

بررسی تاثیر نانو بلور سلولز بر خصوصیات فیزیکی فیلم بیونانو کامپوزیتی ایزوله پروتئین آب پنیر

زینب غضنفرزاده^{۱*}، مهدی کدیور^۲

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۲، تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۷)

چکیده

امروزه، اکثر مواد مورد استفاده برای بسته‌بندی مواد غذایی، مواد زیست تخریب‌ناپذیر هستند که سبب ایجاد مشکلات محیطی جدی شده‌اند. بنابراین، فیلم‌های خوراکی بر پایه مواد طبیعی به دلیل زیست تخریب‌پذیر بودن، می‌توانند راه‌حل امیدوارکننده‌ای برای حل مشکلات محیطی ناشی از بسپارهای سنتزی باشد. این فیلم‌ها علاوه بر زیست تخریب‌پذیری و خصوصیات ممانعتی خوب در برابر گازها، از خواص مکانیکی و نفوذپذیری ضعیفی نسبت به بخار آب نیز برخوردار هستند. لذا هدف از این پژوهش، استخراج نانو بلورهای سلولز از پوسته یولاف و افزودن آن به بیوفیلم ایزوله پروتئین آب پنیر به‌عنوان عامل تقویت‌کننده خواص آن است. به‌همین منظور، از روش هیدرولیز اسیدی جهت استخراج نانو بلورهای سلولز از پوسته یولاف استفاده و در ادامه فیلم‌های بیونانو کامپوزیتی بر پایه ایزوله پروتئین آب پنیر با مقادیر ۰، ۲/۵، ۵ و ۷/۵٪ نانو بلورهای سلولز به روش قالب‌ریزی محلول تهیه شدند و اثرات نانو بلورهای سلولز بر خصوصیات سطحی، شفافیت، خصوصیات مکانیکی و نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، افزودن نانو بلورهای سلولز، سبب بهبود خواص مکانیکی کامپوزیت‌ها شده است که در این رابطه، فیلم‌های تهیه شده از ۵٪ نانو بلور سلولز، دارای بیش‌ترین استحکام کششی و مدول الاستیسیته و نیز کم‌ترین کشش‌پذیری بوده‌اند. افزودن نانو بلورهای سلولز سبب کاهش تراوایی فیلم‌ها به بخار آب شد که توانست تا ۳۶٪ نفوذپذیری به بخار آب را کاهش دهد و همچنین سبب کاهش شفافیت و تراکم فیلم‌ها و زبر و ناصاف شدن سطح آن‌ها گردید. در مجموع، نتایج به‌دست آمده نشان داد که نانو بلورهای سلولز استخراجی از پوسته یولاف می‌تواند اثرات مثبتی بر خصوصیات فیزیکی فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر داشته باشد و به بهبود خواص آن کمک کند.

واژه‌های کلیدی: بیونانو کامپوزیت، نانو بلور سلولز، ایزوله پروتئین آب پنیر، خواص فیزیکی

* نویسنده مسئول: z.qazanfarzadeh@yahoo.com

۱- مقدمه

با طبیعت و نوشونده می‌باشد. هم‌چنین دارای چگالی کم، نسبت بعد^۱ بالا، ویژگی‌های مکانیکی مطلوب، توانایی تشکیل و تقویت‌کنندگی شبکه می‌باشد [۶، ۷]. در دهه اخیر محققان به استفاده از مواد زائد سلولزی به‌عنوان پرکننده روی آورده‌اند و استفاده از نانو مواد سلولزی توجه بسیاری را برای تقویت پلیمرهای مختلف به خود جلب نموده است. تاکنون مواد زائد کشاورزی مانند فیبرهای پوسته نارگیل^۲، کاه برنج، تفاله کاساوا^۳، ساقه موز^۴، پوست درخت شاتوت^۵، غلاف لوبیای سویا^۶، گندم، پوسته سویا^۷ و ساقه ذرت^۸ به‌عنوان منابعی برای تولید فیبرهای سلولزی و نانو بلورهای سلولز مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۸]. در این پژوهش سعی شد از پوسته یولاف که یکی از ضایعات محصولات کشاورزی محسوب می‌شود، استفاده مفیدی جهت تولید نانو بلورهای سلولز و بهره‌گیری از آن در تولید بسته‌های زیست تخریب‌پذیر شود. تاکنون پژوهش‌های زیادی در مورد اثرات تقویت‌کنندگی نانو بلورهای سلولز بر خصوصیات پلیمرهای طبیعی صورت گرفته است [۹-۱۳]. اما گزارشات مبنی بر تاثیر این نانو ذرات بر پلیمرهای پروتئینی به خصوص ایزوله پروتئین آب پنیر بسیار اندک می‌باشد. بنابراین هدف از این پژوهش استخراج نانو بلورهای سلولز از پوسته یولاف و افزودن آن‌ها به‌عنوان عامل تقویت‌کننده خواص به بیوفیلیم پروتئین آب پنیر و بررسی خصوصیات فیزیکی نانوکامپوزیت تولیدی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

در این تحقیق از پوسته جدا شده رقم بومی یولاف کشت شده در اصفهان استفاده شد. مواد شیمیایی شامل سدیم کلرید، اسید استیک، پتاسیم هیدروکسید، اسید سولفوریک، گلیسرول و کلسیم کلرید از شرکت مرک آلمان و ایزوله پروتئین آب پنیر با ۹۲٪ پروتئین، از شرکت کارن خریداری شدند.

