



تولید فیلم موسیلاژ بذر یونجه با نانو ذرات گیاه آوندول (*Smyrniun cordifolium* Boiss) و روغن بذر

گیاه خار مریم و بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

فاطمه خاکپور^{۱*}، ژیار حیدری^۲، سجاد پیرسا^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	هدف از این پژوهش تولید فیلم بر پایه موسیلاژ بذر یونجه با نانوذرات آوندول و روغن خار
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۱۲	مریم بود فیلم مرکب موسیلاژ بذر یونجه با نانوذرات آوندول (۰، ۲، ۴٪) و روغن بذر خار
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴	مریم (۰، ۱، ۲٪) تهیه شد. خواص فیزیکوشیمیایی فیلم‌ها تهیه شده بررسی شد. مطابق نتایج
کلمات کلیدی:	به دست آمده با افزودن نانوذرات آوندول و روغن بذر خار مریم باعث افزایش ضخامت و
فیلم خوراکی، موسیلاژ، نانوذرات آوندول، روغن خار مریم.	آنتی‌اکسیدانی می‌شود. ولی افزایش مقدار نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم در فیلم
DOI: 10.22034/FSCT.21.147.100.	باعث کاهش رطوبت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها شد. تجزیه و تحلیل پراش
مسئول مکاتبات: * sevdakhakpour1@gmail.com	اشعه ایکس نشان داد که نانوذرات آوندول به طور فیزیکی با پلیمر موسیلاژ بذر یونجه
	ترکیب شده‌اند. نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که مورفولوژی سطح
	نانوکامپوزیت فیلم نسبت به موسیلاژ بذر یونجه ناهمگن است. در نهایت براساس نتایج
	حاصله، افزودن نانوذرات آوندول و روغن خار مریم به فیلم‌های خوراکی بر پایه موسیلاژ
	بذر یونجه سبب بهبود ضخامت، آنتی‌اکسیدانی و SEM ولی باعث تضعیف رطوبت، حلالیت
	و نفوذپذیری به بخار آب گردید.

۱- مقدمه

خواص ظاهری فیلم از دیگر مزایای نانوکامپوزیت‌های زیست پلیمری است [۷-۸]. یکی از این موسیلاژها که برای تهیه فیلم خوراکی استفاده شده است، موسیلاژ دانه یونجه می‌باشد که در مطالعه حاضر از آن استفاده می‌گردد. موسیلاژ می‌تواند مستقیماً به عنوان یک ساختار ژله مانند در قسمت‌های رویشی گیاهان (میوه، برگ، گل، ریشه یا ساقه) همچنین در دانه‌ها پس از درمان با آب رخ دهد. از دیدگاه شیمیایی، موسیلاژها مولکول‌های بزرگی هستند که عمدتاً حاوی کربوهیدرات‌ها و اسیدهای اورونیک و همچنین گلیکوپروتئین‌ها و سایر ترکیبات زیست فعال هستند [۹-۱۰]. موسیلاژها طیف وسیعی از کاربردها را دارند: در مواد غذایی و داروسازی به عنوان ساختار، ژل، بافت، و تشکیل فیلم، در داروسازی به عنوان چسباننده و تجزیه کننده برای سیستم‌های دارورسانی، و در لوازم آرایشی به عنوان تثبیت کننده. آن‌ها همچنین در صنایع نساجی و کاغذ علاقه زیادی به خود جلب کرده‌اند و می‌توان از آن‌ها در تولید رنگ استفاده کرد [۱۱-۱۲]. یونجه (*Medicago sativa L.*) یک حبوبات علوفه‌ای علفی و چند ساله است. در سراسر جهان به دلیل ارزش غذایی بالا به عنوان علوفه و خوراک دام یونجه همچنین به دلیل ویژگی پایدار آن شناخته شده است، سازگاری عالی با شرایط آب و هوایی شدید و زیست محیطی انعطاف‌پذیری به عنوان مثال، یونجه به حفاظت از خاک، تثبیت نیتروژن، کاهش آلاینده‌های خاک، کاهش آلاینده‌های هوا، ترسیب دی اکسید کربن و غیره کمک می‌کند [۱۳]. ماده پروتئینی با ترکیب اسید آمینه ضروری مشابه آن کنسانتره پروتئین سویا و ۱۷-۲۷ درصد محلول و نامحلول فیبرهای غذایی [۹] علاوه بر این، مجموعه‌ای از ریز مغذی‌ها از جمله کاروتنوئیدها، توکوفرول، پلی فنول‌ها، ساپونین‌ها و ویتامین‌ها از B-complex شناسایی شده‌اند [۱۴]. اثرات درمانی خار مریم ارتباط نزدیکی با وجود فلاونوئید دارد مجموعه‌ای به نام سیلیمارین، متشکل از مخلوطی از سیلیبین A و B، ایزوسیلیبین A و B، سیلی-

درسال‌های اخیر، پژوهش‌های مرتبط با بسته‌بندی توجه بسیاری را به سمت فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر تولید شده از بیوپلیمرهای طبیعی مبدول داشته‌اند. استفاده از این فیلم‌های خوراکی تاثیر محسوسی بر محیط زیست دارد. زیرا بیوپلیمرهای طبیعی کاملاً با محیط زیست سازگار هستند، از منابع تجدیدپذیر تامین می‌شوند، قابلیت بازیافت بالایی دارند، قابلیت امتزاج‌پذیری دارند و زیست تخریب‌پذیر هستند [۱-۲]. از سوی دیگر به علت نگرانی‌های دائمی در زمینه پیشگیری از فساد شیمیایی و به ویژه فساد میکروبی در مواد غذایی، تمایل به استفاده از بسته‌بندی‌های فعال افزایش یافته است. استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی حاوی مواد ضد میکروبی نشان داده است که این پوشش‌ها می‌توانند روشی موثر برای حفاظت از مواد غذایی در برابر عوامل میکروبی فسادزا باشند و ریسک رشد عوامل بیماری‌زا را کاهش دهند [۳-۴]. نانوتکنولوژی یکی از مهم‌ترین و سریع‌ترین بخش‌های فناوری پیشرفته است. محصولات حاوی نانوذرات می‌توانند در کاربردهای مختلف صنعتی، پزشکی، شخصی و نظامی استفاده شوند. نانوکامپوزیت ماده-ای ترکیبی است که حداقل یکی از فازهای آن دارای ابعاد نانو (بین ۱ نانومتر تا ۱۰۰ نانومتر) است. نانوکامپوزیت‌ها در حال حاضر به دلیل خواص حرارتی، مقاومت بهبود یافته و رسانایی، برای بسته‌بندی نوشیدنی‌ها و مواد غذایی غیر الکلی استفاده می‌شوند [۵-۶]. نانوکامپوزیت‌ها پلیمرهایی هستند که در آن‌ها از ترکیبات آلی یا غیرآلی مختلفی با اشکال مختلف صفحه‌ای و کروی، در ابعاد نانو به عنوان پرکننده استفاده می‌شود. فیلم‌های حاصل از ترکیب نانومواد و زیست پلیمری و یا به اصطلاح نانوکامپوزیت‌های زیست پلیمر، خواص کاربردی مطلوب‌تری از خود نشان می‌دهند که مهم‌ترین آن‌ها افزایش مقاومت مکانیکی و کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب است. افزایش بازدارندگی در برابر نفوذ گازها، افزایش کارایی فیلم به عنوان بسته‌بندی فعال، افزایش مقاومت حرارت ماده بسته‌بندی، ایجاد شفافیت و بهبود

محیط کشت مولر هیلتون از شرکت مرک (آلمان) خریداری گردید.

