



تهیه فیلم آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی بر پایه موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با ریشه شیرین بیان و نانو ذرات سولفات مس

اکرم خاکپور^{۱*}، محمود رضازاد باری^۲، سجاد پیرسا^۳، فاطمه خاکپور^۴

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

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

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

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد 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 گل پنیرک اصلاح شده با ریشه شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس بود. طرح آماری D-optimal برای مطالعه خواص آنتی-اکسیدانی، ضد میکروبی، پراش اشعه ایکس (XRD)، فوریه مادون قرمز (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و تجزیه حرارتی (DSC) فیلم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش ریشه شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم به طور معنی‌دار ($p < 0/05$) افزایش یافت. نتایج فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده نشان داد که افزودن شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس باعث فعالیت ضد میکروبی فیلم بر علیه <i>اشریشیا کلی</i> و <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> گردید. تجزیه و تحلیل پراش اشعه ایکس نشان می‌دهد که نانوذرات سولفات مس با پلیمر موسیلاژ گل پنیرک به طور فیزیکی ترکیب می‌شود و باعث کاهش ساختار کریستالی می‌شود. نتایج تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) حضور فیزیکی نانوذرات سولفات مس در ماتریس پلیمری را تایید می‌کند نتایج FTIR همچنین برهمکنش‌های الکترواستاتیک ضعیفی را بین اجزای فیلم و کامپوزیت‌ها نشان داد. نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان می‌دهد که سطح فیلم‌های حاوی نانوذره سولفات مس و ریشه شیرین بیان نسبت به موسیلاژ گل پنیرک ناهمگن‌تر هستند. شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس توانستند تجزیه حرارتی موسیلاژ گل پنیرک را به تاخیر بیاورند و باعث افزایش پایداری حرارتی فیلم موسیلاژ گردند. در نهایت براساس نتایج حاصله، افزودن نانوذرات سولفات مس و ریشه شیرین بیان به فیلم‌های خوراکی بر پایه موسیلاژ گل پنیرک سبب بهبود ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، DSC و SEM گردید.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۱۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴	
کلمات کلیدی:	
فیلم خوراکی، موسیلاژ گل پنیرک، شیرین بیان، نانوذرات سولفات مس	
DOI: 10.22034/FSCT.21.148.127.	
مسئول مکاتبات: * sevdakhakpour1@gmail.com	

۱- مقدمه

در سال‌های 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]. 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 [۲]. گیاه پنیرک گل ریز با نام علمی (*Malva parviflora L*) از خانواده *Malvaceae* به عنوان یک گیاه علفی یک یا چند ساله که بومی مناطق شمال آفریقا، اروپا و آسیا می‌باشد گیاه پنیرک سرشار از انرژی بوده و حاوی کربوهیدرات، پروتئین، قندهای کاهنده و چربی می‌باشد. فعالیت بیولوژیکی برگ این گیاه می‌تواند به علت وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند: ترکیبات فنولی، ویتامین‌های C، E و A کاروتنوئیدها، موسیلاژ (لعاب نباتی)، کومارین‌ها، ترپنوئیدها و رنگدانه‌ها باشد ماده مؤثر موجود در گل و برگ گیاه پنیرک را موسیلاژ تشکیل می‌دهد موسیلاژها کربوهیدرات‌هایی با ساختمان شیمیایی بسیار پیچیده و با وزن مولکولی بالا هستند. این مواد مخلوط‌های آمورف (بی-شکل) پلی‌ساکاریدی هستند که همراه آب ماده لزج و چسبناکی را به وجود می‌آورند گل پنیرک در آب سرد باد می‌کنند و ماده ژله‌ای تشکیل می‌دهند و در آب گرم حل شده محلول‌های کلئیدی می‌سازند [۳]. همچنین عصاره این گیاه به دلیل حضور ترکیبات فعالی همچون فلاونوئیدها دارای خاصیت ضدباکتریایی بوده و باعث کاهش یا عدم

رشد انواع باکتری‌ها همچون *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس*، *کلسیلا پنومونیه*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا* می‌شود [۴]. استفاده از فیلم‌های خوراکی پنیرک به علت حساسیت ذاتی به رطوبت و خواص مکانیکی ضعیف به خصوص در محیط‌های مرطوب محدود شده است. یکی از روش‌هایی که برای غلبه بر محدودیت‌های ذکر شده ارائه شده است، استفاده از پلیمرها به منظور تشکیل فیلم است از این طریق می‌توان برترین خصوصیات عملکردی هر ترکیب را به کار گرفت. نانوکامپوزیت‌ها پلیمرهایی هستند که در آن‌ها از ترکیبات آلی یا غیر آلی مختلفی با اشکال مختلف صفحه‌ای و کروی، در ابعاد نانو به عنوان پرکننده استفاده می‌شود [۵]. 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 خواص ظاهری فیلم از دیگر مزایای نانوکامپوزیت‌های زیست پلیمری است ریشه شیرین‌بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف (تا ۱۸ درصد)، فلاونوئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس‌های روغنی ساپونین‌ها می‌باشد [۶]. 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 یک ماده مرکب است که حداقل یکی از فازهای آن ابعادی در مقیاس نانو دارد (بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) [۷]. نانوکامپوزیت‌ها جایگزین‌های جدیدی برای روش‌های سنتی بهبود خواص پلیمرها هستند. نانوکامپوزیت‌ها در حال حاضر برای بسته‌بندی نوشیدنی‌ها و مواد غذایی غیر الکلی به دلیل خواص حرارتی، مقاومت و رسانایی بهبود یافته استفاده می‌شوند [۸]. نانوکامپوزیت‌ها پلیمرهایی هستند که در آن‌ها از ترکیبات آلی یا غیر آلی مختلفی با اشکال مختلف

شدند. نیترات سدیم، متانول ۹۹ درصد، گلیسرول، سیلیکازل و سایر ترکیبات و محلول های شیمیایی از برند شرکت مرک (آلمان) و سیگما-آلدریج (آمریکا) تهیه شده و بدون خالص سازی مجدد مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲- روش آماده سازی موسیلاژ از گل پنیرک اصلاح شده

گل پنیرک به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر مخلوط شد و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد ابتدا اولتراسوند کرده و سپس به مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس به منظور جداسازی موسیلاژ از گل پنیرک، مخلوط حاصل از مرحله قبل به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. موسیلاژ حاصل از مرحله قبل با استفاده از آون در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک گردید و در کیسه زیپ دار نگهداری شد [۱۰].

