مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تهیه فیلم آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی برپایه 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

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴

کلمات کلیدی:

فیلم خوراکی،

موسیلاژ گل پنیرک،

شیرین‌بیان

نانوذرات سولفات مس

DOI: 10.22034/FSCT.21.148.127.

مسئول مکاتبات: *

sevdakhakpour1@gmail.com

چکیده

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، ضدمیکروبی، پراش اشعه ایکس (XRD)، فوریه مادون قرمز (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی رویشی (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 ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت. نتایج فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های تهیه شده نشان داد که افزودن شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس باعث فعالیت ضدمیکروبی فیلم بر علیه *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* 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. شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس توانستند تجزیه حرارتی موسیلاژ گل پنیرک را به‌تاخیر بیاندازند 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 ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، DSC و SEM گردید.

۱-مقدمه

درسال‌های اخیر، پژوهش‌های مرتبط با بسته‌بندی توجه بسیاری را به سمت فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر تولید شده از بیوپلیمرهای طبیعی مبذول داشته‌اند. استفاده از این فیلم-های خوراکی تاثیر محسوسی بر محیط زیست دارد. زیرا بیوپلیمرهای طبیعی کاملا 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 ضدمیکروبی نشان داده است که این پوشش‌ها می‌توانند روشی موثر برای حفاظت از موادغذایی 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*)ازخانواده Malvaceae به عنوان یک گیاه علفی یک یا چند ساله که بومی مناطق شمال آفریقا، اروپاو آسیا می‌باشد گیاه پنیرک سرشار از انرژی بوده و حاوی کربوهیدرات، پروتئین، قندهای کاهنده وچربی 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 کلوئیدی 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، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و سالمونلا* می‌شود [٤]. 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 محدودیت-های 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 غیرآلی 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 نانوکامپوریت-های زیست پلیمری است ریشه شیرین‌بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف (تا ۱۸ درصد)، فلاوونوئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس‌های روغنی ساپونین‌ها می‌باشد[٦]. 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 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 خواص ظاهری فیلم از دیگر مزایای نانوکامپوریت‌های زیست پلیمری است. نمک‌های فلزی مانند کرم، آهن و مس نه تنها باعث تنوع رنگ در رنگرزی می‌شوند، بلکه ثبات نوری و شستشویی بسیاری از مواد رنگزای مستقیم را بهبود می‌بخشند. تحقیقات زیادی در اصلاح ثبات نوری مواد رنگزای مستقیم بر روی منسوجات انجام شده است و استفاده از نمک‌های فلزی از جمله سولفات مس از اهمیت تجاری بسیاری برخورداراست. علاوه بر این، سولفات مس به عنوان ماده ضدعفونی کننده در مقابل عفونت‌های قارچی و درمان عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار می گیرد [۹]. مطابق بررسی‌های صورت گرفته، تاکنون تحقیقی در مورد تأثیر ریشه شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس بر فیلم‌های خوراکی تهیه شده از موسیلاژ گل پنیرک صورت نگرفته است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ریشه شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس در غلظت‌های مختلف بر روی خواص فیزیکی و شیمیایی فیلم‌های خوراکی تهیه شده بر پایه موسیلاژ گل پنیرک می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

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

۲-۲- روش آماده‌سازی موسیلاژ از گل پنیرک اصلاح شده

گل پنیرک به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر مخلوط شد و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد ابتدا اولتراسوند کرده و سپس به مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به منظور جداسازی موسیلاژ از گل پنیرک، مخلوط حاصل از مرحله قبل به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. موسیلاژ حاصل از مرحله قبل با استفاده از آون در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و در کیسه زیپ‌دار نگه‌داری شد [۱۰].

۲-۳- تهیه فیلم کامپوزیت

ابتدا ۲ گرم موسیلاژ گل پنیرک را درون ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از همزن مغناطیسی با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و سرعت ۵۰۰ rpm همزده شد. درصدهای مختلفی از نانوذرات سولفات مس (۰، ۲، ٤ ٪) (وزنی/وزنی) و شیرین‌بیان (۰، ۳، ٦ ٪) (وزنی/ وزنی) در ۲۰ میلی‌لیتر 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 فالکون ریخته و سانتریفوژ شد. محلول رویی حاصله را داخل پلیت ریخته و پس از گذشت ٤۸ ساعت در دمای اتاق فیلم‌ها خشک شد، سپس جدا شد و در کیسه‌های زیپ دار نگهداری شد [۱۱].

