



## ارزیابی ویژگی‌های فیلم‌های هوشمند حساس به pH بر پایه نشاسته/کتیرا و آنتوسیانین گیاه پنیرک

فاطمه نوغانی بهمبری<sup>۱</sup>، هومن رجبی اسلامی<sup>۲\*</sup> و مهدی شمسانی مهرجان<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۸/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۴

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری علوم و مهندسی شیلات، گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*مسئول مکاتبه: Email:rajabi.h@srbiau.ac.ir

### چکیده

زمینه مطالعاتی: فیلم‌های رنگ‌سنجی زیست‌تخریب‌پذیر حاوی آنتوسیانین‌های عصاره‌های گیاهی می‌تواند یک پد شرف جدید در زمینه بسته‌بندی مواد غذایی باشند. هدف: هدف از این پژوهش تهیه نوعی بسته‌بندی هوشمند حساس به pH بر پایه پلیمرهای طبیعی نشاسته/صمغ کتیرا به عنوان یک ماتریکس جامد و آنتوسیانین‌های گیاه پنیرک ( *Malva sylvestris*) به عنوان نشانگر حساس به pH می‌باشد. روش کار: ابتدا آنتوسیانین موجود در گلبرگ گیاه پنیرک به روش غوطه‌وری (اتانول و اسید) استخراج شد. سپس فیلم‌های هوشمند بر پایه نشاسته/کتیرا حاوی آنتوسیانین‌های پنیرک با استفاده از روش قالب‌ریزی تهیه شد. در نهایت ویژگی‌های ساختاری، فیزیکی، مکانیکی و پاسخ‌های رنگی به تغییرات pH و گاز آمونیاک فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج: حلالیت و رطوبت در فیلم‌های حاوی آنتوسیانین به شکل معنی‌داری کمتر از فیلم نشاسته/صمغ کتیرا می‌باشد. میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها با افزایش غلظت آنتوسیانین افزایش یافت. همچنین مقاومت کششی فیلم‌ها با اضافه شدن آنتوسیانین به فیلم کاهش یافته و کمترین مقاومت در فیلم حاوی ۲ درصد آنتوسیانین مشاهده شد. فیلم‌های تهیه شده نسبت به تغییرات pH حساس بوده و در عرض کمتر از ۵ ثانیه تغییر رنگ نشان دادند. رنگ فیلم‌های حاوی عصاره در شرایط اسیدی، خنثی و قلیایی به ترتیب صورتی، بنفش و سبز گردید. همچنین فیلم‌های نشانگر حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره آنتوسیانین، در غلظت‌های ۰/۸ و ۱/۴ مولار آمونیاک حساسیت بالایی به بخار آمونیاک نشان داده به طوی که تغییر رنگ بعد از ۲۰ دقیقه مشاهده گردید. نتیجه‌گیری نهایی: فیلم هوشمند حاوی عصاره پنیرک قابلیت کاربرد به عنوان فیلم‌های نشانگر تازگی/فساد را دارا می‌باشد.

واژگان کلیدی: بسته بندی‌های هوشمند، نشاسته، صمغ کتیرا، آنتوسیانین، گیاه پنیرک

## مقدمه

قرمز، شلغم و انواع توت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (عابدی فیروزجاه و همکاران ۲۰۲۲، منگ و همکاران ۲۰۲۰؛ زیا و همکاران ۲۰۲۱).

پنیرک<sup>۱</sup> یکی از گیاهان دارویی ارزشمند است که منبع غنی از ویتامین‌های A، B و C می‌باشد. آنتوسیانین گیاه پنیرک عملکردهای زیستی مختلفی مانند ویژگی‌های ضداکسایشی، تسکین درد و التهاب، التیام زخم، بهبود اختلالات کلیوی و عوارض پوستی و مقابله با عوامل میکروبی از جمله ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها را نشان داده است (الماسیان و همکاران ۲۰۲۰). آنتوسیانین‌های گیاه پنیرک همانند سایر آنتوسیانین‌ها قابلیت تغییر رنگ در pHهای مختلف را دارد.

ماتریکس پایه جزء دیگر بسته‌بندی‌های هوشمند بر پایه شناساگرها است. علاقه فزاینده‌ای در سالیان اخیر به استفاده از پلیمرهای زیست‌تخریب پذیر و سازگار با محیط زیست مانند پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و لیپیدها برای فیلم‌های بسته‌بندی هوشمند و فعال به وجود آمده است (روی و ریم ۲۰۲۱). نشاسته در این راستا یکی از مهمترین پلی‌ساکاریدهایی است که به دلیل داشتن قابلیت فیلم‌سازی خوب، سهولت تولید، تجدیدپذیری منابع، قیمت پایین در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر مورد استفاده قرار می‌گیرد (شاه‌ملکی و همکاران ۱۴۰۰؛ ژانگ و همکاران ۲۰۱۹؛ پیرسا و همکاران ۲۰۲۰). با این وجود فیلم‌های حاصل از نشاسته همانند سایر پلیمرهای طبیعی دارای مقاومت مکانیکی و حرارتی پایینی به ویژه در شرایط رطوبت نسبی بالا می‌باشند. مطالعات زیادی در سال‌های اخیر جهت بهبود ویژگی‌های فیلم‌های تهیه شده از پلیمرهای طبیعی انجام شده که ترکیب پلیمرهای طبیعی با یکدیگر و تشکیل کامپوزیت یکی از این راه‌کارها است. کتیرا صمغ یا شیرهای است که از ساقه گیاهی به نام گون گرفته می‌شود (پیرسا و همکاران ۲۰۲۰). ایران مهمترین کشور تولیدکننده کتیرا است که سالانه حدود ۳۰۰ تا ۳۵۰ تن صمغ کتیرا صادر می‌کند. کتیرا در مقایسه با

اقدامات نوآورانه بسته‌بندی مواد غذایی در سالیان اخیر روی بسته‌بندی‌هایی تمرکز دارند که ضمن تضمین کیفیت و ایمنی مواد غذایی، میزان تازگی و کیفیت محصول را نیز به مصرف‌کنندگان نمایش می‌دهند. این بسته‌بندی‌ها در نهایت کمک شایانی به بازار فروش محصولات جدید خواهند کرد (روی و ریم ۲۰۲۰). اشکال مختلفی از بسته‌بندی در سالیان اخیر مورد استفاده قرار گرفته‌اند که بسته‌بندی هوشمند یکی از انواع آن می‌باشد. فیلم‌های هوشمند حساس به pH نوعی بسته‌بندی هوشمند هستند که تحت تاثیر مقادیر مختلف pH تغییر رنگ داده و اطلاعات بصری بیشتری را در اختیار مصرف‌کننده قرار می‌دهند (دونگ و همکاران ۲۰۲۰، یانگ و همکاران ۲۰۲۰). یکی از روش‌های تهیه نشانگرهای تازگی غذا، استفاده از رنگ‌هایی می‌باشد که بر اساس pH در فضای داخل بسته‌بندی تغییر رنگ می‌دهند (یانگ و همکاران ۲۰۲۰). دو جزء مهم تکیه‌گاه‌های جامد و رنگ حساس به تغییرات در این نشانگرهای pH وجود دارد (علینژاد و همکاران ۲۰۲۰) که اطلاعاتی مهمی از کیفیت فرآورده را به طور مستقیم بر اساس واکنش با متابولیت‌های فرار تولید شده نظیر آمین‌ها، آمونیاک، دی‌اکسید کربن، دی‌استیل و سولفید هیدروژن و تولید رنگ‌های مختلف فراهم می‌سازند (روی و ریم ۲۰۲۰). نشانگرهای شیمیایی مصنوعی در گذشته برای بسته‌بندی مورد استفاده قرار می‌گرفتند که در حال حاضر تمایل به جایگزینی آنها با موارد طبیعی به دلیل سمیت و خطر آفرینی احتمالی آنها برای مصرف‌کننده‌ها مورد توجه بسیاری از پژوهشگران و صنعت‌گران قرار گرفته است (یوسفی و همکاران ۲۰۱۹). از این رو در سال‌های اخیر، پژوهش‌ها روی ارزیابی رنگ‌ها و ترکیبات رنگی با منشاء طبیعی متمرکز شده است (لیو و همکاران ۲۰۱۹). در این رابطه تاکنون اثر رنگ‌های طبیعی مانند آلپزارین، کورکومین، بتالین و شیکونین از بسیاری از منابع گیاهی مانند کلم