۲-۲- استخراج نانوذره از گیاه آوندول

ابتداء ساقه و برگ‌های گیاه آوندول را از ارتفاعات کوه‌ها جمع‌آوری شد و سپس به مدت چهار روز در سایه خشک و سپس با استفاده از آسیاب خرد گردید و بعد با استفاده از الک میکرومتر الک شد و سپس به مدت شش ساعت داخل آسیاب سیاره‌ای با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پس از هر ساعت ده دقیقه چرخش آسیاب سیاره‌ای متوقف گردید. و در آخر نانوذراتی که به شکل پودر شده را درون یک ظرف مشکی نگهداری می‌شود.

۲-۳- تهیه فیلم‌ها

ابتدا موسیلاژ بذر یونجه را درون ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و با استفاده از همزن مغناطیسی با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و سرعت ۵۰۰ rpm همزده شد درصدهای مختلفی از نانوذرات آوندول (۰، ۲، ۴٪) و اسانس خار مریم (۰، ۱، ۲٪) در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و به محلول موسیلاژ بذر یونجه اضافه شد. پس از افزودن گلیسرول به محلول، با استفاده از محلول NaOH، pH تنظیم شد. محلول داخل فالكون ریخته و سانتیفریوژ شد. محلول رویی حاصله را داخل پلیت ریخته و پس از گذشت ۴۸ ساعت در دمای اتاق فیلم‌ها خشک گردید، سپس فیلم‌های خشک شده را در کیسه‌های زیپ‌دار نگهداری شدند [۲۰].

کریستین و سیلیدیانین تشکیل شده است [۱۵] از کل گیاه نیز برای اهداف دارویی برای درمان کلیه، طحال، کبد و بیماری‌های کیسه صفرا استفاده می‌شود [۱۶] سیلیمارین همچنین پیوندهای مناسب آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدفیبروتیک را نشان داد. مشخص شد که بیوسنتز پروتئین را تحریک می‌کند، شیردهی را افزایش می‌دهد فعالیت تعدیل کننده ایمنی علاوه بر این، سیلیمارین رشد سلولی، سنتز DNA و سایر سیگنال‌های میتوژنیک را در سرطان پروستات، پستان و دهانه رحم انسان مهار می‌کند [۱۷]. *Smyrniun cordifolium Boiss* یک گیاه دارویی متعلق به خانواده *Apiaceae* و از جمله گیاهان بومی ایران می‌باشد که به خوبی در ارتفاعات و دامنه‌های رشته کوه زاگرس در مناطق غربی ایران رشد می‌کند [۱۸]. سسکوئی‌ترین‌ها، مونوترپن‌ها و فلاونوئیدها از جمله ترکیبات اصلی موجود در اسانس این گونه گیاهی می‌باشد [۱۹]. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر نانوذرات آوندول و روغن خار مریم در غلظت‌های مختلف بر روی خواص فیزیکی و شیمیایی فیلم‌های خوراکی تهیه شده بر پایه موسیلاژ بذر یونجه می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

ساقه و برگ گیاه آوندول و بذر گیاه خارمریم از کوه‌ها جمع‌آوری گردید. بذر یونجه خوراکی در بازار ارومیه خریداری شد. گلیسرول با درصد خلوص ۹۹.۵ درصد از شرکت مرک خریداری گردید. سولفات کلسیم، سولفات پتاسیم، متانول،

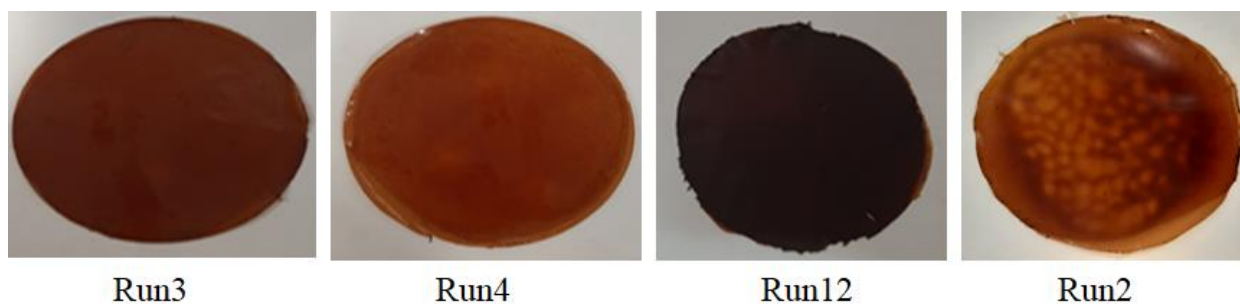


Fig 1: An image of the produced films

۲-۴-۱- خصوصیات فیلم‌ها

۲-۴-۱- ضخامت فیلم

ضخامت فیلم‌های تهیه شده با استفاده از میکرومتر دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. حداقل ۵ نقطه متفاوت در هر فیلم مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و میانگین اعداد به دست آمده گزارش و در آزمایشات مختلف مورد استفاده قرار گرفت [۲۰].

۲-۴-۲- اندازه‌گیری رطوبت

برای بررسی میزان رطوبت ابتدا فیلم‌ها در اندازه $3 \times 3 \text{ cm}^2$ بریده شدند و با ترازو وزن کرده (وزن اولیه) و در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس فیلم‌ها مجدداً توزین گردید (وزن نهایی). سپس با استفاده از فرمول زیر میزان رطوبت به دست آمد [۲۱].

$$\text{Moisture}(\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100$$

که در این رابطه W_i وزن اولیه و W_f وزن نهایی می‌باشد.