۲-۳- تهیه فیلم کامپوزیت

ابتدا ۲ گرم موسیلاژ گل پنیرک را درون ۸۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از همزن مغناطیسی با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و سرعت ۵۰۰ rpm همزده شد. درصد های مختلفی از نانوذرات سولفات مس (۰، ۲، ۴٪) (وزنی/وزنی) و شیرین بیان (۰، ۳، ۶٪) (وزنی/وزنی) در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به محلول موسیلاژ گل پنیرک اضافه شد. پس از افزودن ۳۰ درصد گلیسرول به محلول، با استفاده از محلول ۰/۱ نرمال NaOH، pH تنظیم شد. محلول داخل فالكون ریخته و سانتریفوژ شد. محلول رویی حاصله را داخل پلیت ریخته و پس از گذشت ۴۸ ساعت در دمای اتاق فیلم ها خشک شد، سپس جدا شد و در کیسه های زیپ دار نگهداری شد [۱۱].

صفحه ای و کروی، در ابعاد نانو به عنوان پرکننده استفاده می شود. فیلم های حاصل از ترکیب نانومواد و زیست پلیمری و یا به اصطلاح نانوکامپوزیت های زیست پلیمر، خواص کاربردی مطلوب تری از خود نشان می دهند که مهم ترین آن-ها افزایش مقاومت مکانیکی و کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب است. افزایش بازدارندگی در برابر نفوذ گازها، افزایش کارایی فیلم به عنوان بسته بندی فعال، افزایش مقاومت حرارت ماده بسته بندی، ایجاد شفافیت و بهبود خواص ظاهری فیلم از دیگر مزایای نانوکامپوزیت های زیست پلیمری است. نمک های فلزی مانند کرم، آهن و مس نه تنها باعث تنوع رنگ در رنگرزی می شوند، بلکه ثبات نوری و شستشویی بسیاری از مواد رنگزای مستقیم را بهبود می بخشد. تحقیقات زیادی در اصلاح ثبات نوری مواد رنگزای مستقیم بر روی منسوجات انجام شده است و استفاده از نمک های فلزی از جمله سولفات مس از اهمیت تجاری بسیاری برخوردار است. علاوه بر این، سولفات مس به عنوان ماده ضد عفونی کننده در مقابل عفونت های قارچی و درمان عفونت های باکتریایی مورد استفاده قرار می گیرد [۹]. مطابق بررسی های صورت گرفته، تاکنون تحقیقی در مورد تأثیر ریشه شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس بر فیلم های خوراکی تهیه شده از موسیلاژ گل پنیرک صورت نگرفته است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ریشه شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس در غلظت های مختلف بر روی خواص فیزیکی و شیمیایی فیلم های خوراکی تهیه شده بر پایه موسیلاژ گل پنیرک می باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

گل پنیرک اصلاح شده از عطاری (عجبشیر)، نانوذرات سولفات مس با درصد خلوص ۹۹ درصد از برند شرکت (آلمان) و ریشه شیرین بیان از عطاری (عجبشیر) خریداری

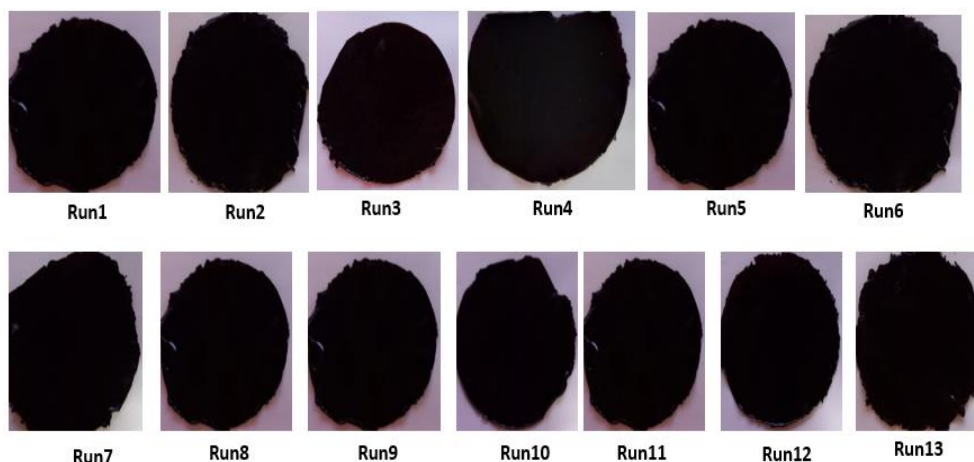


Fig 1: An image of the prepared films

آگار حاوی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس قرار گرفتند. سپس صفحات در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری شد [۱۱].

۲-۴-۲- آزمون‌های بررسی خواص فیلم‌های تهیه شده

۲-۴-۲-۱- 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 1DPPH^1 میلی‌مولار مخلوط شد. مخلوط به خوبی در ورتکس 2000 rpm به مدت ۱ دقیقه حل گردید. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در مکان تاریک، میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتری (Spectrophotometer) ساخت (آلمان) با فرمول زیر محاسبه شد [۱۱].

۲-۴-۲-۳- پراش اشعه ایکس (XRD)

پراش اشعه ایکس (XRD) برای بررسی ساختار کریستالی فیلم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. فیلم کامپوزیت انجام شد. الگوهای پراش XRD (X'Pert Pro Panalytical) Netherlands (از طریق پراش‌سنج با استفاده از تابش $\text{Cu K}\alpha$ (1.54 Å) در محدوده $2\theta=4-40^\circ$ و زمان گام اسکن ۵۳ ثانیه به دست آمد [۱۱].

