Archive of SID

مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۹ شماره ۱/ سال ۱۳۹۸/ صفحات ۱ تا ۱۴

تهیه و شناسایی فیلم نانوکامپوزیت کاراگینان/نانوکلی حاوی عصاره اسپند

محمد قربان‌پور[۱*] و اکبر مهینی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۱

[۱] دانشیار گروه مهندسی شیمی دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه محقق اردبیلی

[۲] کارشناس‌ارشد گروه صنایع غذایی دانشگاه آزاد سراب

*مسئول مکاتبه: Email: Ghorbanpour@uma.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: افزودن عصاره اسپند می تواند منجر به بهبود خواص ضدمیکروبی و فیزیکوشیمیایی فیلم کاراگینان شود. **هدف**: هدف از این پژوهش تهیه فیلم‌های ضدمیکروبی بر پایه بیوپلیمرکاراگینان جهت بسته بندی فعال مواد غذایی و کاهش آلودگی محیط زیست ناشی از تجمع مواد بسته بندی سنتزی می‌باشد. **روش کار**: فیلم‌های نانوکامپوزیت کاراگینان حاوی ۳ درصد وزنی نانورس (مونتموریلونیت) وسه سطح غلظتی ۱، ۲ و ۳ درصد عصاره اسپند با روش کستینگ تهیه شده و خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی آن‌ها علیه باکتری‌های*اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور بررسی تغییرات حاصل از افزودن عصاره اسپند، به فیلم‌های نانوکامپوزیت کاراگینان/نانوکلی تصاویر میکروسکوپ الکترونی، آنالیز وزن سنجی حرارتی، طیف نور مرئی- فرابنفش و مادون قرمز با تبدیل فوریه از فیلم‌ها تهیه گردید. **نتایج**: تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی حاصل از فیلم‌های کاراگینان-/گلیسرول/نانورس حاوی عصاره و بدون عصاره، سطحی حاوی نانورس را نشان می‌داد که در کل فیلم پراکنده شده بودند. آزمون طیف‌سنجی فرابنفش- مرئی نشان داد که با افزودنعصاره اسپند میزان عبور نور فرابنفش و نور مرئی فیلم کاراگینان/نانوکلی/گلیسرول کاهش می یابد. این کاهش در نمونه حاوی ۳ ٪ عصاره برای نور فرابنفش از۲/٦ ٪به ۰/۳ ٪ و برای نور مرئی ازو ۱۷/۷ ٪به ۹/۲ ٪ بوده است. بر اساس آنالیز وزن سنجی حرارتی افزودن عصاره اسپند به فیلم کاراگینان تاثیر چندانی بر پایداری حرارتی فیلم تهیه شده نداشت. استحکام کششی و ازدیاد طول فیلم کاراگینان/نانوکلی/گلیسرول بدون عصاره معادل ۱۵/۹ مگاپاسکال و ۱۵/۰ میلی‌متر بود. نتایج آزمون کشش حاکی از آن بود که وجود عصاره اسپند در زمینه پلیمری فیلم کاراگینان/نانوکلی/گلیسرول موجب افزایش تقریبا ۲ برابری استحکام کششی و افزایش بیش از ۳ برابری ازدیاد طول نسبت به فیلم کاراگینان/نانوکلی/گلیسرول بدون عصاره شد. در نهایت بر اساس تست های ضدمیکروبی، عصاره اسپند از مواد ضدمیکروبی مناسب برای تولید فیلم‌ها و پوشش‌های زیست‌تخریب‌پذیربرای بسته‌بندی مواد غذایی مختلف می‌باشد. **نتیجه‌گیری نهایی**: وجود عصاره اسپنددر زمینه پلیمری کاراگینان موجب افزایش استحکام مکانیکی، پایداری حرارتی و خواص ضدمیکروبی فیلم کاراگینان می‌شود.

واژگان کلیدی: اسپند، خواص ضدمیکروبی، خواص مکانیکی، فیلم خوراکی، کاراگینان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه پلیمرهای مصنوعی با پایه مواد نفتی، گستره بسیار عظیمی از مواد اولیه در جهان را در بر می‌گیرند که قابلیت تخریب ناچیزی در طبیعت داشته و جزء منابع تجدید ناپذیر محسوب می‌گردند. در راستای کاهش وابستگی به مواد و مصنوعات بر پایه نفت و سوخت‌های فسیلی و جلوگیری هرچه بیشتر از تبعات زیست‌محیطی آن، تقاضای گسترده‌ای برای توسعه فناوری‌های نو در زمینه تولید محصولات زیست‌سازگار ایجاد شده است. در این زمینه استفاده از مواد اولیه تجدیدپذیر و سازگار با محیط زیست مورد توجه زیادی قرارگرفته است.

نانوکامپوزیت‌های پلیمری، موادی هستند که درآن‌ها از ترکیبات آلی یا غیرآلی گوناگون در ابعاد نانو به‌عنوان پرکننده استفاده می‌شود. فیلم‌های حاصل از ترکیب نانو مواد و زیست پلیمرها و یا به اصطلاح نانوکامپوزیت‌های زیست پلیمری، خواص کاربردی مطلوب‌تری از خود نشـــان می‌دهند. از مهمترین خواص می‌توان به افزایش مقاومت مکانیکی، کاهش نفوذپذیری نســـبت به بخارآب، افزایش بازدارندگی در برابر نفوذ گازها، افزایش کارایی فیلم به‌عنوان بســـته‌بندی فعال، افزایش مقاومت حرارتی ماده بســـته‌بندی شده، ایجاد شـــفافیت و بهبود خواص ظاهری فیلم اشاره کرد (ریم و همکاران ۲۰۱۳).

نانورس‌ها مهمترین و پرکاربردترین موادی می‌باشند که در تولید نانوکامپوزیت‌های زیست پلیمری مورد استفاده قرار می‌گیرند. نانو رس (مونت‌موریلونیت) متشکل از صفحاتی به ضخامت چند نانومتر و طول ۱۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر می باشند که موجب نسبت منظر بسیار بالای ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ در آنها می شود. نانورس بـه دلیـل نسـبت منظر بالا (Aspect ratio) و سطح گسترده خود، به طور موثری به عنوان یک پرکننـده موجـب تقویـت خـواص پلیمرهامی شـود (د آزردو ۲۰۰۹ و آرورا و پادوآ ۲۰۱۰). از آنجایی که لایه های رس سدی در برابر نفوذ گازها و بخـارآب ایجـاد می کند (با ایجـاد فضـای پـر پـیچ و خـم) ، بنـابراین افـزودن آن بـه پلیمرهای زیستی به طور موثری موجب افـزایش خـواص بازدارنـدگی آنهـا مـی گـردد (تانگ و همکاران ۲۰۰۹).

امروزه پلی‌ساکاریدهای مختلفی مانند سلولز، پکتین، مشتقات نشاسته، جلبک‌های دریایی و صمغ‌ها در تولید فیلم به کار می‌روند (نوری و همکاران ۲۰۱۸). کاراگینان از جمله پلی‌ساکاریدهای طبیعی است که کاربرد آن در زمینه تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی محافظت کننده از ماده غذایی درمقابل خشـک شـدن، نور و اکسـیژن، به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته اسـت (قربانپور و یوسفی ۱۳۹۷؛ ریم و وانگ ۲۰۱٤).