۲-۴-۳- اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی

۲۵ میلی‌گرم از هر فیلم در ۴ میلی‌لیتر آب به مدت ۲ دقیقه حل شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول عصاره فیلم با ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول‌های متانولی DPPH^۱ ۱ میلی‌مولار مخلوط شد. مخلوط به خوبی در ورتکس ۳۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه حل گردید. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در مکان تاریک، کاهش جذب در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر با فرمول زیر محاسبه شد [۲۲].

$$A(\%) = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100$$

Ab: میزان جذب نمونه شاهد

As: میزان جذب نمونه

۲-۴-۴- میزان حلالیت در آب

برای اندازه‌گیری میزان حلالیت در آب، نخست هر نمونه فیلم ($3 \times 3 \text{ cm}^2$) توزین گردید و درون دسیکاتور قرار داده شد و سپس به دقت توسط ترازوی دیجیتال توزین شد. سپس فیلم‌ها را به مدت ۶ ساعت درون بشری که ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه در آن ریخته شده بود و هر ۲۰ دقیقه یکبار به آرامی هم زده شد و سپس محلول توسط صافی صاف گردید. در مرحله بعد کاغذ صافی همراه با فیلم، به مدت ۲۴ ساعت درون آن ۴۰ درجه‌ی سانتیگراد نگهداری گردید و مجدداً توزین شد [۲۰].

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

M_1 وزن اولیه نمونه و M_2 وزن نمونه پس از خشک شدن می‌باشد.

۲-۴-۵- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم

نفوذپذیری به عنوان عبور مولکول‌ها آب از فیلم تعریف شده و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و گرادیان رطوبت نسبی ۵۰ درصد درصد مطابق با روش ASTM E96-05 اندازه‌گیری شد. فیلم‌ها با ضخامت خاص قبل از انجام آزمایش در رطوبت نسبی ۵۰ درصد و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. یک ویال به قطر ۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر که آن دارای منفذی با قطر ۸ میلی‌متر بود، برای اندازه‌گیری نفوذپذیری به بخار آب استفاده شد. به همین منظور ۳ گرم کلسیم سولفات برای خارج کردن رطوبت در ظرف‌ها توزین شد و سپس تکه‌ای از فیلم داخل درپوش قرار داده و روی ویال بسته شد. در ادامه ظرف‌ها توزین و درون دسیکاتور حاوی ۱ لیتر آب مقطر در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس به مدت یک هفته هر ۲۴ ساعت یکبار ظرف‌ها توزین شد. نفوذپذیری به بخار آب مطابق معادله زیر محاسبه شد [۲۰].

$$WVP = \frac{WVTR \times T}{P(R_1 - R_2)}$$

Table 1: Produced films

F1	2	1
F2	4	2
F3	0	0
F4	0	2
F5	2	1
F6	4	1
F7	2	0
F8	2	1
F9	2	1
F10	0	1
F11	2	1
F12	4	0
F13	2	2

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ضخامت فیلم

ضخامت از فاکتورهای مهم فیلم‌های خوراکی است به طور مستقیم روی ویژگی‌های بیولوژیکی و ماندگاری محصول بسته‌بندی تاثیر می‌گذارد ضخامت فیلم‌های خوراکی بر خواص مکانیکی و نفوذپذیری در برابر گازهای مختلف تأثیر می‌گذارد، از این رو اهمیت بالایی دارد. اندازه‌گیری ضخامت نیز برای سنجش یکنواخت بودن فیلم‌ها مهم می‌باشد. تغییرات ضخامت باعث ایجاد مشکلاتی در عملکرد مکانیکی فیلم‌ها و تغییر در خصوصیات نفوذپذیری می‌شود. همانطور که در شکل ۳-۱- مشخص است نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم باعث افزایش ضخامت فیلم شده است. وجود این دو ماده نسبت به نمونه فیلم موسیلاژ بذر یونجه خالص باعث افزایش معنی‌داری در ضخامت فیلم‌ها شده است ($p < 0.05$) که با نتایج داوچی و همکاران مطابقت دارد [۲۳]. علت افزایش ضخامت فیلم‌ها با افزودن نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم، افزایش ماده خشک فیلم‌ها و همچنین جذب آب در ناحیه تک لایه توسط این ترکیب هیدروکلوئیدی می‌باشد، به طوریکه هنگام خشک کردن رطوبت کمتری از فیلم‌ها

که WVTR سرعت انتقال بخار آب ثابت T ، $(g/m^2.h)$ ضخامت فیلم P ، (mm) فشار بخار جزئی آب در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد $(2/642 kPa)$ ، R_1 رطوبت نسبی در دیسیکاتور (100%) و R_2 رطوبت نسبی در ظرف (0%) می‌باشد.

۲-۶-۲- میکروسکوپ الکترونی روبشی $(SEM)^2$

مورفولوژی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی Leo 1430VP ساخت (آلمان) مورد بررسی قرار گرفت. فیلم به کمک چسب نقره بر روی پایه آلومینیومی نگهدارنده چسبانده شد. برای رسانایی بهتر طی عکس‌برداری نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه با لایه نازکی از طلا (ضخامت حدود ۵ تا ۶ نانومتر) پوشش داده شد. تصویربرداری از نمونه‌ها با ولتاژ شتاب‌دهنده ۳۰ کیلوولت و بزرگنمایی ۱۰۰۰۰ برابر انجام شد. سپس میانگین قطر با نرم‌افزار محاسبه گردید [۲۰].

۲-۷-۲- پراش اشعه ایکس (XRD)

پراش اشعه ایکس (XRD) (X'Pert Pro Panalytical (XRD) Netherlands) برای بررسی وضعیت فیزیکی نانوذرات داخل فیلم کامپوزیت انجام شد. الگوهای پراش XRD از طریق پراش سنج با استفاده از تابش $Cu\ Ka\ (1.54\ \text{Å})$ در محدوده $2\theta = 4-40^\circ$ و زمان گام اسکن 5° ثانیه به دست آمد [۲۰].

۲-۵- تجزیه تحلیل آماری

در این مطالعه از روش آماری سطح پاسخ و طرح آماری مرکب مرکزی برای بررسی تاثیر دو فاکتور متغیر درصد‌های نانوذره آوندول و اسانس خار مریم بر روی خواص فیزیکوشیمیایی فیلم‌های تهیه شده استفاده گردید. آنالیز آماری داده‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت-۱۰ انجام پذیرفت.

$$\text{Thickness (mm)} = 0.410 + 0.096 * A + 0.087 * B + 0.075 * A * B + 0.027 * A^2 + 0.025 * B^2$$

$$(R^2 = 0.973 ; \text{Adj}R^2 = 0.954)$$

خارج می‌گردد و مجموع این تغییرات سبب افزایش ضخامت فیلم‌های تولیدی می‌گردد [۲۴].