با توجه به افزایش هشدارهای زیست محیطی، امروزه فیلم‌های بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر و سازگار با محیط زیست که تحت عنوان فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی شناخته می‌شوند، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. عمده مواد پلیمری طبیعی که در ساخت فیلم‌ها و پوشش‌ها به‌کار می‌روند، شامل پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، پروتئین‌ها و یا ترکیبی از آن‌ها هستند. در این بین، اکثر فیلم‌های پروتئینی سبب بهبود قابل ملاحظه‌ای در خواص مکانیکی و مانعیتی نسبت به سایر فیلم‌های زیست پلیمر نظیرشان شده‌اند [۱].

آب پنیر یکی از فراورده‌های جانبی فراوری و تولید پنیر محسوب می‌گردد که به‌عنوان یک فراورده با ارزش، کاربردهای زیادی در فناوری غذایی و سایر صنایع پیدا کرده است. تحقیقات نشان داده است که پروتئین آب پنیر، توانایی ایجاد فیلم‌های پروتئینی شفاف و انعطاف‌پذیر را داشته و چنین فیلم‌هایی مقاومت بسیار خوبی در برابر نفوذپذیری اکسیژن، مواد معطر و روغن‌ها نسبت به سایر فیلم‌های پروتئینی و پلی‌ساکاریدی از خود نشان می‌دهند و می‌توانند به‌عنوان حامل برای افزودنی‌ها و ترکیبات مختلف مانند مواد ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان‌ها عمل کنند [۲، ۳]. اما به‌دلیل خاصیت آبدوستی و ترکیبات جاذب رطوبت که به آن‌ها افزوده می‌شود، مانع خوبی به رطوبت و بخار آب نبوده و از خواص مکانیکی مطلوبی نیز برخوردار نیستند. یکی از راه‌های بهبود ویژگی‌های فیلم‌های پروتئینی استفاده از ترکیبات نانو پرکننده و تولید نانوکامپوزیت است که می‌تواند سبب بهبود کیفیت و کارایی مواد بسته‌بندی و در نتیجه اطمینان از امنیت غذایی گردد [۴، ۵]. نانو ذرات می‌توانند باعث بهبود خواص مختلف حرارتی، الکتریکی و مقاومت در برابر عبور ماده در مقایسه با کامپوزیت‌های متداول شوند. این خواص به‌دلیل نسبت سطح به حجم و طول به قطر بالا در اثر برهمکنش فیزیکی در جهت تشکیل شبکه، در نانو ذرات مشاهده می‌شود.

سلولز یکی از فراوان‌ترین پلیمرهای زیستی طبیعی است که طی واکنش با اسید هیدرولیز شده و ذراتی با ابعاد نانو برجای می‌گذارد. این ذرات بسیار بلورین، میله‌ای شکل و آبدوست می‌باشد و در مقایسه با سایر نانو ذرات، ارزان، فراوان، سازگار

1. aspect ratio
2. coconut husk fiber
3. cassava bagasse
4. banana rachis
5. mulberry bark
6. soybean ponds
7. soy hulls
8. corn stalks

۲-۲- تهیه نانو بلور سلولز

ابتدا پوسته یولاف به منظور حذف گرد و خاک و ترکیبات محلول در آب چندین بار با آب گرم شسته و سپس در هوای آزاد خشک شد. پوسته‌های یولاف تمیز و خشک توسط آسیاب برقی خرد و به پودر تبدیل شدند. سپس پودرها در محلول ۱/۴ درصد سدیم کلریت که pH آن توسط اسید استیک به ۳-۴ رسیده بود، در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت به منظور حذف لیگنین غوطه‌ور شدند. جهت حذف همی سلولز، پودرهای بدون لیگنین در محلول ۵ درصد پتاسیم هیدروکسید به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و بعد از آن به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حل و همزده شدند. سلولزهای سفیدرنگ به دست آمده، سانتریفوژ شدند و سوسپانسیون آبی نمونه منجمد شده و نمونه‌ها توسط خشک‌کن انجمادی مدل FD-5003-BT، دنا و کیوم، به پودر تبدیل شدند [۱۴]. جهت تهیه نانو بلور سلولز، سلولزهای به دست آمده توسط اسید سولفوریک ۶۵-۶۴ درصد وزنی با نسبت اسید به سلولز ۸/۷۵ میلی‌لیتر به ۱ گرم در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه تحت شرایط همزدن مداوم هیدرولیز شدند. هیدرولیز اسیدی با رقیق کردن سوسپانسیون تحت هیدرولیز با ده برابر آب سرد متوقف و عمل سانتریفوژ با سرعت ۹۴۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس سوپرناتانت تخلیه و با آب مقطر جایگزین شد. عمل سانتریفوژ تا رسیدن pH سوپرناتانت به بالای ۵، چندین بار تکرار شد و سپس در کیسه دیالیز در برابر آب مقطر تا رسیدن به pH حدود ۶ قرار گرفت. سوسپانسیون به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه تحت امواج فراصوت با توان اسمی ۱۰۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز با فواصل زمانی ۱۰ دقیقه در حمام یخ قرار گرفت. در نهایت سوسپانسیون حاصل منجمد و توسط خشک‌کن انجمادی به پودر تبدیل شد [۱۵، ۱۶].

