

اثر نانورس روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ممانعت‌کنندگی فیلم‌های بیوپلیمر کفیران

سید سعید حسینی^۱، فرامرز خدائیان^{۲*}، سهیلا اسمی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، گروه علوم و تکنولوژی غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد واحد ورامین پیشوا

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۲۴)

چکیده

فیلم‌ها و پوشش‌های زیست تخریب‌پذیر جهت ارتقاء سطح کیفی و افزایش ماندگاری محصولات غذایی، در صنعت استفاده می‌شوند. در پژوهش حاضر، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ممانعت‌کنندگی فیلم‌های نانوبیوپلیمری کفیران- مونت موریلونیت (مونت موریلونیت: ۵، ۳، ۱، ۰ درصد وزنی/وزنی) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، نانورس سبب افزایش ضخامت، پارامتر رنگ سنجی زرد-آبی (b) و تغییر رنگ کلی (ΔE) شده، در حالی که محتوای رطوبت، جذب آب، حلالیت، نفوذپذیری به بخار آب و پارامتر رنگ سنجی قرمز-سبز (a) و اندیس سفیدی (WI) آن‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین این نانوذرات تاثیر معناداری روی شفافیت و روشنایی (L) فیلم‌ها ندارند. بررسی خصوصیات مکانیکی نشان داد، نانورس سبب افزایش استحکام کششی فیلم‌ها می‌شود در حالی که تاثیر آن روی کشش در نقطه شکست آن‌ها در غلظت‌های مختلف متفاوت است به طوری که تا غلظت ۳ درصد نانورس فاکتور مذکور افزایش و در غلظت‌های بالاتر (۵ درصد) کاهش می‌یابد.

کلید واژگان: فیلم، کفیران، نانورس، نفوذپذیری، خصوصیات مکانیکی

* مسئول مکاتبات: Khodaiyan@ut.ac.ir

۱- مقدمه

مدتی طولانی است که از پلاستیک به دلیل دسترسی آسان، قیمت پایین و ویژگی‌های مناسبی چون سبکی، نرمی و شفافیت در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شود. اما این مواد به دلیل عدم زیست تخریب‌پذیری سبب ایجاد مشکلاتی برای محیط زیست می‌شوند [۱]. از سال ۱۹۷۰، نگرانی‌های زیست محیطی سبب ایجاد مطالعات متعددی در مورد بیوپلیمرها، به عنوان جایگزین مناسب برای پلیمرهای سنتزی در صنعت بسته‌بندی شده است [۲]. فیلم‌های بیوپلیمری عمدتاً از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و یا لیپیدها تولید می‌شوند و به طور کلی ترکیباتی زیست تخریب‌پذیر، غیر سمی و خوراکی هستند [۳]. این فیلم‌ها می‌توانند ویژگی‌های حسی و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی بسته‌بندی شده را افزایش داده و همچنین به عنوان یک حامل برای انتقال مواد آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی به ماده غذایی عمل کنند. علاوه بر این، آن‌ها می‌توانند انتقال رطوبت، اکسیژن، دی‌اکسید کربن و مواد عطر و طعمی را در ماده غذایی و همچنین بین ماده غذایی و محیط اطراف کنترل نمایند [۴].

کفیران یک پلی‌ساکارید میکروبی بوده که از فلور طبیعی دانه کفیر بدست می‌آید و به فراوانی در صنعت غذا به عنوان بافت‌دهنده و ژل‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پلی‌ساکارید محلول در آب شامل مقادیر تقریباً برابر از گلوکز و گالاکتوز می‌باشد [۵]. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده که با استفاده از کفیران می‌توان فیلم‌هایی با ظاهر و خواص مکانیکی مناسب (که از عوامل مهم در صنعت تولید بسته‌های مواد غذایی می‌باشد) تولید کرد [۶]. به هر حال، فیلم‌های بسته بندی طبیعی نسبت به فیلم‌های سنتزی دارای معایبی چون خاصیت آبدوستی بالا و خواص مکانیکی ضعیف می‌باشند که این عیوب سبب محدودیت کاربرد آن‌ها در صنعت بسته‌بندی شده است [۷].

نرم‌کننده‌ها^۱ از جمله ترکیباتی هستند که به فراوانی برای اصلاح خصوصیات مکانیکی فیلم‌های خوراکی استفاده می‌شوند [۸]. به طور کلی نرم‌کننده‌ها با تضعیف نیروی بین مولکولی و افزایش تحرک زنجیره‌های پلیمری سبب کاهش شکنندگی فیلم‌ها [۹] و

در نتیجه افزایش انعطاف‌پذیری و کاهش مقاومت مکانیکی آن‌ها می‌شوند [۱۰].