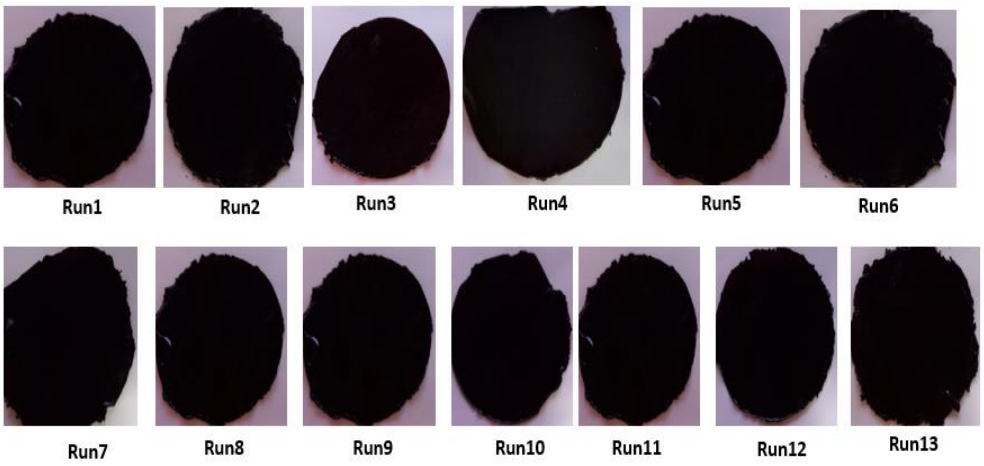

Fig 1: An image of the prepared films

۲-٤- آزمون‌های بررسی خواص فیلم‌های تهیه شده

۲-٤-۱- خاصیت آنتی‌اکسیدانی

۲۵ میلی‌گرم از هر فیلم در ٤ میلی‌لیتر آب به مدت ۲ دقیقه حل شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول عصاره فیلم با ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول‌های متانولی DPPH[1] ۱ میلی‌مولار مخلوط شد. مخلوط به خوبی در ورتکس ۲۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه حل گردید. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در مکان تاریک، میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتری (T60 UV-Visible Spectrophotometer) ساخت (آلمان) با فرمول زیر محاسبه شد [۱۱].

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

Ab: میزان جذب نمونه شاهد

As: میزان جذب نمونه

۲-٤-۲- بررسی ویژگی‌های ضدمیکروبی

در روش انتشار اگار، فیلم‌ها با قطر ۱۵ میلی‌متر بصورت دیسک بریده شدند و بر روی محیط کشت مولر هیلتون آگار حاوی *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* قرار گرفتند. سپس صفحات در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری شد [۱۱].

۲-٤-۳- 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 Cu Ka (1.54 Å) در محدوده $2\theta=4\text{-}40^{\circ}$ و زمان گام اسکن ۵۳ ثانیه به دست آمد [۱۱].

۲-٤-٤- طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)[2]

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 $4000\text{-}500\ cm^{-1}$ و وضوح $0/5\ cm^{-1}$ بررسی شد [۱۱].

1 . 2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

2.Transform infrared spectroscopy

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

۲-٤-۵- میکروسکوپ للکترونی 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 عکس‌برداری نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه با لایه نازکی از طلا (ضخامت حدود ۵ تا ٦ 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 [۱۱].