۳ درصد از شرکت گیان کاوه تهیه شد. نشاسته گندم (حاوی رطوبت ۱۲ درصد، گرانیوی ۴۱۰ سانتی پواز و وزن مولکولی ۱۰۶ دالتون)، اسید سیتریک، اتانول، اسید کلریدریک، کاغذ واتمن شماره ۱ و تمامی محلول‌های بافر از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

#### استخراج آنتوسیانین از گلبرگ گیاه پنیرک

استخراج آنتوسیانین گلبرگ گیاه پنیرک (EMS) بر اساس روش فارینا و همکاران (۱۹۹۵) با کمی اصلاحات انجام شد. مقدار مشخصی از گل خشک شده پنیرک به نسبت ۱:۲۰ (وزنی/وزنی) به اتانول ۲۰ درصد اضافه شد. سپس مقدار ۰/۱۵ (وزنی/حجمی) اسید سیتریک به مخلوط اضافه و pH محلول با استفاده از اسیدکلریدریک ۶ مولار روی ۲/۵ تنظیم گردید. مخلوط تهیه شده به مدت یک شبانه روز در دمای محیط و در تاریکی روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. محلول استخراج شده با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شده و باقیمانده تفاله مجدداً بر اساس روش فوق عصاره‌گیری شد. سپس عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (RV 10 digital V, IKA, Deutschland, Germany) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (Alpha 1-2 LD plus, Christ, Osterode, Germany) خشک گردید. پودر عصاره تهیه شده تا زمان استفاده و انجام بررسی‌های بعدی در ظروف شیشه‌ای تاریک و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (شکل ۱).

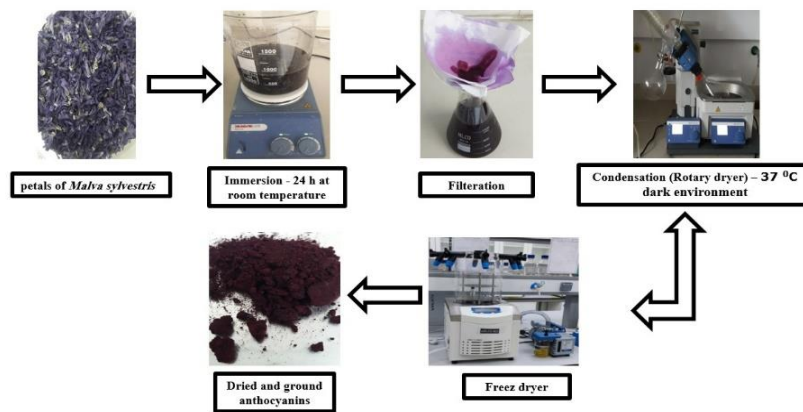
سایر هیدروکلئیدها پایداری خوبی در برابر اسیدها دارد. صمغ کتیرا معمولاً در غلظت پائین در آب هیدراته می‌شود و در غلظت ۲ تا ۴ درصد تشکیل ژل می‌دهد. کتیرا همچنین بدون کاهش ویسکوزیته دارای طول عمر نگهداری بالایی در مقایسه با سایر هیدروکلئیدها می‌باشد (رنجبر محمدی ۲۰۱۸). مطالعات همچنین ثابت کرده است که کتیرا قابلیت تشکیل فیلم نیز دارد (ملک‌پور و عباسی ۲۰۱۹).

تاکنون مطالعاتی جهت تولید فیلم‌های نشاسته حاوی آنتوسیانین *Vaccinium corymbosum* و بتاسیانین *Bougainvillea glabra* گزارش شده در حالی که مطالعه‌ای جهت تولید فیلم‌های کتیرا حاوی آنتوسیانین و همچنین فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/کتیرا حاوی آنتوسیانین گیاه پنیرک گزارش نشده است. لذا هدف از این مطالعه تهیه نوعی بسته‌بندی هوشمند حساس به pH بر پایه پلیمرهای طبیعی نشاسته/صمغ کتیرا به عنوان یک ماتریکس جامد و همچنین آنتوسیانین گیاه پنیرک (*Malva sylvestris*) به عنوان نشانگر حساس به pH بود. بدین منظور ابتدا آنتوسیانین موجود در گلبرگ گیاه پنیرک به روش غوطه‌وری (اتانول و اسید) استخراج شده و سپس این آنتوسیانین به محلول فیلم‌های کامپوزیتی نشاسته/کتیرا اضافه و در نهایت ویژگی‌های ساختاری، فیزیکی، مکانیکی و پاسخ‌های رنگی به تغییرات pH و گاز آمونیاک فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد شیمیایی

گلبرگ‌های خشک گیاه پنیرک و صمغ کتیرا از فروشگاه‌های محلی تهیه و به خوبی آسیاب شدند. گلیسرول خوراکی با وزن مولکولی ۹۲/۱ گرم بر مول، چگالی ۱/۲۶ گرم بر سانتی‌مترمکعب و رطوبت کمتر از



شکل ۱- مراحل استخراج آنتوسیانین از گلبرگ‌های خشک گیاه پنیرک

Figure 1- Extraction process of anthocyanin from dry petals of *Malva sylvestris*

### تهیه فیلم شناساگر حساس به pH

فیلم حساس به pH بر پایه نشاسته/صمغ کتیرا به روش ریخته‌گری محلول آماده شد. نشاسته و کتیرا به صورت جداگانه به ترتیب به میزان ۴ و ۱ درصد (وزنی/ حجمی) در آب مقطر حل شده و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ دقیقه توسط همزن مغناطیسی مخلوط شدند. گلیسرول بعد از حل شدن یکنواخت پلیمرها به منظور افزایش انعطاف‌پذیری فیلم‌ها به میزان ۳۰ درصد وزن خشک هر یک از پلیمرها (وزنی/وزنی) به محلول اضافه شد. هر یک از محلول‌های آماده شده برای تهیه فیلم با نسبت‌های ۱:۱ (حجمی/حجمی) با یکدیگر ترکیب شده و تا زمان کاهش دمای مخلوط به ۴۰ درجه سانتی‌گراد هم زده شدند. پودر عصاره آنتوسیانین استخراج شده در ادامه با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد (وزنی/ حجمی) به محلول فیلم اضافه شده و محلول با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۳ دقیقه دیگر مخلوط گردید. هواگیری محلول فیلم‌ها با استفاده از پمپ خلاء انجام شد. ۲۲ گرم از محلول‌های تهیه شده در پایان و به منظور تولید فیلم‌ها داخل شیشه‌ساعت‌های پلاستیکی با قطر ۷/۵ سانتی‌متر ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. فیلم‌ها در ادامه از شیشه‌ساعت‌ها جدا شده و جهت تعادل رطوبتی و دمایی داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات

### اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل

میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل عصاره با اسپکتروفوتومتر و به روش اختلاف pH<sup>۱</sup> اندازه‌گیری شد (محمدعلی‌نژاد ۲۰۲۰). مقدار ۰/۵ درصد از عصاره استخراج شده به صورت جداگانه بترتیب ابتدا با ۰/۱۹ گرم بافر کلرید پتاسیم (pH=۱) و ۵/۴۵ گرم محلول بافر استات سدیم (pH= ۴/۵) مخلوط شدند و برای نمونه شاهد نیز از آب مقطر استفاده شد. جذب هر یک از این ترکیبات در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-VIS قرائت گردید. سپس میزان آنتوسیانین کل بر اساس سیانیدین ۳-گلیکوزید از روابط زیر تعیین و محتوای آنتوسیانین کل برحسب میلی‌گرم در کیلوگرم بیان شد.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH=1} - (A_{510} - A_{700})_{pH=4.5} \quad [1 \text{ رابطه}]$$

:

$$TA = \left( \frac{A \times MW \times DF \times 100}{MA} \right) \quad [2 \text{ رابطه}]$$

:

که A در آن برابر اختلاف بین دو جذب، MW برابر وزن مولکولی سیانیدین تری گلیکوزید (بر اساس گرم بر مول)، MA برابر وزن مولی آنتوسیانین (برابر ۲/۴۴۹ دالتون) و TA برابر آنتوسیانین کل (برابر ۲۶۹۰۰ دالتون) و DF برابر ضریب رقیق سازی بود.

