

فرمولاسیون نانو الیاف پروتئینی کلاژن-سیکلودکسترین حاوی ذرات نانورس با استفاده از فرآیند الکترورسی

فاطمه نوری حسین آبادی^۱، شاداب شهسواری^{۲*}، علی وزیری یزدی^۳، آزاده همتی^۴

۱- گروه مهندسی شیمی، دانشکده نفت و مهندسی شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه مهندسی شیمی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳- گروه مهندسی شیمی، دانشکده نفت و مهندسی شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴- گروه مهندسی شیمی، دانشکده نفت و مهندسی شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۱/۳۱)

چکیده

با توجه به آلودگی‌های ناشی از پلیمرهای زیست تخریب ناپذیر در بسته بندی مواد غذایی، امروزه نیاز به استفاده از نانوالیاف طبیعی و زیست تخریب پذیر در صنعت بسته بندی به طور چشمگیری احساس می شود و یکی از ساده ترین روش های تولید نانوالیاف الکترورسی می باشد. در این تحقیق، الکترورسی کلاژن نوع اول (استخراج شده از دم موش) به همراه بتا سیکلودکسترین و نانورس مورد بررسی قرار گرفت و از اسید استیک به عنوان یک حلال بی خطر به لحاظ محیط زیستی استفاده شد. جهت طراحی آزمایش، از نرم افزار طراحی آزمایش (Design Expert 7.0) استفاده شد و تاثیر متغیرهای مستقل شامل نسبت وزنی-وزنی بتا سیکلودکسترین به کلاژن (X_1)، نسبت حجمی-وزنی نانورس به کلاژن (X_2) و نرخ تغذیه محلول (X_3) بر روی متغیر وابسته شامل قطر نانوالیاف (Y_1) بررسی شد. فرآیند الکترورسی با شرایط ولتاژ بهینه ۱۲ کیلو ولت، فاصله بین نوک سوزن و جمع کننده ۱۲۰ میلی متر، در دما و فشار محیط و بر اساس جدول طراحی صورت پذیرفت. از نانورس به دلیل داشتن خواص ممانعتی و ضد میکروبی و از بتا سیکلودکسترین به علت داشتن ساختار خاص که باعث به وجود آمدن سطوح آب دوست و آب گریز می شود، استفاده شد. جهت بررسی شکل نانو الیاف از میکروسکوپ الکترونی روبشی، بررسی ساختار از طیف سنجی مادون قرمز، برای بررسی عناصر موجود از طیف نگاری فلورسانس اشعه ایکس و برای تعیین مقاومت حرارتی آنالیز وزن سنجی حرارتی استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد، نانوالیاف بهینه با مشخصات ۱۲۳/۰۱ نانومتر و دارای ساختاری یکنواخت و بدون نقص و همچنین ویسکوزیته ۱۴۵/۳۳ میلی پاسکال-ثانیه به دست آمد.

کلید واژه گان: الکترورسی، بتا سیکلودکسترین، بسته بندی مواد غذایی، کلاژن، نانورس.

*مسئول مکاتبات: sh.shahsavari@srbiau.ac.ir

۱- مقدمه

بسته‌بندی مواد غذایی^۱ نقش مهمی در حفاظت از ماده غذایی در طی فرآیندهای تولید، کنترل، ذخیره سازی، نقل و انتقال و در نهایت تحویل آن به مشتری ایفا می‌کند. نوآوری در صنایع بسته بندی مواد غذایی، موجب بهبود کیفیت و مشتری پسند شدن بسته بندی‌ها، زیست تخریب پذیر شدن آنها و ایجاد خصوصیتی از این قبیل گردیده است [۱].

پوشش‌های خوراکی ترکیبی، انواع نوینی هستند که اکنون در محصولات غذایی بسیاری به‌خصوص در صنایع گوشتی و نانویی مورد توجه قرار گرفته‌اند. پوشش‌های خوراکی معمول در میوه‌ها بر کیفیت آنها اثرات منفی دارد، ولی پوشش‌های خوراکی ترکیبی می‌تواند راه حل مناسبی در این زمینه باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که ترکیب پوشش‌های خوراکی علاوه بر بهبود کیفیت مواد غذایی و افزایش عمر نگهداری آنها، می‌تواند اثرات مثبتی نیز بر خود پوشش خوراکی داشته باشد. پوشش خوراکی ترکیباتی نظیر کلاژن^۲، ژلاتین، گلو تن گندم، زئین ذرت، پروتئین‌های سویا، پروتئین شیر و پروتئین پنبه‌دانه را شامل می‌شود [۲].