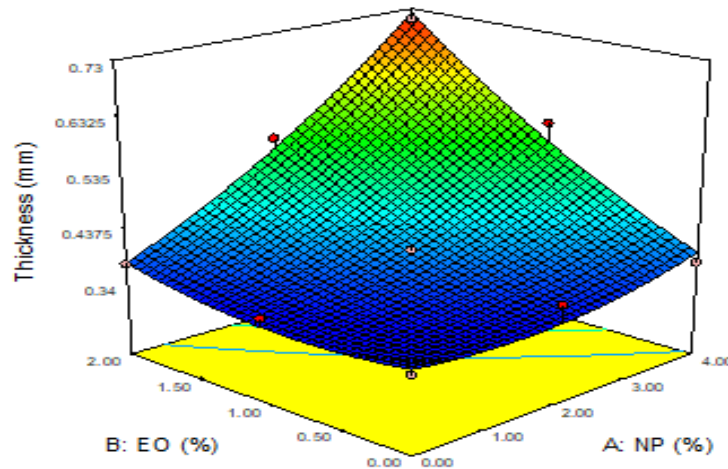


Figure 3-1: The three-dimensional figure of the film thickness of alfalfa seed mucilage with Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil.

گروه‌های H^+ و OH^- زنجیره موسیلاژ بذر یونجه را درگیر کرده و راه ورود مولکول‌های H_2O به ساختار پلیمر را می‌بندد و باعث کاهش محتوای رطوبت می‌شود. و همچنین نانوذرات آوندول با قرارگیری در فضاهای خالی فیلم باعث می‌شود فضاهای لازم برای قرارگیری مولکول‌های آب را کاهش دهد. پلیمر مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی باید تا حد ممکن نسبت به رطوبت مقاوم باشد تا از بروز خواص نامطلوب ناشی از نفوذ رطوبت به ماده غذایی جلوگیری کند. با توجه به شکل ۳-۲ افزایش نانو ذرات آوندول و اسانس خار مریم رطوبت به طور معنی‌دار ($p < 0.05$) کاهش یافت که با نتایج پیروزی فرد و همکاران شکل مطابقت دارد [۲۵]. نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم با اشغال فضای بین پلیمرها در آب موسیلاژ بذر یونجه اجازه نمی‌دهد مولکول‌های آب به دام بیفتند و شاید به همین دلیل است که درصد رطوبت فیلم را کاهش داده است.

$$\text{Moisture (\%)} = 19.787 - 1.625 * A - 3.547 * B$$

$$(R^2 = 0.916 ; \text{Adj}R^2 = 0.899)$$

۳-۲- رطوبت

تاثیر درصد نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم بر روی رطوبت در شکل ۳-۲- نمایش داده شده است. معادله ریاضی ارتباط بین متغیرهای مستقل و رطوبت و ضرایب رگرسیون را نشان می‌دهد. میزان جذب رطوبت بستگی به میزان فضاهای خالی موجود برای نفوذ مولکول‌های آب و درجه آبدوستی پلیمر دارد. موسیلاژها ذاتاً ماهیت آبدوست دارند و باعث افزایش میزان جذب رطوبت در فیلم می‌شوند. آن‌ها در ساختار خود دارای گروه‌های هیدروکسیل می‌باشند و بنابراین ماده‌ای آبدوست تلقی می‌شوند. جذب رطوبت یک فیلم، در درجه اول به ویژگی آبدوستی آن پلیمر یا بیوپلیمر و سپس به وجود حفرات و فضاهای خالی در بین زنجیرها بستگی دارد. با توجه به شکل سه‌بعدی مقدار رطوبت فیلم، موسیلاژ بذر یونجه محتوای رطوبت فیلم را افزایش می‌دهد ولی نانوذرات آوندول محتوای رطوبت فیلم را کاهش می‌دهد. نانوذرات آوندول با ایجاد نیروی‌های الکترواستاتیک از طریق اتم‌های اکسیژن باعث می‌شود که

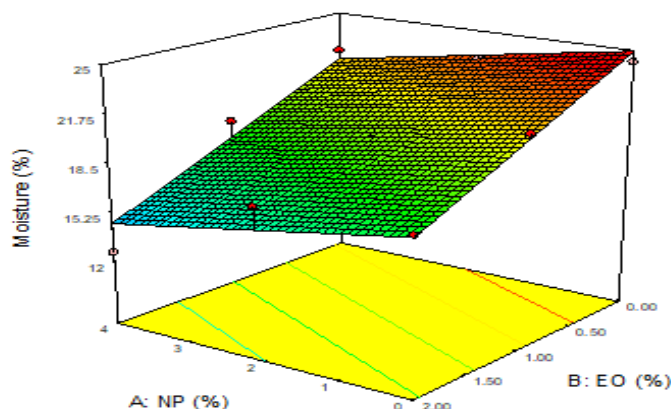


Figure 3-2: The three-dimensional figure of the moisture content of alfalfa seed mucilage film with Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil.

بیشتر باشد، مطلوبیت آن بیشتر است خاصیت آنتی‌اکسیدانی خار مریم در تحقیقات مختلفی تایید شده است [۲۶]، برخی از ترکیبات این گیاه اثرات ضدسرطانی و برخی اثرات مهار آنزیم‌ها را بر عهده دارند وجود ترکیبات کاهش-دهنده چربی و فلاونوئیدها با فعالیت آنتی‌اکسیدان قوی در این گیاه گزارش شده است بنابراین با توجه به ساختار آنتی‌اکسیدانی خار مریم، افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم با افزایش خار مریم قابل انتظار بود [۲۷]. نانوذره آوندول نیز با توجه به نسبت بالای سطح به حجم آن، توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد و جذب فیزیکی آن‌ها را دارند و به راحتی می‌توانند رادیکال‌های آزاد را غیرفعال سازند که با نتایج پیروزی فرد و همکاران مطابقت دارد.