۳-۲- تهیه فیلم نانو کامپوزیتی

فیلم‌های نانو کامپوزیتی در سطوح ۰، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ درصد وزنی/وزنی تهیه شدند. جهت تهیه این نوع از فیلم‌ها ابتدا نانو بلورهای سلولز در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه تحت تیمار فراصوت با توان اسمی ۱۰۰ وات

و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز قرار گرفتند. سپس ۱۰ گرم از پودر ایزوله پروتئین آب پنیر به سوسپانسیون نانو بلور سلولز افزوده شد و جهت هیدراته شدن بهتر پروتئین‌ها به مدت یک ساعت توسط همزن مغناطیسی هم زده شد. پس از آن، گلیسرول به عنوان نرم‌کننده با غلظت ۵۰ درصد وزنی ایزوله پروتئین آب پنیر به محلول سازنده فیلم افزوده شد و جهت انحلال بیش‌تر پروتئین‌ها pH محلول فیلم توسط هیدروکسید سدیم ۱ مولار به ۹ رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آبی با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد هم زده شد و پس از سرد شدن به منظور خروج هوای حبس شده در محلول از امواج فراصوت استفاده شد. محلول نهایی فیلم‌ها با ریختن حجم مناسبی از محلول سازنده فیلم با پیپت در پلیت‌های پلاستیکی با قطر ۱۰۰ میلی‌متر و قرار دادن این پلیت‌ها بر روی یک سطح صاف، قالب‌گیری و پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد خشک و سپس از سطح پلیت مانند یک ورقه جدا شدند [۱۷].

۴-۲- بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

جهت بررسی قطر الیاف‌های سلولزی پس از استخراج و هیدرولیز اسیدی و همچنین جهت بررسی مورفولوژی سطح فیلم و مطالعه تغییرات سطحی فیلم‌ها به دلیل افزودن نانو بلورهای سلولز از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. بدین منظور نمونه‌ها با لایه‌ای از طلا جهت رسانا شدن پوشش داده شدند و سپس با میکروسکوپ الکترونی با بزرگنمایی حدود ۳۶۰۰۰ برابر برای تخمین قطر نانو الیاف‌ها و حدود ۵۰۰۰ برابر با اختلاف پتانسیل الکتریکی ۲۰ کیلو ولت برای مطالعه سطح فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و تصاویر با استفاده از نرم افزار آنالیزگر تصویر (Digimizer) مورد بررسی قرار گرفتند.

۵-۲- آزمون طیف سنجی مادون قرمز فوریه (FT-IR)

این آزمون بر روی نانو بلور سلولز استخراجی، فیلم شاهد و فیلم نانو کامپوزیتی به منظور مطالعه خلوص سلولز و بررسی تشکیل پیوند بین نانو بلورهای سلولز و فیلم پروتئینی

در فرکانس بین 400 cm^{-1} تا 4000 cm^{-1} با وضوح 4 cm^{-1} توسط دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه مدل (FT-IR) Jasco-680 ژاپن انجام شد.

۲-۶- شفافیت فیلم

شفافیت فیلم‌ها با اندازه‌گیری درصد عبور نور ($T\%$) در طول موج 600 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر $uv-vi$ مطابق با استاندارد ASTM D1746 ارزیابی شد. بدین منظور برای هر نمونه قطعاتی از فیلم با ابعاد 10×40 میلی‌متر بریده شد و در سل اسپکتروفتومتر قرار داده شد و هوا در این آزمون به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شد. شفافیت فیلم‌ها (T_{600}) مطابق با رابطه ۱ محاسبه شد:

$$T_{600} = \frac{(\text{LOG}\%T)}{b} \quad (1)$$

که در این فرمول T_{600} میزان شفافیت فیلم در طول موج 600 نانومتر و b ضخامت فیلم بر حسب میلی‌متر، می‌باشد [۱۸].

۲-۷- خواص مکانیکی

برای بررسی خواص مکانیکی فیلم‌ها از دستگاه آزمون مکانیکی مدل Zwick استفاده و بر اساس استاندارد ASTM D882-91 عمل شد [۱۹]. ابتدا نمونه‌ها در یک دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات منیزیم با رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد به مدت 24 ساعت شرایط دهی شدند. سپس به صورت نوارهایی با ابعاد 80×25 میلی‌متر بریده شدند و هر دو انتهای طولی هر فیلم میان دو فک دستگاه قرار گرفتند. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب 50 میلی‌متر و 5 میلی‌متر/دقیقه تعیین شد. با آغاز عملیات آزمون، فیلم میان دو فک کشیده شد تا زمانی که پاره گردید و روند کار به صورت نمودار تنش-کرنش ظاهر شد و ویژگی‌های استحکام کششی، ازدیاد طول در نقطه پارگی و مدول الاستیسیته فیلم‌ها محاسبه شد.

۲-۸- نفوذپذیری به بخار آب

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری به بخار آب طبق استاندارد ASTM E96 انجام شد [۲۰]. اساس آزمایش در این روش

وزن سنجی است. برای انجام این آزمایش از یک سری ظروف شیشه‌ای دارای ارتفاع و قطر به ترتیب 8 و $2/5$ سانتی‌متر که روی درب این ظروف منفذی با قطر 8 میلی‌متر بود، استفاده شد. ابتدا فیلم‌ها به مدت 24 ساعت در رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد که با استفاده از نیترات منیزیم ایجاد می‌شود مشروط شدند و بر اساس عدم نقص فیزیکی مثل (ترک، حباب و سوراخ) انتخاب شدند و روی ظروف حاوی 3 گرم کلرید کلسیم که رطوبت نسبی صفر در داخل ظرف ایجاد می‌کند بسته شدند. سپس فنجان در دسیکاتور حاوی 1 لیتر آب که رطوبت نسبی حدود 98 درصد ایجاد می‌کند، قرار گرفته و تغییرات وزن طی زمان به مدت یک هفته و با فواصل زمانی 24 ساعت جهت تعیین سرعت انتقال بخار آب از میان فیلم اندازه‌گیری شد. سرعت انتقال بخار آب (WVTR) از تقسیم شیب خط مربوط با هر ظرف به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت محاسبه شد و نفوذپذیری به بخار آب از رابطه ۲ به دست آمد:

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R1 - R2)} \quad (2)$$

در این معادله X ضخامت فیلم بر حسب متر، P فشار بخار آب خالص در دمای محیط بر اساس پاسکال، R_1 رطوبت نسبی درون دسیکاتور به میزان 98 درصد و R_2 رطوبت نسبی درون ظروف شیشه‌ای است.