<sup>1</sup> pH-differential method

### حلالیت در آب

فیلم‌ها برای تعیین حلالیت در آب در ابعاد  $2 \times 2$  سانتی‌متر برش داده شده و داخل خشک‌کن به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $105^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا خشک شوند شدند. فیلم‌های خشک شده در ادامه توزین  $(W_1)$  و پس از افزودن ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه‌های خشک به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. مجموعه سپس از یک کاغذ صافی صاف عبور داده شد که قبلاً به وزن ثابت رسیده بود. کاغذ صافیدر ادامه به همراه نمونه‌ها در دمای  $105^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا به وزن ثابت برسند. وزن فیلم‌ها بعد از انحلال مجدد اندازه‌گیری شد  $(W_2)$ . در نهایت میزان حلالیت فیلم خوراکی با استفاده از رابطه ۴ محاسبه گردید (پرا و اندرید ۲۰۱۷).

$$\text{WS (\%)} = [(W_1 - W_2) / W_1] \times 100 \quad \text{[رابطه ۴]}$$

### نفوذپذیری بخار آب

سنجش میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم‌ها بر اساس استاندارد ASTM-E96 انجام گرفت (ASTM ۱۹۹۵). برای انجام آزمایش درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. سپس سطح سلول توسط فیلم‌ها پوشانیده شده و همه‌ی سلول‌ها در یک خشک‌کن حاوی ژل سیلیکا قرار داده شدند. سلول‌ها در ادامه هر دو ساعت یک بار در یک بازه زمانی ۸ ساعته توزین و میزان نفوذپذیری به بخار آب با استفاده از رابطه ۵ محاسبه شد و بصورت گرم بر متر ثانیه پاسکال  $(\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1})$  گزارش شد.<sup>۱</sup>

$$\text{WVP} = (\text{WVTR} \times L) / \Delta P \quad \text{[رابطه ۵]}$$

که WVTR در آن برابر نرخ انتقال بخار آب، L برابر ضخامت فیلم‌ها و  $\Delta P$  برابر اختلاف فشار موجود در دو سمت فیلم بودند.

منیزیم (رطوبت ۵۲/۸۹ درصد) در دمای محیط نگهداری شدند (عزتی و همکاران ۲۰۱۹).

### بررسی ویژگی‌های فیلم‌های شناساگر حساس به pH

#### طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)

برهمکنش‌های ساختاری فیلم‌ها در ناحیه بین  $4000 - 400$  بر سانتی‌متر و در تفکیک پذیری ۴ بر سانتی‌متر به کمک دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر (Tensor 27, Bruker, Karlsruhe, Germany) و با استفاده از ۳۲ روبش در دقیقه انجام گرفت (امجدی و همکاران ۲۰۱۹).

#### آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD)

طیف پراش اشعه ایکس فیلم‌ها با استفاده از دستگاه پراش سنج اشعه ایکس (D8 advance, Bruker, Karlsruhe, Germany) در محدوده  $5 - 50^\circ$  درجه و با سرعت ۶ درجه در دقیقه انجام شد (علیزاده ثانی و همکاران ۲۰۲۱).

#### میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

ریزساختار سطح فیلم‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (Philips XL30, Hillsboro, Eindhoven, Netherlands) با کاربری ۲۰ کیلووات در بزرگنمایی‌های مختلف در دمای محیط بررسی شد. نمونه‌ها به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی به شکل مربع  $(15 \times 15)$  میلی‌متر بریده و برای عکس‌برداری با لایه نازک طلا پوشانده شدند (امجدی و همکاران ۲۰۲۰).

#### رطوبت فیلم‌ها

نمونه‌های فیلم با وزن مشخص درون ظروف شیشه‌ای قرار داده شد که از قبل به وزن ثابت رسیده و توزین شده بودند  $(W_1)$ . نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $105^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد خشک گردید. نمونه پس از این مدت خارج شده و مجدد در دسیکاتور توزین گردیدند  $(W_2)$ . محتوای رطوبت فیلم‌ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه ۳ محاسبه گردید (هوآنگ و همکاران ۲۰۲۰).

$$\text{moisture content (\%)} = (W_1 - W_2) \times 100 / W_1 \quad \text{[رابطه ۳]}$$

## ویژگی‌های مکانیکی

نمونه‌های فیلم به ابعاد ۱×۵ سانتی‌متر برش داده شده و فراسنجه‌های مکانیکی فیلم‌ها از جمله مقاومت کششی و افزایش طول در لحظه پاره شدن طبق روش استاندارد ASTM D882-10 (Model 200, HIWA, Tehran, Iran) با استفاده از دستگاه آنالیز بافت‌سنج مجهز به فک‌های کشش اندازه‌گیری شدند (ASTM ۲۰۰۲).

## تست حساسیت به تغییر pH

مقدار یک میلی‌لیتر از محلول عصاره به منظور بررسی تغییر رنگ آنتوسیانین گلبرگ گیاه پنیرک در سلول‌های شیشه‌ای ریخته شد. سپس بافرهایی با مقادیر مختلف pH (۲-۱۲) به محلول اضافه و تغییر رنگ عصاره با استفاده از دوربین دیجیتال عکسبرداری شد. همچنین تغییرات رنگ فیلم‌ها در مقابل تغییرات pH بر اساس الگوی فوق با قرار دادن نمونه‌های فیلم به شکل دایره با قطر ۲/۵ سانتی‌متر در محلول‌های بافری فوق مورد بررسی قرار گرفت. سطح تمامی نمونه‌ها از بافر خشک و تغییر رنگ فیلم‌ها با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت شد (عزتی و همکاران ۲۰۱۹).

## تست حساسیت به آمونیاک

مقدار ۸۰ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف آمونیاک (۰/۲، ۰/۸ و ۱/۴ مولار) برای تعیین مقدار حساسیت فیلم‌های شناساگر به میزان آمونیاک داخل فلاسک ارلن مایر قرار داده شد و نشانگر حساس به pH در فاصله ۱ سانتی‌متر بالاتر از فلاسک ثابت گردید. رنگ نشانگر بلافاصله با دوربین هر ۴ دقیقه یکبار به مدت ۲۴ دقیقه عکس‌برداری شد (عزتی و همکاران، ۲۰۲۱).

## تجزیه و تحلیل آماری

آزمون‌های فیزیکی در این پژوهش با سه تکرار و آزمون‌های مکانیکی با هفت تکرار انجام پذیرفته و یافته‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند. نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون کلموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) تعیین و

بررسی وجود اختلاف معنی‌دار حاصل از هر شاخص به کمک آنالیز تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) صورت پذیرفت. مقایسه میانگین فراسنجه‌ها بین تیمارها نیز با کمک آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت ( $p < 0.05$ ). نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 20 برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و Excel 2018 برای ترسیم نمودارها استفاده شدند.

## نتایج و بحث

### محتوی آنتوسیانین کل عصاره گیاه پنیرک

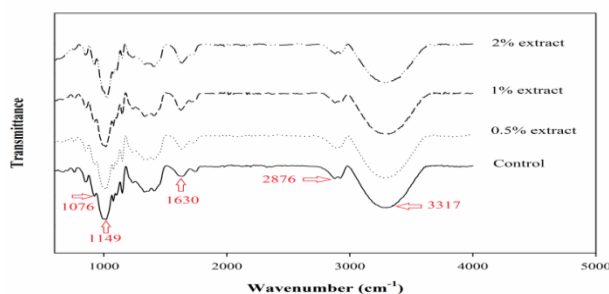
میزان آنتوسیانین استخراج شده از گیاه پنیرک برابر ۰/۵۸ ± ۶/۱۱۸۵ میلی‌گرم سیانیدین در کیلوگرم عصاره اندازه‌گیری شد که در مقایسه با برخی منابع آنتوسیانین نظیر آرونیا (۱۴۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ و همکاران ۲۰۰۴)، ذرت بنفش (۱۶۴۲ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ لایبرمن و همکاران ۲۰۰۷)، تمشک سیاه (۵۸۹ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ وادا و همکاران ۲۰۰۲)، شاتوت (۳۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ سیریوهارن و همکاران ۲۰۰۴)، کلم قرمز (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ احمدیانی و همکاران ۲۰۱۴)، انگور قرمز (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ رسولی و همکاران ۱۳۹۶) قابل ملاحظه بود.