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = 38.878 + 5.408 * A + 17.849 * B - 3.099 * A * B + 1,627 * A^2 - 7.537 * B^2$$

$$(R^2 = 0.994; \text{Adj}R^2 = 0.990)$$

۳-۳- آنتی‌اکسیدانی

تاثیر درصد نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی در شکل ۳-۳- نمایش داده شده است. معادله ریاضی ارتباط بین متغیرهای مستقل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضرایب رگرسیون را نشان می‌دهد. با توجه به شکل زیر با افزایش نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم خاصیت آنتی‌اکسیدانی بطور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت. اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال DPPH یکی از روش‌های معتبر، دقیق و آسان است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی را ارزیابی می‌کند، رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم نیتروژن مرکزی است که با کاهش و تولید مولکول پایدار DPPH در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها از بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. شدت این واکنش به توانایی آنتی‌اکسیدان در اهدای هیدروژن بستگی دارد. در نهایت کاهش رنگ باعث کاهش جذب اسپکتروفتومتری می‌شود. هر چه مقدار این متغیر در فیلم

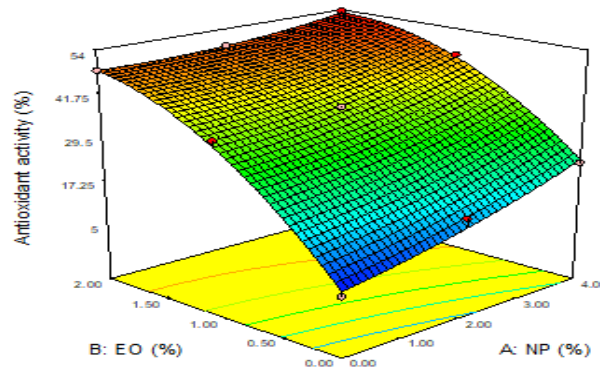


Figure 3-3: The three-dimensional figure of antioxidant property of alfalfa seed mucilage film with Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil.

۳-۴- حلالیت

حلالیت فیلم و ترکیبات آب‌گریز سبب کاهش آن شوند [۲۸]. با توجه به شکل ۳-۴ با افزایش نانوذرات آوندول اسانس خار مریم حلالیت فیلم به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. همان‌گونه که از نتایج پیداست انحلال‌پذیری فیلم‌های نانوکامپوزیتی با افزایش نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم کاهش می‌یابد اسانس خار مریم با اشغال فضای بین پلیمرها در موسیلاژ بذر یونجه اجازه نمی‌دهد مولکول‌های آب به دام بیفتند و شاید به همین دلیل است که اسانس درصد حلالیت فیلم را کاهش داده است.

$$\text{Solubility (\%)} = 32.406 - 2.076 * A - 5.029 * B$$

$$(R^2 = 0.926; \text{Adj}R^2 = 0.912)$$

تاثیر درصد نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم بر روی حلالیت در شکل ۳-۴ نمایش داده شده است. معادله ریاضی ارتباط بین متغیرهای مستقل و حلالیت و ضرایب رگرسیون را نشان می‌دهد. حلالیت نشان‌دهنده مقاومت فیلم‌ها در برابر آب بوده و برای پلیمرهای مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی با فعالیت آبی بالا و یا زمانی که فیلم‌ها در تماس مستقیم با آب قرار می‌گیرند و نیز در فیلم‌هایی که به عنوان نگهدارنده غذایی عمل می‌کنند، فاکتوری مهم محسوب می‌شود. عموماً اثرات افزودنی‌ها روی حلالیت فیلم‌ها به نوع، غلظت و شاخص‌های آب‌گریزی و آب‌دوستی آن‌ها وابسته است و انتظار می‌رود که ترکیبات آب‌دوست سبب افزایش

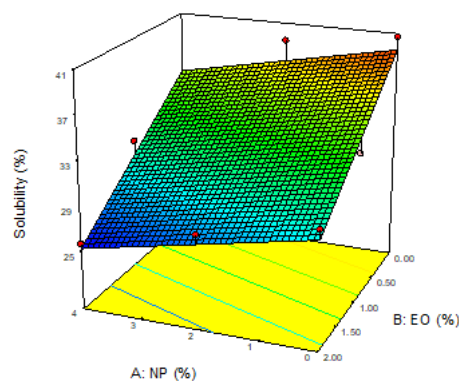


Figure 3-4: The three-dimensional figure of the solubility of alfalfa seed mucilage film with Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil.

تاثیر درصد نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم بر روی نفوذپذیری به بخار آب در شکل ۳-۵- نمایش داده شده

۳-۵- نفوذپذیری به بخار آب

بازدارندگی ضعیف نسبت به بخار آب از عیب‌های اساسی فیلم‌های پلی‌ساکاریدی به حساب می‌آید و به علت ماهیت آبدوست پلی‌ساکاریدها، فیلم‌های آن‌ها نفوذپذیری بالایی نسبت به بخار آب دارند و این حساسیت نسبت به رطوبت باعث ایجاد تغییر در خواص کاربردی فیلم‌های پلی-ساکاریدی در شرایط محیطی مختلف شده و در نتیجه کاربرد این فیلم‌ها در شرایط مختلف به ویژه در رطوبت‌های نسبی بالا را محدود می‌سازد. هنگامی که نانوذره در ماتریکس پلیمری وجود دارد، یک ملکول آب باید مسیر پیچیده‌تری را نسبت به ترکیب خالص پلیمر طی کند، بنابراین WVP را کاهش می‌دهد [۳۰]. همچنین نانوذرات، فضاهای خالی فیلم پلیمری را پر کرده و اجازه عبور به مولکول‌های آب را نمی‌دهد. نانوذرات آوندول نیز احتمالاً با پر کردن فضاهای پلیمری مانع از عبور مولکول‌های آب می‌شود و WVP را کاهش می‌دهد.

$$\text{WVP (g/Pa.m.s)} = 0.003 - 0.001 * B$$

$$(R^2 = 0.911 ; \text{Adj}R^2 = 0.848)$$

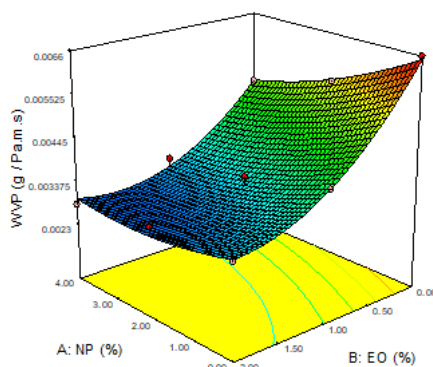


Figure 3-5: The three-dimensional figure of water vapor permeability of alfalfa seed mucilage film with Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil.