برای بهبود هر چه بیشتر خواص فیزیکوشیمیایی فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر می‌توان از مواد معدنی مانند رس (به شکل کامپوزیت‌های پلیمر- نانورس) استفاده کرد [۱۱]. مهمترین نانورس مورد استفاده در فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر مونت موریلونیت^۲ (MMT) می‌باشد که به دلیل خواص مطلوبی چون سازگاری با محیط زیست، ارزان و در دسترس بودن، کاربرد فراوانی دارد [۱۲]. این نانوذره به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، به عنوان یک پرکننده مناسب برای تقویت خواص بیوپلیمرها استفاده می‌شود [۱۳] و باعث بهبود خواص نفوذ پذیری و مکانیکی و ساختاری فیلم‌های بیوپلیمری می‌گردد [۱۲]. با توجه به موارد فوق هدف از این پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف نانورس کلوسیت 30B^۳ اصلاح شده^۴ بر خواص فیزیکوشیمیایی و نفوذپذیری فیلم نانوبیوپلیمر بر پایه کفیران است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

برای استخراج کفیران از دانه کفیر استفاده شد. دانه‌های کفیر از بانک سلولی و میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران تهیه و در شیر تازه گاو کشت داده شدند تا رشد کنند و تکثیر یابند. به علت حساسیت دانه‌ها نسبت به شرایط کشت، آن‌ها در مدت زمان کشت در دمای ۲۱ °C^۵ گرمخانه گذاری (انکوباسیون) شدند و شیر آن‌ها به طور روزانه تا حصول مقدار مورد نیاز تعویض گردید. اتانول و کلرید سدیم به ترتیب از شرکت های پارس الکل و مجللی ایران خریداری شد. گلیسرول، سولفات کلسیم، نترات کلسیم و کلرید کلسیم از شرکت مرک آلمان و مونت موریلونیت اصلاح شده از شرکت ساترن کلای^۶ آمریکا تهیه گردید.

2. Montmorillonite (MMT)
3. Cloisite 30B
4. Cloisite 30B
5. Southern clay

1. Plasticizers

نقطه به صورت تصادفی بدست آمدند. میانگین ضخامت در محاسبات مربوط به خواص فیزیکیوشیمیایی و نفوذپذیری به بخار آب مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۵- اندازه گیری محتوای رطوبت

برای اندازه‌گیری محتوای رطوبت از یک سری کپسول استفاده شد برای این منظور کپسول‌های خالی برای رسیدن به وزن ثابت در آن به مدت ۱ ساعت در دمای 110°C قرار گرفتند. فیلم‌ها در تکه‌های یکسان ($1 \times 3 \text{ cm}^2$) بریده شده و پس از قرار گرفتن در کپسول‌ها، توسط ترازوی دیجیتال با دقت 0.0001 گرم وزن شدند. سپس کپسول‌های حاوی فیلم را در آن (دمای 110°C) قرار داده تا به وزن ثابت برسند [۱۵]. پس از سرد شدن در دسیکاتور، وزن کپسول‌ها با ترازوی مذکور اندازه‌گیری شد، سپس محتوای رطوبت فیلم‌ها با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد رطوبت بر مبنای وزن مرطوب} = \frac{\text{وزن نمونه خشک} - \text{وزن نمونه مرطوب}}{\text{وزن نمونه مرطوب}} \times 100 \quad (1)$$

۲-۶- اندازه‌گیری میزان جذب آب

میزان جذب آب با استفاده از روش زلفی و همکاران [۱۲] محاسبه گردید. نمونه‌ها در اندازه 20×20 میلی‌متر بریده شده و در رطوبت نسبی صفر درصد (سولفات کلسیم) به مدت ۲۴ ساعت تحت متعادل‌سازی رطوبت^۶ قرار گرفتند. پس از وزن کردن (وزن اولیه)، نمونه‌ها در دسیکاتورهای حاوی محلول اشباع نیترات کلسیم (رطوبت نسبی ۵۵ درصد) قرار داده شدند، سپس نمونه‌ها در فواصل زمانی معین تا رسیدن به حالت تعادل وزن شدند (وزن نهایی). میزان جذب آب از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد جذب آب} = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن اولیه}} \times 100 \quad (2)$$

۲-۷- درصد حلالیت فیلم در آب

طبق تعریف ASTM^۷، حلالیت فیلم در آب برابر است با نسبت مواد جامد محلول در آب به وزن اولیه تکه فیلم‌ها، پس از غوطه-

۲-۲- جداسازی و خالص سازی کفیران

برای استخراج کفیران از دانه کفیر، روش پیرماریا و همکاران [۱۴] با کمی تغییر به کار گرفته شد. بدین منظور، مقدار مشخصی از دانه کفیر به مدت ۱ ساعت در آب جوش بهم زده شد. مخلوط حاصل در دمای 20°C به مدت ۱۵ دقیقه در دور 10000 g سانتریفیوژ گردید و سپس به منظور رسوب پلی‌ساکارید، اتانول ۹۶ درصد سرد با نسبت ۱ به ۱ به مایع شفاف رویی حاصل از سانتریفیوژ اضافه شده و به مدت یک شب در دمای 20°C - نگهداری شد. رسوب حاصل با استفاده از سانتریفیوژ در دور 10000 g ، دمای 4°C - و مدت زمان ۲۰ دقیقه جدا گردید. رسوب بدست آمده دوباره در آب داغ حل و سپس رسوب داده شد، این فرایند به منظور خالص‌سازی بیشتر دو بار تکرار گردید.