فرایند الکترورسی^۳ برای شکل‌گیری الیاف پلیمری با قطری در حدود چندین میکرومتر تا ۱۰۰ نانومتر یا حتی کمتر به‌کار گرفته می‌شود [۳]. لایه‌های حاصله از نانوالیاف^۴ الکترورسی شده دارای خصوصیات منحصر به‌فردی مانند سطح مخصوص و تخلخل بالا هستند که زمینه استفاده آنها را در کاربردهای مختلف از جمله صنایع بسته‌بندی مواد غذایی، فراهم می‌آورد. از این رو الکترورسی یک روش نویدبخش برای تولید مواد بسته بندی فعال و هوشمند برای مواد غذایی محسوب می‌شود [۱].

فناوری نانو می‌تواند در مواردی مانند افزایش مقاومت به نفوذ در پوشش‌ها، افزایش ویژگی‌های دیواره (مکانیکی، حرارتی، شیمیایی و میکروبی)، افزایش مقاومت در برابر گرما، گسترش ضد میکروب‌های فعال و سطوح ضد قارچ کارساز باشد [۴].

کلاژن بیشترین پروتئین موجود در بدن انسان بوده که یکی از بیوپلیمرهای مورد استفاده در ترکیبات الکترورسی می‌باشد [۵]. کلاژن مسئول نگه داشتن رطوبت و سفتی پوست است و رژیم غذایی و روش زندگی نامناسب می‌تواند در کاهش تولید کلاژن مؤثر باشد. عموماً بیشتر مواد خام برای تولید کلاژن از پوست، استخوان، تاندون و غضروف حیواناتی از قبیل خوک، گاو، ماهی، موش و پرندگان به‌دست می‌آید. کلاژن کاربردهای فراوانی در زمینه پزشکی، داروسازی، تهیه محصولات بهداشتی و آرایشی و صنایع غذایی دارد [۶].

از آنجایی که بسته بندی، محصول را از صدمات فیزیکی و آلودگی‌ها حفظ می‌کند، بنابراین با توجه به ویژگی نفوذپذیری اندک پوشش‌های نانورس^۶ یکی از مهم ترین کاربردهای آن، در صنایع بسته بندی می‌باشد. نانورس درحقیقت ترکیب یا کامپوزیتی از سیلیکات معدنی است و در واقع کانی‌هایی هستند که حداقل یکی از ابعاد آنها در حد نانومتر باشد. این مواد به دلیل ارزانی و در دسترس بودن، توجه زیادی را در زمینه نانوفناوری به خود جلب کرده‌اند [۷]. نانورس بر مشخصات ترمودینامیکی و ساختار الیاف الکترورسی شده تاثیر دارد [۸]. برای تماس با مواد غذایی به دلیل اصلاح آب‌گریزی و سازگاری بهتر میان بیوپلیمرها مورد استفاده قرار گرفته است [۹]. افزایش نانورس موجب کاهش تعداد بیدها در نانوالیاف حاصل شده و قطر الیاف را در حد مطلوبی یکنواخت می‌کند و همچنین موجب افزایش خاصیت هدایتی الکترورسی می‌شود [۱۰]. از آنجایی که نانورس استفاده شده هیچ سمیتی ندارد، با خیال راحت می‌توان از آن در بسته‌بندی مواد غذایی استفاده کرد [۱۱]. افزودنی‌های مواد غذایی مانند طعم دهنده‌ها و آنتی اکسیدان‌ها اغلب به گرما، اکسیژن و نور حساس‌اند و کمپلکس^۷ های سیکلودکسترین^۸ برای پایدارسازی، نگهداری و کنترل رهایش این عامل‌های افزودنی بسیار مؤثر است. بنابراین با ترکیب کمپلکس سیکلودکسترین به داخل ماتریس نانولیفی طول مدت ماندگاری و پایداری بهبود می‌یابد [۱۲]. سیکلودکسترین به‌طور فوق العاده ای مشخصات الیاف الکترورسی شده را در ترکیبات بهبود می‌بخشد [۱۳]. سیکلودکسترین‌ها مولکول‌های حلقوی هستند که به‌علت

5. Bio polymer
6. Nanoclay
7. Complex
8. Cyclodextrin

1. Food Packaging
2. Collagen
3. Electrospinning
4. Nanofiber

سیکلودکسترین از شرکت Sigma-Aldrich آمریکا خریداری شد.