۲-۹- تحلیل آماری

اثر نانو بلورهای سلولز بر ویژگی‌های فیلم‌های پروتئینی آب پنیر، با آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی شد و تیمارها با آزمون میانگین با روش دانکن در سطح احتمال 5 درصد ($P < 0.05$) مقایسه شدند. برای انجام تحلیل‌های آماری از نرم افزار آماری SPSS19 استفاده شد.

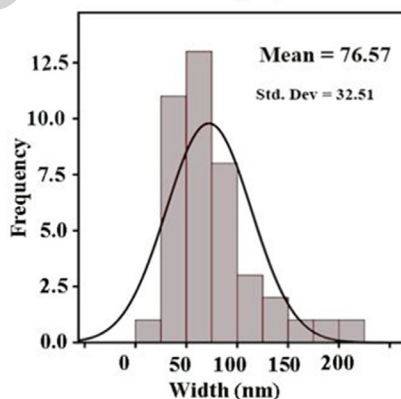
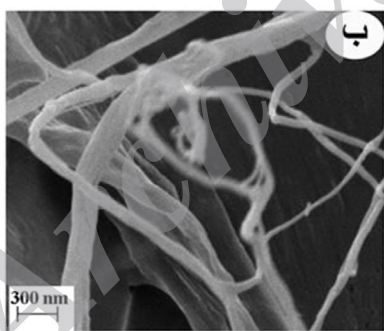
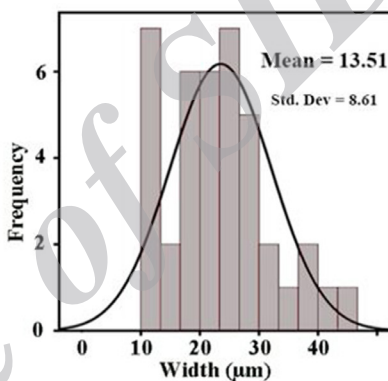
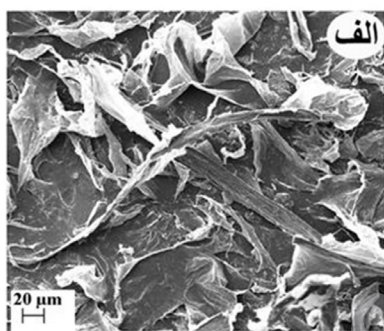
۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی میکروسکوپی نانو بلورهای سلولز

شکل ۱ تغییرات ایجاد شده در ساختار و قطر لیاف‌های سلولزی پوسته یولاف را پس از استخراج و پس از هیدرولیز اسیدی نشان می‌دهد. پس از تیمارهای شیمیایی مورد استفاده

میکرو به نانو تغییر کرد و میانگین قطر نانو بلورهای سلولز در حدود ۷۶ نانومتر بود (شکل ۱. ب). در پژوهشی که توسط لو و شیه جهت استخراج نانو بلورهای سلولز از کاه برنج صورت گرفت، میانگین قطر نانو بلورهای سلولز را پس از فرایند خشک کردن انجام دادی و بررسی با میکروسکوپ الکترونی روبشی، حدود ۳۸۶ نانومتر گزارش نمودند که این مقدار ۳۵ برابر بیش تر از میانگین قطر نانو بلورهای سلولز در حالت سوسپانسیون بود و دلیل آن را خود تجمعی این فیبرها پس از فرایند خشک کردن گزارش نمودند. تجمع این فیبرها می تواند به دلیل پیوندهای هیدروژنی قوی، ساختار هندسی فشرده (ابعاد خیلی کوچک ذرات) و کریستالیزاسیون احتمالی باشد [۱۴].

برای استخراج، الیف های سلولزی به طور میانگین دارای قطری در محدوده ۱۳ میکرومتر بودند (شکل ۱. الف). دارا بودن قطری در این محدوده نشان می دهد که تحت تیمارهای شیمیایی قوی، تقریباً همه ترکیباتی که ساختار الیفی پوسته یولاف را محصور کرده اند، حذف و الیف ها از هم باز شده اند. در گزارشی مشابه، جوهر و همکاران قطر سلولزهای استخراجی از پوسته برنج را ۱۵-۱۰ میکرومتر گزارش کردند [۸]. استفاده از اسید سولفوریک برای هیدرولیز سلولزهای استخراج شده از پوسته یولاف نشان داد تحت شرایط کنترل شده، هیدرولیز اسیدی سبب شکافتن نواحی آمورف میکرو الیف های سلولزی و باقی گذاشتن نواحی بلوری می شود. در این مرحله قطر الیف های سلولزی از مقیاس