۲-۴-۲-۴- طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز

(FTIR)^۲

تغییرات گروه‌های عاملی به کمک دستگاه اسپکتروسکوپی تبدیل فوریه مادون قرمز بررسی شد. در طیف حاصله از ماده، گروه‌های عاملی موجود در ساختار شیمیایی در نواحی مشخص به صورت پیک، ظاهر شد. طیف FTIR (Spectrum Two, Perkin Elmer) ساخت (آمریکا) در حالت عبور با استفاده از اسپکتروفتومتر در گستره عدد موج $4000-500\text{ cm}^{-1}$ و وضوح 0.5 cm^{-1} بررسی شد [۱۱].

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

Ab: میزان جذب نمونه شاهد

As: میزان جذب نمونه

۲-۴-۲-۲- بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی

در روش انتشار آگار، فیلم‌ها با قطر ۱۵ میلی‌متر بصورت دیسک بریده شدند و بر روی محیط کشت مولر هیلتون

2.Transform infrared spectroscopy

1 . 2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

Table 1: Table of prepared films

A : CuSO4 (%)	B: Licorice (%)
2	3
4	6
0	0
0	6
2	3
4	3
2	0
2	3
2	3
0	3
2	3
4	0
2	6

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنتی اکسیدانی

افزایش درصد شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی در شکل ۳-۱-۱ نمایش داده شده است. معادله ریاضی ارتباط بین متغیرهای مستقل و خاصیت آنتی-اکسیدانی و ضرایب رگرسیون را نشان می‌دهد. با توجه به شکل زیر با افزایش شیرین بیان و نانوذره سولفات مس خاصیت آنتی اکسیدانی بطور معنی داری ($p < 0.05$) افزایش یافت. افزایش درصد شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم را به شدت افزایش می‌دهد. 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 آنتی اکسیدان قوی در این گیاه گزارش شده است بنابراین با توجه به ساختار آنتی اکسیدانی شیرین بیان، افزایش خاصیت آنتی-اکسیدانی فیلم با افزایش شیرین بیان قابل انتظار بود [۱۲]. نانوذره سولفات مس نیز با توجه به نسبت بالای سطح به حجم آن، توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد به راحتی می‌تواند رادیکال‌های آزاد را غیرفعال سازند. حسینی و

۲-۴-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)³

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 عکس برداری نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه با لایه نازکی از طلا (ضخامت حدود ۵ تا ۶ نانومتر) پوشش داده شد. تصویربرداری از نمونه‌ها با ولتاژ شتاب دهنده ۳۰ کیلوولت و بزرگنمایی ۱۰۰۰۰ برابر انجام شد. سپس میانگین قطر با نرم افزار محاسبه گردید [۱۱].

۲-۴-۶- اندازه گیری خواص حرارتی (DSC)

برای اندازه گیری خواص حرارتی فیلم‌ها از دستگاه DSC (مدل Netzsch 200 F3 ساخت آلمان)، در دانشگاه ارومیه استفاده شد. دقت دستگاه ۰/۱ درجه سانتی گراد است و گرمای منتقل شده را با دقت ۰/۱ w/mg اندازه گیری می‌کند. کالیبراسیون دستگاه توسط ایندیوم و نقره صورت گرفت. ظرف آلومینیومی خالی به عنوان مرجع و ازت به عنوان اتمسفر مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌هایی با وزن ۰/۰۴ گرم با سرعت ۲۲°C/min در گستره دمایی ۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۵ دقیقه حرارت داده شدند. از روی الگوی گرمایی بدست آمده، دمای ذوب (T_m)، دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) تعیین شد [۱۱].

۲-۵- مطالعه آماری

در این مطالعه از روش آماری سطح پاسخ و طرح آماری مرکب مرکزی برای بررسی تاثیر دو فاکتور متغیر شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس بر روی خواص فیزیکوشیمیایی و ساختاری فیلم‌های تهیه شده استفاده گردید. آنالیز آماری داده ها در سطح احتمال ۹۵ درصد و با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت-۱۰ انجام پذیرفت.

3- Scanning electron microscope

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = 9.504 + 3.772 * A + 4.096 * B - 0.992 * A * B + 2.474 * A^2 + 2.442 * B^2$$

($R^2 = 0.8709$; $\text{Adj}R^2 = 0.881$)

همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که استفاده از نانوذرات اکسید منیزیم در فیلم‌های نانوبیوکامپوزیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد که با نتایج حاضر مطابقت دارد [۱۳].

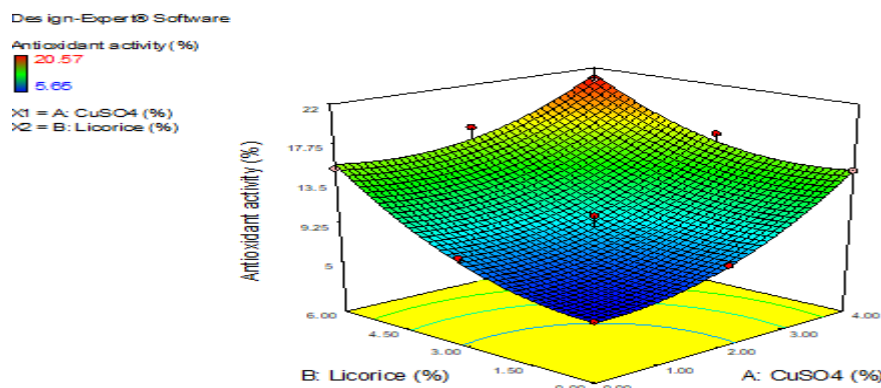


Figure 3-1: Counterplot of the antioxidant property of Panerak flower mucilage film modified with Shirin Bayan and copper sulfate nanoparticle