یکی از روش‌های موجود جهت تولید بسته‌بندی‌های فعال موادغذایی، افزودن ترکیبات فعال از جمله عوامل ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی به بسته‌بندی است (د آزردو ۲۰۰۹). ادویه‌جات و عصاره‌های آن‌ها یکی از انواع این نگهدارنده‌ها، می‌باشند. اسانس‌ها و ترکیبات آن‌ها نیز دارای طیف وسیعی از فعالیت ضدمیکروبی می‌باشند (دیبا و همکاران، ۱۳۸۸). در میان عصاره - حاصل از گیاهان مختلف، عصاره دانه اسپند یک از ترکیباتی است که دارای اثر ضدمیکروبی قابل ملاحظه ای می باشد (قربانپور و جاهدی ، ۱۳۹۵).

گیاه اسپند (*Peganum harmala*) یک گیـاه بـومی منـاطق خشـک مدیترانه شرقی تا شمال هند می‌باشد. البتـه ایـن گیـاه از آسـیای مرکزی منشا گرفته است ولی در حال حاضر در اکثر نقاط دنیا از جمله آفریقا، آمریکای شمالی، مکزیک و آمریکای جنوبی بصورت وحشی می‌روید. دانه‌های این گیـاه غنـی از کربوهیـدرات، لیپیـد، پروتئین، املاح معدنی، آلکالوئیدها و اسـیدهای آمینـه مـی‌باشـد. گیاه اسپند دربردارنده مواد ضد میکروبی از نوع فلاونوئیدها و آلکالوئیدها می‌باشد. دانه اسپند دارای آلکالوئیدهای نظیر هارمین، هارمالین، هارمالون است. هارمالین از نظر درمانی دارای اثر نیرو دهنده سیستم مرکزی اعصاب و ماده‌ای سمی است (دیبا و همکاران، ۱۳۸۸).

www.SID.ir

Archive of SID

شجاعی علی آبادی و همکاران (۲۰۱٤) بر روی خواص فیلم نانوکامپوزیت کاپاکاراگینان غنی شده با اسانس آویشن‌شیرازی و نانورس مطالعه‌ای انجام دادند. در مطالعه آنها فیلم‌هایی که فقط از کاپاکاراگینان ساخته شده بودند استحکام کششی معادل ۲٦/۲۹ مگاپاسکال داشتند، در حالیکه فیلم کاپاکاراگینان با ۱۰ ٪ نانورس، استحکام کششی با مقدار ۳٤/٦۷ داشتند. آنها همچنین نشان دادند که اثر ترکیبی نانورس و اسانس آویشن شیرازی بطور قابل توجهی باعث بهبود ازدیاد طول و استحکام کشش فیلم‌های کاپاکاراگینان شد (شجاعی علی آبادی و همکاران ۲۰۱٤). در تحقیقی دیگر، شجاعی علی آبادی و همکارانش در سال ۲۰۱۳ خواص فیزیکی، نوری، مکانیکی و آنتی اکسیدانی فیلم زیست تخریب پذیر کاپاکاراگینان حاوی مرزه را مطالعه نمودند. علاوه‌براین، آنها اثربخشی ضد میکروبی این فیلم‌هارا بر علیه پنج پاتوژن بررسی کردند (شجاعی علی آبادی و همکاران ۲۰۱۳). ریم و وانگ، در سال ۲۰۱٤ بر روی تهیه و خصوصیات نانوکامپوزیت مبتنی بر فیلم کاراگینان تقویت شده با موادمعدنی خاکرس و نانوذرات نقره مطالعه‌ای انجام دادند (ریم و وانگ ۲۰۱٤). آلوس و همکاران در سال ۲۰۱۱ خواص ممانعت از عبور بخار و اکسیژن فیلم‌های نانو کامپوزیت زیست تخریب پذیر کاراگینان و پکتین را بررسی کردند . در این کار خواص مانع از فیلم‌های زیست تخریب پذیر برای بسته بندی مواد غذایی با استفاده از پکتین تجاری و کاراگینان و نانو رس اصلاح شده مورد بررسی قرار گرفت (آلوس و همکاران ۲۰۱۱).

فرآیندهای عصاره‌گیری سنتی معمولاً بر پایه روش سوکسله همانند تقطیر، خیساندن و پرکولاسیون می‌باشد. بدین منظور گیاه را پس از خرد کردن در حلال مناسب قرار داده، از هم زدن و حرارت دادن برای افزایش سرعت استخراج استفاده می‌شود. این روش بسیار ساده می‌باشد، ولی نیاز به زمان استخراج طولانی و مقدار حلال نسبتاً زیادی دارد. از سوی دیگر، استفاده از حرارت می‌تواند منجر به آسیب رساندن به ترکیبات حساس به دما و در نتیجه تولید مواد نامطلوب شود. بدین جهت روش‌های جدیدتری همانند عصاره‌گیری توسط امواج فراصوت، عصاره‌گیری با امواج مایکروویو و عصاره‌گیری توسط سیال فوق بحرانی گسترش یافته‌است (ویناتورو ۲۰۱۱ و سانتیو و همکاران ۲۰۰٤).

درعصاره‌گیری توسط امواج فراصوت، امواج فراصوت با فرکانس بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز، به داخل ماده نفوذ کرده، موجب ایجاد شکنندگی و جمع شدن‌های پی در پی شده که در نتیجه آن حفراتی داخل ماده گیاه ایجاد می‌شوند. این حفرات به صورت نامتقارن به هم پیوسته و موجب خروج سریع مواد از داخل سلول‌ها به خارج از آن می‌شوند. به علاوه این امواج می‌توانند موجب تخریب دیواره سلول‌های زیستی شده و موجب تسهیل خروج مواد گردند (لوک دکاسترو و گارسیا آیسو ۱۹۹۸).

این روش ارزان، ساده و موثر بوده و افزایش بازده عصاره‌گیری و افزایش سرعت واکنش از مهم ترین محاسن آن به شمار می‌رود (کمیته و همکاران ۲۰۱۲). علاوه‌براین، در این روش دمای کمتری برای عصاره‌گیری لازم است در نتیجه به ترکیبات حساس به حرارت، کمتر آسیب می‌رسد.

هدف از این تحقیق تهیه فیلم‌های خوراکی کاراگینان حاوی عصاره اسپند استخراج شده با کمک فناوری اولتراسوند و بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم تهیه شده می باشد.

مواد و روش‌ها

کاپاکاراگینان و مونت موریلونیت اصلاح شده با نام تجاری K10 Closite از شرکت سیگما-آلدریچ، مولرهینتون‌براث، نوترینت آگار، اتانول و گلیسرول از شرکت مرک آلمان تهیه شد. دانه گیاه اسپند از عطاری سید عطار در بازار تبریز خریداری شد. *باکتری اشرشیاکلی* (PTCC 1270) و *استافیلوکوکوس* (PTCC

www.SID.ir

Archive of SID

1112) از سازمان پژوهش‌های علمی وصنعتی ایران تهیه شد.

تهیه نمونه‌ها

تهیه عصاره اسپند با استفاده از امواج مافوق‌صوت

به منظور تهیه عصاره اسپند، ۱۰ گرم از دانه آسیاب شده گیاه اسپند توزین شده و با ۹۰ میلی لیترحلال اتانول مخلوط گردید. سپس محلول، به مدت ۱۰ دقیقه درون حمام اولتراسونیک (نوید آزما پژوهش، ساخت ایران) در دمای محیط در معرض امواج مافوق صوت با توان ٤۰۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز و به صورت دوره‌ای متوالی ناپیوسته ۷ ثانیه روشن و ۳ ثانیه خاموش قرار گرفت (قربانپور و جاهدی، ۱۳۹۵). از یک حمام یخ دوجداره برای جلوگیری از تبخیر حلال در اثر افزایش دمای محلول استفاده گردید. سپس عصاره استخراج شده با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ و توسط پمپ خلاء از مواد جامد جدا گردید و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره دریخچال نگهداری شد.