### طیف سنجی FTIR

طیف‌سنجی FTIR اطلاعات مفیدی در مورد برهمکنش‌های بین اجزای مختلف و گروه‌های عاملی فراهم می‌کند (علیزاده سانی و همکاران ۲۰۲۱). طیف FTIR فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/کتیرا (شاهد) و کامپوزیت نشاسته/کتیرا حاوی درصد‌های مختلف آنتوسیانین گیاه پنیرک در شکل ۲ نشان داده شده است. همه فیلم‌ها برابر اطلاعات به دست آمده پیک‌های مشابهی داشتند. باندهای ظاهر شده در این طیف‌ها در محدوده ۳۳۱۷ بر سانتی‌متر مربوط به وجود تعداد زیادی گروه‌های هیدروکسیل O-H، باند ظاهر شده در محدوده ۲۸۷۶ بر سانتی‌متر مربوط به گروه‌های C-H و باند ظاهر شده در ۱۶۳۰ بر سانتی‌متر یک پیک جذبی

فیلم‌ها باشد. با این حال ارتفاع باندهای ظاهر شده در محدوده ۱۲۲۰ و ۱۶۵۰ بر سانتی‌متر با افزایش غلظت عصاره آنتوسیانینی به فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/کتیرا کاهش یافت که ممکن است ناشی از برهمکنش‌های شیمیایی و فیزیکی بین حلقه‌های معطر آنتوسیانین و نشاسته/کتیرا باشد. نتایج مشابهی توسط جیانگ و همکاران (۲۰۱۹) برای فیلم کربوکسی متیل سلولز/نشاسته حاوی آنتوسیانین سیب‌زمینی شیرین بنفش نیز گزارش شده است.

ناشی از وجود پیوند محکم آب موجود در پلیمر نشاسته می‌باشد (نقدی و همکاران ۲۰۲۱). ارتعاش‌های کششی متقارن و نامتقارن مربوط به گروه کربوکسیلی به ترتیب در طول موج‌های ۱۱۴۹ و ۱۰۷۶ بر سانتی‌متر مشاهده شدند (جیانگ و همکاران ۲۰۱۹). باندهای مشاهده شده در ۹۲۱ و ۱۰۱۶ بر سانتی‌متر با کشش پیوند C-O ارتباط دارند (نقدی و همکاران ۲۰۲۱؛ چوی و همکاران ۲۰۱۷). طیف FTIR پس از اضافه شدن EMS به پلیمر نشاسته/کتیرا تغییر قابل توجهی نداشت که علت آن می‌تواند ناشی از محتوای کم عصاره در



شکل ۲- طیف FTIR فیلم نشاسته/کتیرا حاوی درصدهای مختلف عصاره آنتوسیانین پنیرک

Figure 2- FTIR spectrum of the starch/tragacanth films containing different percentages of *Malva sylvestris* anthocyanin extract

سلولز/نانوالیاف کیتوزان موجب تغییر ساختار پلیمری نشد.

#### میکروسکوپ الکترونی روبشی

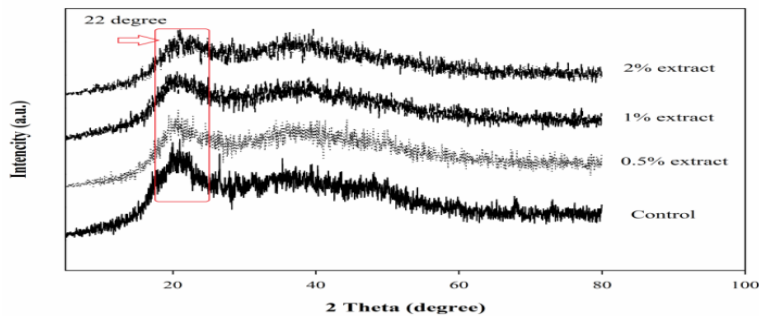
شکل ۴ به ترتیب تصاویر میکروسکوپ الکترونی سطح فیلم کامپوزیت نشاسته/کتیرا (A) و فیلم‌های کامپوزیت حاوی ۲ درصد عصاره آنتوسیانین گیاه پنیرک (B) را نشان می‌دهد. نمای سطحی فیلم‌های بدون عصاره دارای ناهمواری‌هایی متعددی بوده که با افزودن عصاره آنتوسیانین گیاه پنیرک افزایش یافته و همچنین سوراخ‌های ریزی در سطح فیلم‌ها ظاهر گردید. نتایج تحقیق اندرتا و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که افزودن عصاره بلوبری باعث افزایش میزان ناهمواری‌ها در فیلم‌های نشاسته شاهد گردید. هوآنگ و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیق دیگری گزارش کردند که اضافه شدن عصاره ریشه *Arnebia euchroma* به فیلم‌های آگار

#### آزمون پراش XRD

خواص کریستالی مواد بسته‌بندی به دلیل نقش مهم آن‌ها در خواص مکانیکی فیلم‌ها بسیار مهم است (توسلی و همکاران ۲۰۲۱). یافته‌های مربوط به آزمون پراش پرتو ایکس فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/کتیرا حاوی درصدهای مختلف آنتوسیانین گیاه پنیرک در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج این آزمون نشان داد که نمودار پراش پرتو ایکس تمامی فیلم‌ها مشابه بوده و همه فیلم‌ها دارای یک پیک در زاویه  $2\theta = 22^\circ$  بوده که نشان‌دهنده ساختار نیمه‌کریستالی فیلم‌های تهیه شده می‌باشد. ساختار مشابهی توسط نقدی و همکاران (۲۰۲۱) برای فیلم‌های نشاسته حاوی بتاسیانین *Bougainvillea glabra* گزارش شد. همچنین در مطالعه دیگری عزیزاده ثانی و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که افزودن آنتوسیانین زعفران به فیلم‌های متیل

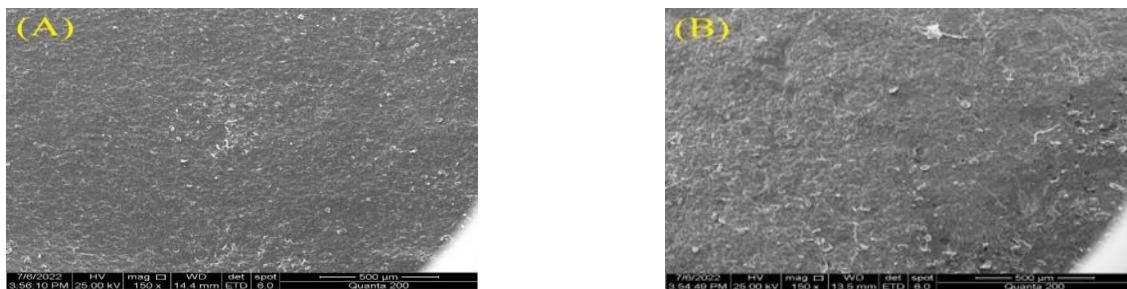
گردید. این نتایج نشان می‌دهد که ترکیب شیمیایی عصاره حاوی آنتوسیانین و واکنش‌های متفاوت ترکیبات عصاره با ماتریکس پلیمری، تاثیر زیادی بر شریط فیلم‌ها و ویژگی‌های آنها دارد.

باعث ایجاد سوراخ و ترک در فیلم‌ها شد. وانگ و همکاران (۲۰۱۹) برخلاف این نتایج گزارش کردند که سطح فیلم‌های کیتوزان حاوی عصاره پوسته دانه سویا صافه بوده و عصاره به خوبی در ماتریس فیلم پراکنده



شکل ۳- طیف XRD فیلم نشاسته/کتیرا حاوی درصدهای مختلف عصاره آنتوسیانین پنیرک

Figure 3- XRD spectra of the starch/tragacanth films containing different percentages of *Malva sylvestris* anthocyanin extract



شکل ۴- تصاویر SEM فیلم نشاسته/کتیرا (A) و فیلم حاوی ۲ درصد عصاره آنتوسیانین پنیرک (B)

Figure 4- SEM images of the starch/tragacanth film (A) and starch/tragacanth containing 2% *Malva sylvestris* anthocyanin extract (B)

آنتوسیانین چای ترش کاهش یافت. در مطالعه دیگری ژای و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که اضافه شدن آنتوسیانین چای ترش به فیلم‌های نشاسته/پلی‌ونیل الکل باعث کاهش میزان رطوبت فیلم‌های تولیدی گردید.

