

بررسی ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و ساختاری فیلمهای خوراکی پروتئین کنجاله کنجد حاصل از دو روش استخراج قلیایی و نمکی

سیمین صادقی^۱، جعفر محمدزاده میلانی^{۲*}، رضا اسماعیل زاده کناری^۲،
محمد رضا کسایی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۰۲)

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تولید فیلم خوراکی زیست تخریب پذیر از پروتئین کنجاله کنجد با دو روش استخراج متفاوت پروتئینی بود که شامل استخراج قلیایی و نمکی می باشد. در این فیلمها از گلیسرول به عنوان پلاستیسایزر به میزان ۰/۴۰٪، ۰/۴۵٪ و ۰/۵۰٪ همچنین از نانوذره اکسیدروی به مقدار ۱٪، ۳٪ و ۵٪ استفاده شد. طبق نتایج بدست آمده نشان داده شد که ضخامت فیلمهای تهیه شده از پروتئین به روش قلیایی و نمکی با افزایش غلظت نانوذره و افزایش غلظت گلیسرول افزایش یافت؛ با این تفاوت که ضخامت فیلم پروتئینی با روش قلیایی نسبت به روش نمکی بیشتر بود. محتوی رطوبت و حلالیت با افزایش غلظت گلیسرول افزایش یافت و همچنین در غلظت ثابت گلیسرول افزودن نانوذرات اکسیدروی منجر به کاهش رطوبت نهایی و حلالیت فیلمها شد. اما تاثیر گلیسرول و نانوذره اکسیدروی در فیلم پروتئینی با روش نمکی کمتر از روش قلیایی بود. همچنین میزان رطوبت و حلالیت در روش نمکی بیشتر بود. نتایج مقایسه میانگینها نشان داد که در هر دو نوع فیلم پروتئینی افزودن نانوذره اکسیدروی و همچنین افزایش غلظت گلیسرول باعث افزایش معنی داری در میزان کدورت فیلمها گردید. طبق نتایج میزان کدورت و در نتیجه خاصیت سدکنندگی نور در فیلم های پروتئینی با روش قلیایی بطور قابل توجهی بیشتر از فیلمهای پروتئینی با روش نمکی بود. در طیف سنج فروسرخ (FT-IR)، برقراری اتصالات جدید در بین پلیمر و نانوذره اکسیدروی در روش قلیایی و نمکی نشان داده شد. در بررسی ریزساختار فیلمها نشان داده شد که فیلم پروتئینی شاهد دارای سطحی صاف با اندکی شکاف می باشند که نشان دهنده یکنواخت بودن ساختار این فیلمهای کامپوزیت می باشد. با افزایش درصد نانوذرات بافتی ناهمگن و زبر در سطح فیلمها مشاهده شد که می تواند به تجمع و توزیع غیر یکنواخت نانوذرات در بستر پلیمر در اثر غلظت بالای آن ها نسبت داده شود.

کلید واژگان: کدورت، طیف سنج فروسرخ، ریزساختار، فیلم خوراکی

*مسئول مکاتبات: jmilany@yahoo.com

۱- مقدمه

موادی که برای بسته بندی مواد غذایی به کار می روند از آلاینده های محیط زیست هستند. پلاستیک‌ها با منشا مواد نفتی به علت در دسترس بودن در مقادیر زیاد و قیمت پایین و ویژگی‌های کاربردی مطلوب به طور گسترده ای به عنوان مواد بسته بندی به کار می روند. با این وجود، چنین ترکیباتی کاملاً زیست تخریب ناپذیرند و باعث آلودگی محیط زیست می‌شوند. در حال حاضر جایگزینی سیستم‌های جدید بسته بندی برای مصرف کنندگان و حتی تولیدکنندگان، مهم ترین هدف به شمار می آید [۱]. از جمله بسته‌های زیست تخریب پذیر فیلم‌های خوراکی می باشند. این پوشش‌ها در برابر اکسیژن، دی اکسید کربن، رطوبت و غیره به عنوان یک مانع عمل کرده و زمان ماندگاری ماده غذایی را افزایش می دهند. فیلم‌های خوراکی به دلیل زیست تخریب پذیر بودن، بر خلاف فیلم‌های سنتزی باعث آلودگی محیط زیست نمی‌شوند [۲].

ظهور فناوری نانو در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی، راه حلهایی کاربردی در ارتباط با افزایش طول عمر ماندگاری مواد غذایی پیش روی بشر قرار داده است. در حقیقت، آنچه سبب ظهور این فناوری شده است، نسبت بالای سطح به حجم در ذرات با ابعاد نانومتر است. این نسبت با شعاع نانو ذرات کروی رابطه مستقیمی دارد. با کاهش ابعاد ذرات در حد نانومتر، قدرت فعالیت سطحی مواد افزایش چشمگیری می‌یابد و نسبت واکنش دادن مواد با محیط اطراف به دلیل ازدیاد سایتهای فعال سطحی بیشتر می‌شود [۳].

به طور کلی، بسته‌بندیهای فعال ویژگیهای فراتر از خصوصیات ممانعت کنندگی دارند و با افزودن ترکیبات و اجزای سازنده فعال در سیستم بسته‌بندی حاصل می‌شوند. این نوع بسته‌بندی با تغییر خصوصیات بسته نسبت به تغییرات درونی و بیرونی محیط بسته عکس العمل مناسب نشان میدهد و به این ترتیب، در حفظ تازگی غذاهای تازه اهمیت ویژه‌ای دارد [۴]. بسته بندی‌های فعال ضد میکروب