تهیه فیلم کاراگینان

فیلم‌های کاپاکارگینان به روش قالب‌گیری محلول تهیه شد. برای این منظور ابتدا محلول ۳ درصد وزنی نانورس (بر مبنای وزن خشک کاراگینان) از طریق انحلال مقدار مناسبی نانورس در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه و هم زدن شدید به مدت ۲٤ ساعت بر روی همزن مغناطیسی و در دمای محیط تهیه گردید. سپس محلول نانورس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک در معرض امواج مافوق صوت با توان ۱۰۰ وات و در دمای محیط قرار گرفت. در ادامه، ۲ گرم کاراگینان به همراه ۰/٦ گرم گلیسرول (۳۰ درصد وزنی بر مبنای وزن خشک کاراگینان) را توزین نموده و طی ۲۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به محلول نانورس افزوده شد. در انتها عصاره اسپند در سه سطح غلظتی ۱، ۲و ۳ درصد (درصد حجمی نسبت به حجم محلول) با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۵ دقیقه به طور یکنواخت درون محلول توزیع گردیدند. پس از گذشت زمان مذکور، محلول تا دمای ٦۵ درجه سانتی‌گراد خنک شده درنهایت ۳۰ میلی لیتر از محلول نهایی توسط پیپت بر روی پتری دیش پلاستیکی با قطر ۹ سانتیمتر به آرامی ریخته شده و به مدت ۲٤ ساعت در گرمخانه در دمای۰/۷± ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. فیلم‌های خشک شده به آرامی از پلیت‌ها جدا شده و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در کیسه پلاستیکی از جنس پلی اتیلین نگهداری شدند (نوری و همکاران ۲۰۱۸).

ارزیابی خصوصیات و ویژگی فیلم‌ها

ضخامت فیلم‌های تولید شده با استفاده از یک ریزسنج دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. اندازه-گیری‌ها در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شد و میانگین ضخامت محاسبه شده در تعیین مقاومت کششی استفاده گردید.

خواص نوری فیلم‌ها با استفاده از طیف‌سنجی نور فرابنفش- مرئی اندازه‌گیری شد. برای انجام این آزمون، فیلم‌ها از طول موج ۱۹۰ تا ۸۹۰ نانومتر اسکن شدند و نمودار میزان جذب نور بر حسب طول موج رسم شد. طیف‌سنجی در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شد و میزان عبور نور فرابنفش و مرئی توسط فیلم‌ها، در دو طول موج ۲۸۰ و ٦٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (نوری و همکاران ۲۰۱۸).

بررسی ریزساختار فیلم‌های کاراگینان به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام شد. برای تهیه تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح نمونه‌ها، ابتدا نمونه‌ها به کمک چسب نقره بر روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در دستگاه پوشش دهنده/پاشنده تا نقطه بحرانی خشک شده و به مدت ۵ دقیقه با طلا پوشش داده شدند. تصویر برداری از نمونه‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی با کاربری ۱۵ کیلوولت و در بزرگنمایی‌های مختلف انجام گرفته است (قربانپور ۲۰۱٦).

برای تعیین درصد رطوبت فیلم‌ها، ابتدا فیلم‌های کاراگینان در اندازه ۳ در ۳ سانتی‌مترمربع بریده شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

سپس نمونه‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دسیکاتور محتوی سیکیاژل با رطوبت نسبی۵۵ ٪ و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت زمان موردنظر، وزن اولیه‌ی نمونه‌ها (W_i) با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری گردید (سورادک و همکاران ۲۰۱۲). در مرحله‌ی بعد نمونه‌ها به مدت ۲٤ ساعت در گرمخانه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از گذشت این زمان مجدداً وزن نهایی آن‌ها تعیین (W_f) شد. درصد رطوبت فیلم‌های محتوی پلیمر کاراگینان از رابطه (۱) محاسبه شد:

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times ۱۰۰ \qquad (۱)$$

طیف FT-IR فیلم‌ها با هدف تعیین گروه‌های عاملی در فیلم‌های سنتزشده و تشکیل پیوند میان پرکننده و پلیمر زمینه، با استفاده از دستگاه FT-IR اسپکتوفتومتر (Perkin Elmer، آمریکا) و در گستره cm^{-1} ٤۰۰۰–٤۰۰ با رزولیشن cm^{-1} ٤ تعیین گردید (قربانپور ۲۰۱۵).

آنالیز پایداری حرارتی و تجزیه گرمایی فیلم‌های کاراگینان، با روش وزن‌سنجی حرارتی (Linseis STA PT-1000 ، آلمان) در فاصله دمایی ۲۵ الی۶۰۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ افزایش دما ۱۰ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و تحت نیتروژن اتمسفری انجام شده است و در نهایت نمودار تغییرات وزن نمونه نسبت به تغییرات دما رسم و تجزیه و تحلیل گردید (نوری و همکاران ۲۰۱۸).

آزمایشات کشش با استفاده از دستگاه Instron Universal Testing Machine (SANTAM, STM-20, Iran) گرفت. پیش از انجام آزمایشات نمونه‌ها از نظر رطوبتی در داخل دسیکاتور محتوی سیلیکاژل با رطوبت نسبی مشخص تعدیل گردیدند. فیلم‌ها به شکل مستطیل و به ابعاد ٦/۵ × ۲ سانتی‌مترمربع بریده شدند. فاصله بین دو فک ۳۰ mm و سرعت حرکت فک‌ها ۵ mm/min انتخاب شد آزمایشات کشش بر روی هر نمونه فیلم ۳ الی ۵ بار انجام گرفت و فاکتورهایی شامل حداکثر نیرو در نقطه پاره شدن، ماکزیمم جابجایی از روی منحنی نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمدند و میانگین آن‌ها در محاسبه مقاومت کششی، درصد کرنش در نقطه شکست استفاده گردید (نوری و همکاران ۲۰۱۸). این آزمون حداقل سه مرتبه بر روی هر نمونه انجام شد.

فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌ها با تکنیک شمارش بر روی باکتری *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد مطالعه قرار گرفت. یک قطعه از فیلم مورد نظر با ابعاد یک در یک سانتی‌متر مربع بریده شد و به ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی در غلظت تنظیم شده معادل ۰/۵ مک فارلند به ۵ میلی‌لیتر براث مولر هینتون اضافه شد. کشت میکروبی پس از آن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت. ممانعت از رشد با زمان توسط تلقیح ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت بر روی صفحات نوترینت آگار انجام شد. کلنی باکتری‌ها با کنترل شدن در گرم‌خانه در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت۲٤ ساعت شمارش و مقایسه شد. تمام آزمایش برای تعیین اعتبار داده‌ها دو مرتبه تکرار گردید. اثر ضد باکتریایی با استفاده از معادله (۲) تعیین شد :

$$\text{درصدکشندگی} = (B-C)/B \times 100 \qquad (۲)$$

در این رابطه B، تعداد باکتری‌ها در نمونه‌ی شاهد (CFU/نمونه) و C تعداد باکتری‌ها در نمونه‌ی تصفیه شده می‌باشد.