aureus نسبت به انواع گرم منفی (*E.coli*) بیشتر است. علت این پدیده تفاوت ساختار دیواره سلولی این میکروارگانیسم‌ها است. ترکیب اصلی دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت پپتیدوگلیکان به همراه مقدار کمی پروتئین است؛ اما دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی با وجود ضخامت کمتر، پیچیدگی بیشتری داشته و علاوه بر پپتیدوگلیکان حاوی پلی‌ساکاریدهای مختلف، پروتئین‌ها و لیپیدها می‌باشد. هم‌چنین دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی دارای غشای خارجی است که سطح خارجی دیواره را می‌پوشاند. مجموعه این عوامل سبب افزایش مقاومت باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت می‌گردد [۱۵]. هم‌چنین نانومواد چسبیدن سلول باکتری و تشکیل بیوفیلم را به تأخیر می‌اندازند که این عمل باعث می‌شود گروهی از باکتری‌ها نتوانند تثبیت شوند و تکثیر یابند [۱۶]. Khakpour و همکاران (۲۰۲۳)، نتایج حاصل از بررسی خواص ضدباکتریایی نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات اکسیدکروم و رنگدانه لیکوپن باعث افزایش خاصیت ضد باکتریایی نمونه‌های کامپوزیتی می‌گردد که با نتایج حاضر مطابقت دارد [۱۱].

۳-۲- ضد میکروبی

ویژگی‌های ضد میکروبی فیلم شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس در شکل ۳-۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشخص است با افزایش نانوذرات سولفات مس و ریشه شیرین بیان فعالیت/شیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بطور معنی‌داری ($p < 0/05$) کاهش می‌یابد. فیلم‌های مذکور از رشد/شیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری کردند. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس یکی از باکتری‌های مهم در مواد غذایی شناخته شده است. مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از مشکلاتی است که برای از بین بردن این باکتری‌ها بسیار مطرح است لذا نانومواد به عنوان مواد مناسب برای مهار و از بین بردن این باکتری می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند [۱۴]. واضح است که با افزایش میزان شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس قطر هاله عدم رشد افزایش یافته است. بنابراین می‌توان گفت که فیلم‌های ساپورت شده با این ترکیبات می‌توانند همانند یک بسته‌بندی فعال علیه میکروارگانیسم‌ها عمل کنند بطور کلی خاصیت بازدارندگی فیلم‌های حاوی شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس در برابر میکروارگانیسم‌های گرم مثبت (S)

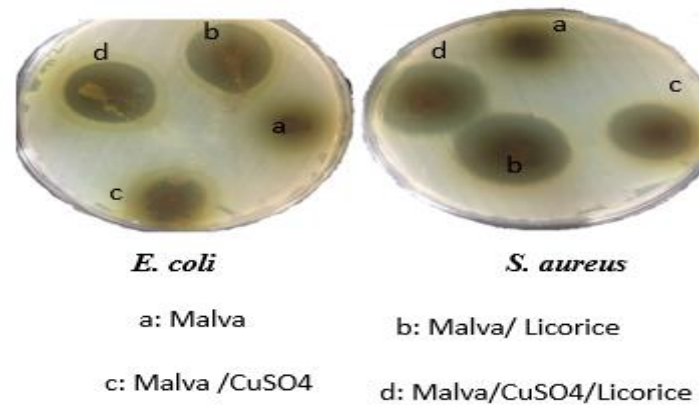


Figure 3-2: The diameter of the lack of growth halo (mm)

مشاهده شده در $30/0022^{\circ}$ ، $30/0061^{\circ}$ و $31/0047^{\circ}$ مختص نانوذرات سولفات مس می باشد همچنین این پیک ها معمولاً به فاز آمورف پروتئین ها نسبت داده می شود، همچنین ظاهر شدن یک پیک در 2θ می تواند به دلیل قسمت کریستالی پلیمر باشد. به این ترتیب و با توجه به شکل می توان ساختار فیلم حاصل از موسیلاژ گل پنیرک و متغیرهای افزوده را نیمه بلورین در نظر گرفت. در طیف موسیلاژ گل پنیرک / شیرین بیان/ نانوذرات سولفات مس، دارای سه پیک می باشد. پیک های 2θ مشاهده شده در $29/0022^{\circ}$ ، $30/0061^{\circ}$ و $32/0021^{\circ}$ مختص شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس می باشد. این طیف تا حدود زیادی مشابه طیف نانوذرات سولفات مس است که ساختار نیمه آمورف دارند. نتایج نشان می دهد که با اضافه کردن نانوذرات سولفات مس باعث کاهش خواص کریستالی فیلم می شود میدانچی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که افزودن TiO_2 -Ag به لایه ها باعث کاهش خواص کریستالی فیلم می شود [۱۷].

۳-۳- پراش اشعه ایکس (XRD)

از الگوهای پراش اشعه ایکس به منظور بررسی ساختار بلورین فیلم موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس استفاده گردید. طیف مربوط به موسیلاژ گل پنیرک خالص دارای سه پیک می باشد. در طیف موسیلاژ گل پنیرک، پیک های 2θ مشاهده شده در $28/6240^{\circ}$ ، $40/6818^{\circ}$ و $50/0584^{\circ}$ مختص موسیلاژ است که درجه بلورینگی موسیلاژ گل پنیرک خوب است که ارتفاع این پیک ها ساختار کریستالی موسیلاژ گل پنیرک را تایید می کند. بنابراین می توان آن را به عنوان یک پلیمر زیستی کریستالی طبقه بندی کرد. در طیف مربوط به موسیلاژ گل پنیرک / شیرین بیان، دارای سه پیک می باشد. پیک های 2θ مشاهده شده در $28/5763^{\circ}$ ، $40/5755^{\circ}$ و $50/3322^{\circ}$ مختص شیرین بیان می باشد افزودن ریشه شیرین بیان به فیلم ها، شدت قله ی پراش در مقایسه با شدت پیک فیلم موسیلاژ گل پنیرک (فیلم شاهد) تغییر زیادی نکرده است. در طیف مربوط موسیلاژ گل پنیرک / نانوذرات سولفات مس، دارای سه پیک می باشد. پیک های 2θ