۲-٤-٦- اندازه‌گیری خواص حرارتی (DSC)

برای اندازه‌گیری خواص حرارتی فیم‌ها از دستگاه DSC (مدل Netzsch 200 F3 ساخت آلمان)، در دانشگاه ارومیه استفاده شد. دقت دستگاه ۰/۱ درجه‌سانتی‌گراد است و گرمای منتقل شده را با دقت ۰/۱ w/mg اندازه‌گیری 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 ۰/۰٤ گرم با سرعت ۲۲Ċ/min در گستره دمایی ۰ تا ۲٤۰ درجه‌سانتی‌گراد 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 شیرین‌بیان 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.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنتی‌اکسیدانی

افزایش درصد شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی در شکل۳-۱- نمایش داده شده است. معادله ریاضی ارتباط بین متغیرهای مستقل و خاصیت آنتی-اکسیدانی و ضرایب رگراسیون را نشان می‌دهد. با توجه به شکل زیر با افزایش شیرین‌بیان و نانوذره سولفات مس خاصیت آنتی‌اکسیدانی بطور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت. افزایش درصد شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم را به شدت افزایش می‌دهد. برخی از ترکیبات این گیاه اثرات ضدسرطانی و برخی اثرات مهار آنزیم‌ها را بر عهده دارند وجود ترکیبات کاهش‌دهنده چربی و فلاونوئیدها با فعالیت آنتی‌اکسیدان قوی در این گیاه گزارش شده است بنابراین با توجه به ساختار آنتی‌اکسیدانی شیرین‌بیان ، افزایش خاصیت آنتی-اکسیدانی فیلم با افزایش شیرین‌بیان قابل انتظار بود [۱۲]. نانوذره سولفات مس نیز با توجه به نسبت بالای سطح به حجم آن ، توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد به راحتی می-توانند رادیکال‌های آزاد را غیرفعال سازند. حسینی و

3- Scanning electron microscope

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].

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; AdjR^2 =0.881)

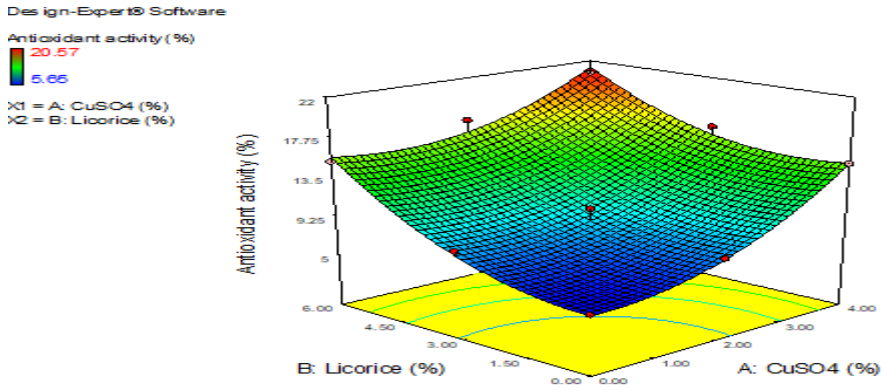

Figure 3-1: Counterplot of the antioxidant property of Panerak flower mucilage film modified with Shirin Bayan and copper sulfate nanoparticle

۳-۲- ضدمیکروبی

ویژگی‌های ضدمیکروبی 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 *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بطور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش می‌یابد. فیلم‌های مذکور از رشد *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکس 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 [۱٤]. 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 بسته-بندی فعال علیه میکروارگانیسم‌ها عمل کنند بطور کلی خاصیت بازدارندگی فیلم‌های حاوی شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس در برابر میکروارگانیسم‌های گرم مثبت (*S. aureus*) نسبت به انواع گرم منفی (*E.coli*) بیشتر است. علت این پدیده تفاوت ساختار دیواره سلولی این میکروارگانیسم‌ها است. ترکیب اصلی دیواره سلولی باکتری-های 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 می-گردد [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 [۱٦]. 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].

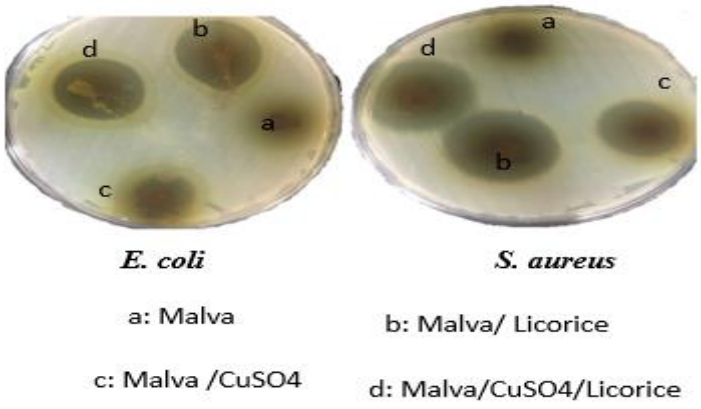

Figure 3-2: The diameter of the lack of growth halo (mm)