ساخته شده از نانو کامپوزیت‌های فلزی، نسل جدیدی از بسته بندی با ساختار نانو هستند که از ترکیب مستقیم نانوذرات فلزی با پلیمر زمینه تولید می شود [۵]. در بین نانوذرات فلزی، اکسیدروی یکی از نانوذرات مهم است که به علت داشتن ثبات بالا، خواص ضد میکروبی و غیر سمی بودن بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۶]. در این راستا پلیمرهای زیستی مختلفی مانند پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها و چربی‌ها به عنوان فیلم استفاده شده‌اند. از آنجا که فیلم‌های پروتئینی خصوصیات ممانعتی بهتری در مقابل چربی و اکسیژن در رطوبت نسبی پایین دارند، به طور گسترده‌تری برای تهیه فیلم های خوراکی استفاده می شوند [۷]. در میان پروتئین‌های مختلف پروتئین کنجاله کنگد به عنوان گزینه خوبی برای این هدف در نظر گرفته می شود. مطالعات اخیر نشان می دهد که پروتئین کنگد یک پروتئین با کیفیت عالی (تقریباً ۸۰٪ آلفاگلوبولین و ۲۰٪ بتاگلوبولین) با ارزش بیولوژیکی و تغذیه ای بالا می باشد [۸]. کنجاله کنگد حاوی ۳۵ الی ۴۰٪ پروتئین می باشد که یک محصول جانبی پس از استخراج روغن است. اما کنجاله معمولاً به عنوان غذای حیوانات یا کود استفاده می شود [۹]. برای تولید محصولات با ارزش افزوده، مطالعات بسیاری بر روی فیلم‌های خوراکی از پروتئین‌های باقی مانده ی دانه‌های روغنی گیاهی انجام شده است [۱۰]. هدف از انجام این تحقیق بررسی امکان تولید فیلم خوراکی بر پایه پروتئین کنجاله کنگد با دو روش استخراج پروتئین با روش قلیایی و نمکی به منظور ایجاد محصولی با ارزش افزوده به همراه نانوذرات اکسیدروی برای بهبود خواص عملکردی بسته‌ها و ایجاد خاصیت ضد میکروبی می‌باشد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد

نانوذرات اکسیدروی از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان خراسان رضوی و کنجاله کنگد وارپته ناز تک شاخه از بازار محلی

نانوذرات اکسیدروی اضافه و به مدت ۱ ساعت هم زده شد. محلول در حمام آب در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه برای حذف حباب های هوا خنک شد. مقدار ۱۰۰ میلی لیتر از محلول تشکیل دهنده فیلم ها بر روی ظروف تفلون با قطر ۱۶ ریخته شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد برای بدست آوردن یک ضخامت یکنواخت خشک شدند. فیلم ها در دسیکاتور با رطوبت نسبی $5 \pm 0.5\%$ در دمای 2 ± 23 درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمون ها نگهداری شدند [۱۰].

۲-۲-۳- ضخامت فیلم

ضخامت فیلم های تولید شده قبل از انجام آزمون های مختلف با استفاده از میکرومتر با دقت $0.1/0$ میلیمتر در ۱۰ نقطه تصادفی بر روی فیلم که از قسمت های مختلف آن انتخاب شده بودند، اندازه گیری شد. میانگین ضخامت از ۱۰ نقطه تصادفی برای هر نمونه اندازه گیری و در محاسبات انجام شده لحاظ شد.

۲-۲-۴- ارزیابی ویژگی های محتوی رطوبت و حلالیت

محتوی رطوبت فیلم های پروتئینی بعد از خشک کردن آن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد در شرایط گردش اجباری هوا به مدت ۲۴ ساعت اندازه گیری می شود. قطعات کوچک ($0.2/0$ گرم) از فیلم بعد از مشروط کردن کافی بریده می شوند و در ظروف پتری دیش قرار داده می شوند که قبل و بعد از خشک کردن در آن توزین شده بودند. میزان رطوبت به عنوان یک بخش از افت وزن فیلم در اثر خشک شدن بر مبنای وزن مرطوب گزارش می شود.

برای اندازه گیری حلالیت فیلم ها سه قطعه از هر نمونه ($2 \times 2 \text{ cm}$) وزن شده و سپس در آن ۱۰۵ درجه سانتی گراد خشک می شوند. و در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت غوطه ور می شوند. سپس نمونه ها توسط یک کاغذ صافی صاف می شوند و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک می شوند. میزان باقی مانده ماده خشک تعیین گردید [۱۲].

درساری خریداری شد. اسید کلریدریک هیدروکسید سدیم، کلرید سدیم و گلیسرول از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

۲-۲-۲- روش ها

۲-۲-۲-۱- استخراج پروتئین

ایزوله پروتئین کنجاله کنجد بر اساس روش استخراج قلیایی و استخراج با نمک NaCl طبق روش اونسارد^۱ و همکاران (۲۰۱۰) تهیه شد. آرد روغن گیری شده ی کنجاله کنجد با آب به نسبت ابه ۱۰ وزنی/ حجمی مخلوط شدند، سپس در روش اول pH با استفاده از ۲ مولار محلول قلیایی هیدروکسید سدیم به ۱۱ رسانیده شد. در روش دوم pH با استفاده از ۲ مولار NaCl به ۷ رسانیده شد. در هر دو روش مخلوط به طور پیوسته با یک همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت هم زده می شود و سپس در دور ۵۰۰۰rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و فازهای محلول جدا شد. فازهای محلول با استفاده از 0.1 یا 1 مولار HCl به $4/5$ pH رسید. سوسپانسیون به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد سپس سوپرناتانت دور ریخته شد و رسوبات وزن شدند و میزان پروتئین با روش کلدال سنجیده شد [۱۱].

۲-۲-۲-۲- تهیه فیلم پروتئین کنجاله کنجد

پروتئین کنجاله کنجد به میزان ۳ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. گلیسرول به میزان 40% ، 45% و 50% (بر پایه ماده خشک پروتئین) در ساخت فیلم به کار رفت. برای آماده سازی فیلم های نانوکامپوزیت مقادیر مختلف 1% ، 3% و 5% نانوذرات اکسیدروی (بر پایه ماده خشک پروتئین) به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و با کمک همزن مغناطیسی در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت هم زده شد. محلول تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در معرض امواج فراصوت با استفاده از پروب فراصوت در پالس متناوب ۱۲۰S روشن و ۱۵S خاموش در دامنه 50% قرار گرفت. ۳ گرم پروتئین کنجاله کنجد و پلاستیسایزر به محلول

1. Onsaard

۲-۲-۵- کدورت فیلم‌های نانوکامپوزیت

قیلم‌ها در ابعاد 1×4 سانتی متر بریده و داخل سل اسپکتروفتومتر (مدل $T80^+$ ، شرکت PG Instrument، ساخت انگلستان) قرار گرفتند و سل خالی هم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان جذب نور با طول موج 600 نانومتر در سه تکرار انجام شد. با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Transparency} = A_{600}/x$$

طبق معادله A_{600} میزان جذب در 600 نانومتر و X ضخامت

فیلم‌ها بر حسب میلی‌متر می‌باشد [۱۳].

