهن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیروول بیشترین پایداری حرارتی را نشان داد که بیانگر اثر هم افزایی پلی پیروول و اسانس در افزایش پایداری حرارتی فیلم می باشد. همانطور که در تصاویر SEM نیز مشخص بود پلی پیروول و اسانس باعث می شوند زنجیره های پلیمری گلوتهن بیشتر به هم متصل شوند و زنجیره ای پلیمری انسجام بیشتری داشته باشند که همین مسئله باعث افزایش مقاومت حرارتی فیلم می شود. همچنین طیف های FTIR نیز برهمکنش های قوی الکترواستاتیکی بین زنجیره های کربنی گلوتهن و پلی پیروول را تایید کرده بودند که منجر به انسجام ساختاری بیشتر گلوتهن و پایداری حرارتی آن میشود. Nerkar و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر پلی پیروول در پایداری حرارتی فیلم های زیست تخریب پذیر را مطالعه کرده اند. آنها گزارش کردند که افزودن پلی پیروول به ساختار فیلم پلی وینیل الکل پایداری حرارتی آن را به شدت افزایش داده است، که نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند. [۵۴].

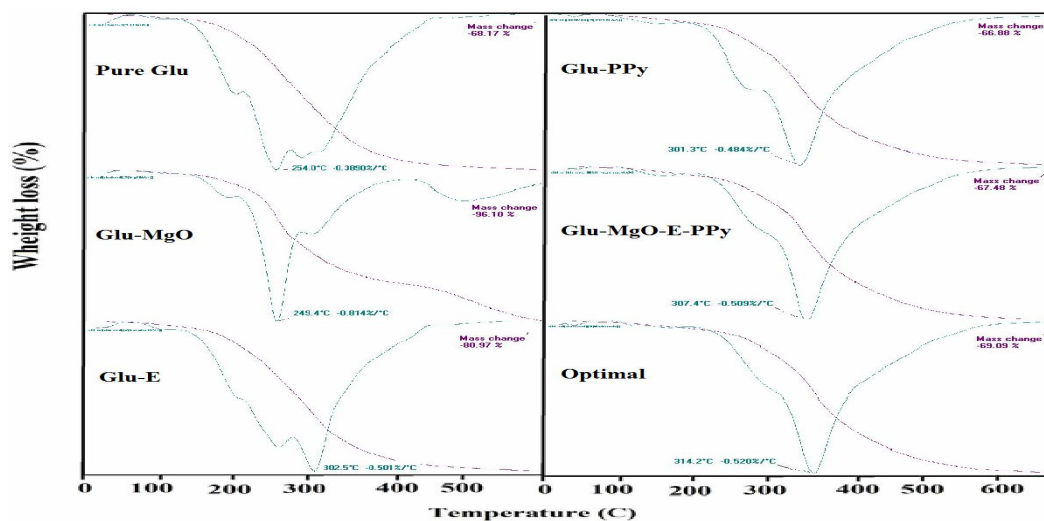


Fig11 TGA/DTA spectra of gluten film and its composites

مورد بررسی قرار گرفت. تصاویر SEM نشان داد اسانس و پلی پیروول ساختار فیلم گلوتهن را منسجم تر کرده و آن را در برابر عبور بخار آب مقاوم تر کرده است. طیف های FTIR برهمکنش های الکترواستاتیکی بین گلوتهن با اسانس و پلی پیروول را تایید کرد. نتایج آنالیز حرارتی نشان داد پلی پیروول به شدت مقاومت حرارتی فیلم را افزایش داده و نانوذرات تاثیر چندانی بر روی مقاومت حرارتی نداشته اند. نتایج نشان داد

### ۴- نتیجه گیری

در این مطالعه فیلم گلوتهن حاوی اسانس گلپر، نانوذرات اکسید منیزیم و پلی پیروول تهیه گردیده و ویژگی های فیزیکوشیمیایی فیلم های تهیه شده مانند ضخامت، انحلال پذیری، توانایی جذب رطوبت، خاصیت آنتی اکسیدانی، هدایت الکتریکی، آنتی باکتریالی، خواص مکانیکی، ساختاری و حرارتی فیلم ها