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 می‌باشد. در طیف موسیلاژ گل پنیرک ، پیک‌های θ۲ مشاهده شده در ۲۸°/٦۲٤۰، ٤۰°/٦۸۱۸ و ٥۰°/۰٥۸٤ مختص موسیلاژ است که درجه بلورینگی موسیلاژ گل پنیرک خوب است که ارتفاع این پیک‌ها ساختار کریستالی موسیلاژ گل پنیرک را تایید می‌کند. بنابراین می‌توان آن را به عنوان یک پلیمر زیستی کریستالی طبقه‌بندی کرد. در طیف مربوط به موسیلاژ گل پنیرک / شیرین‌بیان، دارای سه پیک می‌باشد. پیک‌های θ۲ مشاهده شده در ۲۸°/٥۷٦۳، ٤۰°/٥۷٥٥و ٥۰°/۳۳۲۲ مختص شیرین‌بیان می‌باشد افزودن ریشه شیرین بیان به فیلم‌ها، شدت قله‌ی 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 می‌باشد. پیک‌های θ۲ مشاهده شده در۳۰°/۰۰۲۲، ۳۰°/۰۰٦۱و ۳۱°/۰۰٤۷ مختص نانوذرات سولفات مس می‌باشد همچنین این پیک‌ها معمولاً به فاز آمورف پروتئین‌ها نسبت داده می‌شود، همچنین ظاهر شدن یک پیک در ۲θ می‌تواند به دلیل قسمت کریستالی پلیمر باشد. به این ترتیب و با توجه به شکل می‌توان ساختار فیلم حاصل از موسیلاژ گل پنیرک و متغیرهای افزوده را نیمه بلورین در نظر گرفت. در طیف موسیلاژ گل پنیرک / شیرین‌بیان/ نانوذرات سولفات مس، دارای سه پیک می‌باشد. پیک‌های θ۲ مشاهده شده در۲۹°/۰۰۲۲، ۳۰°/۰۰٦۱ ۳۲°/۰۰۲۱ مختص شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس می‌باشد. این طیف تا حدود زیادی مشابه طیف نانوذرات سولفات مس است که ساختار نیمه آمورف دارند. نتایج نشان می‌دهد که با اضافه کردن نانودرات سولفات مس باعث کاهش خواص کریستالی فیلم می‌شود میدانجی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که افزودن TiO_2-Ag به لایه‌ها باعث کاهش خواص کریستالی فیلم می‌شود [۱۷].

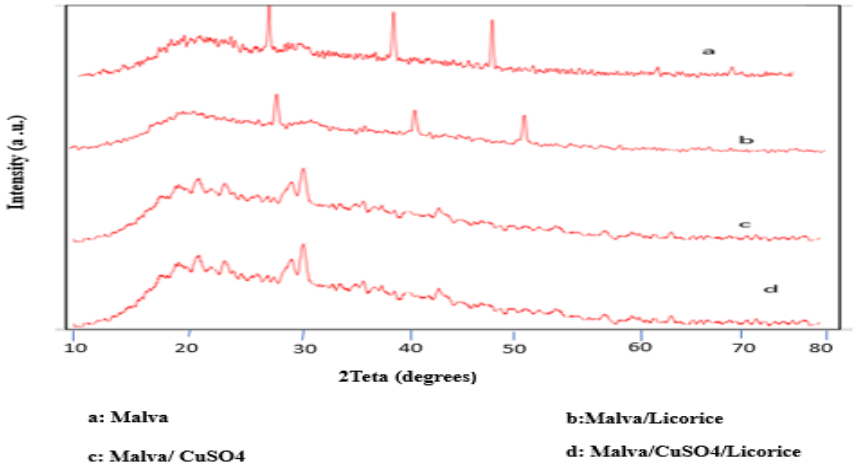

Figure 3-3: X-ray diffraction spectrum (XRD) of the mucilage films of Panirak flower with Shirin-Bian and copper sulfate nanoparticles