یونجه با نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم را نشان می‌دهد. تصویر میکروسکوپی نشان داده شده از سطح فیلم‌های تولیدی در شکل موسیلاژ بذر یونجه دارای اشکال حباب مانند، شکاف و ترک بیشتری نسبت به فیلم‌های دیگر است. ناهمواری جزئی در سطح فیلم و برجستگی‌های موجود در برخی از قسمت‌های فیلم به احتمال زیاد به دلیل وجود ناخالصی‌های موسیلاژ است همچنین برخی ترک‌ها احتمالاً ناشی از حباب‌های هوا است که در طول تشکیل فیلم‌ها ایجاد

است. معادله ریاضی ارتباط بین متغیرهای مستقل و نفوذپذیری به بخار آب و ضرایب رگرسیون را نشان می‌دهد. همانطور که مشخص است مواد مورد استفاده در بسته بندی باید حداقل نفوذپذیری را نسبت به بخار آب (WVP) داشته باشند تا از تبادل رطوبت بین محیط و ماده غذایی جلوگیری شود قابلیت بازدارندگی فیلم در برابر بخار آب عبارتست از توانایی فیلم در کاهش تبادل رطوبت محصول بسته‌بندی شده یا پوشش داده شده با اتمسفر خارجی. بیشتر فیلم‌های بیوپلیمری به علت ماهیت قطبی اکثر واحدهای تشکیل دهنده آن‌ها، ماهیت آبدوستی داشته و نفوذپذیری بالایی نسبت به بخار آب دارند و همین امر کاربرد آن‌ها را بعنوان ماده بسته‌بندی محدود می‌سازد با توجه به شکل ۳-۵ با افزایش نانوذره آوندول و اسانس خار مریم نفوذپذیری فیلم به بخار آب بطور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت که با نتایج قاسملو و همکاران مطابقت دارد [۲۹].

۳-۶- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

با استفاده از تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی (SEM) می‌توان اطلاعات مفیدی در مورد یکنواختی فیلم کامپوزیت، وجود حفره‌ها، سطح پراکندگی مواد در ماتریس، وجود توده‌ها یا جهت‌گیری مواد در بستر فیلم، کسب کرد. در شکل زیر میکروگراف‌های SEM فیلم‌های موسیلاژ بذر

شدن، تجمع و توزیع غیریکنواخت نانوذرات آوندول بکار برده شده در تهیه فیلم‌های نانوکامپوزیتی نسبت داده شود. آن‌ها خاصیت پخش شوندگی مناسبی در داخل محیط‌های آبی ندارند و در برخی قسمت‌ها، هم‌انباشتگی اتفاق افتاده است. نانوذرات آوندول بصورت کروی در داخل فیلم پراکنده شدند. فیلم‌های نانوکامپوزیتی با نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم باعث کاهش توده روی سطح پلیمر شدند این نتایج با نتایج جیگن و همکاران مطابقت دارند [۳۲].

شده است [۳۱]. با افزودن اسانس خار مریم به ترکیب فیلم، سطح فیلم حاصل صاف‌تر شده و از میزان شکاف‌های سطح فیلم به طور قابل توجهی کاسته شده است که نشان‌دهنده ترکیب شدن مناسب دو پلیمر و ایجاد پیوندهای مناسب با یکدیگر می‌باشد. به طوری که کمترین ناهمواری یا زبری در فیلم مشاهده می‌گردد که می‌تواند نشان‌دهنده توانایی ترکیب مناسب و سازگاری نسبی دو پلیمر موسیلاژ بذر یونجه و اسانس خار مریم باشد. و سطح مورفولوژی فیلم‌های موسیلاژ بذر یونجه و نانوذرات آوندول نسبت به موسیلاژ بذر یونجه حالت توده زیادی دیده می‌شود این اثر توده‌ای

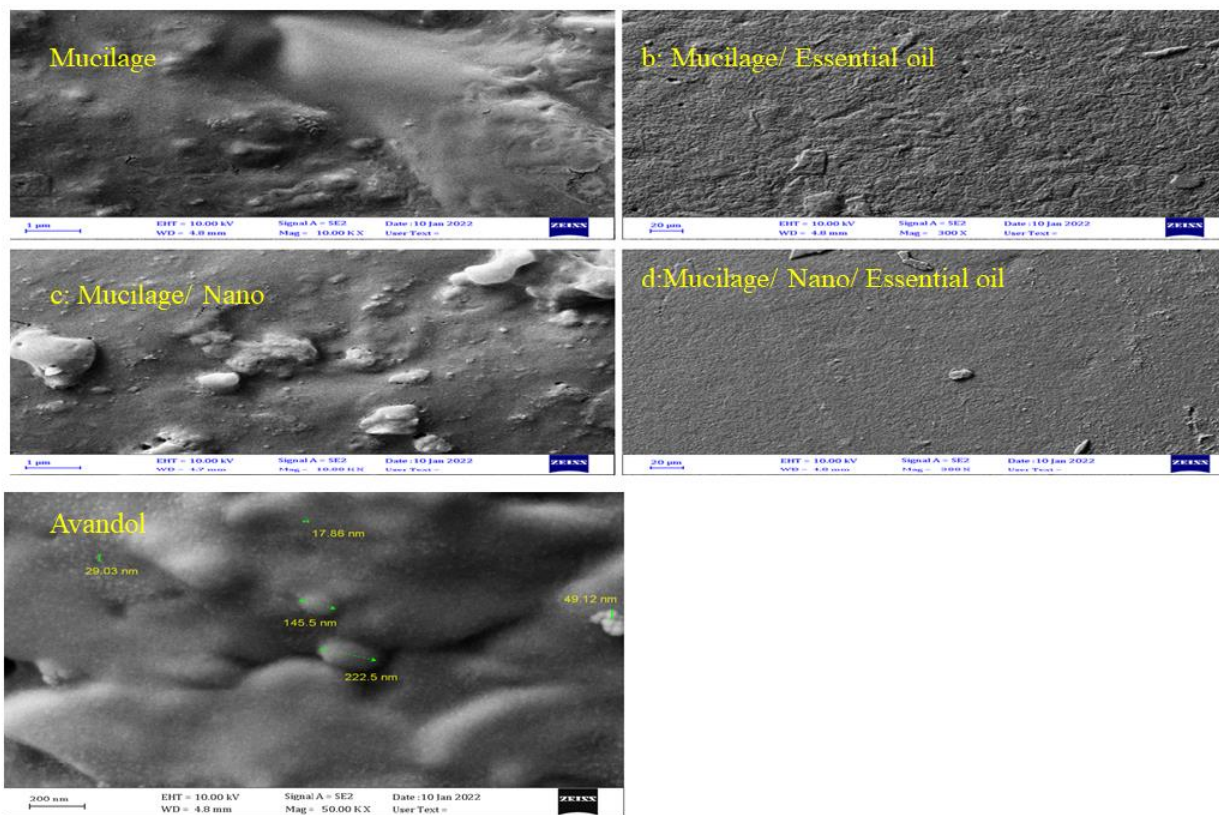


Figure 3-6: Scanning electron microscope images of alfalfa seed mucilage films with Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil.