#### حلالیت

حلالیت یکی از خصوصیات مهم در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر بوده و بازتابی از میزان مقاومت فیلم‌ها در برابر آب می‌باشد (گویگا و همکاران ۲۰۱۰). درصد حلالیت فیلم‌های حاوی آنتوسیانین همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده به شکل معنی‌داری کمتر از کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا است ( $p < 0.05$ ). میزان حلالیت در آب فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا

#### رطوبت

مقدار رطوبت فیلم‌های تهیه شده در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود فیلم‌های حاوی آنتوسیانین رطوبت کمتری را نسبت به فیلم شاهد دارا هستند. دلیل این امر می‌تواند اینگونه توضیح داده شود که وجود گروه‌های هیدروکسیل آبدوست فعال روی زنجیره مولکولی نشاسته/کتیرا با اضافه کردن آنتوسیانین گیاه پنیرک و ایجاد پیوند متقابل، توانایی جذب آب در کامپوزیت نشاسته/کتیرا را محدود کرده و لذا میزان رطوبت در فیلم‌های حاوی آنتوسیانین کمتر گردد. هوآنگ و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که میزان رطوبت فیلم‌های پلی‌ونیل الکل با اضافه شدن



نفوذپذیری به بخار آب یک روش ساده اندازه‌گیری میزان نفوذ و عبور رطوبت به داخل یک ماده است. وجود گروه‌های آب دوست در زنجیره‌های پلیمری باعث می‌شود که بازدارندگی کمی در برابر بخار آب وجود داشته باشد (لیانگ و وانگ ۲۰۱۸). نتایج نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تهیه شده در مطالعه حاضر در جدول ۱ آورده شده است. این یافته‌ها نشان داد میزان نفوذپذیری به بخار آب با افزایش غلظت آنتوسیانین نسبت به فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا افزایش می‌یابد. میزان نفوذپذیری به بخار آب در کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا ۴/۹۳ گرم بر متر ثانیه پاسکال بود در حالی که این میزان در کامپوزیت‌های حاوی ۱،۰/۵ و ۲ درصد آنتوسیانین به ترتیب برابر ۶/۳۶، ۷/۹۵ و ۱۳/۷ گرم بر متر ثانیه پاسکال اندازه‌گیری شدند. هوآنگ و همکاران (۲۰۲۰) افزایش میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های پلی‌ونیل الکل با اضافه شدن آنتوسیانین چای ترش گزارش کردند. ژانگ و همکاران (۲۰۱۹) نیز بیان نمودند میزان نفوذپذیری به بخار آب با اضافه کردن آنتوسیانین گیاه شلغم به فیلم‌های پلی‌ونیل الکل/نشاسته نسبت به فیلم‌های شاهد بیشتر می‌شود. تصاویر SEM پژوهش حاضر نیز نشان داد افزودن آنتوسیانین گیاه پنیرک باعث ایجاد سوراخ در فیلم‌های شاهد می‌گردد که این سوراخ‌ها مانند مجرای باعث عبور بخار آب از فیلم‌ها شده و لذا نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌دهند.

۹۴/۴۴ درصد بود در حالی که این میزان در کامپوزیت‌های حاوی ۱،۰/۵ و ۲ درصد آنتوسیانین به ترتیب برابر ۴۲/۵، ۴۴/۲۹ و ۴۸/۲۳ درصد اندازه‌گیری شد. این داده‌ها نشان داد که رطوبت در فیلم‌های حاوی آنتوسیانین به میزان ۴۸ الی ۵۵ درصد نسبت به کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا کاهش یافته است. علت کاهش حلالیت در فیلم‌های حاوی آنتوسیانین عمدتاً به دلیل ماهیت آب‌گریز ترکیبات پلی‌فنی گیاه پنیرک می‌باشد که به راحتی در آب حل نمی‌شوند (عزتی و همکاران ۲۰۲۱). همچنین گروه‌های پلی‌فنی در گیاه پنیرک می‌توانند با کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا تشکیل فرم‌های آب‌گریز دهند که در این صورت کاهش تعداد گروه‌های آبدوست در فیلم‌ها منجر به کاهش جذب آب و در نتیجه کاهش میزان حلالیت در فیلم‌های حاوی آنتوسیانین می‌گردد (عزتی و همکاران ۲۰۲۱). عزتی و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که کاغذهای سلولزی با اضافه کردن آنتوسیانین *Lithospermum erythrorhizon* به دلیل وجود ترکیبات پلی‌فنی موجود در آنتوسیانین و خاصیت آب‌گریزی به راحتی در آب حل نمی‌شوند و مقدار حلالیت در آن‌ها کاهش می‌یابد. همچنین کورک و همکاران (۲۰۱۸) اعلام نمودند میزان حلالیت فیلم‌های کیتوزان با افزایش غلظت غلظت عصاره بلوبری و بلکبری کاهش می‌یابد که علت این کاهش در غلظت‌های بالا را به دلیل حضور آنتوسیانین و کاهش گروه‌های عاملی آزاد در کیتوزان اعلام کردند.

نفوذپذیری به بخار آب

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی (محتوای رطوبت، حلالیت آب و نفوذپذیری بخار آب) فیلم نشاسته/صمغ کتیرا حاوی درصدهای مختلف عصاره آنتوسیانین پنیرک

Table 1- Physical properties (moisture contents, water solubility and water vapor permeability) of the starch/tragacanth films containing different percentages of *Malva sylvestris* anthocyanin extract\*

Treatment	Moisture (%)	WVP (g/m.s. Pa × 10 <sup>-10</sup> )	Water Solubility (%)
Control	4.93±0.04 <sup>D</sup>	33.33±3.21 <sup>A</sup>	94.44±4.8 <sup>B</sup>
0.5% extract	6.36±0.14 <sup>C</sup>	28.32±5.13 <sup>A</sup>	42.5±6.61 <sup>A</sup>
1% extract	7.95±0.13 <sup>B</sup>	26.78±3.49 <sup>A</sup>	44.28±5.15 <sup>A</sup>
2% extract	13.7±0.13 <sup>A</sup>	30.22±0.93 <sup>A</sup>	48.23±11.09 <sup>A</sup>

\* Values are given as mean ± SD. Different letters in the same column indicate significantly different (P<0.05).

## ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها

ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا و آنتوسیانین گیاه پنیرک در جدول ۲ نشان داده شده است. مقاومت کششی در کامپوزیت نشاسته/صمغ کتیرا برابر ۲/۹۰ مگاپاسکال اندازه‌گیری شد. با اضافه شدن آنتوسیانین به فیلم‌ها، مقاومت کششی کاهش یافت به طوری که کمترین مقاومت در فیلم‌های حاوی ۲ درصد آنتوسیانین مشاهده شد. به طوری کلی نتایج مختلفی از اثرات آنتوسیانین‌ها بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها گزارش شده است. رادکوئین و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند افزودن آنتوسیانین *Clitoria ternatea* منجر به کاهش خواص مکانیکی در فیلم‌های کامپوزیت ژلاتین می‌گردد. نتایج معکوسی در تحقیقات هوآنگ و

همکاران (۲۰۱۹) برای افزودن عصاره پوسته دانه سویای سیاه به فیلم‌های آگار و یافته‌های دانگ و همکاران (۲۰۲۰) برای افزودن آنتوسیانین ریشه گل گاوزبان به فیلم‌های سلولز گزارش شد است. روی و ریم (۲۰۲۱) گزارش دادند اضافه شدن آنتوسیانین *Clitoria ternatea* به فیلم‌های کربوکسی‌متیل سلولز/آگار در خواص مکانیکی فیلم تغییر قابل‌توجهی ایجاد نکرد. تفاوت این نتایج می‌تواند ناشی از اختلاف در ترکیب شیمیایی عصاره‌ها و آنتوسیانین‌های مختلف باشد که واکنش‌های متفاوتی را پس از قرارگیری در ماتریکس فیلم با گروه‌های عاملی از خود نشان داده و در نهایت تغییر ویژگی‌های فیلم‌ها را به همراه خواهند داشت.

جدول ۲- ویژگی‌های مکانیکی (مقاومت کششی و افزایش طول در لحظه پاره شدن) فیلم نشاسته/صمغ کتیرا حاوی درصد‌های مختلف آنتوسیانین گیاه پنیرک

Table 2-Mechanical properties (tensile strength and elongation at break) of the starch/tragacanth films containing different percentages of *Malva sylvestris* anthocyanin extract\*

Treatment	Tensile (MPa)	Strain (mm/mm)
Control	32±3.7 <sup>A</sup>	2.9±0.28 <sup>D</sup>
0.5% extract	51.27±5.38 <sup>B</sup>	1.67±0.19 <sup>C</sup>
1% extract	39.85±2.79 <sup>A</sup>	0.67±0.06 <sup>B</sup>
2% extract	36.49±8.10 <sup>A</sup>	0.2±0.07 <sup>A</sup>

\* Values are given as mean ± SD. Different letters in the same column indicate significantly different (P<0.05).