۲-۲-۶- طیف سنجی FTIR^۱

دستگاه اسپکتروفتومتر FT-IR مدل Cary 630, 2017, USA برای نمایش پیوند بین گروه‌های عملگر شیمیایی ماتریس پلیمری و نانو ذرات افزوده شده به کار گرفته شد. برای تعیین طیف FT-IR فیلم‌ها از روش پرمیتوس و همکاران (۲۰۰۹) [۱۴] استفاده شد. میزان شفافیت 4 cm^{-1} و طول موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ جهت آزمون‌های طیف سنجی FT-IR فیلم‌ها تنظیم شدند.

۲-۲-۷- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی^۲ (SEM)

ساختار شناسی فیلم توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی طبق روش (تانگوانچان و همکاران، ۲۰۱۲) [۱۵] انجام شد. برای عکس برداری از نمونه ابتدا از هر نمونه برش‌هایی در ابعاد مشخص تهیه شد. نمونه‌ها پس از ثابت شدن روی پین‌های مخصوص، در دستگاه لایه نشانی طلا، قرار گرفتند. در نهایت نمونه‌ها کاملاً طلاپوش شده و به داخل دستگاه میکروسکوپ الکترونی منتقل شدند و در بزرگ‌نمایی $40000X$ و $80000X$ از نمونه‌ها تصاویری تهیه شد.

۲-۳- طرح آماری

کلیه آزمایشات در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین آزمون‌ها، بر اساس آنالیز واریانس دوطرفه در سطح احتمال $0/05$ صورت گرفت و در صورت معنادار بودن، برای تعیین تفاوت میانگین‌ها، آزمون دانکن (Duncan) انجام شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS16 مورد بررسی قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ضخامت فیلم‌ها

ضخامت بسته به روش تولید، ترکیبات تشکیل دهنده فیلم و مقدار آن‌ها تغییر خواهد کرد [۱۶]. طبق نتایج آنالیز واریانس مشخص شد که اثر خطی نانوذره اکسید روی (ZnO) و میزان گلیسرول و همچنین اثر متقابل این دو متغیر مستقل بر تغییرات ضخامت فیلم‌های نانوکامپوزیت بر پایه پروتئین استخراج شده از کنجاله کنجد به دو روش قلیایی و محلول آب نمک معنی دار بود ($p < 0/05$) و در این بین اثر ساده نانوذره بیشتر از سایر متغیرها بود. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن نشان داد که در فیلم‌های تهیه شده از پروتئین استخراج شده به روش قلیایی با افزایش غلظت نانوذره و همچنین افزایش غلظت گلیسرول بر ضخامت فیلم‌های نانوکامپوزیت افزوده شد. علت افزایش ضخامت فیلم‌های خوراکی با افزودن نانوذرات، نانوفیبرها و پلاستی‌سایزرها (مانند گلیسرول) در بسیاری از تحقیقات، افزایش ماده خشک و جذب رطوبت بیشتر این فیلم‌ها عنوان شده است [۱۷-۱۶]. در فیلم‌های پروتئینی استخراج شده به روش آب نمک نیز روند نسبتاً مشابهی بدست آمد بدین معنی که بیشترین ضخامت مربوط به فیلم حاوی بالاترین غلظت نانوذره اکسید روی و گلیسرول بود با این تفاوت که در شرایط یکسان میانگین ضخامت فیلم‌ها کمتر از فیلم‌های پروتئینی با روش قلیایی بود. در عمل نیز مشاهده شد که راندامان پروتئین استخراج شده به روش قلیایی بیشتر از روش آب نمک بود بنابراین در وزن یکسانی از این دو محلول، ماده خشک روش قلیایی بیشتر از روش آب نمک

1. Fourier Transform infrared spectroscopy
2. Scanning Electron Microscope

محیط‌های مرطوب باشد. نتایج میزان رطوبت و حلالیت فیلم‌های پروتئینی حاوی مقادیر مختلف نانوذره اکسیدروی و گلیسرول در جدول (۲) نشان داده شده است. نتایج اندازه‌گیری رطوبت فیلم‌های پروتئینی با روش قلیایی نشان داد که بیشترین میزان رطوبت به فیلم‌های فاقد نانوذرات تعلق داشت و بنابراین همانطور که مشاهده می‌گردد با افزایش غلظت گلیسرول بر میزان رطوبت فیلم‌های پروتئینی افزوده شد که به دلیل جذب بالای رطوبت توسط گلیسرول و ممانعت از خروج آن هنگام خشک کردن فیلم‌های خوراکی می‌باشد [۱۸]. این در حالی بود که در غلظت ثابتی از گلیسرول، افزودن نانوذرات اکسیدروی منجر به کاهش رطوبت نهایی نمونه‌های فیلم گردید، بطوریکه کمترین میزان رطوبت در بیونانوکامپوزیت حاوی ۵ درصد نانوذره و ۴۰ درصد گلیسرول اندازه‌گیری شد که برابر ۲۵/۸۳ درصد بود. علت کاهش رطوبت نمونه‌های فیلم با افزودن نانوذرات روی افزایش تراکم ساختاری فیلم‌ها و همچنین اشغال نمودن برخی جایگاه‌های آب دوست گلیسرول و پروتئین می‌باشد [۱۹].

نتایج اندازه‌گیری میزان رطوبت فیلم‌های بیوکامپوزیت با روش نمکی نیز روندی مشابه نشان داد بدین معنی که افزودن گلیسرول منجر به افزایش رطوبت فیلم‌ها شد ولی نانوذرات اکسید روی رطوبت فیلم‌های خوراکی را کاهش داد. تفاوت مشاهده شده در میزان رطوبت این دو نوع فیلم بود، به این معنی که در غلظت یکسانی از گلیسرول و نانوذره میزان رطوبت فیلم‌های پروتئینی با روش قلیایی کمتر از فیلم پروتئینی با روش نمکی بود و در بسیاری موارد این اختلاف معنی دار بود (جدول ۲). به نظر می‌رسد که در نتیجه افزودن نانو اکسیدروی، اتصال‌های قوی بین زنجیره‌های پروتئینی ایجاد شده که ایجاد این اتصال‌ها منجر به کاهش گروه‌های هیدروکسیل موجود در شبکه فیلم و به دنبال آن کاهش اتصال این گروه‌های آزاد آب دوست به آب گردیده است. تشکیل ساختار یکپارچه‌تر و فشرده‌تر در نتیجه حضور نانوذرات اکسیدروی نیز می‌تواند منجر به کاهش درصد رطوبت فیلم‌ها شده باشد [۲۰]. یافته‌های بخش حلالیت با نتایج ارزیابی رطوبت مطابقت داشت، بطوریکه با افزایش میزان گلیسرول از ۴۰ تا ۵۰ درصد در فرمولاسیون فیلم پروتئینی با روش قلیایی، میزان حلالیت از ۸۲/۷۵ درصد تا ۸۷/۶۵ درصد افزایش پیدا کرد و در فیلم‌های پروتئینی با روش نمکی این مقدار در محدوده ۹۲/۶-