آنالیز آماری براساس طرح آماری آزمایش فاکتوریل به طور کاملا تصادفی با تحلیل واریان (ANOVA) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مقایسه میانگین داده‌هابراساس آزمون دانکن با نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت.

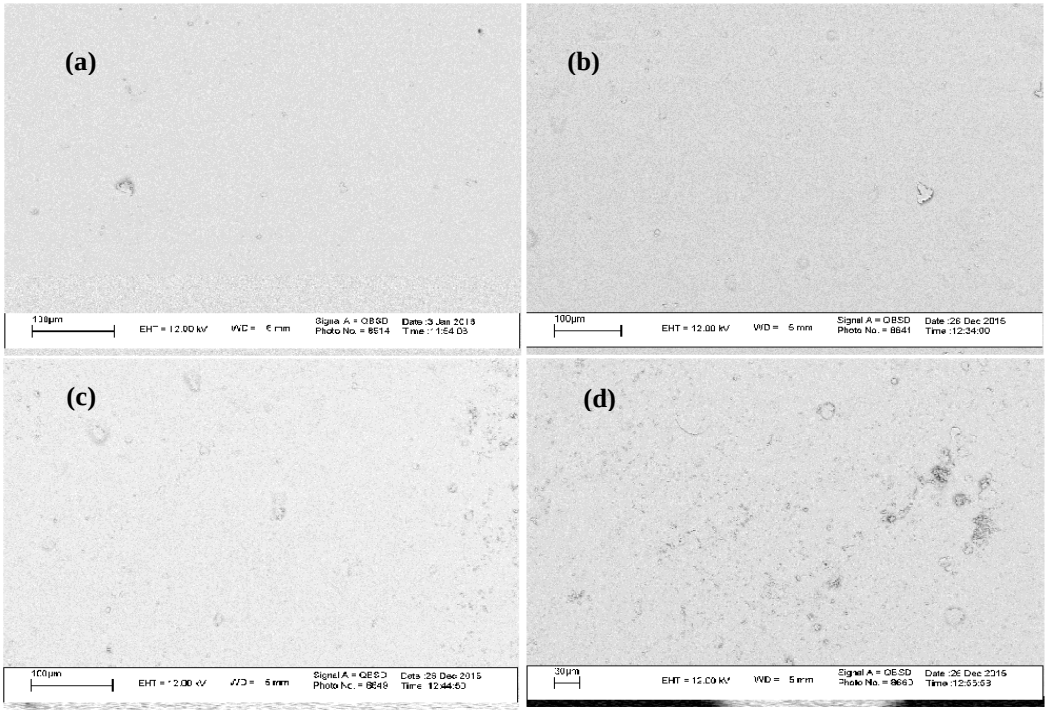
نتایج و بحث

شکل ۱ مربوط به تصاویر SEM فیلم‌های کاراگینان حاوی مقادیر مختلفی عصاره اسپند است. تصویر SEM فیلم کاراگینان/گلیسرول/نانورس بدون عصاره اسپند و

www.SID.ir

Archive of SID

حاوی عصاره سطحی متشکل از نانورس را نشان می‌دهد که ذرات نانورس بـه طـور مناسـبی در ماتریس پلیمری توزیع شده اند و نمـای سـطحی بدون ترک (منفذ) بودند. در سال ۲۰۱٤ کنمانی و همکاران فیلم کاراگینان با عصاره دانه گرپ‌فروت را تهیه کردند (کانمی و ریم ۲۰۱٤). بر اساس مشاهدات آن‌ها با افزایش مقدار عصاره، ساختار اسفنجی با حفرات ریز در فیلم تشکیل شد. بنابراین میان نتایج تحقیق حاضر و یافته‌های کنمانی و همکاران تفاوت وجود دارد.



شکل ۱- تصاویر SEM فیلم‌های کاراگینان/گلیسرول/نانورس (الف) حاوی ۱ (ب)، ۲ (ج) و ۳ ٪ (د) عصاره اسپند

Figure 1- SEM images of carrageenan/glycerol/nanoclay films (a) containing 1 (b), 2 (c) and 3 % (d) *Peganum Harmala* Extract

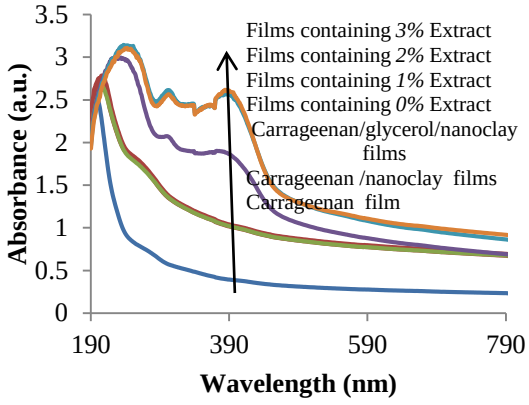
شکل ۲ طیف جذب نور فرابنفش- مرئی فیلم‌های مبتنی بر بیوپلیمر کاراگینان را نشان می‌دهد. همانطور که در نمودار جذب نور مشاهده می‌شود، فیلم‌های کاراگینان و کاراگینان/گلیسرول/نانورس تهیه شده طیف جذب نور مشابه‌ای دارند. در مورد فیلم‌های کاراگینان/گلیسرول/نانورس بدون عصاره و حاوی عصاره، یک پیک بیشینه در حدود ۱۹۵ نانومتر مشاهده می‌شود. با افزودن عصاره اسپند و افزایش غلظت آن، میزان جذب نور در این پیک افزایش یافته است که افزایش درصد عصاره در ساختار فیلم را اثبات می‌نماید. از سوی دیگر، این امر تا حدی منجر به افزایش طول موج این پیک شده است. دلیل این امر را می‌توان در برهم‌کنش فیلم و عصاره جستجو کرد که بر روی گروه‌های کروموفور کاراگینان تاثیر گذاشته، افزایش طول موج را به همراه داشته است. از سوی دیگر، پس از افزودن عصاره یک پیک جدید در حدود ۳۹۰ نانومتر مشاهده می شود. همانند پیک موجود در ۱۹۵ نانومتر با افزایش غلظت عصاره، میزان جذب نور در این پیک نیز افزایش یافته است.

یکی از فاکتورهای بسیار مهم و اصلی در بسته‌بندی مواد غذایی، محافظت ماده غذایی در برابر نور به ویژه نور فرابنفش است. ممانعت از عبور نور فرابنفش از طریق پوشش مواد غذایی برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها، رنگبری مواد غذایی بسته‌بندی

www.SID.ir

Archive of SID

شده، ایجاد بوی نامطلوب و از بین رفتن ارزش غذایی ماده بسته‌بندی شده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از طرف دیگر میزان عبور نور مرئی که شاخصی برای شفافیت فیلم بسته‌بندی محسوب می‌شود، در کنار ممانعت از عبور نور فرابنفش حائز اهمیت است.