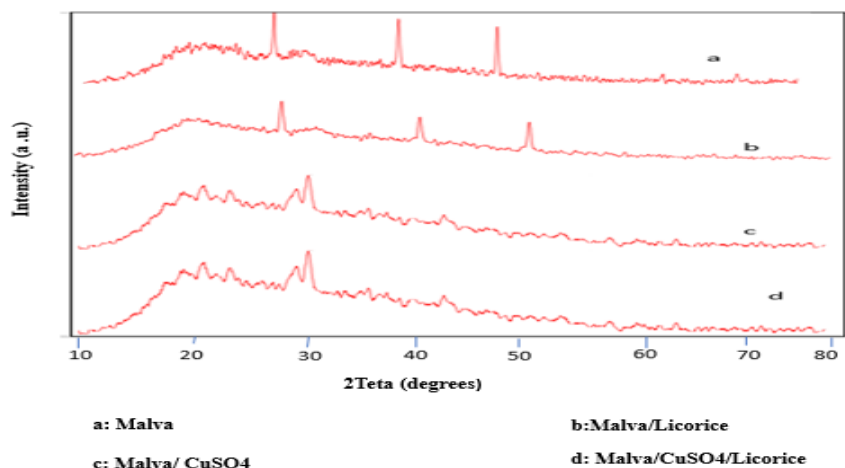


Figure 3-3: X-ray diffraction spectrum (XRD) of the mucilage films of Panirak flower with Shirin-Bian and copper sulfate nanoparticles

۱۰۷۰ $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$ (ارتعاش خمشی پیوند آمیدی) NH محدود به 700 cm^{-1} دارد [۱۸]. همانطور که مشخص است، طیف‌های موسیلاژ گل پنیرک با کامپوزیت‌های آن تفاوت چندانی ندارد، زیرا گروه‌های عاملی در نانوذرات سولفات مس شبیه به موسیلاژ گل پنیرک می‌باشد و بنابراین پیک‌های آن‌ها با پیک‌های موسیلاژ گل پنیرک همپوشانی کرده‌اند و با توجه به اینکه درصد نانوذرات سولفات مس استفاده شده در ساختار فیلم موسیلاژ گل پنیرک زیاد نبوده است تغییر محسوسی در شدت پیک‌های ظاهر شده ایجاد نشده است. نکته‌ای که باید به آن توجه شود این است که با افزودن شیرین‌بیان به ساختار فیلم موسیلاژ گل پنیرک عدد موجی پیک‌های ظاهر شده جابجا شده است که این جابه‌جایی پیک‌ها بیانگر ایجاد برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین زنجیره‌های پلیمری موسیلاژ گل پنیرک با شیرین‌بیان می‌باشد. (کریمی ثانی و همکاران، ۲۰۲۱) نشان دادند در فیلم کامپوزیت نشاسته سیب‌زمینی / پکتین پوست سیب / اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده و نانوذرات اکسید زیرکونیوم، برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین اجزای کامپوزیت وجود دارد. که نتایج تحقیق آن‌ها نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کند. [۱۹].

۳-۴- فوریه مادون قرمز (FTIR)

به منظور بررسی پیوندهای جدید در فیلم‌های تولیدی و مطالعه ویژگی پیک‌های مربوط به موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس طیف FTIR در شکل ۳-۴- نشان داده شده است. طیف FTIR کربوهیدرات‌ها برای تعیین سیمای ساختاری آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد و امکان تشخیص گروه‌های شیمیایی اصلی در پلی‌ساکاریدها را میسر می‌سازد (جایگاه و شدت پیوندها برای هر پلی‌ساکارید اختصاصی است). همان‌طور که ملاحظه می‌گردد، پیک‌های مشاهده شده در محدوده 3200 تا 3600 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای O-H (هیدروکسیل) می‌باشد که در حلقه پیرانوز وجود دارد. و پیک‌ها در محدوده 2900 cm^{-1} به حضور ارتعاشات کششی متقارن CH_2 اختصاص دارد. پیک محدوده 1596 cm^{-1} تا 1600 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی NH از پیوندهای آمیدی نوع یک و دو است در حالی که جذب در 1220 cm^{-1} تا 1461 cm^{-1} ناشی از ارتعاش کششی پیوندهای C-N و N-H آمیدی نوع سوم است. دیگر پیک‌های مشاهده شده در طیف FTIR اختصاص به حضور ارتعاشات خمشی cm^{-1}