## تست حساسیت به تغییر pH

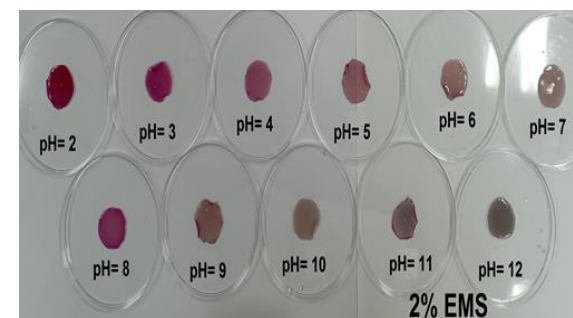
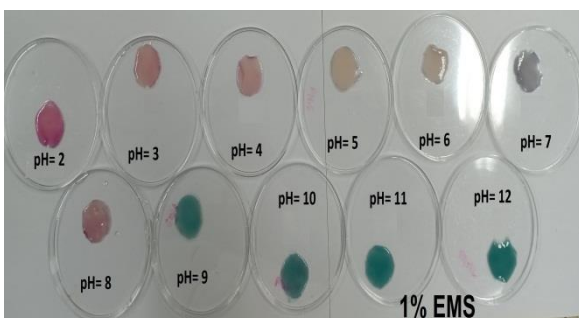
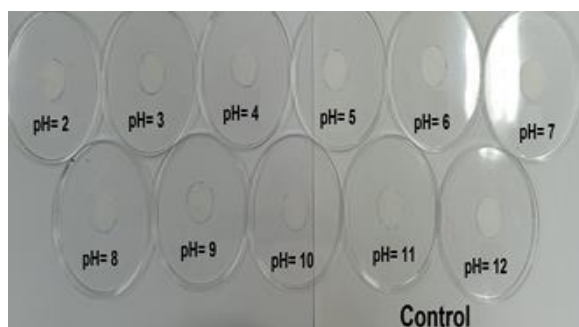
تغییر رنگ عصاره حاوی آنتوسیانین گیاه پنیرک در مقادیر مختلف pH (۲ تا ۱۲) مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل ۵ نشان داده شده است. محلول آنتوسیانین در مقادیر مختلف pH دارای طیف‌های رنگی متفاوتی بود. این محلول در pH بین ۲ تا ۴ به رنگ صورتی بود که این رنگ در pH برابر ۵ محو شد و در pH بین ۶ تا ۷ به رنگ بنفش در آمد. رنگ محلول در pH برابر ۸ بنفش تیره، در pH برابر ۹ به رنگ آبی و در pH برابر ۱۲ سبز شد. رنگ عصاره گیاه پنیرک حاوی آنتوسیانین در این مطالعه در عرض کمتر از ۵ ثانیه تغییر نمود. مطالعات گذشته نشان داد که عصاره

هویج سیاه با محتوای بالای آنتوسیانین‌های آسیله شده هنگام قرار گرفتن در معرض مقادیر مختلف pH دارای حساسیت متوسط بوده و تغییر رنگ در کمتر از یک دقیقه صورت می‌پذیرد (آگار و همکاران ۲۰۱۴). در مقابل عصاره‌هایی با مقادیر کم آنتوسیانین‌های آسیله شده مثل *black soybean seed coat* حساسیت بالایی هنگام قرار گرفتن در معرض مقادیر مختلف pH داشته و در عرض ۵ ثانیه دچار تغییر رنگ می‌شوند (پریتو و همکاران ۲۰۱۷). میزان حساسیت آنتوسیانین‌ها نسبت به تغییرات pH به ساختار آنتوسیانین استفاده شده بستگی دارد (محمدعلینژاد و همکاران ۲۰۲۰).

تغییرات رنگ فیلم‌های نشاسته ساخته شده از نشاسته/کتیرا حاوی آنتوسیانین گیاه پنیرک در معرض

آمد. رنگ نشانگر حاوی آنتوسیانین ۲ درصد در مقادیر مختلف pH تغییر رنگ محسوسی نشان ندادند و در بازه رنگی بنفش تا بنفش تیره قرار داشت. تغییرات رنگ ناشی از مقادیر مختلف pH در نشانگرهای حاوی ۰/۵ و ۱ درصد با تغییرات محلول آنتوسیانین دارای الگوی مشابهی بود. با توجه به تفاوت مشهود رنگ فیلم‌ها در مقادیر مختلف pH می‌توان عنوان کرد آنتوسیانین گیاه پنیرک می‌تواند در تهیه و ساخت نشانگرهای تازگی/فساد مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

pHهای مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است. رنگ نشانگر حاوی ۰/۵ درصد آنتوسیانین در pH برابر ۲ صورتی بود که با افزایش pH کم‌رنگ شده و در pH برابر ۵ محو شد. رنگ سبز روشن نیز در pH برابر ۱۱ ظاهر شد. رنگ نشانگر حاوی ۱ درصد آنتوسیانین در pH بین ۲ تا ۴ به رنگ صورتی بود که در pH برابر ۵ محو شده و در pH بین ۶ تا ۷ به بنفش تغییر یافت. رنگ نشانگر در pH برابر ۸ بنفش تیره، در pH برابر ۹ و ۱۰ به رنگ آبی و در pH برابر ۱۲ به رنگ سبز در



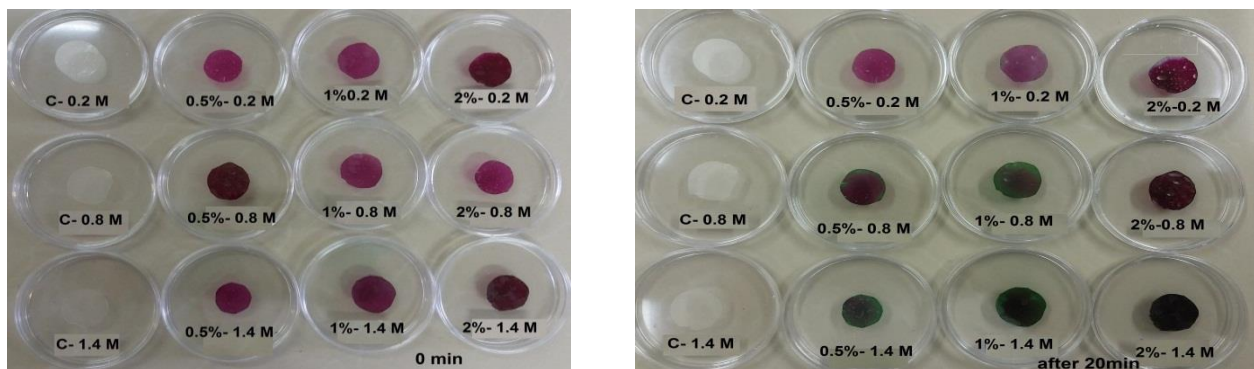
شکل ۵- رنگ‌های قابل مشاهده در عصاره حاوی آنتوسیانین گیاه پنیرک و نشانگر ساخته شده از نشاسته/صمغ کتیرا حاوی درصدهای مختلف آنتوسیانین گیاه پنیرک در محدوده pH بین ۲-۱۲

Figure 5- Visible colors of *Malva sylvestris* anthocyanin extract and the fabricated starch/tragacanth indicator of *Malva sylvestris* anthocyanin extract at the pH 2-12

ثابت ماند. با این حال نشانگرها در غلظت ۰/۲ مولار تا پایان زمان بررسی نسبت به بخار آمونیاک پاسخ رنگی نشان ندادند که بیانگر واکنش کم آنتوسیانین در نشانگر به هنگام قرار گرفتن در معرض گاز آمونیاک با غلظت پایین می‌باشد. تیمار حاوی ۲ درصد آنتوسیانین نیز فقط در غلظت ۱/۴ مولار آمونیاک پس از ۲۰ دقیقه پاسخ رنگی به بخار آمونیاک نشان داد. محمد علی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که نشانگر حاوی آنتوسیانین *Echium amoenum* پس از ۵ دقیقه تماس در معرض غلظت‌های مختلف آمونیاک تنها در غلظت‌های ۰/۸ و ۱/۴ مولار گاز مربوطه از خود پاسخ‌های رنگی نشان دادند.