در محدوده $\theta 2$ بین ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۴ و ۲۶ درجه را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده ماهیت آمورف این ترکیب است. موسیلاژ بذر یونجه و اسانس خار مریم دارای پیک‌هایی در $\theta 2$ برابر ۱۸، ۲۰ و ۲۲ درجه است این الگو نشان‌دهنده ساختار نیمه بلوری اسانس خار مریم است. موسیلاژ بذر یونجه و نانوذرات آوندول دارای پیک‌هایی در محدوده $\theta 2$ برابر ۲۰ و ۲۱ درجه است. موسیلاژ بذر یونجه

XRD -۷-۳

شکل ۳-۱۲ الگوی پراش اشعه ایکس موسیلاژ بذر یونجه با نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم را نشان می‌دهد. هر سه ماده دارای درجه بلوری متفاوتی هستند. موسیلاژ بذر یونجه یک پلیمر آمورف است و پنج پیک پراش

در محدوده 2θ بین $19-20$ درجه قابل مشاهده است که حضور موسیلاژ بذر یونجه را تایید می کند.

با نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم دارای پیک‌هایی در 2θ برابر 19 ، 20 و 21 درجه است این الگو نشان دهنده کریستالی فیلم نانوکامپوزیتی است. همچنین یک پیک پهن

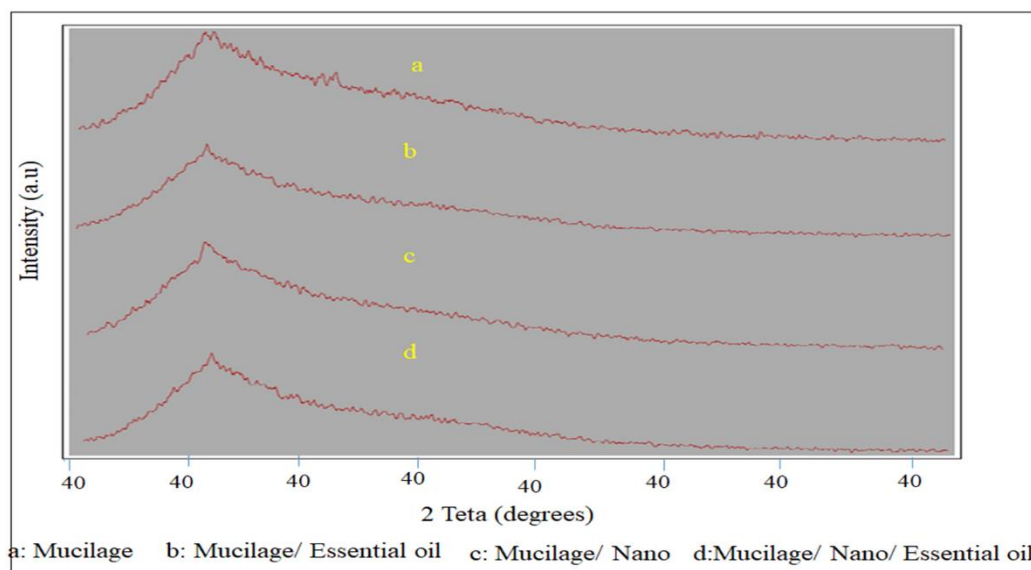


Figure 3-7: X-ray diffraction spectrum (XRD) of alfalfa seed mucilage films with Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil.

بذر خار مریم مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش نانوذرات آوندول و روغن بذر خار مریم ضخامت و آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. همچنین با افزایش نانوذرات آوندول و اسانس خار مریم رطوبت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب کاهش یافت. نانوذرات آوندول خواص فیزیکی موسیلاژ بذر یونجه را تغییر نداد و حضور فیزیکی نانوذرات آوندول در ماتریس پلیمری تایید شد. مورفولوژی سطح فیلم‌های نانوکامپوزیت ناهمگن تر از موسیلاژ بذر یونجه بود.

۵- منابع

- [1] Pirsas S, Shamus T and Moghaddas Kia T. Smart films based on bacterial cellulose nanofibers modified by conductive polypyrrole and zinc oxide nanoparticles. *J Appl Polym Sci* 2018; 135(34): 46617.
- [2] Chavoshzadeh 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. *Eur J Lipid Sci Technol* 122(3):1900385 8239 1 3 *Polymer Bulletin* (2022) 79:8217–8240 8.
- [3] S. Pirsas and S. Chavoshzadeh, (2018). Design of an optical sensor for ethylene based on nanofiber bacterial cellulose film and its application for determination of banana storage time, *Polym Adv Technol* 29 1385–1393.
- [4] Hassani, D., Sani, I.K., & Pirsas, S. (2023). Nanocomposite Film of Potato Starch and Gum Arabic Containing Boron Oxide Nanoparticles and Anise Hyssop (*Agastache foeniculum*) Essential Oil: Investigation of Physicochemical.

۴- نتیجه گیری

علیرغم تمام مزایایی که بیوپلیمر موسیلاژ بذر یونجه در تولید فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر دارد، اما خواص مکانیکی ضعیف و حساسیت آن به آب از موانع اصلی استفاده گسترده از این پلیمر زیستی در صنایع بسته‌بندی است. به همین دلیل، فیلم موسیلاژ بذر یونجه با نانوذرات آوندول و روغن