می‌باشد و همین عامل می‌تواند در افزایش ضخامت فیلم‌های پروتئینی استخراج شده به روش قلیایی موثر باشد. محققین با بررسی تأثیر اسانس پونه کوهی بر ویژگی‌های فیلم خوراکی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز گزارش دادند که اختلاف معنی داری بین ضخامت فیلم‌های بدون اسانس و فیلم ترکیب شده با اسانس پونه کوهی پس از خشک شدن وجود دارد. این محققین بیان داشتند دلیل ضخامت کم تر فیلم حاوی اسانس به احتمال زیاد به خاطر قرار گرفتن اسانس در فضاهای خالی بین زنجیره‌های پلیمر است و بنا به ماهیت آب‌گریزی اسانس می‌تواند در جلوگیری از جذب رطوبت زیاد توسط گلیسرول ترکیب شده با فیلم نیز موثر باشد. در حالی که گلیسرول در فیلم بدون اسانس بدون هیچ مانعی می‌تواند حداکثر رطوبت را جذب خود کند و باعث افزایش ضخامت فیلم گردد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۱۸].

Table 1 Thickness of nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline and saline solutions

Thickness (mm)		Films	
NaOH	NaCl	Glycerol (%)	ZnO (%)
150±3 ^{hA}	142±2.2 ^{gB}	40	0
151±2.5 ^{hA}	145±1.8 ^{gB}	45	0
157±2 ^{fgA}	151±1.5 ^{fbB}	50	0
165±1 ^{eA}	145±2 ^{gB}	40	1
168±3 ^{eA}	151±0.5 ^{fbB}	45	1
163±2 ^{fA}	153±0.5 ^{fbB}	50	1
180±1.5 ^{dA}	151±0.65 ^{fbB}	40	3
181±2.2 ^{dA}	161±2.3 ^{eB}	45	3
178±1 ^{dB}	181±2.4 ^{bA}	50	3
206±0.5 ^{cA}	178±3 ^{cB}	40	5
210±1.6 ^{bA}	175±0.2 ^{dB}	45	5
220±3 ^{aA}	184±1 ^{aB}	50	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column ($P < 0.05$).

۳-۲- محتوای رطوبت و حلالیت

حلالیت در آب می‌تواند یکی از مهمترین ویژگی‌های برای فیلم‌های خوراکی به دلیل مقاومت در برابر آب به ویژه در

نانوذرات در کاهش حلالیت فیلمهای پروتئینی با روش قلیایی بیشتر از فیلمهای پروتئینی با روش نمکی می باشد (جدول ۲)، که نشان دهنده حلالیت کمتر فیلمهای پروتئینی با روش قلیایی نسبت به نوع دیگر می باشد که حاکی از ساختار متراکم تر شبکه فیلم و اتصالات قوی تر بین زنجیره‌های آن می باشد. در واقع محلول آب نمک باعث تضعیف پیوندهای بین مولکولی ساختار پروتئین کنجاله کنجد شده در نتیجه اتصال پیوندهای پروتئین-پروتئین در شبکه فیلم کاهش یافته و در نهایت منجر به حلالیت بیشتر نمونه‌های فیلم شده است.

۹۰/۱۱ درصد بود که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($p > 0.05$). این نتایج نشان می دهد اولاً گلیسرول در تغییر حلالیت فیلمهای پروتئینی با روش نمکی تاثیر کمتری نسبت به فیلمهای پروتئینی با روش قلیایی داشت، همچنین میزان حلالیت فیلمهای پروتئینی با روش نمکی بطور معنی داری بیشتر از فیلمهای پروتئینی با روش قلیایی می باشد (جدول ۲). که حاکی از مقاومت بیشتر پروتئینهای استخراجی با روش قلیایی در مقابل حلالیت در آب می باشد. این در حالی بود که بکاربردن نانوذرات ZnO در ساختار فیلم های پروتئینی تاثیر مثبتی بر کاهش حلالیت فیلمها داشت و همانطور که از نتایج پیداست تاثیر

Table 2 Moisture content and solubility of nanocomposite films based on sesame meal protein extracted alkaline and saline solutions.

Solubility (%)		Moisture (%)		Films
NaCl	NaOH	NaCl	NaOH	
91.07±2 ^{aA}	82.75±1.2 ^{bB}	38.81±0.5 ^{dA}	37.42±1.2 ^{bA}	ZnO 0%- Glycerol 40%
92.6±1.2 ^{aA}	83.44±1.5 ^{bB}	45.36±1.2 ^{bA}	41.62±0.8 ^{aB}	ZnO 0%- Glycerol 45%
90.11±0.5 ^{aA}	87.65±1 ^{aB}	44.28±1.6 ^{bA}	43.55±1.5 ^{aA}	ZnO 0%- Glycerol 50%
83.11±1.8 ^{cA}	75.65±1.3 ^{dB}	38.93±0.3 ^{dA}	31.26±2 ^{deB}	ZnO 1%- Glycerol 40%
86.5±2.5 ^{bA}	73.91±0.75 ^{dB}	41.8±0.5 ^{cA}	35.38±1.5 ^{cB}	ZnO 1%- Glycerol 45%
85.1±2 ^{bcA}	78.8±0.9 ^{cB}	47.86±2 ^{aA}	34.92±1 ^{cB}	ZnO 1%- Glycerol 50%
74.25±1.2 ^{eA}	60.75±2 ^{gB}	32.11±1.4 ^{efA}	27.43±0.5 ^{ghB}	ZnO 3%- Glycerol 40%
78.6±1 ^{dA}	68.25±1.8 ^{eB}	34.1±1.2 ^{eA}	30.26±1.2 ^{defB}	ZnO 3%- Glycerol 45%
83.5±0.5 ^{cA}	67.62±0.5 ^{eB}	30.42±1 ^{fgA}	32.06±1 ^{dB}	ZnO 3%- Glycerol 50%
68.9±0.8 ^{fA}	58.38±1.6 ^{hB}	29.67±1.1 ^{gA}	25.83±0.8 ^{hB}	ZnO 5%- Glycerol 40%
74.2±1.3 ^{eA}	55.69±1 ^{iB}	33.74±1.5 ^{eA}	29.6±0.5 ^{efB}	ZnO 5%- Glycerol 45%
70.11±0.7 ^{fA}	64.41±2.1 ^{fB}	34.1±1 ^{eA}	28.87±1 ^{fgB}	ZnO 5%- Glycerol 50%

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column ($P < 0.05$).