۲-۲- طراحی آزمایش^۹

بر اساس تحقیقات صورت گرفته روش آماری چندین مزیت را نسبت به روش کلاسیک ارائه می‌کند: به فهم روابط بین پارامترها در مقدارهای مختلف کمک می‌کند، مطمئن است، از تعداد آزمایشات می‌کاهد، موجب صرفه جویی در وقت، زمان و نیروی انسانی می‌شود.

به این جهت طراحی آزمایش با استفاده از نرم افزار طراحی آزمایش برای بررسی تأثیرات سه متغیر مستقل شامل نسبت وزنی- وزنی بتاسیکلودکسترین به کلاژن (X_1)، نسبت حجمی- وزنی نانورس به کلاژن (X_2) و نرخ توزیع محلول (X_3)، بر روی متغیر وابسته قطر نانوالیاف (Y_1) در سه سطح و بر اساس آرایه دی ایتیمال صورت پذیرفت و سپس بهینه سازی با روش سطح پاسخ انجام شد. متغیرهای فرآیند (مستقل و وابسته) و سطوح آنها در جدول (۱) آمده است.

Table 1 Electrospinning process variables surfaces

Range of levels	Variables
Independent variables:	
0.1-0.7	Beta cyclodextrine/ Collagen (w/w) (X_1)
0.4-0.7	Nanoclay/Collagen (v/w) (X_2)
0.1-0.5	Solution rate(ml/h) (X_3)
Dependent variables:	
	Nanofibers diameter (Y_1) (nm)

۲-۳- استخراج کلاژن نوع اول از دم موش

ابتدا به منظور عاری سازی دم موش از آلودگی‌های محیطی آن را با الکل و آب شستشو داده سپس محلول رقیقی از آب و اسید استیک تهیه کرده و به وسیله پنس و قیچی بافت محتوی کلاژن را از پوست جدا شد. پس از آن به مدت ۵ دقیقه بافت‌های جدا شده را کاملاً شستشو داده تا خون آن از بین رفته و رشته‌های سفید رنگ مشاهده شد. رشته‌های تهیه شده

قرارگرفتن گروه‌های هیدروکسیل زیاد در مولکول‌های گلوکز تصور می‌شود که باید کاملاً قطبی باشند ولی با توجه به ساختارفضایی خاصی که اختیار می‌کنند ویژگی‌های جالب و منحصر به فردی دارند [۱۴].

از این رو در این مطالعه از کلاژن به عنوان منبع پروتئینی، بتا سیکلودکسترین به عنوان پایدار کننده و کنترل رهایش و نانورس برای افزایش ماندگاری استفاده شده است.

در سال‌های اخیر به منظور به وجود آوردن امکان استفاده از مواد غذایی مختلف در هر مکان و هر زمان، سیستم بسته‌بندی مواد غذایی فعال بسیار مورد توجه قرار گرفته است. کامپوزیت‌های نانولیفی به دلیل نسبت زیاد سطح به حجم‌شان، دارای خصوصیات مکانیکی و حرارتی و خواص حفاظتی بالایی هستند و باعث افزایش مقاومت مکانیکی و حرارتی ماده بسته‌بندی و کاهش نفوذپذیری بخار آب و گازها به مواد غذایی بسته‌بندی شده می‌شود.

الکترورسی یکی از روش‌های موفقیت‌آمیز جهت تولید نانوالیاف به شمار می‌رود. الکترورسی تکنیکی ساده برای ایجاد لیاف فوق ریز به شکل شبکه‌های بی بافت است. قطر لیاف الکترورسی شده بسته به خصوصیات محلول پلیمر و شرایط فرآوری، از کمتر از میکرومتر تا نانومتر متغیر است.