۲-۳- تولید فیلم و نانوبیوپلیمر بر پایه کفیران

ابتدا محلول آبی حاوی ۲ درصد حجمی/وزنی کفیران در دمای 35°C تولید شد [۶]. سپس نرم‌کننده گلیسرول در غلظت ۳۵ درصد نسبت به کل ماده جامد به محلول فوق اضافه گردید و مجدداً در همان دما و به مدت ۱۵ دقیقه عمل اختلاط صورت گرفت. بعد از هواگیری در آن تحت خلا محلول‌ها در پلیت‌های تفلونی ریخته شده و به منظور تشکیل فیلم به مدت ۳۶ ساعت در دمای محیط قرار داده شدند. فیلم‌های حاصل به عنوان نمونه شاهد در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیه نانوبیوپلیمر، مقدار تعیین شده از نانوذرات مونت-موریلونیت در حلال (آب) ریخته شده و به مدت ۱۲ ساعت با همزن مغناطیسی بهم زده شدند و سپس به مدت ۱ ساعت در دمای 25°C تحت فرایند التراسونیک قرار گرفتند. محلول‌های بدست آمده با نسبت‌های مختلف (۵، ۳، ۱، ۰ درصد وزنی/وزنی نسبت به ماده خشک) به محلول آبی کفیران حاصل از مرحله قبل اضافه شده و سپس به مدت ۱ ساعت بهم زده شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها به مانند قبل بعد از هواگیری در آن تحت خلا روی پلیت‌های تفلونی قرار گرفته و در دمای محیط خشک شدند.

۲-۴- ضخامت

ضخامت فیلم‌ها با استفاده از دستگاه میکرومتر دیجیتال (Mitutoyo No. 293-766, Tokyo, Japan) با دقت 0.001 میلی‌متر اندازه‌گیری شد. ضخامت فیلم‌ها حداقل در ۶

6. Conditioning

7. American Society for Testing and Material

بار تکرار انجام شده‌اند. تغییر رنگ کلی (ΔE) و اندیس سفیدی (WI) با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید [۱۸]:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2}$$

L^* ، a^* و b^* ارزش پارامترهای رنگ مربوط به نمونه استاندارد و L ، a و b ارزش پارامترهای رنگ مربوط به نمونه‌های فیلم می‌باشند.

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

۲-۱۰- نفوذپذیری به بخار آب

نفوذپذیری به بخار آب بر طبق استاندارد E 96 از مجموعه استانداردهای ASTM اندازه‌گیری شد [۱۹]. ابتدا فیلم‌ها به صورت حلقوی بریده شده و بر دهانه سل‌های پر شده با نمک خشک (کلرید کلسیم) چسبانده شدند (سل‌ها دارای قطر و مساحت مشخص می‌باشند). سپس سل‌ها درون یک دسیکاتور حاوی محلول اشباع نمک در دمای 25°C قرار داده شدند. به علت وجود کلرید کلسیم در داخل سل و وجود کلرید سدیم اشباع در دسیکاتور، به ترتیب رطوبت نسبی ۰ و ۷۵ درصد در سل و دسیکاتور ایجاد شده و این اختلاف رطوبت سبب ایجاد اختلاف فشار بخار برابر با $1753/55$ کیلوپاسکال می‌شود. در نتیجه با توجه به اختلاف فشار ایجاد شده، انتقال بخار آب از دسیکاتور به داخل سل‌ها اتفاق می‌افتد. در بازه زمانی ۲۴ ساعت، هر یک ساعت یک بار نمونه‌ها از دسیکاتور خارج و بوسیله ترازوی دیجیتال با دقت $0/0001$ گرم وزن شدند، سپس نمودار افزایش وزن سل در برابر زمان رسم گردید. از تقسیم شیب منحنی بر مساحت دهانه سل، آهنگ عبور بخار آب $(WVTR)$ بدست آمده (معادله ۶) و نفوذپذیری به بخار آب (WVP) از رابطه زیر محاسبه گردید (معادله ۷):

$$(6) \quad \text{آهنگ عبور بخار آب} = \frac{\text{شیب منحنی}}{\text{مساحت سطح فیلم}}$$

$$(7) \quad \text{نفوذ پذیری به بخار آب} = \frac{WVTR \times \text{ضخامت}}{\text{اختلاف فشار}}$$

وری آن‌ها در آب مقطر [۱۶]. برای اندازه‌گیری این فاکتور، تکه-هایی از هر فیلم پس از خشک شدن در آون (دمای 105°C)، توزین شده (وزن اولیه) و سپس در 50 میلی‌لیتر آب مقطر در دمای 25°C به مدت ۶ ساعت به آرامی بهم زده شدند. در ادامه کل مجموعه شامل مواد نامحلول و فاز محلول را بر روی کاغذ صافی (با وزن مشخص) ریخته تا مواد جامد نامحلول جدا گردد. صافی و مواد جامد نامحلول در آون (دمای 105°C) خشک شده و توزین شدند (وزن نهایی برابر است با وزن مواد جامد نامحلول خشک شده). درصد حلالیت فیلم در آب از رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

$$100 \times \frac{\text{وزن نهایی} - \text{وزن اولیه تکه فیلم}}{\text{وزن اولیه تکه فیلم}} = \text{درصد حلالیت}$$

۲-۸- درصد شفافیت

شفافیت از جمله ویژگی‌های مهمی است که کاربرد فیلم‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱۴]. این فاکتور شاخصی از قابلیت اختلاط مخلوط پلیمری بدون از دست دادن خواص می‌باشد [۱۷]. در این تحقیق، شفافیت فیلم‌ها با استفاده از دستگاه لوکسومتر (Testo 540 pocket sized lux meter, England) اندازه گرفته شد. ابتدا حباب دستگاه را زیر یک منبع نوری با حداقل نوسانات قرار داده و تعداد لوکس دریافتی از منبع یادداشت گردید. سپس در شرایط ثابت، نمونه مورد نظر روی حباب دستگاه قرار داده شده و تعداد لوکس دریافتی یادداشت شد. در ادامه با توجه به اعداد بدست آمده، شفافیت نمونه‌ها به صورت درصد گزارش گردید.