یکنواخت و تجمع نانوذرات دسترسی آنها به زنجیره پلیمر کم تر و قابلیت بهبود خواص کاهش می یابد [۲۱]. در تحقیقات کاملی که شارما و سینگ^۱ (۲۰۱۶) [۹]، بر روی ویژگیهای فیلم تهیه شده از پروتئین کنجاله کنجد استخراج شده به روش قلیایی انجام دادند، اثر غلظت پروتئین (۳-۹ درصد)، pH (۹-۱۲)، درجه حرارت (۷۰-۹۰ درجه سانتیگراد) و میزان

بطور کلی این یافته‌ها را می توان به پیوند های احتمالی به وجود آمده بین نانو اکسیدروی و پروتئین در ساختار فیلمها نسبت داد. مطالعات نشان داده اند که افزودن نانو اکسید روی موجب پیوند هیدروژنی بین نانو اکسیدروی و ماتریکس پلیمرها می شود و به این ترتیب اتصالات مولکول های آزاد آب با گروه های آب دوست بیوپلیمرها در مقایسه با نمونه شاهد کم تر شده و متعاقبا حلالیت فیلم کاهش می یابد همچنین برخی تحقیقات نشان داده است در غلظت های بالاتر نانوذره احتمالاً به دلیل عدم پراکنش

آرایشی و بهداشتی، پوشش ها و رنگدانه کاربرد دارد. اکسیدروی دارای مزایای بهتری نسبت به سایر اکسیدهای فلزی می باشد، زیرا دارای قابلیت جذب اشعه ی ماورابنفش در تمام محدوده های امواج فرابنفش است [۲۴].

در زمینه اثر گلیسرول برتوزی^۱ و همکاران (۲۰۰۷) [۲۵]، نیز بیان کردند گلیسرول باعث افزایش میزان کدورت می شود؛ به ویژه اگر مقدار آن بیشتر از ۳۰٪ باشد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. به این دلیل که ذرات و گرانول های بزرگتر از طول موج مرئی مسیر عبور نور را مسدود نموده باعث افزایش کدورت فیلم می شود. همانطور که از نتایج پیداست میزان کدورت و در نتیجه خاصیت سدکنندگی نور در فیلم های بر پایه پروتئینی با روش قلیایی بطور قابل توجهی بیشتر از فیلم های پروتئینی با روش نمکی بود که به تغییرات ساختاری پروتئین ها هنگام استخراج با قلیا و محلول آب نمک و تراکم شبکه فیلم تشکیل شده بستگی دارد.

Table 3 The amount of opacity of the nanocomposite films based on the sesame meal protein obtained by alkaline and saline solutions.

Opacity (%)		Films	
NaOH	NaCl	Glycerol (%)	ZnO (%)
2.58±0.1 ^{fA}	1.92±0.05 ^{fB}	40	0
2.62±0.05 ^{fA}	1.88±0.1 ^{fB}	45	0
2.86±0.06 ^{deA}	2.14±0.06 ^{cdB}	50	0
2.78±0.1 ^{eA}	2.07±0.08 ^{deB}	40	1
2.75±0.03 ^{eA}	1.98±0.01 ^{efB}	45	1
2.94±0.05 ^{cdB}	2.21±0.06 ^{cB}	50	1
2.98±0.01 ^{cdA}	2.54±0.01 ^{bB}	40	3
2.96±0.05 ^{cdA}	2.5±0.05 ^{bB}	45	3
3.05±0.15 ^{cA}	2.55±0.1 ^{bB}	50	3
3.19±0.1 ^{bA}	2.6±0.02 ^{bB}	40	5
3.47±0.05 ^{aA}	2.78±0.03 ^{aB}	45	5
3.41±0.06 ^{aA}	2.7±0.04 ^{aB}	50	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column ($P < 0.05$).

1. Bertuzi

گلیسرول (۵۰-۱۰ درصد بر اساس پروتئین) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن ها نشان داد که حلالیت فیلم های پروتئینی در محدوده ۵۱/۰۶ الی ۸۷ درصد بود و افزایش غلظت پروتئین و pH منجر به کاهش حلالیت فیلم ها شد. آن ها عنوان کردند با افزایش غلظت پروتئین برهمکنش های پروتئین-پروتئین بیشتر شده در نتیجه شبکه پروتئینی قوی تری تشکیل می گردد که عامل کاهش حلالیت فیلم ها می باشد. همچنین با افزایش pH پیوستگی زنجیره های پروتئین بیشتر می شود که منجر به تولید فیلم هایی با ساختار متراکم و منسجم تری می گردد که این تغییرات در جهت کاهش حلالیت فیلم ها می باشد. طبق نتایج این محققین افزایش درجه حرارت نیز به دلیل افزایش دنا توره شدن پروتئین کنگد سبب کاهش حلالیت فیلم ها شد در حالیکه افزایش غلظت گلیسرول به دلیل ماهیت آبدوستی آن و همچنین قرار گرفتن گلیسرول بین زنجیره های پروتئینی و کاهش پیوندهای بین مولکولی و در نتیجه تضعیف شبکه فیلم، بطور معنی داری منجر به افزایش حلالیت فیلم های پروتئینی گردید که با نتایج این تحقیق کاملا سازگاری دارد.