همچنین یکی از نانومواد که در تولید کامپوزیت‌های مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی به وفور استفاده می‌شود، نانورس است. نانورس‌ها ویژگی‌هایی دارند که باعث می‌شود به طور گسترده در تولید کامپوزی‌های بیوپلیمری استفاده شوند از قبیل: توانایی آن‌ها در پخش شدن به صورت لایه‌های مجزا از هم، قابلیت تغییر در خواص سطحی این مواد، ایجاد سازگاری با انواع پلیمرها و بیوپلیمرها، تولید آسان، قیمت پایین و دسترسی آسان [۱۲].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

کلاژن نوع اول از دم موش به صورت آزمایشگاهی استخراج شد که روش آن به تفصیل در ذیل ارائه می‌گردد. اسیداستیک گلاسیال با خلوص ۹۹/۵٪ از شرکت Merk آلمان، نانورس Montmorillonite با خلوص ۹۹٪ و فاصله بین صفحات ۱-۲ نانومتر از شرکت آمریکایی Research و بتا

محلول‌های پلیمری پس از آماده شدن درون سرنگ های ۲ میلی لیتری با قطر داخلی ۹ میلی متر کشیده شدند. تمامی آزمایشات تحت ولتاژ ۱۲ کیلوولت انجام گرفت و فاصله بین نوک سوزن و جمع کننده ۱۲۰ میلی متر و نرخ توزیع محلول در محدوده ۰/۱ تا ۰/۵ میلی لیتر بر ساعت برای هر آزمایش متفاوت بود. الکتروریسی در دمای اتاق انجام گرفت و مدت زمان هر آزمایش بسته به مقدار نرخ توزیع محلول از نوک سرنگ متفاوت بود.

۲-۶- بهینه‌سازی ولتاژ الکتروریسی

برای به‌دست آوردن ولتاژ بهینه، آزمایشات با ولتاژهای مختلف ۱۲، ۱۶ و ۲۲ کیلو ولت صورت پذیرفت و ولتاژ بهینه به‌صورت تجربی و پس از آن به‌وسیله بررسی نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی^۴ به‌دست آمد.

۲-۷- اندازه‌گیری قطر نانو الیاف

برای بررسی قطر نانو الیاف الکتروریسی شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل XL-30 ساخت شرکت Philips واقع در دانشگاه امیرکبیر، دانشکده معدن و متالورژی استفاده شد. نانو الیاف حاصله بر روی فویل، به ابعاد ۱×۱ برش داده شدند و سپس در محفظه خلا به وسیله نانو ذرات طلا پوشش داده شدند و پس از آن مورفولوژی سطحی نانو الیاف به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده شدند. از نانو الیاف عکس‌هایی در بزرگ‌نمایی‌های مختلف تحت ولتاژ ۲۵ کیلو ولت از هر تصویر تعیین شد. سپس برای اندازه‌گیری قطر نانوالیاف از نرم افزار Measurement استفاده و در نهایت قطر میانگین نانوالیاف توسط نرم افزار Excel محاسبه شد.

۲-۸- بهینه‌سازی فرمولاسیون

پس از انجام آزمایش‌های طراحی شده و آنالیز نتایج و به‌دست آوردن تمام متغیرهای وابسته، بهینه‌سازی براساس روش پاسخ سطح دی ایتیمال صورت گرفت.

۲-۹- بررسی خصوصیات نانو ذره بهینه

۲-۹-۱- بررسی ویسکوزیته محلول الکتروریسی

را همراه با اسید استیک درون بشر ریخته و محلول حاصل به‌مدت ۲۴ ساعت روی همزن مغناطیسی و دمای ۴ درجه سانتی گراد گذاشته شد. پس از ۲۴ ساعت محلول را از روی همزن مغناطیسی برداشته و درون فالكون^{۱۰} های با حجم یکسان و به اندازه مساوی ریخته شد. سپس هریک از فالكون‌های محتوی محلول را وزن کرده و درون سانتریفوژ^{۱۱} با دور ۱۰۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی گراد و به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. فاز بالای محلول را درون ظرف ریخته و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد و به مدت ۲ روز نگهداری شد و پس از آن کلاژن آماده است.

۲-۴- تهیه محلول الکتروریسی

جهت تهیه محلول الکتروریسی، ابتدا درصد مشخصی از نانورس طبق جدول طراحی آزمایش در آب حل شد و به‌منظور پخش شدن ذرات نانورس در آب به مدت ۱۵ دقیقه با دستگاه هموژنایزر اولتراسونیک^{۱۲} تحت امواج فراصوت ۱۵۰ وات قرار گرفت. سپس به‌منظور تهیه محلول پلیمری دوم کلاژن با غلظت ۰/۸٪ به همراه اسیداستیک به عنوان حلال با مقدار مشخصی از بتاسیکلودکسترین بر طبق جدول طراحی آزمایش مخلوط شد و در مرحله بعد این دو محلول به یگدیگر اضافه شدند و به منظور همگن شدن، محلول حاصل به مدت ۷ ساعت روی همزن مغناطیسی با سرعت ۱۰۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت.