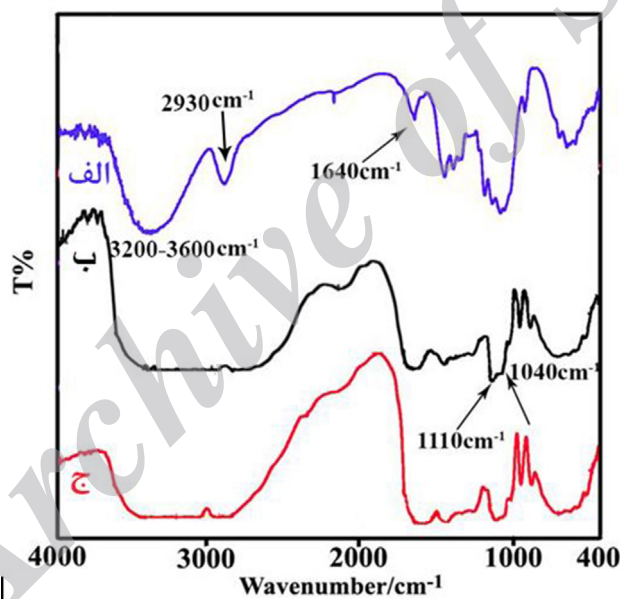
شکل (۱) تصویر میکروسکوپی گرفته شده از (الف) سلولز استخراج شده از پوسته یولاف و (ب) نانو بلور سلولز

3200 cm^{-1} تا 3600 cm^{-1} مرتبط با گروه های O-H، پیک مشاهده شده در محدوده طول موج 2930 cm^{-1} مرتبط با گروه های متقارن و نامتقارن C-H و پیک موجود در محدوده طول موج 1640 cm^{-1} در ارتباط با جذب آب توسط سلولز می باشد. این مجموعه پیک ها به پیوندهای هیدروژنی کششی

۲-۳- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) نتایج اسپکتروسکوپی نانو بلور سلولز استخراج شده و فیلم های پروتئینی به صورت خالص و دارای نانو بلور سلولز در شکل ۲ نشان داده شده است. در نمودار مربوط به نانو بلور سلولز (شکل ۲. الف)، پیک موجود در محدوده طول موج

ارتعاش‌های ترکیبات سلولزی و نشان‌دهنده پیوندهای C-O کشتی در سلولز، پیوندهای C-C و ارتعاش‌های ساختاری در پیوند گلیکوزیدی ($\beta(1\rightarrow4)$) واحدهای β -D-گلوکوپیرانوزیل ساختار سلولز می‌باشند. پیک موجود در نواحی 1590 cm^{-1} تا 1690 cm^{-1} مربوط به ارتعاش‌های آمیدی که در پروتئین‌ها رایج است و همچنین مولکول‌های آب جذب شده در نانو بلورهای سلولز می‌باشد که پس از افزودن نانو بلور سلولز پیک مرتبط با این محدوده کمی تیزتر شد. در مجموع، طیف اسپکتروفتومتری فیلم کامپوزیتی نشانگر تاثیر نانو بلورهای سلولز بر موقعیت، عرض و شدت طیف‌های مربوط به برهمکنش‌های پروتئین-سلولز می‌باشد. این پیک‌ها توسط پردا و همکاران (۲۰۱۱) در طیف اسپکتروفتومتری فیلم‌های کامپوزیتی سدیم کازئینات حاوی نانو بلور سلولز نیز گزارش شد [۱۲].

و گروه‌های هیدروکسیل خمشی موجود در ساختار سلولز نسبت داده می‌شود. در نمودار مرتبط با فیلم پروتئینی خالص (شکل ۲. ج)، پیک‌های موجود در محدوده طول موج 800 cm^{-1} تا 1800 cm^{-1} مربوط به پیوندهایی است که گروه آمیدی را تشکیل می‌دهند (C-O, N-H, C-N) و پیک موجود در محدوده 3200 cm^{-1} تا 3600 cm^{-1} مرتبط با گروه‌های O-H می‌باشد. با افزودن نانو بلور سلولز به فیلم پروتئینی (شکل ۲. ب)، تغییراتی مشاهده شد. شدت و عرض کلی طیف‌ها در محدوده طول موج 3200 cm^{-1} تا 3600 cm^{-1} با افزودن نانو بلور سلولز افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش پیوندهای هیدروژنی بین پروتئین آب پنیر و سلولز می‌باشد. شدت پیوندهای دیگر در محدوده طول موج 1040 cm^{-1} و 1110 cm^{-1} پس از افزودن نانو بلور سلولز، کمی افزایش یافت. این گروه‌ها در ارتباط با ترکیبات سلولزی و تغییر در

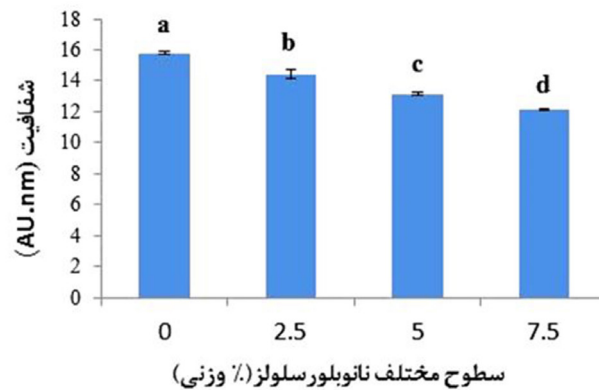


شکل (۲) نمودار حاصل از تست FT-IR بر روی، (الف) نانو بلور سلولز، (ب) فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر دارای ۵ درصد نانو بلور سلولز و (ج) فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر خالص

و در نتیجه سبب کاهش شفافیت فیلم‌های کامپوزیتی دارای نانو بلور سلولز می‌شود. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج ساسورنویت و همکاران (۲۰۰۹) که شفافیت فیلم‌های ایزوله پروتئین آب پنیر در اثر افزودن ۳ نوع مختلف نانورس بررسی کردند مطابقت داشت [۲۱].