۳-۳- کدورت و انتقال نور

شفافیت از ویژگی های مهم فیلم های زیست تخریب پذیر می باشد زیرا به طور مستقیم بر ظاهر محصول پوشش دهی شده تاثیر می گذارد. هم چنین می تواند بر سرعت اکسیداسیون چربی ها و کیفیت محصول تاثیرگذار باشد [۲۲]. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر گلیسرول، نانواکسیدروی و همچنین اثر متقابل این دو متغیر بر تغییرات کدورت فیلم های بر پایه پروتئین کنگاله کنگد معنی دار بود ($p < 0.05$) و در این بین بیشترین تاثیر مربوط به نانواکسیدروی بود. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که در هر دو نوع فیلم پروتئینی افزودن نانوذره اکسیدروی و همچنین افزایش غلظت گلیسرول باعث افزایش معنی داری در میزان کدورت فیلم ها گردید. علت کدورت بیشتر فیلم ها با افزایش نانواکسیدروی را می توان به تجمع نانوذرات درون بستر پلیمری نسبت داد [۲۳]. به علاوه، این مواد در برابر عبور اشعه ماورا بنفش نیز خاصیت سد کنندگی دارند. اکسیدروی به طور گسترده ای به عنوان پرکننده جاذب UV برای استفاده در مواد دارویی،

۳-۴- آزمون طیف سنجی FTIR

طیف سنجی FTIR از روشهای متداولی است که از سالها پیش برای تجزیه و شناسایی پلیمرها و برخی افزودنیهای آنها، استفاده می شود. از طیف سنجی FTIR برای تشخیص و تایید ایجاد برهمکنش بین پروتئین کنجاله کنجد و نانوذرات اکسیدروی استفاده گردید. نتایج آزمون FTIR برای فیلمهای نانوکامپوزیتی بر پایه پروتئین کنجاله استخراج شده به دو روش قلیایی و محلول آب نمک در شکل (۱) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود فیلم پروتئینی فاقد نانوذرات اکسیدروی دارای چندین پیک جذب در نواحی مختلف می باشد.

باند جذبی در محدوده $3500-3250 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی گروههای O-H و CH₂-OH است که با ناحیه جذبی گروه NH₂ ($3400-3500 \text{ cm}^{-1}$) و NH ($3300-3275 \text{ cm}^{-1}$) همپوشانی دارد. باند جذبی در ناحیه 2870 الی 2960 cm^{-1} به گروههای CH متقارن و نامتقارن نسبت داده شده است. پیک جذب در نقاط 1638 cm^{-1} و 1635 cm^{-1} به ترتیب به باند C=O گروه استیل (آمید I) و باند N-H آمید II نسبت داده شده است [۹]. باند جذبی در ناحیه $1100-1000 \text{ cm}^{-1}$ به گروه عاملی C-O-C اختصاص داده شده است [۲۶].

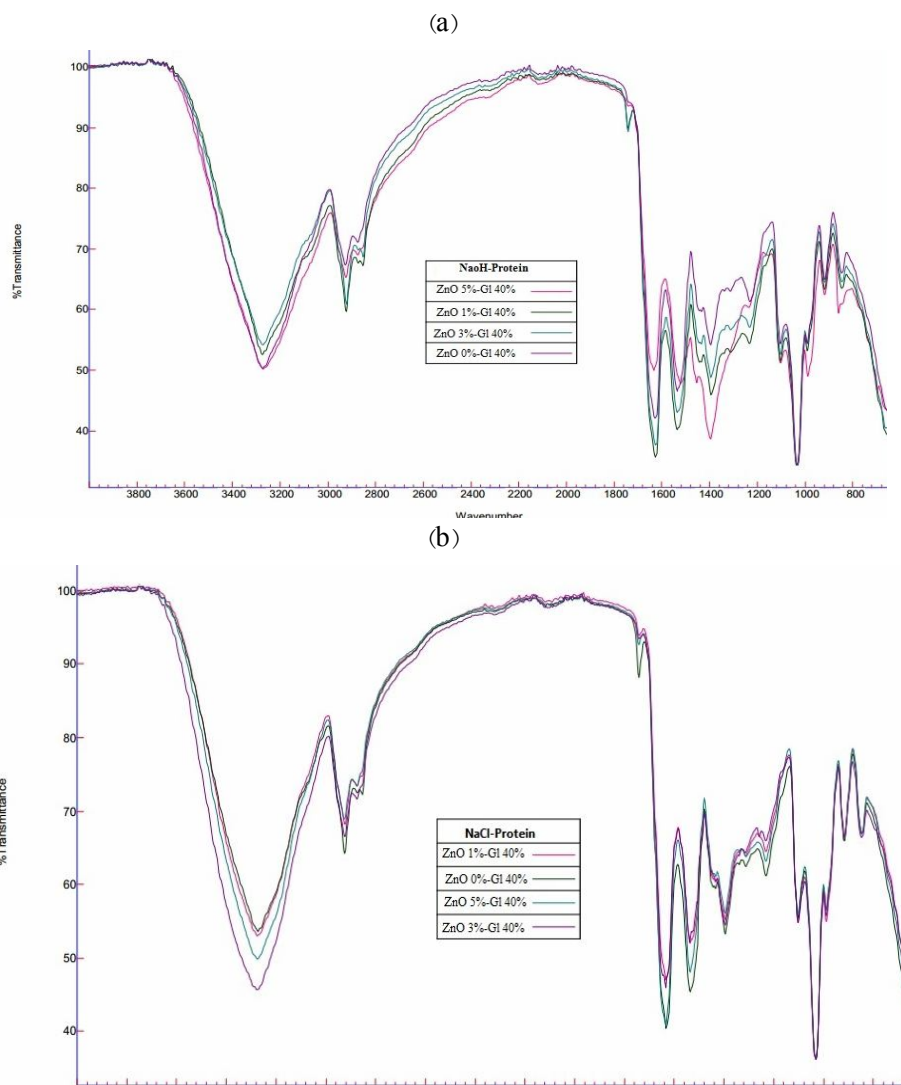


Fig 1 FTIR curve for films based on sesame meal protein extracted by method A: alkaline solution, and b: saline solution.

نانوکامپوزیتی می‌باشد. تصاویر نشان داد که نانوذرات در ماتریکس پروتئینی به طور مناسبی در غلظت های پایین پراکنده شدند که این می تواند یکی از عوامل تاثیر گذار بر بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها در غلظت پایین نانوذرات باشد. اما با افزایش درصد نانوذرات بافتی ناهمگن و زبر در سطح فیلم‌ها مشاهده شد که می‌تواند به تجمع و توزیع غیر یکنواخت نانوذرات در بستر پلیمر در اثر غلظت بالای آن‌ها نسبت داده شد. این مشاهدات با نتایج راماسوبو^۱ و همکاران (۲۰۱۲) [۲۰]، پیرامون ساخت و شناخت ویژگی‌های فیلم نانوکامپوزیت آگار-اکسیدروی مطابقت داشت.