۲-۹- آزمون رنگ سنجی

جهت تعیین رنگ نمونه‌های فیلم از دستگاه رنگ سنج (Minolta CR 300 Series, Minolta Camera. Co., Ltd., Osaka, Japan) استفاده شد. برای کالیبره و استاندارد کردن دستگاه رنگ‌سنج از یک پلیت سفید استاندارد استفاده گردید $(L^* = 96/9, a^* = 0/33, b^* = 0/16)$ و سپس روشنایی (L)، و پارامترهای رنگ سنجی a (قرمز-سبز) و b (زرد-آبی) مورد بررسی قرار گرفت (شاخص‌های L از ۰ (سیاه) تا ۱۰۰ (سفید)؛ a از ۸۰- (سبزی) تا ۱۰۰ (قرمزی)؛ و b از ۸۰- (آبی) تا ۷۰ (زردی) می‌باشند). همه اندازه‌گیری‌ها حداقل با سه

8. Total color difference

9. Whiteness index

10. water vapor transmission rate

11. water vapor Permeability

Table 1 Thickness of the kefiran films as a function of MMT content

Sample	Thickness (mm)
Kefiran	53.15 ± 3.61 ^c
Kefiran- 1 % MMT	55.12 ± 4.81 ^c
Kefiran- 3 % MMT	61.48 ± 0.21 ^b
Kefiran- 5 % MMT	68.31 ± 4.79 ^a

Means with different letters within a column indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

۲-۳- محتوای رطوبت، جذب آب و حلالیت در آب

محتوای رطوبت پارامتری است که به کل حجم خالی اشغال شده توسط مولکول‌های آب در میکروساختار فیلم بستگی دارد [۲۲]. طبق جدول ۲، فیلم کفیران (نمونه شاهد) دارای محتوای رطوبت حدود ۳۶/۲۳ درصد است که این مقدار در نانوبیوپلیمرهای آن به طور معناداری کاهش یافته است به طوری که با افزایش غلظت نانورس به ۵ درصد، محتوای رطوبت به ۱۸/۲۴ درصد رسید. زلفی و همکاران [۱] به نتایج مشابهی دست یافتند. این محققین بیان داشتند که با اضافه کردن نانوذرات به فیلم کفیران- پروتئین آب پنیر، محتوای رطوبت به طور معناداری کاهش می‌یابد. یکی از مشکلات مهم در استفاده از مواد بیوپلیمری در بسته‌های مواد غذایی، تمایل آن‌ها به جذب آب است، در نتیجه ایجاد راهکاری برای افزایش مقاومت بیوپلیمرها به جذب آب امری ضروری است [۱۷]. نتایج مربوط به جذب آب فیلم کفیران و نانوبیوپلیمرهای آن در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد، میزان جذب آب فیلم کفیران حدود ۱۴/۱۷ درصد است که با اضافه کردن نانورس این میزان به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و در غلظت ۵ درصد نانورس به ۸/۰۷ درصد می‌رسد. این نتایج مشابه نتایج بدست آمده توسط سیراس و همکاران [۲۳] می‌باشد. این محققین بیان داشتند، اضافه کردن مونت موریلونیت به فیلم‌های نانوبیوپلیمری بر پایه نشاسته، میزان جذب آب را به طور معناداری کاهش می‌دهد و این پدیده می‌تواند به دلیل ایجاد باندهای هیدروژنی قوی بین صفحات نانورس و رشته‌های بیوپلیمر باشد که نتیجه آن ایجاد ساختار شبکه‌ای قوی است که این ساختار قوی سرعت انتشار ملکول‌های آب در داخل بیوپلیمرها را کاهش می‌دهد.

۲-۱۱- خواص مکانیکی فیلم

خواص مکانیکی فیلم‌ها با استفاده از دستگاه تستومتریک Testometric Co., Ltd., Rochdale, Lancs., (England) و روش استاندارد ASTM-D 882 اندازه‌گیری شد [۲۰]. ابتدا فیلم‌ها در ابعاد $1 \times 10 \text{ cm}^2$ بریده شده و در دسیکاتور تحت متعادل‌سازی رطوبت (رطوبت ۵۰ درصد، دمای 25°C زمان برابر با ۴۸ ساعت) قرار گرفتند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد. فاکتورهای شامل استحکام کششی و کشش در نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰)، با استفاده از روش استاندارد ASTM-D 882 از روی منحنی-های نیرو بر حسب تغییر شکل محاسبه گردید.

۲-۱۲- تجزیه و تحلیل آماری

براساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از تحلیل واریانس^{۱۲} اختلاف بین نمونه‌های مختلف در سطح احتمال ۵ درصد تعیین و میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن^{۱۳} با استفاده از نرم افزار SPSS (V.16) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند. تمامی نمونه‌ها در سه تکرار تهیه شده و همچنین برای ترسیم اشکال از نرم افزار Excel استفاده گردید.