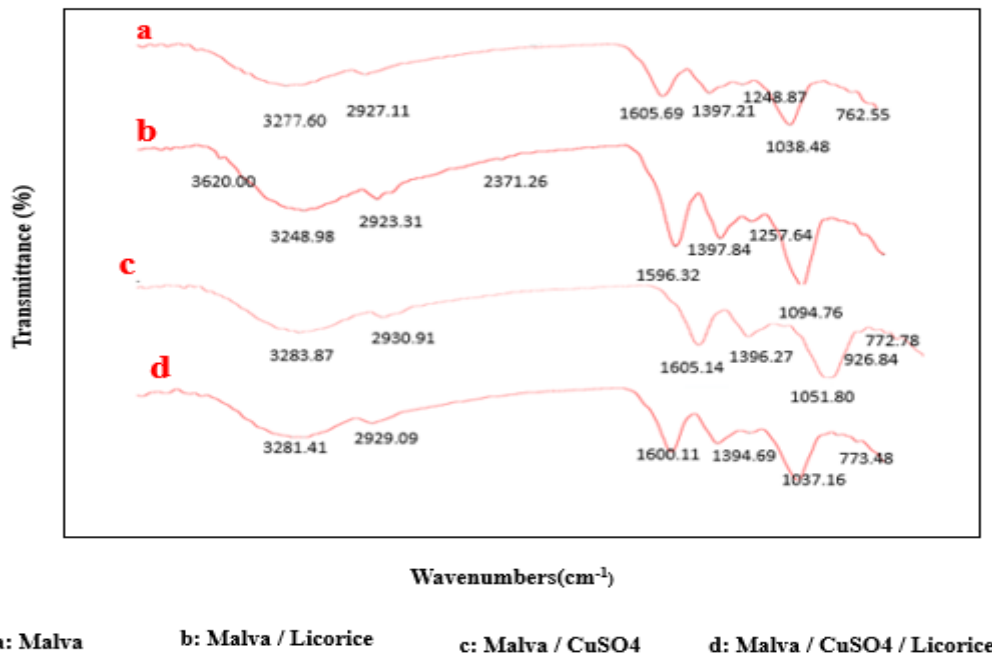
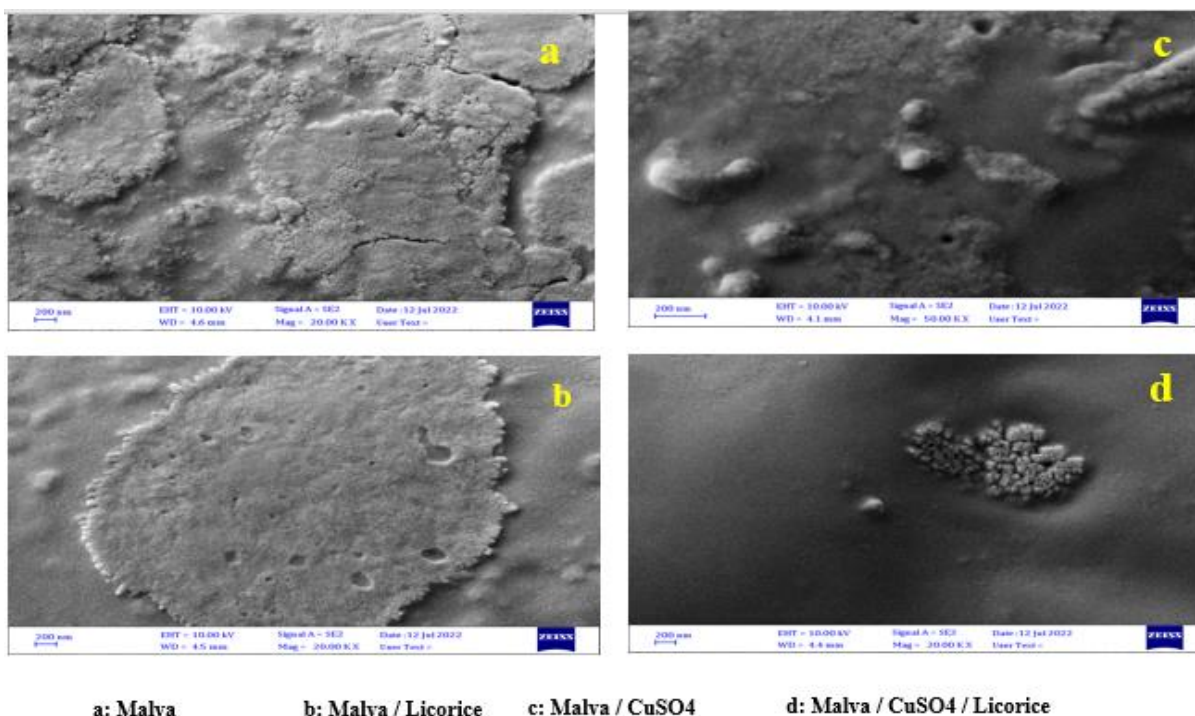


Figure 3-4: FTIR results of the mucilage film of Panax flower modified with Shirin-Bian and copper sulfate nanoparticles

بطور کامل اتفاق نیفتاده است و تمامی قسمت‌های فیلم موسیلاژ با شیرین بیان پر و اشباع نشده است. همچنین توده-ای، تجمع و توزیع غیریکنواخت را می‌توان به حضور نانوذرات سولفات مس نسبت داد. آن‌ها خاصیت پخش شوندگی مناسبی در داخل محیط‌های آبی ندارند و در برخی قسمت‌ها، هم‌انباشتگی اتفاق افتاده است. ذرات سولفات مس بصورت کروی در داخل فیلم پراکنده شدند. فیلم‌های نانوکامپوزیتی با شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس باعث کاهش ناهمگنی روی سطح پلیمر شدند که با نتایج خاکپور و همکاران (۲۰۲۳) فیلم نانوکامپوزیت نشاسته اصلاح شده/ صمغ عربی اصلاح شده با نانوذرات اکسیدکروم و رنگدانه لیکوپن تهیه، بررسی خواص فیزیکوشیمیایی مطابقت دارد [۱۱].

۳-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) فیلم‌های موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس در شکل ۳-۵- نشان داده شده است. مطابق با مشاهدات بدست آمده از تصاویر مورفولوژی فیلم‌های تولیدی، سطح فیلم‌های موسیلاژ گل پنیرک ناهموار می‌باشد که نشان از ساختار نامنظم ماتریس بیوپلیمری آن‌ها است. و سطح مورفولوژی فیلم‌های موسیلاژ گل پنیرک با شیرین بیان نسبت به موسیلاژ گل پنیرک ناهمگن‌تری دارند و این امر می‌تواند به خاطر گروه‌های هیدروکسیل باشد که حلالیت خوبی دارد موسیلاژ گل پنیرک و شیرین بیان به طور مساوی در ماتریس پلیمری توزیع شدند، ولی برهمکنش بین آن‌ها



a: Malva

b: Malva / Licorice

c: Malva / CuSO₄d: Malva / CuSO₄ / Licorice

Figure 3-5: Scanning electron microscope images of mucilage films of Panerak flower modified with Shirin-Bian and copper sulfate nanoparticles

می‌یابد که تاییدکننده نقش تقویت‌کنندگی نانوذرات سولفات مس و شیرین‌بیان در ساخت فیلم‌های نانوکامپوزیتی در محدوده دمایی گسترده‌ای است [۲۱]. دمای نقطه ذوب (T_m) ویژگی‌های نواحی کریستالی و دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) به ویژگی‌های نواحی آمورف بستگی دارد و لزوماً این دو دما باهم افزایش یا کاهش نمی‌یابند. طبق نتایج مشاهده شد که با افزودن نانوذرات سولفات مس و شیرین‌بیان، T_m و T_g در فیلم‌های نانوکامپوزیت افزایش یافت. این امر را می‌توان به برقراری برهم‌کنش‌های قوی بین گروه‌های هیدروکسیل ماتریکس و نانوپرکننده نسبت داد که در نتیجه آن، تحرک و انعطاف‌پذیری رنجیره‌های موسیلاژ گل پنیرک، نانوذرات سولفات مس و شیرین‌بیان در مناطق کریستالی و آمورف کاهش یافته و به ترتیب T_m و T_g افزایش می‌یابد [۲۲]. مطالعات (Swaroop and Shukla 2019)، در تاثیر افزودن نانوذرات اکسیدمنیزیم به افزایش پایداری حرارتی فیلم‌های نانوکامپوزیتی، با مطالعه حاضر مطابقت دارد [۲۳].