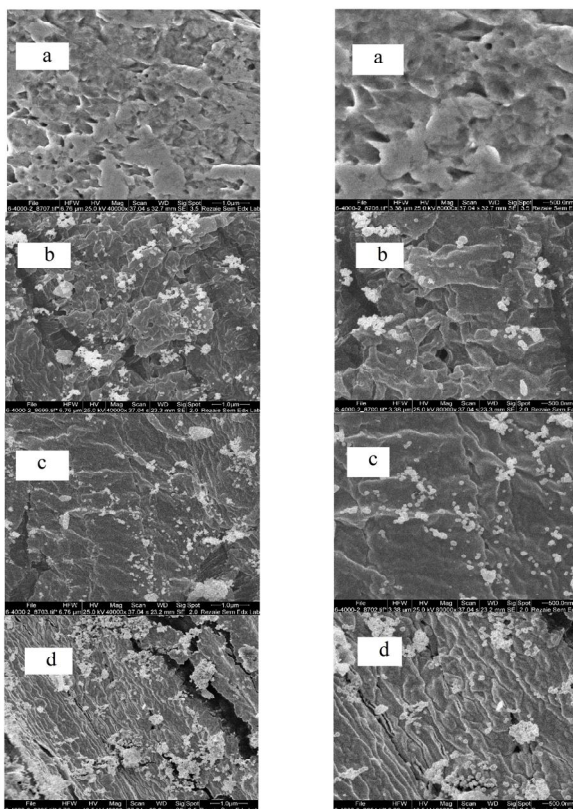


Fig 2 SEM Images of nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline method. a: ZnO 0%- GL 40%-From left to right magnify 40000 X, 80000X, b: ZnO 1%- GL 40%-From left to right magnify 40000 X, 80000X, c: ZnO 3%- GL 40%-From left to right magnify 40000 X, 80000X, d: ZnO 5%- GL 40%-From left to right magnify 40000 X, 80000X.

1. Ramasubbu

با توجه به طیف‌های FTIR می‌توان مشاهده کرد که با افزودن نانوذره اکسیدروی به فیلم‌های پروتئینی، شدت جذب پیک‌ها در برخی طول موج‌ها تحت تاثیر قرار گرفته است. مجموعه این تغییرات نشان دهنده وجود نانوذرات اکسیدروی در ساختار فیلم و ایجاد برهمکنش با پروتئین‌های کنجاله می‌باشد و بطور کلی نتایج حاکی این است که نانوذره اکسیدروی تا غلظت ۳٪ با اتصال و پیوند مناسب با شبکه پروتئین و گلیسرول سبب افزایش انسجام و پیوستگی فیلم‌های خوراکی شده است که افزایش شدت باندهای جذبی موید این مطلب می‌باشد ولی با افزایش غلظت آن تا ۵٪ احتمالاً به دلیل تجمع نانوذرات و پخش غیریکنواخت آن در ساختار شبکه فیلم اتصال کمتری با پروتئین‌های کنجاله داشته است. روند مشابهی نیز در شکل ۱ قسمت b مشاهده می‌گردد با این تفاوت که تغییر شدت پیک‌ها ناشی از حضور نانوذرات اکسیدروی در فیلم‌های بر پایه پروتئین استخراج شده به روش قلبایی به مراتب بیشتر از پروتئین‌های استخراج شده به روش آب نمک می‌باشد که به ماهیت گروه‌های عاملی و پیوندهای پپتیدی ساختار این دو نوع پروتئین برمی‌گردد. در تحقیقاتی مشابهه کاروی آهنگر و همکاران (۱۳۹۴) [۲۷]، نیز نشان دادند که افزودن نانوذرات اکسیدروی به بستر پلیمری پلی وینیل الکل (PVA/ZnO) منجر به تغییراتی در نواحی جذبی فیلم خالص PVA می‌گردد و پیک‌هایی با بیشترین میزان جذب به فیلم‌های حاوی ۵٪ نانوذره تعلق داشت.

۳-۵- آزمون مشاهدات ریزساختاری

جهت مشاهده و ارزیابی مورفولوژی فیلم‌ها و پلیمرها از آزمون SEM استفاده شد. در شکل (۲) تصاویر میکروسکوپ الکترونی سطح فیلم‌های پروتئینی حاوی غلظت های مختلف نانواکسیدروی نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود فیلم پروتئینی شاهد دارای سطحی صاف با اندکی شکاف می‌باشند که نشان دهنده یکنواخت بودن ساختار این فیلم‌های کامپوزیت می‌باشد. با افزودن نانواکسیدروی تا غلظت ۳٪ سطح فیلم ناهموارتر گردید، اما باعث ایجاد ترک در فیلم‌ها نگردید، در حالیکه نانوذره در غلظت ۵٪ علاوه بر ناهموارتر کردن سطح فیلم‌ها منجر به ترک برداشتن فیلم‌ها شد که نتیجه آن تضعیف خواص ممانعت کنندگی و ویژگی های مکانیکی فیلم‌های

۴- نتیجه گیری کلی

بنابر نتایج بدست آمده در این پژوهش می توان گفت که فیلمهای تهیه شده از پروتئین کنجاله کنگد که با روش قلیایی استخراج شده بود از نظر خواص بازدارندگی و مکانیکی قوی تر از فیلم های بر پایه پروتئین استخراج شده به روش محلول آب نمک می باشد که به تاثیر منفی یونهای نمک بر پیوندهای پپتیدی و نقش مثبت قلیا در جلوگیری از حلالیت و استخراج بهتر پروتئینها در این شرایط نسبت داده می شود. همچنین در مورد غلظت گلیسرول نیز با توجه به اثر منفی آن بر ویژگیهای فیزیکی و ساختاری فیلم در غلظت های بالا و نقش مثبت آن بر انعطاف پذیری فیلم در غلظت های کمتر، مقدار ۴۰ درصد انتخاب می گردد و در مورد نانوذره اکسیدروی نیز با توجه به تاثیر مثبت آن بر ویژگیهای بازدارندگی و مکانیکی فیلم در غلظت ۳٪ و آگلومره شدن نانوذرات و افت کیفیت فیلمها در غلظت های بالاتر (۵٪)، میزان ۳٪ بعنوان غلظت مطلوب جهت تولید فیلمها پیشنهاد می گردد.