۳- بحث و نتایج

۳-۱- ضخامت

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، افزودن نانوذرات رس به فیلم کفیران سبب افزایش ضخامت آن شده به طوری که با افزودن ۱، ۳ و ۵ درصد نانورس ضخامت فیلم‌ها به ترتیب در حدود ۳/۶، ۱۳/۵ و ۲۲/۱۹ درصد افزایش می‌یابد. افزایش ضخامت فیلم‌ها در اثر افزودن نانورس احتمالاً به دلیل ساختار لایه‌ای این نانوذره می‌باشد که در اثر تماس با حلال (آب) دچار انبساط شده و صفحات آن از هم فاصله می‌گیرند [۲۱، ۱۲].

12. Analysis of Variance
13. Duncan Test

حلالیت فیلم کفیران در حدود ۳۷/۱۸ درصد است که این مقدار در نانوکامپوزیت‌های آن کاهش یافته به طوریکه در غلظت ۵ درصد نانورس به حدود ۱۴/۹۸ درصد رسیده است. این نتیجه در مورد سایر فیلم‌ها از جمله فیلم‌های نانوبیوپلیمر نشاسته-مونت-موریلونیت [۲۵] و کیتوزان-رس نیز مشاهده شده است [۲۶].

یکی از مهمترین خصوصیات فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر در صنعت بسته‌بندی، میزان حلالیت آن‌ها (که به خاصیت آبدوستی ترکیبات فیلم‌ها بستگی دارد) است [۲۴، ۲۲]. با توجه به جدول ۲، همانند محتوای رطوبت و میزان جذب آب، حلالیت نیز بواسطه حضور نانوذرات رس کاهش می‌یابد. نتایج نشان داد،

Table 2 Moisture content, water absorption and water solubility of the kefiran films as a function of MMT content

Sample	Moisture content (%)	Water absorption (%)	Water solubility (%)
Kefiran	36.23 ± 1.15 ^c	14.17 ± 0.35 ^c	37.18 ± 1.09 ^a
Kefiran- 1 % MMT	21.00 ± 1.48 ^b	9.40 ± 0.54 ^b	30.95 ± 0.92 ^b
Kefiran- 3 % MMT	18.57 ± 0.74 ^a	9.19 ± 0.22 ^b	24.75 ± 0.76 ^c
Kefiran- 5 % MMT	18.24 ± 0.57 ^a	8.07 ± 0.17 ^a	14.98 ± 0.66 ^d

Means with different letters within a column indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

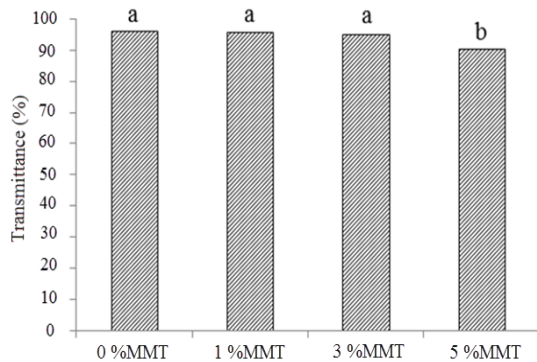


Fig 1 Effect of MMT level on the transparency. Columns with the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

۳-۴- رنگ

رنگ فیلم یکی از ویژگی‌های مهم در پذیرش محصول توسط مصرف کننده می‌باشد. جدول ۳ پارامترهای L^* ، a^* ، b^* ، ΔE و WI اندازه‌گیری شده برای نمونه‌ها را نشان می‌دهد. به طور کلی با افزودن نانورس فاکتور L^* و a^* کاهش و فاکتور b^* افزایش یافته است. همانطور که مشاهده می‌شود کاهش در مقدار فاکتور L^* معنی‌دار نبوده که این می‌تواند ناشی از خاصیت آبدوستی نانورس و سازگاری آن با بیوپلیمر آبدوست کفیران باشد [۱۱]. کاهش فاکتور a^* و افزایش فاکتور b^* بیانگر افزایش رنگ سبز و زرد در نانوبیوپلیمرهای حاصله است. همچنین افزایش نانورس باعث افزایش ΔE و کاهش WI شده است. زلفی و همکاران [۱۲] که به بررسی اثر مونت-موریلونیت بر خصوصیات فیلم ترکیبی کفیران- پروتئین آب‌پنیر پرداختند، به نتایج مشابهی دست یافتند.

۳-۳- شفافیت

حفظ شفافیت نانوبیوپلیمرها نسبت به پلیمرهای اولیه از جمله پارامترهای مهمی است که در تهیه فیلم‌ها مد نظر قرار می‌گیرد. اندازه‌گیری شفافیت (شکل ۱) نشان داد، فیلم کفیران دارای شفافیت مطلوبی در حدود ۹۵/۹۱ درصد می‌باشد. با افزودن نانورس تا غلظت ۳ درصد، تغییر معناداری در شفافیت ایجاد نمی‌شود که این می‌تواند به دلیل توزیع مناسب نانوذرات در بستر پلیمری باشد، اما با افزایش غلظت نانورس به ۵ درصد شفافیت فیلم‌ها به طور معناداری کاهش یافته است (۹۰/۱۱ درصد) که این موضوع احتمالاً به دلیل توزیع غیریکنواخت نانوذرات و یا افزایش کریستاله شدن و کاهش مناطق آمورف می‌باشد [۱۲]. از آنجا که نانوذرات رس دارای ابعادی کمتر از طول موج مرئی می‌باشند، در صورت متورق شدن مناسب^{۱۴}، مانع عبور نور نمی‌شوند، لذا انتظار می‌رود تغییر محسوسی در شفافیت فیلم‌ها در حضور غلظت‌های کم نانورس ایجاد نشود [۲۷].