- mechanical properties. *Chemical Review and Letters*, 3(3), 98-103.
- [3] Deepika, K., Praveena, P. L., Srisugamathi, G., & Nisha, J. N. (2021). Development and evaluation study of polyvinyl alcohol with gluten film. *Materials Today: Proceedings*, 45, 597-602.
- [4] Zheng, K., Xiao, S., Li, W., Wang, W., Chen, H., Yang, F., & Qin, C. (2019). Chitosan-acorn starch-eugenol edible film: Physico-chemical, barrier, antimicrobial, antioxidant and structural properties. *International journal of biological macromolecules*, 135, 344-352.
- [5] Hiraishi, T., & Taguchi, S. (2009). Enzyme-catalyzed synthesis and degradation of biopolymers. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 6(1), 44-54.
- [6] Mohammadi, B., Pirsa, S., & Alizadeh, M. (2019). Preparing chitosan-polyaniline nanocomposite film and examining its mechanical, electrical, and antimicrobial properties. *Polymers and Polymer Composites*, 27(8), 507-517.
- [7] Pirsa, S., Farshchi, E., & Roufegarinejad, L. (2020). Antioxidant/antimicrobial film based on carboxymethyl cellulose/gelatin/TiO<sub>2</sub>-Ag nano-composite. *Journal of Polymers and the Environment*, 28(12), 3154-3163.
- [8] Pirsa, S. (2020). Biodegradable film based on pectin/Nano-clay/methylene blue: Structural and physical properties and sensing ability for measurement of vitamin C. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 666-675.
- [9] Almasi, H., Azizi, S., & Amjadi, S. (2020). Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99, 105338.
- [10] Ansorena, M. R., Zubeldía, F., & Marcovich, N. E. (2016). Active wheat gluten films obtained by thermoplastic processing. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 47-54.
- [11] Türe, H., Gällstedt, M., & Hedenqvist, M. S. (2012). Antimicrobial compression-moulded wheat gluten films containing potassium sorbate. *Food Research International*, 45(1), 109-115.
- [12] Pirsa, S., & Aghbolagh Sharifi, K. (2020). A review of the applications of bioproteins in the preparation of biodegradable films and افزودن هر سه ماده اسانس، اکسید منیزیم و پیرول به فیلم، ضخامت آن را افزایش می دهد. جذب رطوبت، انحلال پذیری و نفوذ پذیری نسبت به بخار آب فیلم ها با افزایش محتوای اسانس و پیرول کاهش یافت. افزایش مقادیر اسانس و پیرول در ساختار فیلم خواص مکانیکی فیلم ها را بهبود بخشید. با ارزیابی خواص ساختاری و ضد میکروبی فیلمهای بهینه (حاوی ۱۲ درصد اسانس، ۰/۹۰۴ درصد اکسید منیزیم و ۰/۲ پیرول) به این نتیجه رسیده شد که خاصیت آنتی باکتریال و آنتی اکسیدانی فیلم در حضور هر سه افزودنی اسانس گلپر، نانوذرات اکسید منیزیم و پلی پیرول به شدت افزایش می یابد و فیلم کامپوزیت گلوتن-اسانس-اکسید منیزیم-پلی پیرول بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریال را دارد و در مقایسه تاثیر اسانس و پلی پیرول بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی مشخص شد که تاثیر پلی پیرول در افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار بیشتر از اسانس می باشد. افزودن اسانس و نانوذرات اکسید منیزیم به فیلم هدایت الکتریکی فیلم را تغییر نداد ولی افزودن پلی پیرول به شدت مقاومت الکتریکی فیلم را کاهش داد و یا به عبارت دیگر هدایت الکتریکی را افزایش داد. فیلم گلوتن خالص خاصیت آنتی باکتریالی خاصی نسبت به هیچ کدام از باکتری ها (گرم مثبت و گرم منفی) ندارد و افزودن هر سه ماده اسانس، اکسید منیزیم و پلی پیرول باعث ایجاد خاصیت آنتی باکتریالی در فیلم گلوتن شده است. در مقابل هر دو نوع باکتری خاصیت آنتی باکتریالی پلی پیرول بیشتر از اسانس و آن هم بیشتر از اکسید منیزیم می باشد. بیشترین هاله عدم رشد باکتری (بیشترین خاصیت آنتی باکتریالی) در فیلم گلوتن حاوی هر سه ماده اسانس، اکسید منیزیم و پلی پیرول مشاهده می شود که نشان می دهد اثر آنتی باکتریالی این سه ماده اثر هم افزایش داشته و اثر همدیگر را تقویت می کند.