۵- منابع

- (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food additives and contaminants*, 25(3), 241-258.
- [6] Ghodsi, M., Shahedi, M., & Kadiyar, M. (2016). Production bionanocomposite films of bitter vetch protein isolate contain ZnO nanoparticles and study functional characterizations and its effect on food storage. *Journal of Food Science and Technology*, 13 (51), 113-123.
- [7] Arabestani, A., Kadivar, M., Shahedi, M. Vogli, S.A. (2015). Preparation and determination of some physicochemical properties of biodegradable proteinous film from bitter vetch (*Vicia ervilia*) seed. *Journal of Food Science and Technology*, 48 (12), 129-138.
- [8] Zhao, J., Liu, D., Chen, F., and Liu, G. (2012). Functional properties of sesame seed protein prepared by two different methods. *Journal of Chemical Society of Pakistan* 34(5), 1101-1106.
- [9] Sharma, L., & Singh, C. (2016). Sesame protein based edible films: Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 61, 139-147.
- [10] Lee, J. H., Song, N. B., Jo, W. S., & Song, K. B. (2014). Effects of nano-clay type and content on the physical properties of sesame seed meal protein composite films. *International journal of food science & technology*, 49(8), 1869-1875.
- [11] Onsaard, E., Pomsamud, P., & Audtum, P. (2010). Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3(4), 420-431.
- [12] Sahraee, S., Mohamadzadeh Milani, J., Ghanbarzadeh, B., & Hamishehkar, H. (2017). Physicochemical and antifungal properties of bio-nanocomposite film based on gelatin-chitin nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 97, 373-381.
- [13] Han, J. H., & Floros, J. D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 13(4), 287-298.
- [14] Pérez-Mateos, M., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Formulation and stability of biodegradable films made from cod
- [1] Belgheisi, S., Azizi, M. H., Zohourian, G., & Hadian, Z. (2008). Assessment of physical properties of whey protein-monoglyceride edible film and its coating effect on the moisture loss and sensory properties of fresh mutton. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 3(3), 83-93.
- [2] Mortazavian, SA., Azizi, M.H., & Sohrab Vandi, S. (2010). Edible films: Qualitative parameters and production methods. *Journal of Food Science and Technology*, 7(4), 107-117.
- [3] Damm, C., Neumann, M., & Münstedt, H. (2005). Properties of nanosilver coatings on polymethyl methacrylate. *Soft materials*, 3(3), 71-88.
- [4] Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., & Bigger, S. W. (2003). Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *Journal of food science*, 68(2), 408-420.
- [5] Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., & Watkins, R.

- [22] Gómez-Guillén, M. C., Ihl, M., Bifani, V., Silva, A., & Montero, P. (2007). Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1133-1143.
- [23] 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 Hydrocolloids*, 32(2), 416-424.
- [24] Azeredo, H. M., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena-Bustillos, R. J., & McHugh, T. H. (2009). Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. *Journal of food science*, 74(5), 31-35.
- [25] Bertuzzi, M. A., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of food engineering*, 82(1), 17-25.
- [26] Soni, B., Schilling, M. W., & Mahmoud, B. (2016). Transparent bionanocomposite films based on chitosan and TEMPO-oxidized cellulose nanofibers with enhanced mechanical and barrier properties. *Carbohydrate polymers*, 151, 779-789.
- [27] Gharavei Ahangar, E., Abbaspoorfard, M. H., Shah Tahmasebi, N., Khojastehpour, M. (2015). Synthesis and study of structural, physical and antimicrobial properties of zinc oxide and polymer nanocomposite (PVA / ZnO) for food packaging. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 2(11), 191-199.
- gelatin and sunflower oil blends. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 53-61..
- [15] Tongnuanchan, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2012). Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. *Food Chemistry*, 134(3), 1571-1579.
- [16] Dashipour, A., Khaksar, R., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., & Kiandokht, G. (2014). Physical, antioxidant and antimicrobial characteristics of carboxymethyl cellulose edible film cooperated with clove essential oil. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(8), 34-42.
- [17] Azeredo, H. M., Mattoso, L. H. C., Avena-Bustillos, R. J., Filho, G. C., Munford, M. L., Wood, D., & McHugh, T. H. (2010). Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. *Journal of Food Science*, 75(1), 1-7.
- [18] Ghadramzi, R., Karmat, J., Hossein Goli, A. (2015). The Effect of Oregano Essential essence on the Properties of Edible Film of Hydroxy Propylmethyl Cellulose. *Journal of New Food Technologies*, 2(7), 61-74.
- [19] Pereda, M., Amica, G., & Marcovich, N. E. (2012). Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1318-1325.
- [20] Ramasubbu, A., Karunakaran, K., & Vasanthkumar, S. (2012). Synthesis and characterization of zinc oxide–agar nanocomposite. *International Journal of Nano Dimension*, 2(3), 171-176.
- [21] Tunç, S., & Duman, O. (2010). Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. *Applied Clay Science*, 48(3), 414-424.

Physicochemical and structural properties of edible films based on sesame meal protein obtained by alkaline and saline extraction methods

Sadeghi, S.¹, Mohammadzadeh Milani, J.^{2*}, Esmailzadeh Kenari, R.², Kasaei, M. R.²

1. M. Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(Received: 2019/01/01 Accepted: 2019/06/23)

In recent years, biopolymers have been considered as a good replacement for plastic materials from petroleum derivatives in the field of packaging. Therefore, the purpose of this study was to investigate the production of a biodegradable edible film of sesame meal proteins by two different protein extraction methods including alkali and salt extraction. In these films, glycerol was used as a plasticizer in three concentrations of 40%, 45%, and 50% and zinc oxide nanoparticles were used in three concentrations of 1%, 3% and 5%. According to the results, it was shown that the thickness of films made from protein by alkaline and salt methods increased with increasing nanoparticle concentration and increasing glycerol concentration; however, the thickness of the protein film was higher by alkaline method than the salt method. The moisture and solubility content increased with increasing glycerol concentration, and also in the constant concentration of glycerol, the addition of nanoparticles decrease moisture content and film solubility content. However, the effect of glycerol and nanoparticles on the salt-based protein film was less than the alkaline method. Also, the moisture and solubility content in the salt method was higher. The results of the comparison of the means showed that in both types of protein films, the addition of the nanoparticle and also the increase of glycerol concentration significantly increased the opacity of the films. According to the results, the amount of opacity and, therefore, the photoconductive property of protein films by the alkali method was significantly higher than that of saline protein films. Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), introducing new connections between polymer and zinc oxide nanoparticles in alkaline and saline methods. In the study of the film structure it was shown that the control protein film had a smooth surface, indicating the uniformity of the structure of these composite films, with an increase in the percentage of heterogeneous and rough tissue nanoparticles observed at the film surface, which could lead to aggregation and due to their high concentration the non-uniform distribution of nanoparticles in the polymer bed.

Keywords: Turbidity, FT-IR, Microstructure, Edible film

*Corresponding Author E-Mail Address: jmilany@yahoo.com