۲-۵- فرآیند الکتروریسی

از آنجایی که الکتروریسی، پذیرش مقبولی را در مورد فرآیند تولید ساختارهای نانو الیافی به وجود آورده است [۱۵] و نیز الکتروریسی کلاژن یکی از موفق‌ترین و مفیدترین تکنیک‌هاست [۱۶]. مورفولوژی^{۱۳} الیاف به‌دست آمده مشخص می‌کند که نرخ جریان، میدان الکترومغناطیسی اعمالی، فاصله جمع کننده و ترکیبات محلول اولیه بر الیاف تاثیرگذار است [۱۷]. به‌منظور انجام فرآیند الکتروریسی از دستگاه الکتروریسی مجهز به یک منبع انرژی با ولتاژ بالا در دامنه ۰ تا ۳۵ کیلوولت ساخت شرکت فناوران نانومقیاس استفاده شد.

10. Falcon
11. Centrifuge
12. Ultrasonic Homogenizer
13. Morphology

14. Scanning Electron Microscopy

و ساخته شده است و قابلیت آنالیز نمونه‌ها به صورت جامد (قرص با قطر ۳ یا ۴ سانتی متر را دارا هستند و می‌توانند عناصر جدول تناوبی را از عنصر شماره ۱۱ (سدیم) تا عنصر ۹۲ (اورانیوم) را آشکار کنند.

جهت آنالیز از دستگاه مدل ED2000 واقع در مجتمع زکریای رازی، واحد علوم و تحقیقات استفاده شد. محدوده دو تن، ۶۰-۵ درجه و استپ سایز ۲ درجه بر دقیقه بود [۱۸].

۲-۹-۶- آنالیز گرماسنجی روبشی تفاضلی^{۱۹}

جهت آنالیز پایداری نمونه بهینه از دستگاه گرماسنجی روبشی تفاضلی واقع در مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی واحد علوم و تحقیقات مدل DSC 131 استفاده شد. در حین آنالیز ابتدا نمونه تا ۴۰- درجه سانتی گراد سرد شد و به مدت ۳۰ دقیقه در همان دما باقی ماند. سپس تا ۱۰ درجه سانتی گراد گرم شده و پس از آن دوباره تا دمای ۴۰- درجه سانتی گراد سرد شد. این فرایند تحت نرخ ۱ درجه سانتی گراد بر دقیقه انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بهینه‌سازی ولتاژ الکترورسی

برای بررسی تاثیر ولتاژ بر روی قطر نانو الیاف و به دست آوردن ولتاژ بهینه آزمایشات مختلفی در ۳ ولتاژ ۱۲ و ۱۶ و ۲۲ در نرخ تغذیه ثابت انجام شد. تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی در ۳ ولتاژ در شکل (۱) گزارش شده است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی با استفاده از نرم افزار Measurement بررسی شد و نتایج حاکی از آن بود که با افزایش ولتاژ در شرایط ثابت (نرخ جریان، فاصله سوزن و جمع کننده، غلظت و...) قطر نانوالیاف افزایش می‌یابد. در نتیجه، ولتاژ ۱۲ کیلوولت به عنوان ولتاژ الکترورسی بهینه انتخاب شد.

جهت اندازه گیری ویسکوزیته محلول پلیمری بهینه از رئومتر مخروط و صفحه^{۱۵} مدل 302PTFE واقع در مجتمع زکریای رازی واحد علوم و تحقیقات استفاده شد. به این منظور مقدار مشخصی از محلول بر روی اسپیندل دستگاه قرار داده شد و ویسکوزیته محلول در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و با استفاده از اسپیندل CP-50 تحت سرعت برشی ۱۰۰ بر ثانیه و زاویه مخروط و صفحه ۱ رادیان اندازه گیری شد.