شکل ۲- طیف‌سنجی جذبی فرابنفش- مرئی فیلم‌های کاراگینان-/گلیسرول/نانورس حاوی عصاره اسپند

Figure 2- UV-Vis spectra of carrageenan/glycerol/nanoclay films containing *Peganum Harmala* Extract

جدول ۱- درصد عبور نور فرابنفش و نور مرئی

Table 1- Percentage of UV and Visible light transmittance ($T_{280\ nm}$ and $T_{660\ nm}$)

Sample	Transmittance percent	
	Visible	UV
Carrageenan film	55.1±0.3[a]	21.1±0.6[a]
Carrageenan /nanoclay films	18.3±1.6[b]	2.9±.8[b]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films	17.7±1.6[b]	2.6±0.6[b]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films containing 1% Extract	15.0±1.5[c]	0.7±0.02[c]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films containing 2% Extract	9.6±0.5[d]	0.3±0.02[c]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films containing 3% Extract	9.2±0.7[d]	0.3±0.02[c]

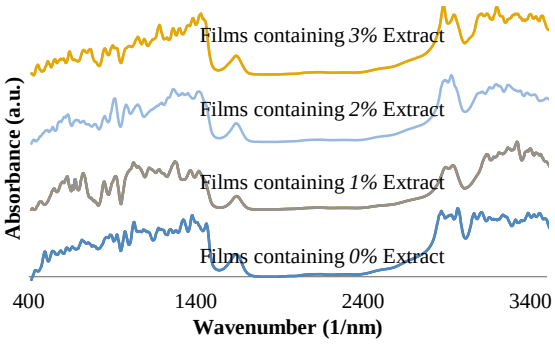
[a,b,c] means within the same column with different superscripts differ significantly ($p<0.05$)

در جدول ۱ درصد عبور نور فرابنفش و مرئی فیلم‌های محتوی پلیمر کاراگینان آمده است. با افزودن عصاره به فیلم کاراگینان، عبور نورفرابنفش و نور مرئی کاهش یافته است. کاهش این دو کمیت با افزایش میزان عصاره، افزایش یافته است که با نتایج گزارش شده در مراجع هم خوانی دارد (کانمی و ریم ۲۰۱٤).

در شکل ۳ طیف FT-IR فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی بر پایه کاراگینان نشان داده شده است. فیلم کاراگینان/گلیسرول/نانورس بدون عصاره دارای چندین پیک مشخصه در محدوده ٦۰۰ تا ۳۵۰۰ cm^{-1} می‌باشد. پیک عریض موجود در محدوده ۳۱۰۰ تا ۳۵۰۰ cm^{-1} به ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل موجود در پلی ساکارید نسبت داده می‌شود. پیک‌های موجود در cm^{-1} ۲۹٦٦/۲ و ۲۸٦۸/۸ به ارتعاشات کششی گروه‌های C-H در زنجیره پلیمر کاراگینان نسبت داده می‌شود. یک پیک مربوط به آمید نوع اول در حدود cm^{-1} ۱٦٤۱/۸ در طیف تمامی کامپوزیت‌ها مشاهده می‌شود. همچنین، در cm^{-1} ۹۲۹/۲ و ۸۸۷/۸ بترتیب پیک مربوط به ارتعاشات کششی C-O-C ۳، ٦-انیدرو-D-گالاکتوزوگالاکتوز-٤-سولفات مشاهده می‌شود (کانمی و ریم ۲۰۱٤). پیک‌های موجود در نمونه‌ها پس از افزودن عصاره اسپند مشابه فیلم کاراگینان/گلیسرول/ نانورس بدون عصاره می‌باشد. این امر دلالت بر حفظ ساختار اولیه کاراگینان پس از افزودن عصاره دارد. تعدادی از این پیک‌ها با افزایش غلظت عصاره، به طول موج بالاتر و پایین‌تر تغییر یافته‌اند و یا بر شدت برخی افزوده شده است. این نوع از رفتار از الگوی اختلاط امتزاج پذیر پیروی می‌کند که تغییر در مکان پیک با قدرت برهم‌کنش ارتباط دارد (نوری و همکاران ۲۰۱۸). دانه‌های گیاه اسپند غنی از کربوهیدرات، لیپید، پروتئین، املاح معدنی، آلکالوئیدها و اسیدهای آمینه می‌باشد. بنابراین، پس از افزودن عصاره این گیاه به فیلم گروه های عاملی متنوعی همانند هیدروکسیل، آمین، کربونیل و غیره در طیف حاصل وجود دارد. بدلیل تنوع بسیار زیاد مواد موجود در عصاره تعداد پیک های موجود در عصاره بسیار زیاد بوده و بر هم نهی برخی از این پیک‌هاشناسایی طیف را بسیار مشکل می کند.

www.SID.ir

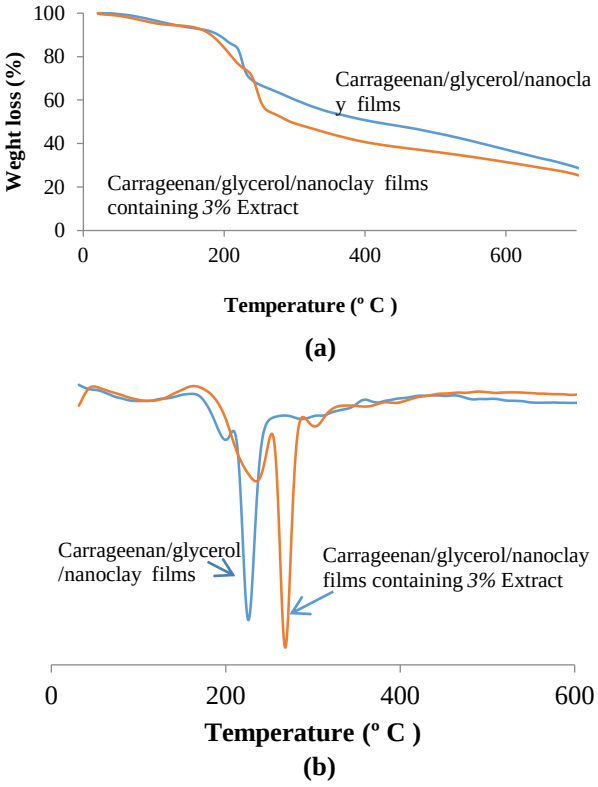
Archive of SID



شکل ۳- طیف FT-IR فیلم‌های کاراگینان/گلیسرول/نانورس حاوی عصاره اسپند

Figure 3- FT-IR spectra of carrageenan/glycerol/nanoclay films containing *Peganum Harmala* Extract

پایداری حرارتی‌فیلم‌های کاراگینان/گلیسرول/نانورس (الف) حاوی ۳ ٪ عصاره اسپند (ب) در شکل ٤ نشان داده شده است. همانطور که در تصاویر مشاهده می‌شود تجزیه حرارتی فیلم‌های کاراگینان شامل سه مرحله می‌باشد. مرحله اول که محدوده دمایی ۲۰۰-C° ۳۰ است که در آن تبخیر آب اتفاق می‌افتد. در مرحله دوم که در حدود دمای ۲۷۰C° است، مربوط به تبخیر گلیسرول می‌باشد. در نهایت، در محدوده دمایی٤٠٠C° تجزیه ماتریس پلیمر رخ می‌دهد (کامپوس و همکاران ۲۰۱۱). نمودار TGA فیلم کاراگینان قبل و بعد از افزودن عصاره، تاثیر چندانی بر میزان تجزیه حرارتی فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر کاراگینان ندارد، امّا براساس نمودار DTGA می‌توان دریافت که تخریب حرارتی در فیلم کاراگینان حاوی ۳ ٪ عصاره اسپند، تجزیه حرارتی گلیسرول در دمای بالاتری نسبت به فیلم کاراگینان بدون عصاره اتفاق افتاده است که ممکن است به دلیل پیوند میان گروه‌های عاملی نرم‌کننده و عصاره و هم چنین ماتریس پلیمری مربوط شود.