### تست حساسیت به آمونیاک

تست حساسیت به آمونیاک برای شبیه‌سازی انتشار ترکیبات نیتروژن فرار در روند فساد مواد غذایی استفاده می‌شود (ژانگ و همکاران ۲۰۱۹). نشانگرهای رنگی ساخته شده با غلظت‌های مختلف آنتوسیانین گیاه پنیرک در فواصل ۵ دقیقه‌ای در معرض غلظت‌های مختلف بخارات آمونیاک (۰/۲، ۰/۸ و ۱/۴ مولار) قرار گرفته که پاسخ‌های رنگی در شکل ۶ ارائه شده است. یافته‌ها نشان داد فیلم‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد آنتوسیانین در غلظت‌های ۰/۸ و ۱/۴ مولار آمونیاک حساسیت بالایی به بخار آمونیاک نشان دادند که این حساسیت بعد از ۲۰ دقیقه واضح‌تر گردید و پس از آن



شکل ۶- رنگ‌های قابل مشاهده در نشانگر ساخته‌شده از نشاسته/صمغ کتیرا حاوی درصد‌های مختلف آنتوسیانین گیاه پنیرک در غلظت‌های مختلف آمونیاک

Figure 6- Visible colors of the fabricated starch/tragacanth indicator containing different percentages of *Malva sylvestris* anthocyanin extract at the different concentrations of ammonia

کاربرد به عنوان فیلم‌های نشانگر تازگی/فساد را دارا بوده و از این رو ارزیابی قابلیت کاربرد این فیلم جهت سنجش تازگی/فساد محصولات غذایی نظیر محصولات گوشتی پیشنهاد می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از جناب آقای دکتر مهدی آل‌بو فتیله به دلیل راهنمایی‌های ارزنده ایشان و همچنین همکاری ریاست محترم و پرسنل آزمایشگاه مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان واقع در شهرستان

### نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد افزودن عصاره آنتوسیانین گیاه پنیرک به فیلم‌های کامپوزیت نشاسته/کتیرا در نسبت‌های مختلف منجر به کاهش رطوبت، حلالیت، ویژگی‌های مکانیکی و افزایش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های حاصله می‌گردد. همچنین اضافه شدن عصاره آنتوسیانین باعث ایجاد رنگ‌های مختلفی در فیلم‌ها در پاسخ به مقادیر مختلف pH و همچنین غلظت‌های مختلف آمونیاک گردید. بر این اساس می‌توان عنوان نمود که فیلم تهیه شده قابلیت

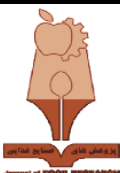
بندر انزلی بابت انجام آزمایشات مربوط به این تحقیق تقدیر و تشکر کنند.

### منابع مورد استفاده

- شاه‌ملکی م، بیگ‌محمدی ف. و موحدی ف. (۱۴۰۰). بهینه‌سازی تولید بیوکامپوزیت نشاسته ترموپالستیک با پرکننده سلولز. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳۱(۴)، ۹۷-۱۱۳.
- رسولی م، روستایی پ و بابایی آ. (۱۳۹۶) بررسی و مقایسه انبارمانی ارقام مختلف انگور در شرایط کنترل شده. پژوهش‌های میوه‌کاری، ۲(۱)، ۶۱-۷۴.
- Abedi-Firoozjah, R, Yousefi S, Heydari M, Seyedfatehi F, Jafarzadeh S, Mohammadi R, Rouhi M, and Garavand F. (2022). Application of red cabbage anthocyanins as pH-sensitive pigments in smart food packaging and sensors. *Polymers*, 14(8), 1629. <https://doi.org/10.3390/polym14081629>
- Ahmadiani N, Robbins, RJ, Collins, TM, & Giusti, M M. (2014). Anthocyanins contents, profiles, and color characteristics of red cabbage extracts from different cultivars and maturity stages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(30), 7524-7531. <https://doi.org/10.1021/jf501991>
- Alizadeh-Sani M, Tavassoli M, McClements D J, & Hamishehkar H. (2021). Multifunctional halochromic packaging materials: Saffron petal anthocyanin loaded-chitosan nanofiber/methyl cellulose matrices. *Food hydrocolloids*, 111, 106237. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106237>
- Almasian A, Najafi F, Eftekhari M, Ardekani MRS, Sharifzadeh, M, & Khanavi M. (2020). Polyurethane/carboxymethylcellulose nanofibers containing Malva sylvestris extract for healing diabetic wounds: Preparation, characterization, in vitro and in vivo studies. *Materials Science and Engineering: C*, 114, 111039. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111039>
- Algarra M, Fernandes A, Mateus N, de Freitas V, da Silva J C E & Casado J. (2014). Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (*Daucus carota* L. ssp. sativus var. atrorubens Alef.) from Cuevas Bajas, Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.005>
- Amjadi S, Nazari M, Alizadeh SA & Hamishehkar H. (2020). Multifunctional betanin nanoliposomes-incorporated gelatin/chitosan nanofiber/ZnO nanoparticles nanocomposite film for fresh beef preservation. *Meat science*, 167, 108161. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108161>
- ASTM (1995). Standard test methods for water vapor transmission of material, E 96-95. Annual book of ASTM, American Society for Testing and Material. Philadelphia, PA.
- ASTM (2002). Standard Test method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual book of ASTM Standards. Designation D882-02. Philadelphia, PA: American Society for Testing Materials.
- Choi I, Lee J Y, Lacroix M & Han, J. (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food chemistry*, 218, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.050>
- Dong H, Ling Z, Zhang X, Zhang X, Ramaswamy S, & Xu F. (2020) Smart colorimetric sensing films with high mechanical strength and hydrophobic properties for visual monitoring of shrimp and pork freshness *Sensors and Actuators B: Chemical*, 309, 127752 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127752>
- Ezati P, Tajik H, Moradi M, & Molaei R. (2019) Intelligent pH-sensitive indicator based on starch-cellulose and alizarin dye to track freshness of rainbow trout fillet *International journal of biological macromolecules*, 132, 157-165 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.173>
- Ezati P, Tajik H, & Moradi M. (2019) Fabrication and characterization of alizarin colorimetric indicator based on cellulose-chitosan to monitor the freshness of minced beef *Sensors and Actuators B: Chemical*, 285, 519-528 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.01.089>
- Ezati P, Bang Y J, & Rhim J W. (2021) Preparation of a shikonin-based pH-sensitive color indicator for monitoring the freshness of fish and pork *Food chemistry*, 337, 127995 <https://doi.org/10.1016/j.2020.12.7995>

- Farina A, Doldo A, Cotichini V, Rajevic M, Quaglia M G, Mulinacci N, & Vincieri, F F. (1995) HPTLC and reflectance mode densitometry of anthocyanins in *Malva silvestris* L: a comparison with gradient-elution reversed-phase HPLC *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 14(1-2), 203-211 [https://doi.org/101016/0731-7085\(95\)01632-5](https://doi.org/101016/0731-7085(95)01632-5)
- Guiga, W, Swesi, Y, Galland, S, Peyrol, E, Degraeve, P, & Sebti I. (2010) Innovative multilayer antimicrobial films made with Nisaplin® or nisin and cellulosic ethers: Physico-chemical characterization, bioactivity and nisin desorption kinetics *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(2), 352-360 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.01.008>
- Huang J, Chen M, Zhou Y, Li Y, & Hu Y. (2020) Functional characteristics improvement by structural modification of hydroxypropyl methylcellulose modified polyvinyl alcohol films incorporating roselle anthocyanins for shrimp freshness monitoring *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1250-1261 <https://doi.org/101016/j.jbiomac.2020.06.156>
- Huang S, Xiong, Y, Zou Y, Dong Q, Ding F, Liu X, & Li, H. (2019) A novel colorimetric indicator based on agar incorporated with *Arnebia euchroma* root extracts for monitoring fish freshness *Food Hydrocolloids*, 90, 198-205 <https://doi.org/101016/j.foodhyd.2018.12.009>
- Jiang G, Hou X, Zeng X, Zhang C, Wu H, Shen G, Li S, Luo Q, Li M, Liu X, Chen A, Wang Z & Zhang Z. (2020) Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 359-372 <https://doi.org/101016/j.jbiomac.2019.12.024>
- Kurek, M, Garofulić, I E, Bakić, M T, Ščetar, M, & Uzelac, V D (2018) Development and evaluation of a novel antioxidant and pH indicator film based on chitosan and food waste sources of antioxidants *Food Hydrocolloids*, 84, 238-246 <https://doi.org/101016/j.foodhyd.2018.05.050>
- Liu, J, Wang, H, Guo, M, Li, L, Chen, M, Jiang, S, Li, X & Jiang, S (2019) Extract from *Lycium ruthenicum* Murr Incorporating  $\kappa$ -carrageenan colorimetric film with a wide pH-sensing range for food freshness monitoring *Food Hydrocolloids*, 94, 1-10 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.008>
- Liang, T, & Wang, L (2018) Preparation and characterization of a novel edible film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch gum: Effects of type and concentration of plasticizers *Food Hydrocolloids*, 77, 502-508 <https://doi.org/101016/j.foodhyd.2017.10.028>
- Meng, Y, Luo, H, Dong, C, Zhang, C, He, Z, Long, Z, & Cha, R (2020) Hydroxypropyl guar/cellulose nanocrystal film with ionic liquid and anthocyanin for real-time and visual detection of NH<sub>3</sub> *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(26), 9731-9741 <https://doi.org/101021/acsuschemeng.0c01833>
- Mallakpour, S, & Abbasi, M (2020) Hydroxyapatite mineralization on chitosan-tragacanth gum/silica@ silver nanocomposites and their antibacterial activity evaluation *International journal of biological macromolecules*, 151, 909-923 <https://doi.org/101016/j.jbiomac.2020.02.167>
- Mohammadalinejad, S, Almasi, H, & Moradi, M (2020) Immobilization of *Echium amoenum* anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp *Food Control*, 113, 107169 <https://doi.org/101016/j.foodcont.2020.107169>
- Naghdi, S, Rezaei, M, & Abdollahi, M (2021) A starch-based pH-sensing and ammonia detector film containing betacyanin of paperflower for application in intelligent packaging of fish *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 161-170 <https://doi.org/101016/j.jbiomac.2021.09.045>
- Pereira, P F, & Andrade, C T (2017) Optimized pH-responsive film based on a eutectic mixture-plasticized chitosan *Carbohydrate Polymers*, 165, 238-246 <https://doi.org/101016/j.carbpol.2017.02.047>
- Pirsa, S, Mohtarami, F, & Kalantari, S (2020) Preparation of biodegradable composite starch/tragacanth gum/nanoclay film and study of its physicochemical and mechanical properties *Chemical Review and Letters*, 3(3), 98-103 <https://doi.org/1022034/CRL20202294831055>
- Roy, S, & Rhim, J W (2021) Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(14), 2297-2325 <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1776211>