## ۵- منابع

- [1] Ray, S. S., & Bousmina, M. (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: in greening the 21st century materials world. *Progress in materials science*, 50(8), 962-1079.
- [2] Pirsa, S., Mohtarami, F., & Kalantari, S. (2020). Preparation of biodegradable composite starch/tragacanth gum/nanoclay film and study of its physicochemical and

- [22] Zhang, Y., Deng, L., Zhong, H., Pan, J., Li, Y., & Zhang, H. (2020). Superior water stability and antimicrobial activity of electrospun gluten nanofibrous films incorporated with glycerol monolaurate. *Food Hydrocolloids*, *109*, 106116.
- [23] Gutiérrez, T. J., Mendieta, J. R., & Ortega-Toro, R. (2021). In-depth study from gluten/PCL-based food packaging films obtained under reactive extrusion conditions using chrome octanoate as a potential food grade catalyst. *Food Hydrocolloids*, *111*, 106255.
- [24] Jabraili, A., Pirsas, S., Pirouzifard, M. K., & Amiri, S. (2021). Biodegradable nanocomposite film based on gluten/silica/calcium chloride: physicochemical properties and bioactive compounds extraction capacity. *Journal of Polymers and the Environment*, *29*(8), 2557-2571.
- [25] Swaroop, C., & Shukla, M. (2018). Nano-magnesium oxide reinforced polylactic acid biofilms for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *113*, 729-736.
- [26] Mirtalebi, S. S., Almasi, H., & Khaledabad, M. A. (2019). Physical, morphological, antimicrobial and release properties of novel MgO-bacterial cellulose nanohybrids prepared by in-situ and ex-situ methods. *International journal of biological macromolecules*, *128*, 848-857.
- [27] Hosseini, S. N., Pirsas, S., & Farzi, J. (2021). Biodegradable nano composite film based on modified starch-albumin/MgO; antibacterial, antioxidant and structural properties. *Polymer Testing*, *97*, 107182.
- [28] Sanuja, S., Agalya, A., & Umapathy, M. J. (2014). Studies on magnesium oxide reinforced chitosan bionanocomposite incorporated with clove oil for active food packaging application. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, *63*(14), 733-740.
- [29] Noori, A. J., & Kareem, F. A. (2019). The effect of magnesium oxide nanoparticles on the antibacterial and antibiofilm properties of glass-ionomer cement. *Heliyon*, *5*(10), e02568.
- [30] Gharachorloo, M., Honarvar, M., & Mardani, S. (2018). Chemical compositions and antioxidant activity of Heracleum persicum essential oil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *53*, polymers. *Journal of Chemistry Letters*, *1*(2), 47-58.
- [13] Mastromatteo, M., Barbuzzi, G., Conte, A., & Del Nobile, M. A. (2009). Controlled release of thymol from zein based film. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *10*(2), 222-227.
- [14] Ghasemi, S., Bari, M. R., Pirsas, S., & Amiri, S. (2020). Use of bacterial cellulose film modified by polypyrrole/TiO<sub>2</sub>-Ag nanocomposite for detecting and measuring the growth of pathogenic bacteria. *Carbohydrate polymers*, *232*, 115801.
- [15] El-Wakil, N. A., Hassan, E. A., Abou-Zeid, R. E., & Dufresne, A. (2015). Development of wheat gluten/nanocellulose/titanium dioxide nanocomposites for active food packaging. *Carbohydrate polymers*, *124*, 337-346.
- [16] Chavoshizadeh, S., Pirsas, S., & Mohtarami, F. (2020). Sesame oil oxidation control by active and smart packaging system using wheat gluten/chlorophyll film to increase shelf life and detecting expiration date. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *122*(3), 1900385.
- [17] Zubeldía, F., Ansorena, M. R., & Marcovich, N. E. (2015). Wheat gluten films obtained by compression molding. *Polymer Testing*, *43*, 68-77.
- [18] Fakhouri, F. M., Martelli, S. M., Caon, T., Velasco, J. I., Buontempo, R. C., Bilck, A. P., & Mei, L. H. I. (2018). The effect of fatty acids on the physicochemical properties of edible films composed of gelatin and gluten proteins. *LWT*, *87*, 293-300.
- [19] Rocca-Smith, J. R., Marcuzzo, E., Karbowski, T., Centa, J., Giacometti, M., Scapin, F., ... & Debeaufort, F. (2016). Effect of lipid incorporation on functional properties of wheat gluten based edible films. *Journal of Cereal Science*, *69*, 275-282.
- [20] Pirsas, S., Asadzadeh, F., & Karimi Sani, I. (2020). Synthesis of magnetic gluten/pectin/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nano-hydrogel and its use to reduce environmental pollutants from Lake Urmia sediments. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, *30*(8), 3188-3198.
- [21] Sartori, T., Feltre, G., do Amaral Sobral, P. J., da Cunha, R. L., & Menegalli, F. C. (2018). Properties of films produced from blends of pectin and gluten. *Food Packaging and Shelf Life*, *18*, 221-229.