14. Exfoliation

Table 3 Hunter color values (L, a, and b), total color difference (ΔE) and whiteness index (WI) of kefiran films as a function of MMT content

Sample	L	a	b	ΔE	WI
Kefiran	85.86 ± 0.05 ^a	-0.81 ± 0.09 ^a	2.91 ± 0.05 ^d	11.56 ± 0.03 ^a	85.36 ± 0.03 ^a
Kefiran- 1 % MMT	85.30 ± 0.02 ^a	-1.15 ± 0.20 ^b	5.41 ± 0.80 ^c	12.80 ± 0.36 ^b	84.25 ± 0.30 ^b
Kefiran- 3 % MMT	84.92 ± 0.35 ^a	-1.73 ± 0.04 ^{bc}	6.32 ± 0.21 ^b	13.54 ± 0.23 ^c	83.55 ± 0.25 ^c
Kefiran- 5 % MMT	84.81 ± 0.14 ^a	-1.94 ± 0.10 ^c	7.92 ± 0.46 ^a	14.45 ± 0.15 ^d	82.75 ± 0.12 ^d

Means with different letters within a column indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

۳-۶- خواص مکانیکی فیلم

در شکل ۳ تاثیر غلظت‌های مختلف نانورس به استحکام کششی و کشش در نقطه شکست فیلم‌های نانوبیوپلیمری تولید شده بر پایه کفیران نشان داده شده است. نتایج نشان داد، استحکام کششی فیلم کفیران در اثر افزودن نانورس در غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ درصد به ترتیب در حدود ۱/۱، ۲/۵۲ و ۳/۸۳ مگاپاسکال افزایش می‌یابد. افزایش استحکام کششی را می‌توان به مقاومت اعمال شده توسط خود نانوذرات رس، جهت‌گیری، نسبت ابعادی بالا و گستردگی سطح نانورس [۲۳] و همچنین پراکنش یکنواخت نانوذرات در بستر پلیمری نسبت داد [۳۰، ۱۱]. نتایج مشابهی در مورد سایر فیلم‌های نانوبیوپلیمری حاصل شده است، در یکی از این پژوهش‌ها بیان شده که در اثر افزودن ۵ درصد نانورس به فیلم ژلاتینی، استحکام کششی آن در حدود ۱۰/۴ مگاپاسکال افزایش می‌یابد [۳۱]. البته باید توجه داشت که با هر مقدار افزایش در غلظت نانورس استحکام کششی افزایش نمی‌یابد، زیرا درصد بالای نانوذرات امکان متورق شدن مناسب آن‌ها را در فیلم نانوبیوپلیمری کاهش می‌دهد. از سوی دیگر در زمان بالا بودن غلظت نانوذرات قدرت جذب آن‌ها نسبت به هم زیاد شده و در نتیجه احتمال کلوخه‌ای شدن آن‌ها وجود دارد [۳۰]. شکل ۳ نشان می‌دهد، تاثیر نانوذرات رس روی کشش در نقطه شکست فیلم‌های نانوبیوپلیمری بر پایه کفیران در غلظت‌های مختلف متفاوت است به طوری که با افزودن نانورس تا غلظت ۳ درصد فاکتور مذکور افزایش و در غلظت‌های بالاتر کاهش یافته است. اینکه چرا با افزایش غلظت نانوذرات از ۳ به ۵ درصد، کشش در نقطه شکست فیلم‌ها کاهش می‌یابد احتمالاً به این دلیل است که نانوذرات در ماتریس فیلم کفیران به عنوان یک استحکام بخش مکانیکی عمل کرده و در غلظت‌های بالا سبب کاهش انعطاف‌پذیری شده است [۳۲]. این نتایج مشابه گزارشات بایی و

۳-۵- نفوذپذیری به بخار آب

نتایج حاصل از این آزمون در شکل ۲ نشان می‌دهد که فیلم کفیران دارای نفوذپذیری $g/m.S.Pa \times 10^{-11}$ $4/18 \times 10^{-11}$ بوده که نشان‌دهنده قدرت سدکنندگی نسبتاً ضعیف این بیوپلیمر نسبت به بخار آب می‌باشد. در ادامه با افزودن نانورس به میزان ۱، ۳ و ۵ درصد این مقدار به ترتیب به $g/m.S.Pa \times 10^{-11}$ $3/16 \times 10^{-11}$ ، $2/56 \times 10^{-11}$ و $2/47 \times 10^{-11}$ کاهش می‌یابد. کاهش ۲۴/۴ تا ۴۱ درصدی نفوذپذیری به بخار آب در نانوبیوپلیمرها، احتمالاً به دلیل لایه‌های غیر قابل نفوذ سیلیکاتی با نسبت ابعادی^{۱۵} بالایی باشد که به طور کامل از هم جدا شده و در ماتریس پلیمری پخش شده است [۲۸]. این پدیده سبب ایجاد مسیر پر پیچ و خمی برای مولکول‌های آب هنگام عبور از بستر فیلم می‌شود. بنابراین با افزایش طول مسیر مولکول‌های بخار آب، به تاخیر افتادن فرآیند انتشار و در نتیجه افزایش ویژگی بازدارندگی نانوبیوپلیمرها امری بدیهی است [۲۹].