۳-۶- خواص حرارتی (DSC)

آنالیز حرارتی فیلم‌های نانوکامپوزیتی بر پایه موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس در شکل ۳-۶- نشان داده شده است. بررسی خصوصیات حرارتی فیلم‌ها نظیر دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) و دمای ذوب (T_m) فیلم حائز اهمیت است، زیرا فیلم‌ها در دماهای بالاتر از دمای انتقال شیشه‌ای بصورت نرم و لاستیکی می‌باشند و در دماهای بالاتر از T_g به دلیل افزایش فضا بین پلیمرها، تحرک‌پذیری پلیمرها بیشتر شده و در نتیجه نفوذپذیری فیلم افزایش می‌یابد، بنابراین هر چقدر T_g یک فیلم بالاتر باشد فیلم بسته‌بندی در محدوده دمایی گسترده‌تری به عنوان محافظت‌کننده می‌تواند عمل کند. در دمای ذوب، فیلم پلیمری بصورت کاملاً مایع و روان درمی‌آید [۲۰]. در مطالعه حاضر خواص حرارتی فیلم‌های تولیدی از لحاظ پارامتری-هایی چون دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) و دمای ذوب (T_m) مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. نتایج نشان می‌دهد که T_g با افزودن نانوذرات سولفات مس و همچنین شیرین‌بیان افزایش

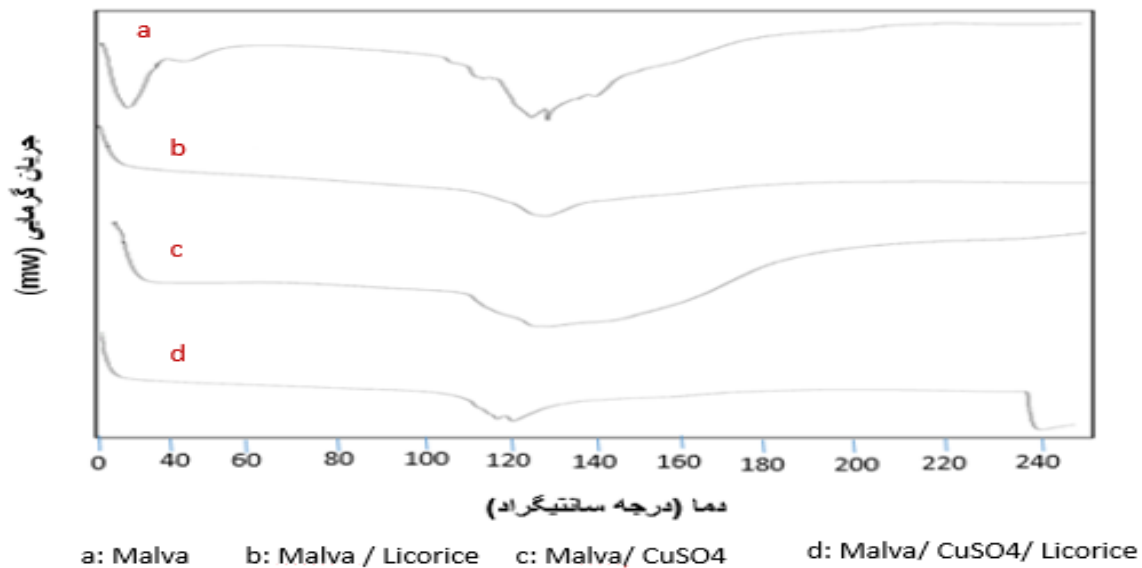


Figure 3-6: Measurement of the thermal properties of the mucilage films of the Paneerak flower modified with saffron and copper sulfate nanoparticles.

۴- نتیجه گیری

سولفات مس و ریشه شیرین بیان خصوصیات فیزیکی موسیلاژ گل پنیرک را تغییر ندادند و حضور فیزیکی نانوذرات سولفات مس در ماتریس پلیمری تایید شد. سطح مورفولوژی فیلم‌های نانوکامپوزیتی نسبت به موسیلاژ گل پنیرک ناهمگن تر بودند. شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس باعث افزایش پایداری حرارتی فیلم موسیلاژ گل پنیرک گردند. به طور کلی با توجه به بررسی‌های انجام شده، فیلم‌های موسیلاژ گل پنیرک حاوی نانوذرات سولفات مس و ریشه شیرین بیان قابلیت به کارگیری به عنوان بسته‌بندی فعال در صنایع غذایی را دارا می‌باشند.

با وجود همه مزایایی که بیوپلیمر موسیلاژ در تولید فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر دارد اما خواص مکانیکی ضعیف و حساسیت آن به آب مانع اصلی در مقابل استفاده گسترده این بیوپلیمر در صنایع بسته‌بندی می‌باشد. به همین دلیل در این پژوهش فیلم موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس تولید شد. نتایج نشان داد که با افزایش شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس، میزان آنتی-اکسیدانی فیلم افزایش یافت. افزودن شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس باعث فعالیت ضد میکروبی فیلم بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس اشتریشیاکلی شد. نانوذرات

۵- منابع

- [1] Eghbaljoo, H., Sani, I. k., Sani, M, A., Rahati, S., MANSUIRI, E., Molae, - Aghaee, E., & Jafari, S.M. (2022). Advances in plant gum polysaccharide; Sources, techno-functional properties, and applications in the food industry-A review. International Journal of Biological Macromolecules.
- [2] Pirsas S, Farshchi E, Roufegarinejad L (2020) Antioxidant/antimicrobial film based on carboxymethyl cellulose/gelatin/TiO₂-Ag nano-composite. J Polym Environ 28(12):3154–3163 5.
- [3] Pirsas S (2020) Biodegradable film based on pectin/Nano-clay/methylene blue: Structural and physical properties and sensing ability