۲-۹-۲- طیف سنجی مادون قرمز^{۱۶}

جهت بررسی ساختار نانوالیاف، از دستگاه طیف سنجی مادون قرمز مدل 870NEXUS مستقر در مجتمع تحقیقاتی زکریای رازی، واحد علوم و تحقیقات استفاده شد. آنالیز مربوطه در گستره طول موج^۱ $5000-500 \text{ cm}^{-1}$ بر روی مواد خالص و نانوالیاف بهینه انجام پذیرفت.

۲-۹-۳- میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای بررسی مورفولوژی الیاف الکترورسی از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل XL-30 واقع در دانشگاه امیرکبیر، دانشکده معدن و متالورژی استفاد شد. از نانو الیاف عکس‌هایی با بزرگ نمایی‌های متفاوت تحت ولتاژ ۲۵ کیلوولت از هر تصویر تعیین شد. برای اندازه گیری قطر نانوالیاف از نرم افزار Measurement استفاده و قطر میانگین نانوالیاف محاسبه شد.

۲-۹-۴- آنالیز پراش اشعه ایکس^{۱۷}

جهت آنالیز از دستگاه‌ها واقع در مجتمع زکریای رازی واحد علوم و تحقیقات مدل 3003-PTS استفاده شد. بدین منظور لایه ای از نانوالیاف جهت آنالیز بر روی فویل آلومینیومی قرار گرفته شد و در محدوده دو تا ۶۰-۵ درجه و استپ سایز ۲ درجه بر دقیقه مورد آنالیز قرار گرفت [۱۸].

۲-۹-۵- طیف‌نگاری فلورسانس اشعه ایکس^{۱۸}

این دستگاه به منظور تجزیه عنصری نمونه های مجهول با استفاده از روش طیف سنجی فلورسانس پرتو ایکس طراحی

15. Cone & Plate Rheometer

16. Transform Infrared Spectroscopy

17. X-Ray Diffraction

18. X-Ray Fluorescence Spectroscopy

19. Differential Scanning Calorimetry

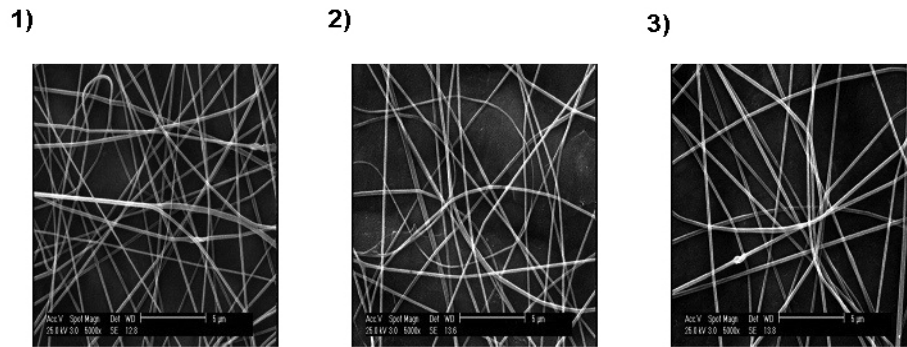


Fig 1 Effect of voltage;1) 12, 2) 16 and 3) 22 kV, on nanofibers diameter

۳-۲- اندازه گیری قطر نانوالیاف

قطر نانوالیاف از نرم افزار Measurement استفاده و قطر میانگین نانوالیاف محاسبه شد که نتایج حاصل در جدول (۲) آورده شده است.

از نانو الیاف عکس‌هایی با بزرگ نمایی‌های مختلف تحت ولتاژ ۲۵ کیلوولت از هر تصویر به دست آمد. برای اندازه گیری

Table 2 Results of experimental design table

Test No.	Betacyclodextrine/ Collagen (w/w)%	Nanoclay/ Collagen (v/w)%	Rate (mL/hr)	Voltage (kV)	Nanofibers diameter (nm)
1	0.1	0.4	0.1	12	123.46
2	0.1	0.7	0.1	12	101.15
3	0.7	0.6	0.5	12	77.204
4	0.46	0.5	0.35	12	111.79
5	0.7	0.6	0.25	12	93.44
6	0.7	0.7	0.1	12	93.90
7	0.46	0.7	0.34	12	88.35
8	0.1	0.5	0.34	12	80.64
9	0.1	0.4	0.1	12	123.16
10	0.31	0.4	0.5	12	92.1
11	0.7	0.4	0.5	12	93.65
12	0.1	0.7	0.5	12	95.95
13	0.7	0.4	0.24	12	89.86
14	0.1	0.7	0.1	12	101.52
15	0.16	0.5	0.13	12	83.54
16	0.35	0.6	0.5	12	80.47
17	0.46	0.5	0.1	12	118.86
18	0.46	0.7	0.34	12	88.12
19	0.1	0.7	0.5	12	95.89
20	0.7	0.7	0.1	12	93.88

۳-۳- بررسی نمودار سطح پاسخ

شکل (۲) نمودار سطح پاسخ نشان دهنده تأثیرات متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته (قطر نانو الیاف) در زیر نشان داده شده است.