۳-٤- فوریه مادون قرمز (FTIR)

به منظور بررسی پیوندهای جدید در فیلم‌های تولیدی و مطالعه ویژگی پیک‌های مربوط به موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس طیف FTIR در شکل ۳-٤- 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). همان طور که ملاحظه می‌گردد، پیک‌های مشاهده شده در محدوده cm^{-1} ۳۲۰۰ تا ۳٦۰۰ مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای O-H (هیدروکسیل) می‌باشد که در حلقه پیرانوز وجود دارد. و پیک‌ها در محدوده cm^{-1} ۲۹۰۰ به حضور ارتعاشات کششی متقارن CH2 اختصاص دارد. پیک محدوده cm^{-1} ۱٥۹٦تا cm^{-1} ۱٦۰۰ مربوط به ارتعاش خمشی NH از پیوندهای آمیدی نوع یک و دو است در حالی که جذب در cm^{-1} ۱۲۲۰ تا cm^{-1} ۱٤٦۱ 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} ۱۰۷۰ CH2-O-CH2 (ارتعاش خمشی پیوند آمیدی) NH محدوده cm^{-1} ۷۰۰ دارد [۱۸]. همانطور که مشخص است، طیف‌های موسیلاژ گل پنیرک با کامپوزیت‌های آن تفاوت چندانی ندارد، زیرا گروه‌های عاملی در نانودرات سولفات مس شبیه به موسیلاژ گل پنیرک می‌باشد و بنابراین پیک های آن‌ها با پیک های 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 جابه جایی 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، برهمکنش های الکترواستاتیکی بین اجزای کامپوزیت وجود دارد.که نتایج تحقیق آن‌ها نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کند. [۱۹].

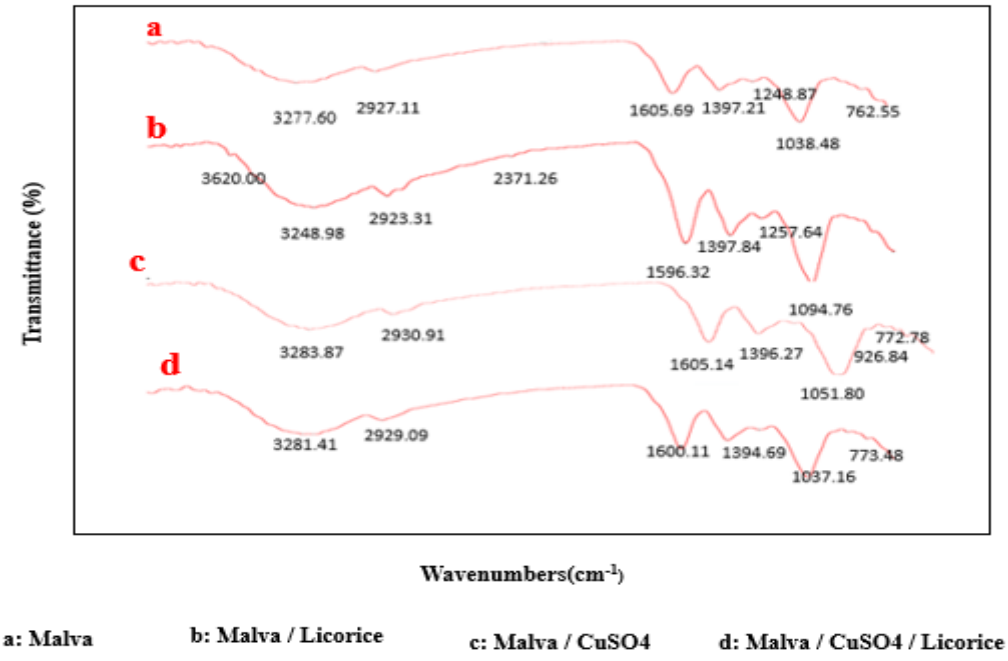

Figure 3-4: FTIR results of the mucilage film of Panax flower modified with Shirin-Bian and copper sulfate nanoparticles