۳-۳- شفافیت

شفافیت فیلم‌های نانو کامپوزیتی مطابق با شکل ۳ به‌طور معنی‌داری با افزایش مقدار نانو بلور سلولز کاهش یافت. ظاهر مات و غیرشفاف در فیلم‌های کامپوزیتی محتوی نانو بلور سلولز مسیر عبور نور را از میان شبکه فیلم مسدود می‌نماید

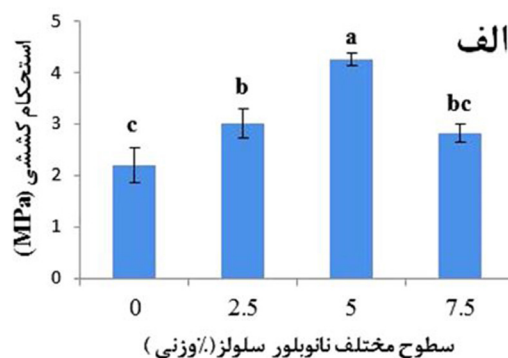


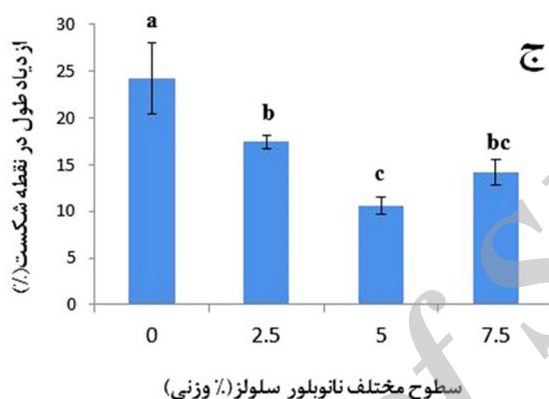
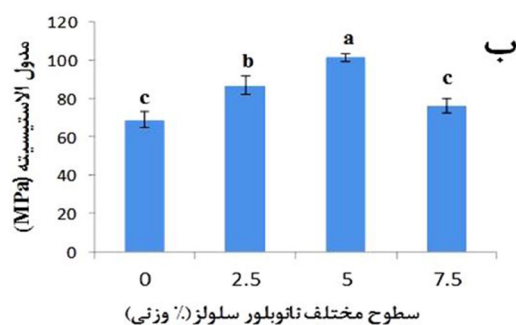
شکل (۳) اثر سطوح مختلف نانو بلور سلولز بر شفافیت فیلم‌های بیونانو کامپوزیتی

۳-۴- ویژگی‌های مکانیکی

مربوط شود و کاهش آن‌ها در سطوح بالاتر می‌تواند به دلیل تجمع احتمالی نانو بلورهای سلولز و عدم توزیع یکنواخت نانوذرات در بستر پلیمری باشد. کاهش در استحکام کششی و مدول الاستیسیته در سطوح بالاتر از ۵٪ نانو بلور سلولز در فیلم‌های کامپوزیتی کیتوزان، ژلاتین و پلی وینیل الکل نیز گزارش شده است [۱۳]. درصد ازدیاد طول فیلم‌ها نانوکامپوزیتی (شکل ۴.ج)، در کلیه سطوح به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. در حقیقت افزودن نانو بلور سلولز تحرک و کشش شبکه پروتئینی را به دلیل برهمکنش‌های قوی ایجاد شده بین پرکننده و شبکه بیوپلیمر محدود می‌کند [۱۳]. هیو و همکاران طی گزارش مشابهی بیان نمودند که خصوصیات مکانیکی نانوکامپوزیت‌های آلژیناتی دارای نانو بلور سلولز به‌طور معنی‌داری بهبود و کشش پذیری فیلم‌ها کاهش یافت [۱۰].

خصوصیات مکانیکی نانوکامپوزیت‌های تقویت شده با نانو بلور سلولز در شکل ۴ نشان داده شده است. استحکام کششی فیلم‌ها (شکل ۴.الف) در کلیه سطوح نانو بلور سلولز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری که بیش‌ترین استحکام کششی در سطح ۵ درصد نانو بلور سلولز مشاهده شد که ۹۳ درصد نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. مدول الاستیسیته (شکل ۴.ب)، مشابه با استحکام کششی با افزایش مقدار نانو بلور سلولز تا سطح ۵ درصد، ۴۷ درصد افزایش یافت. استحکام کششی و مدول الاستیسیته ممکن است به استحکام و سفتی ذاتی زنجیره نانو بلور سلولز، توزیع یکنواخت نانو پرکننده‌ها در بستر پلیمری و سازگاری بالا بین ذرات نانو و شبکه پلیمری به‌دلیل مساحت سطح بالا و برهمکنش‌های ایجاد شده بین نانو بلور سلولز و شبکه پروتئینی





شکل (۴) تاثیر سپوح مختلف نانو بلور سلولز بر خصوصیات مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیتی. (الف) استحکام کششی، (ب) مدول الاستیسیته و (ج) درصد ازدیاد طول

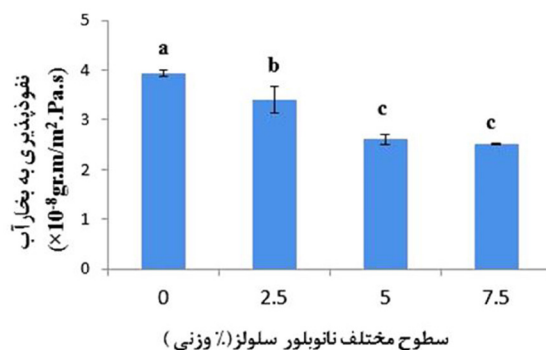
معنی‌داری کاهش یافت [۱۳].