- Roy, S, & Rhim, J W. (2021) Gelatin/agar-based functional film integrated with Pickering emulsion of clove essential oil stabilized with nanocellulose for active packaging applications *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 627, 127220 <https://doi.org/101016/j.colsurfa2021127220>
- Roy, S, Kim, H J, & Rhim, J W. (2021) Effect of blended colorants of anthocyanin and shikonin on carboxymethyl cellulose/agar-based smart packaging film *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 305-315 <https://doi.org/101016/j.jbiomac202104162>
- Ranjbar-Mohammadi, M. (2018) Production of cotton fabrics with durable antibacterial property by using gum tragacanth and silver *International journal of biological macromolecules*, 109, 476-482 <https://doi.org/101016/j.jbiomac201712093>
- Rawdkuen S, Faseha A, Benjakul S, & Kaewprachu P. (2020) Application of anthocyanin as a color indicator in gelatin films *Food Bioscience*, 36, 100603 <https://doi.org/101016/j.fbio2020100603>
- Siriwoharn T, Wrolstad R E, Finn C E & Pereira C B. (2004) Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus L Hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 8021-8030 <https://doi.org/101021/jf048619y>
- Wada L, & Ou B. (2002) Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3495-3500 <https://doi.org/101021/jf0114051>
- Wang X, Yong, H, Gao L, Li L, Jin M, & Liu J. (2019) Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on chitosan and black soybean seed coat extract *Food hydrocolloids*, 89, 56-66 <https://doi.org/101016/j.foodhyd201810019>
- Wu, X, Gu, L, Prior, R L, & McKay, S. (2004) Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7846-7856 <https://doi.org/101021/jf0486850>
- Yong, H, & Liu, J (2020) Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and intelligent packaging films *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100550 [https://doi.org/101016/j.fpsl2020\\_100550](https://doi.org/101016/j.fpsl2020_100550)
- Yousefi, H, Su, H M, Imani, S M, Alkhalidi, K, M Filipe, C D, & Didar, T F. (2019) Intelligent food packaging: A review of smart sensing technologies for monitoring food quality *ACS sensors*, 4(4), 808-821 <https://doi.org/101021/acssensors9b00440>
- Zia J, Mancini, G Bustreo M, Zych A, Donno R, Athanassiou A, & Fragouli D. (2021) Porous pH natural indicators for acidic and basic vapor sensing *Chemical Engineering Journal*, 403, 126373 <https://doi.org/101016/j.ccej2020126373>
- Zhai X, Shi, J, Zou, X, Wang, S, Jiang, C, Zhang, J, Huang, X, Zhang W & Holmes, M. (2017) Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring *Food Hydrocolloids*, 69, 308-317 <https://doi.org/101016/j.foodhyd201702014>
- Zhang J, Zou X, Zhai X, Huang X, Jiang C & Holmes M. (2019) Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness *Food Chemistry*, 272, 306-312 <https://doi.org/101016/j.foodchem201808041>



Journal of Food Research, 2023,33(2):125-141

<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>

OPEN ACCESS



© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

DOI: 10.22034/FR.2023.54133.1855

## Properties Evaluation of pH-sensitive films based on starch/tragacanth and common mallow (*Malva sylvestris*) anthocyanins

F Noghani Bahambari<sup>1</sup>, H Rajabi Islami<sup>2\*</sup> and M Shamsaie Mehrjan<sup>2</sup>

Received: November 15, 2022 Accepted: January 14, 2023

<sup>1</sup>PhD Student of Aquaculture Engineering, Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\*Corresponding Author: Email: rajabih@srbiau.ac.ir

**Introduction:** In recent years, researchers have focused on production of active and smart packaging due to the increasing interest of consumers in biodegradable packaging. Smart films are a category of biodegradable films that convey visual information to consumers. Anthocyanins are a group of flavonoids that are responsible for the red, blue and purple colors of plants. The color of anthocyanins changes in different pH. *Malva sylvestris* is a violet-petalled plant with a wide range of antioxidant, anti-inflammatory, anti-carcinogenic, and antimicrobial activities, which is native to Europe, North Africa, and Southeast Asia (particularly Iran). Numerous studies have been conducted on the phytochemicals present in this plant, and it has been found to contain substantial quantities of anthocyanins, flavone, flavonols, naphthoquinone, various monoterpenes, niacin, and folic acid. The use of anthocyanins from different plants in combination with biopolymers has attracted increasing interest in the food industry. The replacement of non-biodegradable fossil-based packaging by biodegradable materials or from renewable sources can lead to reduced environmental impact. One of these biopolymers is starch. Starch is one of the most important polysaccharides, which is used in the production of biodegradable films due to its good film-forming ability, ease of production, renewable resources, and low price. However, like other natural polymers, it has films with low mechanical and thermal resistance, especially in conditions of high relative humidity. In recent years, many studies have been conducted to improve the characteristics of films made from natural polymers. One of the ways to strengthen the characteristics of biopolymer films is to combine natural polymers with each other and form a composite. Tragacanth, also known as Tragacanth Gum in the world, is the most important product of the tragacanth plant. Tragacanth Gum has a good stability against acids. Gum tragacanth is usually hydrated in water at a low concentration and forms a gel at a concentration of 2 to 4%. Also, Tragacanth Gum has a long storage life without reducing viscosity compared to other hydrocolloids. In addition to this, past studies have proven that Tragacanth Gum has the ability to form a film. The purpose of this research is to prepare a kind of smart packaging sensitive to pH based on natural polymers of starch/tragacanth as a solid matrix and anthocyanins of *Malva sylvestris* plant as a pH sensitive indicator.

**Material and methods:** First, the anthocyanin in the petals of *Malva sylvestris* was extracted by immersion method (ethanol and acid). Then, Smart film based on starch/tragacanth containing



*Malva sylvestris* extract was produced by casting method. Finally, The effect of addition of *Malva sylvestris* extract on the structural (FT-IR, XRD, SEM), physical (moisture, water solubility, WVP), mechanical (TS and elongation at break) properties, color, sensitivity to pH and ammonia of starch/tragacanth films were investigated.

**Results and discussion:** Results showed that the moisture content and water solubility were significantly lower in the films containing anthocyanins than control starch/tragacanth film. WVP of films were decreased with increasing the anthocyanins concentration. The TS of films were decreased with addition of anthocyanins and lowest TS were observed in the films containing 2% anthocyanins. The extracted anthocyanins were sensitive to the pH changes and lower 5 s the color change was observed. The color of films were pink, purple and green at acidic, neutral and alkaline, respectively. Furthermore, the films containing 0.5 and 1% anthocyanin extract were sensitive to the 0.8 and 1.4 M ammonia and after 20 min the color change were observed.

**Conclusion:** This result showed that smart films containing *Malva sylvestris* anthocyanins extract has the potential to be used as films indicating freshness/corruption.

**Keywords:** Smart packaging, Anthocyanin, Starch, Tragacanth, *Malva sylvestris*