۳-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) فیلم‌های موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین‌بیان و نانودرات سولفات مس در شکل ۵-۳- 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 شیرین‌بیان نسبت به موسیلاژ گل پنیرک ناهمگن‌کم‌تری دارند و این امر می‌تواند به خاطر گروه‌های هیدروکسیل باشد که حلالیت خوبی دارد موسیلاژ گل پنیرک و شیرین‌بیان به طور مساوی در ماتریس پلیمری توزیع شدند، ولی برهمکنش بین آن‌ها بطور کامل اتفاق نیفتاده است و تمامی قسمت‌های فیلم موسیلاژ با شیرین‌بیان 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 شیرین‌بیان 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].

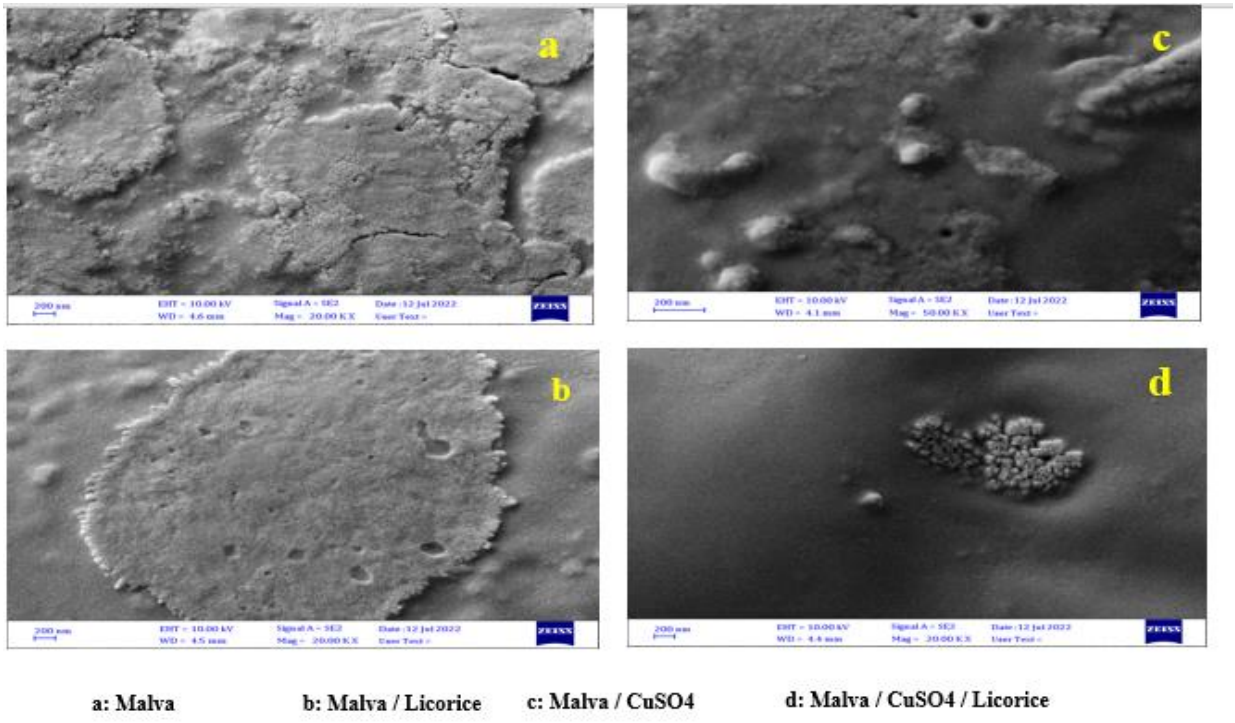

Figure 3-5: Scanning electron microscope images of mucilage films of Panerak flower modified with Shirin-Bian and copper sulfate nanoparticles

۳-٦- خواص حرارتی (DSC)

آنالیز حرارتی فیلم‌های نانوکامپوزیتی بر پایه موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس در شکل ۳-٦- 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 ار 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 کاملا 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 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 لزوما این دو دما باهم افزایش یا کاهش نمی‌یابند. طبق نتایج مشاهده شد که با افزودن نانوذرات سولفات مس و شیرین‌بیان، T_g و T_m 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_g و T_m 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].