- for measurement of vitamin C. *Int J Biol Macromol* 163:666–675 6.
- [4] Pirsa S, Aghbolagh Sharif K (2020) A review of the applications of bioproteins in the preparation of biodegradable films and polymers. *J Chem Lett* 1(2):47–58 7.
- [5] 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.
- [6] Hassani, D., Sani, I.K., & Pirsa, S. (2023). Nanocomposite Film of Potato Starch and Gum Arabic Containing Boron Oxide Nanoparticles and Anise Hyssop (*Agastache foeniculum*) Essential Oil: Investigation of Physicochemical.
- [7] Chavoshizadeh S, Pirsa 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.
- [8] S. Pirsa and S. Chavoshizadeh,(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.
- [9] Mohammadi B, Pirsa S, Alizadeh M (2019) Preparing chitosan–polyaniline nanocomposite film and examining its mechanical, electrical, and antimicrobial properties. *Polym Polym Compos* 27(8):507–517 4.
- [10] Asdagh A, Pirsa S (2020) Bacterial and oxidative control of local butter with smart/active film based on pectin/nanoclay/*Carum copticum* essential oils/ β -carotene. *Int J Biol Macromol* 165:156–168.
- [11] Khakpour, F.; Pirsa, 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*.
- [12] 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.
- [13] Hosseini SN, Pirsa S, Farzi J. (2021). Biodegradable nano composite film based on modified starch-albumin/ MgO; antibacterial, antioxidant and structural properties. *Polymer Testing* 97 107182.
- [14] Jiang, J., Zhang , X., True, A. D., Zhou, L., and Xiong, Y. L. (2013)." Inhibition of lipid oxidation and rancidity in precooked pork patties by radical-scavenging licorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract." *Journal of Food Science*, 78:1686-1694.
- [15] Fortner J D, Lyon D Y, Sayes C M, Boyd A M, Falkner J C, Hotze E M, et al. (2005). Nanocrystal formation and microbial response. *Environ. Sci Technol.* 39:4307-4316.
- [16] Pranoto, Y, Rakshit, SK, & Salokhe, VM. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT-Food Science and Technology*, 38(8), 859-865 .
- [17] Meydanju N, Pirsa S, Farzi J. (2022). Biodegradable film based on lemon peel powder containing xanthan gum and TiO₂-Ag nanoparticles: Investigation of physicochemical and antibacterial properties. *Polymer Testing* 106 107445.
- [18] Martel S. (2005). Method and system for controlling micro-objects or micro-particles. United States patent US 20100215785. Appl. 11/145,007.
- [19] Karimi Sani I, Piri Geshlaghi S, Pirsa S, Asdagh A. (2021). Composite film based on potato starch/apple peel pectin/ZrO₂ nanoparticles/ microencapsulated *Zataria multiflora* essential oil; investigation of physicochemical properties and use in quail meat packaging . *Food Hydrocolloids* 117 106719.

- [20] Kuang H, Xia YK, (2013). Separation and Quantification of Component Monosaccharides of cold water-soluble Polysaccharides from *Ephedra sinica* by MECC with photodiode array detector. *Recent advances in theories and practice of Chinese medicine*. 24: 461- 472.
- [21] Swaroop, C. & Shukla, M. (2019). Development of blown polylactic acid-Mg nanocomposite films for food packaging Composites Part A: Applied Science and Manufacturing , 124, 105482.
- [22] Cao, X., Chen, Y., Chang, P.R., Stumborg, M. & Huneault, M.A. (2008). Green composites reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. *Journal of Applied Polymer Science*, 109(6), 3804-3810.
- [23] Swaroop, C. & Shukla, M. (2019). Development of blown polylactic acid-Mg nanocomposite films for food packaging Composites Part A: Applied Science and Manufacturing , 124, 105482.



Preparation of antioxidant and antibacterial film based on mucilage of Paneerak flower modified with licorice root and copper sulfate nanoparticles

Akram Khakpour1*, Mahmoud Rezazad Bari2, Sajad Pirsa3, Fatemeh Khakpour4

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

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2023/10/4

Accepted: 2024/2/3

Keywords:

Edible film, mucilage of Paneerak flower, Shirin-Bian and copper sulfate nanoparticles

DOI: 10.22034/FSCT.21.148.127.

*Corresponding Author E-Mail: sevдахakpour1@gmail.com

The aim of this research was to produce a film based on the mucilage of Paneerak flower modified with licorice root and copper sulfate nanoparticles. The D-optimal statistical scheme was used to study the antioxidant, antimicrobial, X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR), scanning electron microscopy (SEM) and thermal decomposition (DSC) properties of the films. The results showed that with the increase of licorice root and copper sulfate nanoparticles, the antioxidant activity of the film increased significantly ($p < 0.05$). The results of the antimicrobial activity of the prepared films showed that the addition of licorice and copper sulfate nanoparticles caused the antimicrobial activity of the film against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. X-ray diffraction analysis shows that copper sulfate nanoparticles are physically combined with the mucilage polymer of Paneerak flower and it reduces the crystal structure. Fourier transform infrared (FTIR) results confirm the physical presence of copper sulfate nanoparticles in the polymer matrix. FTIR results also showed weak electrostatic interactions between film components and composites. The results of the scanning electron microscope (SEM) show that the surface of the films containing copper sulfate nanoparticles and licorice root are more heterogeneous than the mucilage of Paneerak flower. Shirin-bian and copper sulfate nanoparticles were able to delay the thermal decomposition of the mucilage of Paneerak flower and increase the thermal stability of the mucilage film. Finally, based on the results, the addition of copper sulfate nanoparticles and licorice root to edible films based on the mucilage of paneerak flower improved antimicrobial, antioxidant, DSC and SEM.