۳-۶- خصوصیات ساختاری

تصویر میکروسکوپی SEM گرفته شده از سطح فیلم شاهد و فیلم نانوکامپوزیتی حاوی ۵ درصد نانو بلور سلولز که خصوصیات مکانیکی و ممانعتی مطلوبی را نسبت به سایر سپوح نشان داد در شکل ۶ نشان داده شده است. همان‌طور که در تصویر نیز مشخص است سطح فیلم شاهد تقریباً صاف بوده و فاقد ترک و حفره می‌باشد. اندکی زبری که در سطح فیلم شاهد مشاهده می‌شود و برجستگی‌هایی که در قسمت‌هایی از فیلم وجود دارد به احتمال زیاد، به دلیل وجود گرانول‌های ایزوله پروتئینی می‌باشد [۲۳]. تراکم مناسب فیلم شاهد به دلیل برقراری اتصالات محکم بین ترکیبات آبدوست هنگام خشک شدن فیلم‌ها می‌باشد. با افزودن نانو بلور سلولز به شبکه پروتئینی سطح کامپوزیت ناصاف و زبرتر و تراکم آن‌ها کم‌تر می‌شود. ترک‌ها و حفره‌هایی که در تصویر مربوط به فیلم

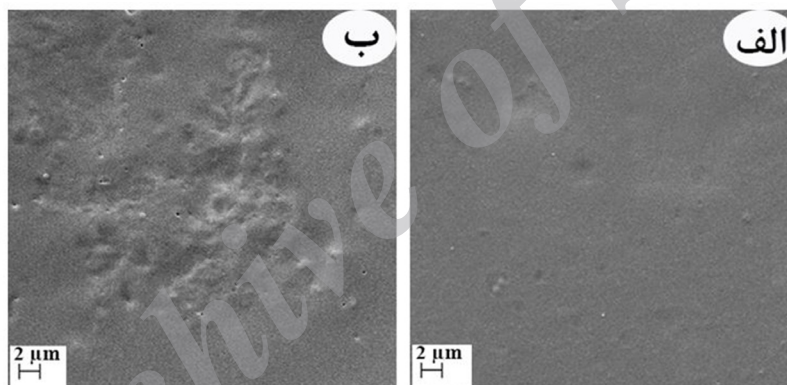
۳-۵- نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب

نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های ایزوله پروتئین آب پنیر در غلظت‌های مختلف نانو بلور سلولز در شکل ۵ نشان داده شده است. افزودن نانو بلور سلولز سبب کاهش معنی‌داری در نفوذپذیری به رطوبت فیلم‌ها نسبت به فیلم شاهد گردید. نفوذپذیری به بخار آب در حدود ۱۴، ۳۴ و ۳۶ درصد به ترتیب برای کامپوزیت‌های حاوی ۲/۵، ۵ و ۷/۵ درصد نانو بلور سلولز کاهش یافت. بهبود خصوصیت ممانعتی نانوکامپوزیت پروتئین آب پنیر، به دلیل غیرمستقیم شدن مسیر عبور بخار آب توسط ذرات بلوری غیرقابل نفوذ و پراکنده شده در شبکه پروتئینی می‌باشد. این ذرات طول مسیر انتشار مولکول‌های بخار آب را با پر پیچ و خم کردن مسیر عبورشان افزایش می‌دهند و از این رو سبب کاهش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها می‌شوند [۲۲]. در این رابطه عبدالهی و همکاران به نتایج مشابهی دست یافتند و گزارش کردند که نفوذپذیری به بخار آب فیلم نانوکامپوزیتی آلژینات با افزودن ۵٪ نانوذرات سلولز و نانورس به‌طور



شکل (۵) تاثیر سطوح مختلف نانو بلور سلولز بر نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های نانوکامپوزیتی

حاوی ۵٪ نانو بلور سلولز دیده می‌شود، ممکن است ناشی از در هم تنیدگی نانوالیاف‌های سلولزی، کاهش نیروی بین سطحی ماتریس و نانو بلورهای سلولز، عدم پخش یکنواخت در سطح شبکه و کاهش چسبندگی بین نانو بلورهای سلولز و شبکه پروتئینی باشد. سانگ و همکاران طی گزارشی اعلام نمودند که افزودن نانوذرات رس به فیلم‌های پروتئینی سبب می‌شود که فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات رس از غیریکنواختی بیشتری نسبت به فیلم شاهد برخوردار باشد و دلیل آن را قرار گرفتن نانوذرات در میان شبکه به هم پیوسته پروتئین و تخریب پیوستگی شبکه بیان نمودند [۲۴].



شکل (۶) تصویر میکروسکوپی گرفته شده از سطح (الف) فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر و (ب) فیلم نانوکامپوزیتی حاوی ۵٪ نانو بلور سلولز