شکل ۴- منحنی TGA (الف) و DTGA (ب) فیلم‌های کاراگینان و نانوکامپوزیت‌های بر پایه پلیمرکاراگینان

Figure 4. TGA (a) and DTGA (b) of carrageenan/glycerol/nanoclay films containing *Peganum Harmala* Extract

تأثیر افزودن عصاره برروی رطوبت فیلم‌های کاراگینان در جدول ۲ ارایه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده، میزان رطوبت فیلم کاراگینان خالص و کاراگینان/ نانورس بدون عصاره مقداری در حدود ٪ ۱۳/٦ است. با افزودن گلیسرول میزان رطوبت فیلم‌ها بطور معنی داری($P<۰/۰۵$) به ٪۳۱/۷ افزایش می‌یابد. این امر بدلیل آبدوستی گلیسرول و گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار آن که توانایی پیوند هیدروژنی با آب را دارند، قابل توضیح است. در ادامه، پس از وارد کردن عصاره اسپند به مقدار ۱ تا ۳ ٪ به ساختار کاراگینان، رطوبت فیلم‌ها تغییر معنی‌داری نیافته است. بنابراین، عصاره اسپند تاثیر قابل توجهی بر روی رطوبت فیلم‌هاندارد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲-تأثیر افزودن عصاره اسپند برروی میزان رطوبت فیلم‌های کاراگینان

Table 2- Moisture of films

Sample	Moisture
Carrageenan film	13.6±0.2[a]
Carrageenan /nanoclay films	13.6±0.2[a]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films	31.7±0.7[b]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films containing 1% Extract	31.1±0.5[b]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films containing 2% Extract	30.7±0.9[b]
Carrageenan/glycerol/nanoclay films containing 3% Extract	31.2±1.2[b]

[a,b] means within the same column with different superscripts differ significantly ($p<0.05$)

تأثیر افزودن عصاره برروی ضخامت فیلم‌های کاراگینان در جدول ۳ ارایه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده، ضخامت فیلم‌ها بین ۰/۷٤ تا ۰/۹۹ میکرومتر متغیر بوده است. فیلم کاراگینان خالص بدون عصاره نانوکلی و نرم‌کننده گلیسرول، ضخامتی در حدود ۰/۷٤ میکرومتر داشت که پس از وارد کردن نانوکلی به ساختار کاراگینان، ضخامت فیلم تا ۰/۹۹ میکرومتر افزایش یافت. در مورد نانوکلی، این افزایش بدلیل حجم اشغال شده توسط این ذرات در فیلم می باشد. ولیکن افزایش ضخامت بهنگام افزودن گلیسرول مربوط به افزایش رطوبت فیلم‌هامی باشد (جدول ۲). در ادامه با افزایش عصاره اسپند ضخامت فیلم افزایش یافت. تغییر مقدار عصاره اسپند اضافه شده از ۱ تا ۳ ٪ منجر به تغییر معنادار در ضخامت فیلم نشد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۳ تأثیر افزودن عصاره اسپند برروی مقاومت کششی و افزایش طول فیلم‌های کاراگینان را نمایش می-دهد. میزان مقاومت کششی فیلم کنترل کاراگینان/نانوکلی/گلیسرول برابر ۱۵/۹ مگاپاسکال بود. مقاومت کششی و کرنش در نقطه شکست فیلم‌ها با افزایش میزان عصاره بطور معنی داری افزایش می‌یابد. این افزایش در مورد نمونه ۳ ٪ معادل ۲۹/۳ مگاپاسکال می‌باشد که حدود ۲ برابر فیلم بدون عصاره اولیه می‌باشد. افزایش قابل ملاحظه مقاومت کششی می‌تواند ناشی از پراکنش مواد موجود در عصاره با کاراگینان باشد. بعبارت دیگر، ایجاد یک برهم‌کنش قوی بین پلیمر کاراگینان و عصاره اسپند منجر به ایجاد اتصالات سراسری می شود. از سوی دیگر، افزودن عصاره منجر به افزایش معنی دار درصد افزایش طول فیلم‌ها در لحظه پاره شدن گردید. در غلظت‌های بالاتر عصاره مقدار درصد افزایش طول فیلم‌ها در لحظه پاره شدن افزایش بیشتری یافت. این افزایش در مورد نمونه ۱ ٪ چیزی در حدود بیش از ۳ برابر نمونه بدون عصاره بوده است.

بر اساس گزارشات موجود، اتصال بهتر ملکول‌های تشکیل دهنده فیلم و بهبود مقاومت کششی منجر به افزایش استحکام کششی و کاهش کشش پذیری می‌شود. اما در این تحقیق هر دو پارامتر افزایش یافته است. بر اساس تحقیق شجاعی علی آبادی و همکاران در سال ۲۰۱٤، ازدیاد طول و استحکام‌کشش فیلم‌های نانوکامپوزیت کاپاکاراگینان غنی شده با اسانس آویشن‌شیرازی و نانورس بطور قابل توجهی بهبود یافت (شجاعی علی آبادی و همکاران ۲۰۱٤). عصاره دانه‌های گیاه اسپند حاوی ملکول های مختلف دارای یک یا چند گروه از گروه های عاملی متنوعی همانند هیدروکسیل، آمین، کربونیل و غیره می باشد. در ملکول کاراگینان نیز گروه های عاملی هیدروکسیل وجود دارند. در نتیجه، افزودن عصاره دانه‌های گیاه اسپند به فیلم می تواند همزمان بعنوان عامل بهبود دهنده مقاومت کششی و ازدیاد کشش پذیری فیلم عملکرده و و در نتیجه فیلم حاصل محکم‌تر شده و از سوی دیگر افزایش طول فیلم‌ها را بهمراه داشته باشد.

طبق دسته‌بندی کورتا و جانسون فیلم‌هایی که دارای تنش ۱۰MPa–۱۰۰ و درصد کرنش۵۰–۱۰ ٪، جز فیلم-های با مقاومت مکانیکی متوسط هستند (ثاخیوت و همکاران ۲۰۱۰). فیلم‌های تولید شده در این پروژه دارای مقاومت مکانیکی ۳۰/۸–۱۵/۲ مگاپاسکال و درصد کرنشی بین ۳۵/۷–۱۷/٦ ٪ هستند که جز فیلم‌های دارای مقاومت مکانیکی متوسط هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- خواص فیزیکی‌فیلم‌های کاراگینان/گلیسرول/نانوکلی حاوی عصاره اسپند

Table 3- phyisico mechanical properties of carrageenan/glycerol/nanoclay films containing *Peganum Harmala* Extract

Percent of extract in the film	Thickness (μm)	Tensile strength (MPa)	Elongation (mm)
0	0.74±0.007[a]	15.9±3.3[a]	15.0±1.2[a]
1	0.99±0.01[b]	21.3±2.4[b]	47.1±2.6[b]
2	0.95±0.01[b]	28.0±4.9[b]	48.5±2.6[b]
3	0.84±0.01[b]	29.3±2.3[b]	52.4±3.2[b]

[a,b] means within the same column with different superscripts differ significantly ($p<0.05$)