- [39] Sani, I. K., Geshlaghi, S. P., Pirsas, S., & Asdagh, A. (2021). Composite film based on potato starch/apple peel pectin/ZrO<sub>2</sub> nanoparticles/microencapsulated *Zataria multiflora* essential oil; investigation of physicochemical properties and use in quail meat packaging. *Food Hydrocolloids*, 117, 106719.
- [40] Radjabian, T., Salimi, A., Rahmani, N., Shockravi, A., & Mozaffarian, V. (2013). Essential oil composition of some wild populations of *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer growing in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(6), 841-849.
- [41] Chavoshizadeh, S., Pirsas, S., & Mohtarami, F. (2020). Conducting/smart color film based on wheat gluten/chlorophyll/polypyrrole nanocomposite. *Food Packaging and Shelf Life*, 24, 100501.
- [42] Guo, X., Lu, Y., Cui, H., Jia, X., Bai, H., & Ma, Y. (2012). Factors affecting the physical properties of edible composite film prepared from zein and wheat gluten. *Molecules*, 17(4), 3794-3804.
- [43] Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S. M. R., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., & Hadian, M. (2012). Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT-Food Science and Technology*, 46(2), 477-484.
- [44] 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.
- [45] Grande-Tovar, C. D., Serio, A., Delgado-Ospina, J., Paparella, A., Rossi, C., & Chaves-López, C. (2018). Chitosan films incorporated with *Thymus capitatus* essential oil: Mechanical properties and antimicrobial activity against degradative bacterial species isolated from tuna (*Thunnus* sp.) and swordfish (*Xiphias gladius*). *Journal of food science and technology*, 55(10), 4256-4265.
- [46] Olabarrieta, I., Gällstedt, M., Ispizua, I., Sarasua, J. R., & Hedenqvist, M. S. (2006). Properties of aged montmorillonite-wheat gluten composite films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1283-1288.
- [47] Bideau, B., Bras, J., Adoui, N., Loranger,
- [31] Radjabian, T., Salimi, A., Rahmani, N., Shockravi, A., & Mozaffarian, V. (2013). Essential oil composition of some wild populations of *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer growing in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(6), 841-849.
- [32] Firuzi, O., Asadollahi, M., Gholami, M., & Javidnia, K. (2010). Composition and biological activities of essential oils from four *Heracleum* species. *Food Chemistry*, 122(1), 117-122.
- [33] Rezayan, A., & Ehsani, A. (2015). Evaluation of the chemical compounds and antibacterial properties of the aerial parts of persian *Heracleum persicum* essence. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 17(6), 26-32.
- [34] Alizadeh, N., Pirsas, S., Mani-Varnosfaderani, A., & Alizadeh, M. S. (2015). Design and fabrication of open-tubular array gas sensors based on conducting polypyrrole modified with crown ethers for simultaneous determination of alkylamines. *IEEE Sensors Journal*, 15(7), 4130-4136.
- [35] Alizadeh, M., Pirsas, S., & Faraji, N. (2017). Determination of lemon juice adulteration by analysis of gas chromatography profile of volatile organic compounds extracted with nano-sized polyester-polyaniline fiber. *Food analytical methods*, 10(6), 2092-2101.
- [36] Alizadeh, N., Ataei, A. A., & Pirsas, S. (2015). Nanostructured conducting polypyrrole film prepared by chemical vapor deposition on the interdigital electrodes at room temperature under atmospheric condition and its application as gas sensor. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 12(9), 1585-1594.
- [37] Ghasemi, F., Pirsas, S., Alizadeh, M., & Mohtarami, F. (2018). Extraction and determination of volatile organic acid concentration in pomegranate, sour cherry, and red grape juices by PPy-Ag nanocomposite fiber for authentication. *Separation Science and Technology*, 53(1), 117-125.
- [38] Pirsas, S., Alizadeh, M., & Ghahremannejad, N. (2016). Application of nano-sized poly N-phenyl pyrrole coated polyester fiber to headspace microextraction of some volatile organic compounds and analysis by gas chromatography. *Current Analytical Chemistry*, 12(5), 457-464.