۴- نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در مرحله استخراج نانو بلورهای سلولز و مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که قطر سلولزهای استخراج شده از پوسته یولاف در حدود ۱۳ میکرومتر بود و پس از هیدرولیز اسیدی قطر الیاف‌های سلولزی از مقیاس میکرو به نانو تغییر یافتند و میانگین قطر نانو بلورهای سلولز در حدود ۷۶ نانومتر بود. افزودن نانو بلورهای سلولز استخراج شده از پوسته یولاف به بیوفیلم ایزوله پروتئین آب پنیر سبب تغییرات چشمگیری در خواص آن شد. در آزمون خواص مکانیکی بهترین نتایج برای مقاومت کششی و مدول الاستیسیته در سطح ۵٪ نانو بلور سلولز مشاهده شد که در این سطح مقاومت کششی نسبت به نمونه شاهد ۹۳٪ افزایش یافت. اما در مقابل نانو بلورهای سلولز روی کشش پذیری فیلم‌ها اثر منفی گذاشتند و سبب شکننده تر شدن فیلم‌ها شدند که کم‌ترین درصد ازدیاد طول در نقطه پارگی برای فیلم حاوی ۵٪ نانو بلور سلولز مشاهده شد. با افزایش نانو بلورهای سلولز خصوصیات ممانعتی بهبود یافت، شفافیت فیلم‌ها تحت تاثیر غلظت نانو بلور سلولز کاهش یافت و سطح فیلم‌های کامپوزیتی غیریکنواخت شد. در مجموع می‌توان گفت افزودن نانو بلورهای سلولز در سطوح مختلف به فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر اثرات

Q. (2012). Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. *Carbohydr. Polym.*, 90, 709–716.

[10] Huq, T., Salmieri, S., Khan, A., Khan, R.A., Tien, C.L., Riedl, B., Frascini, C., Bouchard, J., Uribe-Calderon, J., Kamal, M.R., Lacroix, M. (2012). Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable nanocomposite film. *Carbohydr. Polym.*, 90, 1757-1763.

[11] Khan, A., Khan, R.A., Salmieri, S., Tien, C.L., Riedl, B., Bouchard, J., Chauvec, G., Tand, V., Kamal, M.R., Lacroix, M. (2012). Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. *Carbohydr. Polym.*, 90, 1601–1608.

[12] Pereda, M., Amica, G., Racez, I., Marcovich, N.E. (2011). Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *J. Food Eng.*, 103, 76-83.

[13] Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., Miraki, R. (2013). Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.*, 45, 166-173.

[14] Lu, P., Hsieh, Y.L. (2012). Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw. *Carbohydr. Polym.*, 87, 564–573.

[15] Roman, M., Gray, D.G. (2005). Parabolic focal conics in self-assembled solid films of cellulose nanocrystals. *Langmuir.*, 21(12), 5555–5561.

[16] Fan, G., Wang, M., Liao, C., Fang, T., Li, J., Zhou, R. (2013). Isolation of cellulose from rice straw and its conversion into cellulose acetate catalyzed by phosphotungstic acid. *Carbohydr. Polym.*, 94, 71–76.

[17] Bamdad, F., Goli, A.H., Kadivar, M. (2006).

مثبتی بر ویژگی‌های فیلم پروتئین آب پنیر داشت و جهت بهبود خصوصیات مکانیکی و ممانعتی فیلم‌های پروتئینی می‌توان از این نانوذرات بهره برد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از «ستاد ویژه توسعه فناوری نانو، معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری» به دلیل پشتیبانی مالی از این پژوهش تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

[1] Gennadios, A. (2002). *Protein-Based Films and Coatings*, 1th ed., CRC Press, Florida, pp 773.

[۲] مطلبی، ع؛ حسن ذاتی رستمی، آ؛ خانی پور، ع؛ سلطانی، م. (۱۳۹۱) اثر پوشش خوراکی پروتئین آب پنیر بر رطوبت و ویژگی‌های حسی ماهی کلیکای شکم خالی. *علوم غذایی و تغذیه*، جلد ۹، شماره ۴، ص ۳۹–۴۸.

[3] Han, J.H. (2000). *Antimicrobial Food Packaging*. The University of Manitoba, Canada, pp 50–70.

[4] Gennadios, A., Mchugh, T., Weller, C.L. (1994). Edible Coating and Films Based on Proteins, In: *Edible Coating and Films to Improve Food Quality*, Technomic Publishing, Lancaster, pp 201-278.

[5] Kester, J.J., Fennema, O. (1986). Edible films and coatings: A review. *J. Food Sci.*, 40, 47-59.

[6] Siro, I., Plackett, D. (2010). Micro fibrillated cellulose and new nanocomposite materials. *Cellulose.*, 17, 459-494.

[۷] حاتمی، ا؛ باریکانی، م؛ سیدمحقق، س.م. (۱۳۹۰). نانوکریستال‌های سلولز؛ بررسی ساختار، خواص و کاربرد. *فصلنامه فناوری نانو*، شماره ۹، ص ۲۵–۲۹.

[8] Johar, N., Ahmad, I., Dufresne, A. (2012). Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Ind. Crop. Prod.*, 37, 93–99.

[9] Chen, D., Lawton, D., Thompson, M.R., Liu,

Preparation and characterization of proteinous film from lentil (*Lens culinaris*) Edible from lentil (*Lens culinaris*). *Food Res. Int.*, 39, 106-111.

[18] Guilbert, S., Cuq, J.L. (1992). Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.*, 57(1), 190-196.

[19] ASTM. (1996). *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. D822-91. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

[20] ASTM. (2000). *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*. E 96-00. Annual Book of AST, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

[21] Sothornvit, R., Rhim, J.W., Hong, S.I. (2009). Effect of nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films. *J. Food Eng.*, 91, 468-473.

[22] Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., Behrooz, R. (2013). Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocolloid.*, 32, 416- 424.

[23] Kowalczyk, D., Baraniak, B. (2011). Effect of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. *J. Food Eng.*, 105, 295-305.

[24] Song, N.B., Jo, W.S., Song, H.Y., Chung, K.S., Won, M., Song, K.B. (2013). Effect of plasticizers and nano-clay content on physical properties of chicken feather protein composite films. *Food Hydrocolloid.*, 31, 340-345.