- [5] Theng BKG. Formation and properties of clay-polymer complexes, 2nd ed., Vol. 4. Amsterdam: Elsevier, 2012
- [6] Mohammadi B, Pirsaa S, Alizadeh M (2019) Preparing chitosan-polyaniline nanocomposite film and examining its mechanical, electrical, and antimicrobial properties. *Polym Polym Compos* 27(8):507-517
- [7] M. Pirouzifard, R.A. Yorghanlu and S. Pirsaa, (2020). Production of active film based on potato starch containing Zedo gum and essential oil of *Salvia officinalis* and study of physical, mechanical, and antioxidant properties, *J Thermoplast Compos* 33, 915-937.
- [8] Pirsaa S, Mohtarami F, Kalantari S (2020) Preparation of biodegradable composite starch/tragacanth gum/nanoclay film and study of its physicochemical and mechanical properties. *Chem Rev Lett* 3(3):98-103
- [9] Bacenetti, J., Lovarelli, D., Tedesco, D., Pretolani, R., & Ferrante, V. (2018). Environmental impact assessment of alfalfa (*Medicago sativa* L.) hay production. *Science of the Total Environment*, 635, 551-558. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.161>.
- [10] Rasul, N. H., Asdagh, A., Pirsaa, S., Ghazanfarirad, N., & Sani, I.K. (2022). Development of antimicrobial / antioxidant nanocomposite film based on fish skin gelatin and chickpea protein isolated containing Microencapsulated *Nigella sativa* essential oil and copper sulfide nanoparticles for extending minced meat shelf life materials *Research Express*, 9(2), 025306.
- [11] Sani, I. K., Aminoleslami, L., Mirtalebi, S. S., Sani, M. A., Mansowi, e., Eghbaljoo, H., & Kazemzadeh, B. (2023). Cold plasma technology: Applications in improving edible films and food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 37, 101087.
- [12] P. Abdolsattari, S.H. Peighambardoust, S. Pirsaa, S.J. Peighambardoust and S.H. (2020). Investigating microbial properties of traditional Iranian white cheese packed in active LDPE films incorporating metallic and organoclay nanoparticles, *Chem Rev Lett* 3, 168-174.
- [13] Anthony, K.; Saleh, M.A. (2012). Chemical profiling and antioxidant activity of commercial milk thistle food supplements. *J. Chem. Pharm. Res.*, 4, 4440-4450.
- [14] Flora, K.; Hahn, M.; Rosen, H.; Benner, K. (1998). Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *Am. J. Gastroenterol.* 93, 139-143. [CrossRef] [PubMed].
- [15] Deep, G.; Agarwal, R. (2007). Chemopreventive efficacy of silymarin in skin and prostate cancer. *Integr. Cancer Ther.* 6, 130-145. [CrossRef].
- [16] Bacenetti, J., Lovarelli, D., Tedesco, D., Pretolani, R., & Ferrante, V. (2018). Environmental impact assessment of alfalfa (*Medicago sativa* L.) hay production. *Science of the Total Environment*, 635, 551-558. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.161>.
- [17] Hojilla-Evangelista, M. P., Selling, G. W., Hatfield, R., & Digman, M. (2017). Extraction, composition, and functional properties of dried alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 882-888.
- [18] Cornara, L., Xiao, J., & Burlando, B. (2016). Therapeutic potential of temperate forage legumes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(sup1), S149-S161.
- [19] Pari, N., Parichehreh, Y., Alireza, R., & Naser, A. (2019). The role of *Smyrniun cordifolium* Boiss extract and curzerene on withdrawal syndrome in mice. *Cellular and Molecular Biology*, 65(7), 77-83.
- [20] Khakpour, F.; Pirsaa, S.; Amiri, S. (2023). Modified Starch/CrO/Lycopene/Gum Arabic Nanocomposite Film: Preparation, Investigation of Physicochemical Properties and Ability to Use as Nitrite Kit. *Journal of Polymers and the Environment*

- acid/lycopene film. *Food Additives Contamin A* 38(5):856–869 13.
- [21] Khanzadi, M., Jafari, S. M., Mirzaei, H., Chegini, F. K., Maghsoudlou, Y., & Dehnad, D. (2015). Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate–pullulan by application of beeswax. *Carbohydrate polymers*, 118, 24-29.
- [22] Asadi S, Pirsa S. (2019). Production of Biodegradable Film Based on Polylactic Acid, Modified with Lycopene Pigment and TiO₂ and Studying Its Physicochemical Properties. *Journal of Polymers and the Environment*.
- [23] Davachi, Seyed Mohammad, & Shekarabi, Azadeh Sadat. (2018). Preparation and characterization of antibacterial, eco-friendly edible nanocomposite films containing *Salvia macrosiphon* and nanoclay. *International journal of biological macromolecules*, 113, 66-72. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.106.
- [24] Pires, A. F., Marnotes, N. G., Rubio, O. D., Garcia, A. C., & Pereira, C. D. (2021). Dairy by-products: A review on the valorization of whey and second cheese whey. *Foods*, 10(5), 1067.
- [25] Pirouzifard, M., Yorghanlu, R.A. & Pirsa, S. (2020). Production of active film based on potato starch containing Zedo gum and essential oil of *Salvia officinalis* and study of physical, mechanical, and antioxidant properties. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 33(7), 915-937
- [26] Pirsa S, Asadi S (2021) Innovative smart and biodegradable packaging for margarine based on a nano composite polylactic acid/lycopene film. *Food Additives Contamin A* 38(5):856–869 13.
- [27] Deep, G.; Agarwal, R. (2007). Chemopreventive efficacy of silymarin in skin and prostate cancer. *Integr. Cancer Ther.* 6, 130–145. [CrossRef].
- [28] Kavooosi, Gholamreza, Dadfar, Seyed Mohammad Mahdi, & Purfard, Amin Mohammadi. (2013). Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing. *Journal of Food Science*.
- [29] Ghasemlou S, Khodaiyan D and Oromiehie B, (2011). Rheological and structural characterisation of filmforming solutions and biodegradable edible film made from kefir as affected by various plasticizer types. *International Journal of Biological Macromolecules* 49: 814-821.
- [30] Thellen, C., C. Orroth, D. Froio, D. Ziegler, J. Lucciarini, R. Farrell, N.A. D'Souza, and J.A. Ratto. (2005). Influence of montmorillonite layered silicate on plasticized poly(l-lactide) blown films. *Polym.*, 46(25), 11716-11727.
- [31] Munoz, L. A., Aguilera, J. M., Rodriguez-Turienzo, L., Cobos, A., & Diaz, O. (2012). Characterization and microstructure of films made from mucilage of *salvia hispanica* and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 111(3), 511-518.
- [32] Jegan, A., Ramasubbu, A., Karunakaran, K. & Vasanthkumar, S. (2012). Synthesis and characterization of zinc oxide–agar nanocomposite. 171-176.



Scientific Research

Production of alfalfa seed mucilage film with nanoparticles of *Smyrniium cordifolium* Boiss and milk thistle seed oil and physical and chemical properties

Fatemeh Khakpour 1*, Zhiyar Heydari 2, Sajad Pirsā 3

- 1- Master's student, Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
- 2- Master's student, Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
- 3- Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History: Received: 2023/10/4 Accepted: 2024/2/3</p>	<p>The aim of this research was to produce a film based on alfalfa seed mucilage with avondol nanoparticles and milk thistle oil. A composite film of alfalfa seed mucilage with avondol nanoparticles (0, 2, 4%) and milk thistle seed oil (0, 1, 2%) was prepared. . The physicochemical properties of the prepared films were investigated. According to the obtained results, adding Avondol nanoparticles and milk thistle seed oil increases the thickness and antioxidant. But increasing the amount of Avondol nanoparticles and milk thistle essential oil in the film decreased the humidity, solubility and water vapor permeability of the films. X-ray diffraction analysis showed that the Avondol nanoparticles were physically incorporated with alfalfa seed mucilage polymer. The results of scanning electron microscope (SEM) showed that the surface morphology of nanocomposite film is heterogeneous compared to alfalfa seed mucilage. Finally, based on the results, adding avondol nanoparticles and milk thistle oil to edible films based on alfalfa seed mucilage improved the thickness, antioxidant and SEM, but weakened the moisture, solubility and permeability to water vapor.</p>
<p>Keywords:</p> <p>Edible film, mucilage, Avondol nanoparticles, milk thistle oil</p>	
<p>DOI: 10.22034/FSCT.21.147.100.</p> <p>*Corresponding Author E-Mail: sevdakhakpour1@gmail.com</p>	