در جدول ٤ اثر ضدمیکروبی فیلم‌های تولید شده علیه باکتری‌های مورد آزمایش نشان داده شده است. زمانیکه مواد ضدمیکروبی به درون فیلم افزوده می‌شوند، این ترکیبات به درون محیط کشت نفوذ کرده و خواص ضدمیکروبی خود را نشان می‌دهند. همانطور که این جدول نشان می دهد افزایش غلظت عصاره موجب افزایش درصد کشندگی فیلم تهیه شده می شود. این افزایش درصد کشندگی در مورد باکتری اشرشیاکلی (از ۹٦/۳٦ برای غلظت ۱٪ به ۹۹/۷۷ برای غلظت ۳٪ عصاره اسفند) بیش از استافیلوکوکوس اورئوس (از ۹۹/٦۷ برای غلظت ۱٪ به ۹۹/۹۸ برای غلظت ۳٪ عصاره اسفند) می باشد. علاوه بر این، بر اساس نتایج بدست آمده فیلم‌های تولیدی اثر ضدمیکروبی بالاتری در مقابل باکتری‌های گرم مثبت دارند. دلیل این امر را می توان در حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر ترکیبات ضد باکتریایی جستجو نمود (مددی و همکاران ۲۰۱۸ و قربانپور و همکاران ۲۰۱۷). این حساسیت بالای باکتری‌های گرم مثبت به دلیل عدم وجود دیواره سلولی لیپوپلی‌ساکاریدی است که این دیواره در باکتری‌های گرم منفی ممکن است از ورود ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری به عمل آورد. مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر مواد ضد باکتریایی با سطح هیدروفیلی غشای خارجی باکتری‌ها که غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکارید است و یک حائل در برابر نفوذ مولکول‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف ایجاد می کند و نیز با آنزیم‌های فضای پری‌پلاسمی (که قادر به شکستن مولکولهای وارد شده از خارج هستند) نیز در ارتباط می باشد. باکتری‌های گرم مثبت چنین غشای خارجی در ساختار دیواره سلولی ندارند.

جدول ۴- اثر ضدمیکروبی فیلم‌های تولیدشده

Table 4- Antibacterial properties of carrageenan/glycerol/nanoclay films containing *Peganum Harmala* Extract

Percent of extract in the film	Antibacterial activity	
	E. coli	S. aureus
0	0	0
1	96.36	99.67
2	99.59	99.69
3	99.77	99.98

نتیجه‌گیری

دراین پژوهش اثر افزودن عصاره اسپند استخراج شده به شیوه امواج اولتراسوند بر خواص فیزیکی، مکانیکی، ضدمیکروبی وریزساختاری فیلم‌های کاراگینان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش به شرح زیر است:

۱- آزمون طیف‌سنجی فرابنفش- مرئی نشان داد که با افزودن عصاره اسپند میزان عبور نور فرابنفش و نور مرئی کاهش می‌یابد.

۲- بر اساس آنالیز وزن سنجی حرارتی افزودن عصاره اسپند به فیلم کاراگینان تاثیر چندانی بر پایداری حرارتی فیلم زیست تخریب‌پذیر نداشته، امّا تشکیل پیوند میان گروه‌های عاملی عصاره، نرم‌کننده و پلیمر کاراگینان موجب افزایش دمای تجزیه‌ی حرارتی نرم‌کننده گلیسرول می‌شود.

۳- نتایج آزمون کشش حاکی از آن است که وجود عصاره اسپند در زمینه پلیمری کاراگینان موجب افزایش استحکام کششی نسبت به فیلم کاراگینان بدون عصاره می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

٤- نتایج آزمون میکروبی بیانگر آن است که فیلم‌های حاوی عصاره اسپند خاصیت ضد میکروبی می باشند و با افزایش درصد عصاره اسپند، فعالیت ضد باکتریایی فیلم کاراگینان افزایش می‌یابد.

منابع مورد استفاده

دیبا ک، گرامی شعار م ، شربت خوری م و حسین پورل، ۱۳۸۸. بررسی میزان مهارکنندگی عصاره الکلی دانه گیاه *اسپند Peganum harmala* بر رو گونه ی‌ها کاندیدا و آسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی. مجله پزشکی ارومیه، ۲۰، ۲۷۱-۲۷۷.

قربانپور م، جاهدی ج، ۱۳۹۵. بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره اسپند، رزماری و برگ بو استخراج شده توسط اولتراسوند بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی، مجله بهداشت مواد غذایی، ٦، ۳۳-٤۲.

قربان پور م، یوسفی م.، ۱۳۹۷. سینتیک خشک‌کردن فیلم های زیست‌تخریب‌پذیر به روش مایکروویو. فناوری‌های نوین غذایی، ٦، ۱-۸.

Alves VD, Castelló R, Ferreira AR, Costa N, Fonseca IM and Coelhoso IM, 2011. Barrier properties of carrageenan/pectin biodegradable composite films. Procedia Food Science 31: 240-245.

Arora A and Padua GW, 2010. Review: nanocomposites in food packaging, Journal of Food science 75: 43-49.

Campos CA, Gerschenson LN and Flores SK, 2011. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity, Food Bioprocess Technol 4: 849–875.

Chemat F, Abert Vian M and Cravotto G, 2012. Review Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. International Journal of Molecular Sciences 13: 8615-8627.

De Azeredo HMC, 2009. Nanocomposites for food packaging alications, Food Res Int 42: 1240–1253.

Ghorbanpour M, 2015. Stability modification of SPR silver nano-chips by alkaline condensation of aminopropyltriethoxysilane. Journal of Nanostructures 5(2): 105-110.

Ghorbanpour M, 2016. Amine Accessibility and Chemical Stability of Silver SPR Chips Silanised with APTES via Vapour Phase Deposition Method. Journal of Physical Science 27(1): 39-51.

Ghorbanpour M, Moghimi M and Lotfiman S, 2017. Silica-supported copper oxide nanoleaf with antimicrobial activity against Escherichia coli. Journal of Water and Environmental Nanotechnology, 2(2): 112-117.

Thakhiew W, Champahom M, Devahastin S and Soponronnarit S, 2015. Improvement of mechanical properties of chitosan-based films via physical treatment of film-forming solution. Journal of food engineering, 158, 66-72.

Kanmani P and Rhim J-W, 2014. Development and characterization of carrageenan/grapefruit seed extract composite films for active packaging, International Journal of Biological Macromolecules 68:258–266.

Luque de Castro MD and Garcia-Ayuso LE, 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. Analytical Chemical Acta 369: 1-10.

Madadi M, Ghorbanpour M and Feizi A, 2018. Antibacterial and photocatalytic activity of anatase phase Ag-doped TiO_2 nanoparticles. Micro & Nano Letters, 13(11), 1590-1593.

Martins JT, Cerqueira MA, Bourbon AI, Pinheiro AC, Souza BWS and Vicente AA, 2012. Synergistic effects between kaa-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof, Food Hydrocoll 29:280–289.

Nouri A, Yaraki MT, Ghorbanpour M, Agarwal S and Gupta VK, 2018. Enhanced Antibacterial effect of chitosan film using Montmorillonite/CuO nanocomposite. International journal of biological macromolecules. 115: 227-235.

Rhim J-WW, Park H-MM and Ha C-SS, 2013. Bio-nanocomposites for food packaging alications, Progress in Polymer Science 38: 1629–1652.

Nouri A, Yaraki MT, Ghorbanpour M and Wang, S, 2018. Biodegradable κ-carrageenan/nanoclay

www.SID.ir

Archive of SID

nanocomposite films containing Rosmarinus officinalis L. extract for improved strength and antibacterial performance. International journal of biological macromolecules. 115: 227-235.

Rhim J and Wang L, 2014. Alied Clay Science Preparation and characterization of carrageenan-based nanocomposite films reinforced with clay mineral and silver nanoparticles, Applied Clay Science 97–98:174–181.