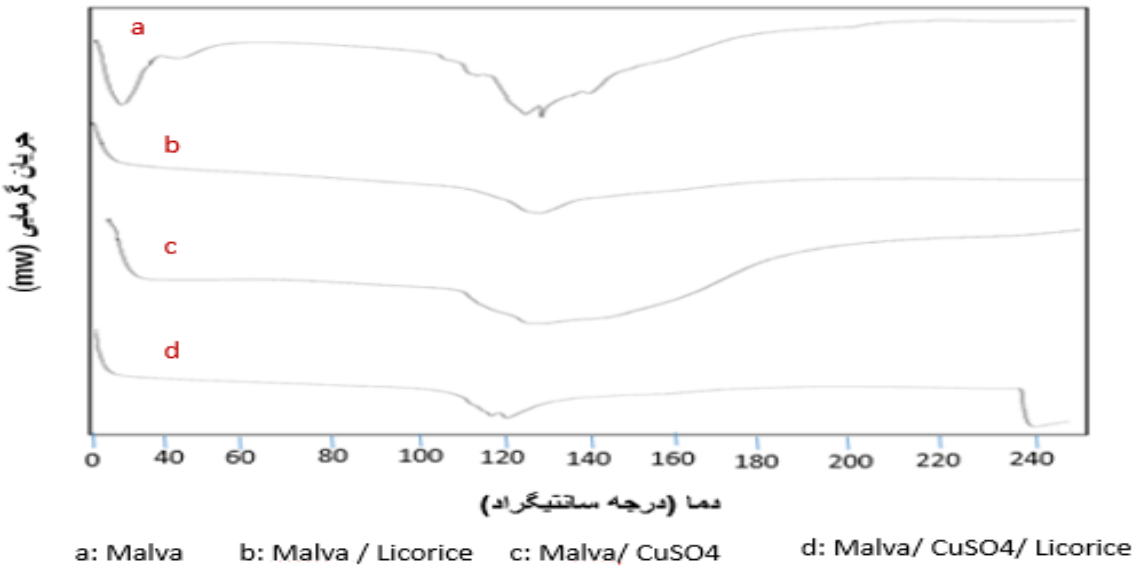

Figure 3-6: Measurement of the thermal properties of the mucilage films of the Paneerak flower modified with saffron and copper sulfate nanoparticles.

٤- نتیجه‌گیری

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 همین‌دلیل در این پژوهش فیلم موسیلاژ گل پنیرک اصلاح شده با شیرین بیان و نانوذرات سولفات مس تولید شد. نتایج نشان داد که با افزایش شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس، میزان آنتی- اکسیدانی فیلم افزایش یافت. افزودن شیرین‌بیان و نانوذرات سولفات مس باعث فعالیت ضدمیکروبی فیلم بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس اشریشیاکلی* شد. نانوذرات 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 ناهمگن‌تر بودند. شیرین‌بیان 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.

٥- منابع

[1] Eghbaljoo, H., Sani, I. k., Sani, M, A., Rahati, S., MANSUIRI, E., Molaee, -Aghaee, E., & Jafari, S.M. (2022). Advances in plant gum polysaccharide; Sources, techno-functional propertics, and applications in the food industry-A review. International Journal of Biological Macromolocules.

[2] Pirsa S, Farshchi E, Roufegarinejad L (2020) Antioxidant/antimicrobial flm based on carboxym- ethyl cellulose/gelatin/TiO 2–Ag nano-composite. J Polym Environ 28(12):3154–3163 5.

[3] Pirsa S (2020) Biodegradable flm based on pectin/Nano-clay/methylene blue: Structural and physi- cal properties and sensing ability

for measurement of vitamin C. Int J Biol Macromol 163:666–675 6.

[4] (4)Pirsa S, Aghbolagh Sharif K (2020) A review of the applications of bioproteins in the preparation of biodegradable flms 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 flm 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 flm 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 flm 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). Modifed 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 flm. 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.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Preparation of antioxidant and antibacterial film based on mucilage of Panerak 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

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:
sevdakhakpour1@gmail.com

ABSTRACT

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.