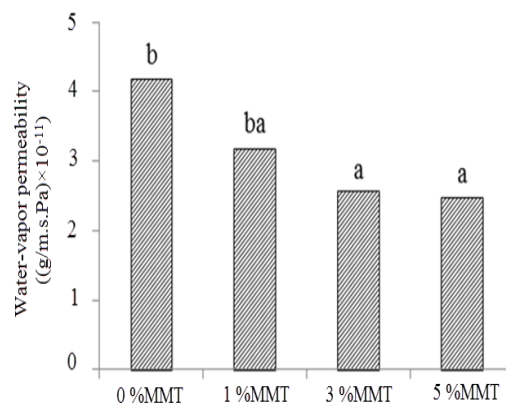


Fig 2 Effect of MMT level on the water-vapor permeability. Columns with the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

کشش در نقطه شکست در غلظت‌های مختلف متفاوت است به طوری‌که تا غلظت ۳ درصد فاکتور مذکور را افزایش و در غلظت‌های بالاتر (۵درصد) سبب کاهش آن می‌شوند. با توجه به نتایج بدست آمده، به نظر می‌رسد فیلم‌های ترکیبی کفیران- نانورس را می‌توان به عنوان یک جایگزین مناسب برای پلیمرهای سنتزی در بسته‌بندی مواد غذایی در نظر گرفت.

۵- منابع

- [1] Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M., & Hashemi, M. (2014a). Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-TiO₂ nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 340–345.
- [2] Garcia, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2000). Microstructural Characterization of Plasticized Starch Based Films. *Starch Starke*, 52(4), 118–124.
- [3] Kurek, M., Galus, S., & Debeaufort, F. (2014). Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(1), 56–67.
- [4] Sanchez-Gonzalez, L., Vargas, M., Gonzalez-Martinez, C., Chiralt, A., & Chafer, M. (2009). Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2102–2109.
- [5] Micheli, L., Uccelletti, D., Palleschi, C., & Crescenzi, V. (1999). Isolation and characterisation of a ropy *Lactobacillus* strain producing the exopolysaccharide kefiran. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(1), 69–74.
- [6] Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A. (2011). Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 477–483.
- [7] John, M. J., & Thomas, S. (2008). Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 71(3), 343–364.
- [8] Jang, S. A., Shin, Y. J., Seo, Y. B., & Song, K. B. (2011). Effects of various plasticizers

همکاران [۳۱] می‌باشد. این محققین بیان داشتند که درصد افزایش طول در فیلم ژلاتینی با افزودن نانورس تا غلظت ۱درصد، افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. این تفاوت در غلظتی از نانورس که سبب کاهش درصد ازدیاد طول می‌شود (بین فیلم‌های بر پایه کفیران و ژلاتین)، احتمالاً به دلیل تفاوت در مواد پایه تشکیل دهنده فیلم‌ها می‌باشد.

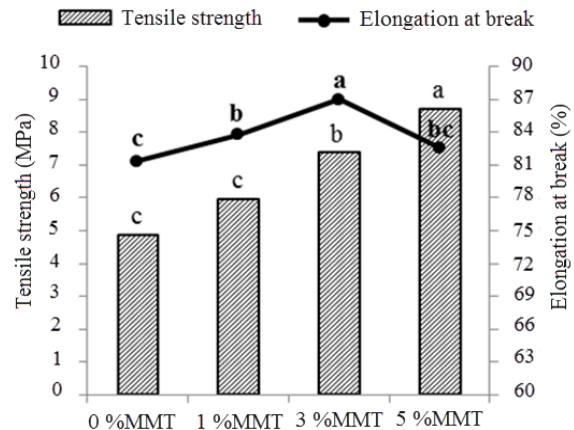


Fig 3 Effect of MMT level on the mechanical properties. Columns with the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

۴- نتیجه‌گیری

فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر عموماً بصورت لایه‌های نازک تولید و سپس روی مواد غذایی یا بین اجزاء آنها قرار می‌گیرند. این فیلم‌ها نقش مهمی را در بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری محصولات غذایی ایفا می‌کنند. در این تحقیق، فیلم‌های نانوبیوپلیمری کفیران حاوی نسبت‌های مختلف نانورس تولید و سپس خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی و ممانعت‌کنندگی آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، نانوذرات رس سبب افزایش ضخامت و کاهش محتوای رطوبت، جذب آب، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها شده در حالی که روی شفافیت آنها (تا غلظت ۳ درصد) تاثیر معنی‌داری ندارد. آزمون رنگسنجی نشان می‌دهد این نانوذرات فاکتورهای a و WI را کاهش و فاکتورهای b و ΔE را افزایش می‌دهند در حالیکه تاثیر معناداری روی فاکتور L ندارند. همچنین این نانوذرات سبب افزایش استحکام کششی فیلم‌ها می‌شوند، اما تاثیر آنها روی