- Gil, A. M. (2006). Polymer conformation structure of wheat proteins and gluten subfractions revealed by ATR-FTIR. *Cereal Chemistry*, 83(4), 407-410.
- [52] Yanping, G. Z. Z. (2006). Studying the secondary structure of modified gluten by FTIR. *J Chin Cereals Oils Assoc*, 3.
- [53] Abdolsattari, P., Rezazadeh-Bari, M., & Pirsā, S. (2022). Smart Film Based on Polylactic Acid, Modified with Polyaniline/ZnO/CuO: Investigation of Physicochemical Properties and its use of Intelligent Packaging of Orange Juice.
- [54] Nerkar, D., Rajwade, M., Jaware, S., & Jog, M. (2020). Synthesis and characterization of polyvinyl alcohol-polypyrrole-silver nanocomposite polymer films. *International Journal of Nano Dimension*, 11(3), 205-214.
- E., & Daneault, C. (2017). Polypyrrole/nanocellulose composite for food preservation: barrier and antioxidant characterization. *Food packaging and shelf life*, 12, 1-8.
- [48] Wu, X. H., Huang, Y. F., Gao, Q., Su, J. Q., Zhou, W., & Li, C. B. (2007). Study on the antioxidant activities of cinnamon essence oil. *Food Sci Technol*, 4, 85-88.
- [49] Ramirez, D. O. S., Varesano, A., Carletto, R. A., Vineis, C., Perelshtein, I., Natan, M., ... & Gedanken, A. (2019). Antibacterial properties of polypyrrole-treated fabrics by ultrasound deposition. *Materials Science and Engineering: C*, 102, 164-170.
- [50] Jin, T., & He, Y. (2011). Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(12), 6877-6885.
- [51] Li, W., Dobraszczyk, B. J., Dias, A., &



## Optimization of antimicrobial and antioxidant film of gluten containing *Heracleum persicum* essential oil, magnesium oxide nanoparticles and polypyrrole by Response Surface Methodology

Fazeli, M.<sup>1</sup>, Alizdeh, M.<sup>1\*</sup>, Pirsa, S.<sup>1</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, P.O. Box, 57561-51818, Urmia, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 02/ 16

Accepted 2022/ 04/ 24

#### Keywords:

Gluten,  
Magnesium oxide,  
*Heracleum persicum* essential oil,  
polypyrrole,  
Active film.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.121

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.22.3

\*Corresponding Author E-Mail:  
malizadeh@outlook.com

### ABSTRACT

The aim of this study was to prepare antimicrobial and antioxidant films based on wheat gluten and *Heracleum persicum* essential oil, magnesium oxide nanoparticles and polypyrrole were used to improve the structure of films. Response surface statistical design was used to investigate the effect of the essence, magnesium oxide nanoparticles and polypyrrole on the physicochemical properties of the films. According to the obtained results, moisture absorption, solubility and water vapor permeability of the films decreased with increasing the content of essential oil and pyrrole. Increasing the amount of essential oil and pyrrole in the film structure improved the mechanical properties of the films. Then, the optimal films (containing 12% essential oil, 0.904% magnesium oxide and 0.2 pyrrole) were studied to evaluate the structural and antimicrobial properties. The antibacterial, antioxidant and electrical conductivity of the film was greatly increased in the presence of all three additives of essence, magnesium oxide nanoparticles and polypyrrole. The gluten-essence-MgO-PPy (Glu-E-MgO-PPy) composite film had the highest antioxidant and antibacterial properties. The optimal film had higher antibacterial activity against *S. aureus* compared to *E. coli*. SEM images showed that the essence and polypyrrole strengthened the gluten film structure and made it more resistant to the passage of gases. FTIR spectra confirmed the electrostatic interactions between gluten and essence and polypyrrole. The results of thermal analysis showed that polypyrrole greatly increased the thermal resistance of the film and the nanoparticles had little effect on the thermal resistance. The results of this study showed that composite and bioactive Gluten-essence-MgO-PPy film with three important properties of electrical conductivity, antibacterial and antioxidant has the potential to be used as an active and intelligent film in the packaging of perishable food products.