Santoyo S, Lloru´ a R, Jaime L, Iban˜ ez E, Sen˜ ora´ ns FJ, and Reglero G, 2006. Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from Laurusnobilis L. chemical and functional characterization. European Food Research and Technology 222: 565–571.

Shojaee-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar MA, Mohammadi A, Ghasemlou M, Ojagh SM, Hosseini SM and Khaksar R, 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-carrageenan films containing Satureja hortensis essential oil. International journal of biological macromolecules 31;52:116-124.

Shojaee-Aliabadi S, Mohammadifar MA, Hosseini H, Mohammadi A, Ghasemlou M, Hosseini SM, Haghshenas M, Khaksar R, 2014. Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with Zataria multiflora essential oil and nanoclay. International journal of biological macromolecules 31;69:282-9.

Rhim JW and Wang LF, 2014. Preparation and characterization of carrageenan-based nanocomposite films reinforced with clay mineral and silver nanoparticles. Applied Clay Science. 31;97:174-81.

Soradech S, Nunthanid J, Limmatvapirat S and Luangtana-anan M, 2012. An aroach for the enhancement of the mechanical properties and film coating efficiency of shellac by the formation of composite films based on shellac and gelatin, Journal of Food Engineering 108:94–102.

Tang C, Chen N, Zhang Q, Wang K, Fu Q and Zhang X, 2009. Preparation and properties of chitosan nanocomposites with nanofillers of different dimensions. Polymer Degradation and Stability 94 (1):124-131. Thakhiew W, Devahastin S and Soponronnarit S, 2010. Effects of drying methods and plasticizer concentration on some physical and mechanical properties of edible chitosan films, Journal of Food Engineering, 99: 216–224.

Vinatoru M, 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principlws from herbs. Ultrasonics Sonochemistry 8: 303-313.

www.SID.ir

Archive of SID

Preparation and identification of carrageenan/nanoclay nanocomposite films containing *Peganum harmala* extract

M Ghorbanpour[1*] and A Mahini[2]

Received: January 8, 2017 Accepted: January 31, 2018

[1]Associate Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2]MSc Student, Department of Food industry, Faculty of Agriculture, Sarab Branch Islamic Azad University, Sarab, Iran
[*]Corresponding author: Ghorbanpour@uma.ac.ir

Introduction: Films manufactured by nano materials, biopolymers or so-called biopolymer nanocomposites exhibit desirable functional properties. Nowadays, various polysaccharides, such as cellulose, pectin, starch, marine algae and gum, are used in film production. Carrageenan is one of the natural polysaccharides that have been extensively studied in the field of the production of foods and protective coatings against drying, light and oxygen (Rhim & Wang 2014). One of the existing methods for producing active food packaging is the addition of active ingredients, including antimicrobial and antioxidant agents to packaging film (De Azeredo 2009). Among the extracts of various herbs, *Peganum Harmala* seed extract is one of the compounds with significant antimicrobial effect (Ghorbanpour and Jahedi, 1394). *Peganum Harmala* extract contains flavonoids and alkaloids antimicrobial agents (Diba et al., 2009). Among different extraction methods, ultrasound assisted extraction is a cheap, simple and effective method. Increasing the extraction efficiency and speed are the main important advantages of this extraction method (Chemat et al., 2012). Moreover, less temperature is required for extraction, in which causes less damage to heat-sensitive compounds. The aim of this study was to prepare carrageenan/nanoclay/glycerol films containing *Peganum Harmala* extracts prepared with ultrasound assisted extraction and investigating the physical, mechanical and antimicrobial properties of the film.

Material and methods: For the preparation of extracts, 10 g of dried *Peganum Harmala* seed was weighed and blended with 90 ml ethanol. The solution was sonicated at 400 W for 10 min (7 seconds on and 3 seconds off) at room temperature, using an ultrasonic probe. An ice bath was used to prevent evaporation of the solvent. After the sonication, the extraction was filtered with a filter paper and stored at 4°C in dark glass vials for further use. Carrageenan based films were fabricated by the solution casting method. Firstly, 3 w/w% of nanoclay (based on Carrageenan dry weight) was added to 100 ml deionized water and vigorously stirred for 24 h at ambient temperature. Then, the nanoclay solution was sonicated using 100 W ultrasonic probes (7 seconds on and 3 seconds off) for 10 min. Then, 2 g carrageenan was added to the nanoclay dispersions and stirred at 82°C for 20 min. Finally, 1, 2 and 3 v/v% (based on solution volume) of the extract were incorporated into the film forming solution and stirred until a homogeneous mixture was obtained. The final mixture was cooled down to 65°C and 30 ml of film solution was cast onto polystyrene Petri dishes with 8 cm in diameter. All film samples were dried in an oven at 25 °C for 24 h. Eventually, the dried films were stored in plastic bags before conducting the tests. Then, the effect of incorporation of the extract on the carrageenan film morphology, thermal stability, mechanical, optical, barrier and antibacterial properties were investigated.

Results and discussion: The purpose of this study was to prepare carrageenan biopolymer-based antimicrobial films for active food packaging and environmental pollution reduction caused by synthetic packaging material accumulation. Carrageenan nanocomposite films containing 3% nanoclay (montmorillonite), glycerol and three concentrations of 1, 2 and 3% of the *Peganum Harmala* extract were prepared by casting method and their physical, mechanical and antimicrobial properties were investigated against *E. coli* and *S. aureus* bacteria. To investigate the variations

www.SID.ir

Archive of SID

resulting from adding *Peganum Harmala* extract to carrageenan/nanoclay nanocomposite films, scanning electron microscopy, thermogravimetric analysis, UV-Vis spectroscopy, FT-IR analysis were performed along the Fourier transformation of the films. The scanning electron microscope images from carrageenan/glycerol/nanoclay films with and without extracts showed a surface containing nanoclay, which were dispersed throughout the film. UV-Vis spectrometry showed that ultraviolet light and visible light of carrageenan/nanoclay/glycerol film was reduced by adding *Peganum Harmala* extract. This reduction in the sample containing 3% extract under ultraviolet light has been 2.6 - 0.3% and that of the visible light was 17.7- 9.2%. According to a thermogravimetric analysis, adding *Peganum Harmala* extract to carrageenan film did not have any obvious effect on the thermal stability of the film. Tensile strength and lengthening of carrageenan/nanoclay/glycerol film without extract were 15.9 MPa and 15.0 mm. The results of the tensile test showed that the *Peganum Harmala* extract in a polymer-based carrageenan/nanoclay/glycerol film increased tensile strength by 2 times and lengthening 3 times greater than carrageenan/nanoclay/glycerol film without the extract. Finally, according to antimicrobial tests, the *Peganum Harmala* extract is antimicrobial materials suitable for producing films and biodegradable coatings for different food packaging.

Conclusion: The UV-Vis spectroscopy showed that the addition of the *Peganum Harmala* extract to the carrageenan/nanoclay/glycerol film reduced its ultraviolet and visible light transmission. Based on thermogravimetric analysis, the addition of extract to carrageenan films did not have any significant effect on the thermal stability of the film, but the binding between the functional groups of component of extract, glycerol and carrageenan polymer increased the thermal degradation temperature of the Glycerol. The results of the tensile test indicate that the presence of extracts in the carrageenan film increases its tensile strength compared to the extract-free carrageenan film. According to antibacterial test results, the films containing the extract had antimicrobial activity. By increasing the extract content, the antibacterial activity of film increased.

Keywords: Antimicrobial properties, Carrageenan, Edible film, Mechanical properties, Peganum harmala.

www.SID.ir