- [18] Bourtoom, T., & Chinnan, M. S. (2008). Preparation and properties of rice starch–chitosan blend biodegradable film. *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1633–1641.
- [19] ASTM (1995). Standard test methods for water vapor transmission of material, E 96–95. In *Annual book of ASTM: Philadelphia*. PA: American Society for Testing and Material.
- [20] ASTM (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard D882. In *Annual book of ASTM: Philadelphia*. PA: American Society for Testing and Materials.
- [21] Petersson, L., & Oksman, K. (2006). Biopolymer based nanocomposites: comparing layered silicates and microcrystalline cellulose as nanoreinforcement. *Composites Science and Technology*, 66(13), 2187–2196.
- [22] Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G., & Leng, X. (2011). Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1098–1104.
- [23] Cyras, V. P., Manfredi, L. B., Ton-That, M. T., & Vazquez, A. (2008). Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 73(1), 55–63.
- [24] Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., & Yarmand, M. S. (2011). Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *Food Chemistry*, 127(4), 1496–1502.
- [25] Pandey, J. K., & Singh, R. P. (2005). Green Nanocomposites from Renewable Resources: Effect of Plasticizer on the Structure and Material Properties of Clay filled Starch. *Starch–Starke*, 57(1), 8–15.
- [26] Casariego, A., Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., Cruz, L., Diaz, R., & Vicente, A. A. (2009). Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1895–1902.
- [27] Zeng, Q. H., Yu, A. B., Lu, G. Q., & Paul, D. R. (2005). Clay-based polymer nanocomposites: research and commercial development. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5(10), 1574–1592.
- and nanoclays on the mechanical properties of red algae film. *Journal of Food Science*, 76(3), N30–N34.
- [9] Galdeano, M. C., Mali, S., Grossmann, M. V. E., Yamashita, F., & Garcia, M. A. (2009). Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. *Materials Science and Engineering: C*, 29(2), 532–538.
- [10] Muller, C. M. O., Laurindo, J. B., & Yamashita, F. (2009). Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1328–1333.
- [11] 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. *Journal of Food Engineering*, 91(3), 468–473.
- [12] Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M., & Hashemi, M. (2014b). The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefir–whey protein by nanoparticle incorporation. *Carbohydrate Polymers*, 109, 118–125.
- [13] Mook Choi, W., Wan Kim, T., Ok Park, O., Keun Chang, Y., & Woo Lee, J. (2003). Preparation and characterization of poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)–organoclay nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 90(2), 525–529.
- [14] Piermaria, J. A., Pinotti, A., Garcia, M. A., & Abraham, A. G. (2009). Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 684–690.
- [15] Dehnad, D., Emam-Djomeh, Z., Mirzaei, H., Jafari, S. M., & Dadashi, S. (2014). Optimization of physical and mechanical properties for chitosan–nanocellulose biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 105, 222–228.
- [16] Gontard, N., Ducheze, C., CUQ, J., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 29(1), 39–50.
- [17] Tang, S., Zou, P., Xiong, H., & Tang, H. (2008). Effect of nano-SiO₂ on the performance of starch/polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydrate Polymers*, 72(3), 521–526.

- and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 99(4), 1684–1691.
- [31] Bae, H. J., Park, H. J., Hong, S. I., Byun, Y. J., Darby, D. O., Kimmel, R. M., & Whiteside, W. S. (2009). Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite films. *LWT-Food Science and Technology*, 42(6), 1179–1186.
- [32] Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., & Entezami, A. A. (2010). Physicochemical properties of starch–CMC–nanoclay biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(1), 1–5.
- [28] Sothornvit, R., Hong, S. I., An, D. J., & Rhim, J. W. (2010). Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. *LWT-Food Science and Technology*, 43(2), 279–284.
- [29] Kumar, P., Sandeep, K. P., Alavi, S., Truong, V. D., & Gorga, R. E. (2010). Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. *Journal of Food Engineering*, 100(3), 480–489.
- [30] Xu, Y., Ren, X., & Hanna, M. A. (2006). Chitosan/clay nanocomposite film preparation

Effect of nanoclay on physicochemical and barrier properties of kefiran biopolymer films

Hosseini, S. S.¹, Khodaiyan, F.^{2*}, Esmi, S.³

1. M. Sc. Student & Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran.

2. Former M. Sc. Student of food science and technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva branch, Islamic Azad University.

(Received: 2015/06/21 Accepted: 2016/08/14)

Biodegradable films and coatings are developed to improve quality and to extend shelf-life of food products. In the present research, physicochemical and barrier characteristics of nano-biopolymer films composed of kefiran-montmorillonite (MMT; 0, 1, 3 and 5 % w/w) were studied. Results showed that the thickness, chromaticity parameters b (yellow–blue) and the total color difference (ΔE) increased by increasing the nanoclay content, whereas, the moisture content, water absorption, water solubility, water vapor permeability, chromaticity parameters a (red–green) and whiteness index (WI) decreased by increasing it. Also, the nanoparticles had no significant effect on transparency and lightness parameter (L) of films. Study the mechanical properties showed that nanoclay increases the tensile strength of films whereas, its effect on the elongation at break is different in various concentrations, so that this factor increase until concentration of 3% of the nanoclay and decrease in higher concentrations (5%).

Keywords: Film, Kefiran, Nanoclay, Permeability, Mechanical Properties

* Corresponding Author E-Mail Address: Khodaiyan@ut.ac.ir