برای نشان دادن تأثیر متغیرهای مستقل بر روی متغیر وابسته، منحنی سطح پاسخ سه بعدی رسم شدند تا درک بهتری از برهم کنش سه متغیر مستقل روی یک عامل وابسته فراهم آورد.

همان طور که در نمودار سطح پاسخ مشاهده می‌شود، با افزایش نسبت کلاژن به بتاسیکلودکستین و همچنین افزایش نسبت کلاژن به نانورس، قطر نانو الیاف کاهش می‌یابد. با افزایش نسبت کلاژن در محلول به علت افزایش احتمال تشکیل ذرات و جلوگیری از چسبیدن ذرات پلیمر به هم، ذراتی با قطر کمتر حاصل می‌شود.

۳-۴- بهینه‌سازی فرمولاسیون

پس از انجام آزمایشات طراحی شده و همچنین نتایج حاصل از قطر نانو الیاف و با استفاده از روش سطح پاسخ، نانوالیاف بهینه مشخص شد. فرآیند الکترورسی روی نانوالیاف بهینه انجام شد که نتایج حاصل از آن در جدول (۳) گزارش شده است.

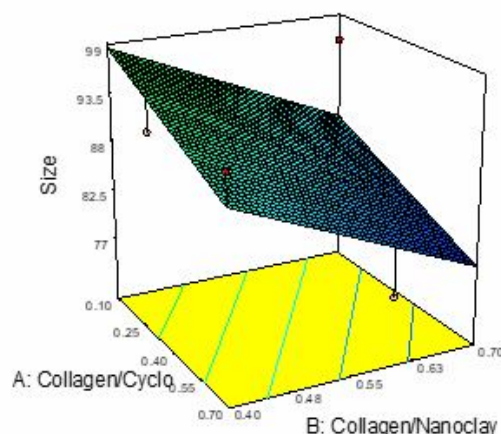


Fig 2 Effect of independent variables on nanofibers diameter

Table 3 Optimal nanofibers formulation

Betacyclodextrine/ Collagen (w/w)%	Nanoclay/ Collagen (v/w)%	Rate (ml/h)	Voltage (kv)	Nanofibers diamere (nm)	viscosity(Pa.s)
0.7	0.7	0.5	12	123.01	145.33

۳-۷- طیف سنجی مادون قرمز

در این مطالعه، روش طیف سنجی مادون قرمز به منظور بررسی ساختار شیمیایی نانوالیاف کلاژن الکترورسی شده همراه با بتاسیکلودکستین و نانورس به کار گرفته شده است. این آنالیز بر روی نمونه‌های خالص شامل نانورس، کلاژن، بتا سیکلودکستین و همچنین نانو الیاف بهینه انجام گرفت که نتایج حاصل از آن در شکل (۴) به تصویر کشیده شده است.

پیک‌های موجود در طول موج $3755/36$ و $3855/58 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به گروه‌های کربوکسیل (-OH)، پیک حاصل در طول موج $3411/46 \text{ cm}^{-1}$ ناشی از ارتعاشات کششی گروه‌های O-H و N-H و پیک ظاهر شده در طول موج $1038/25 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به پیوندهای Si-O-Si و Si-O روی سطح نانورس می‌باشد.

همچنین پیک موجود در طول موج $2930/65 \text{ cm}^{-1}$ نمایانگر گروه C-H و پیک موجود در طول موج $1656/50 \text{ cm}^{-1}$ نمایانگر گروه C=O و نیز طول موج‌های $1154/38$ و $1038/25$ مربوط به گروه‌های C-C و C-O می‌باشند که ناشی از ارتعاشات کششی آلیفاتیک کلاژن و بتا سیکلودکستین می‌باشند.

۳-۵- اندازه‌گیری ویسکوزیته نانو الیاف بهینه

ویسکوزیته محلول نانو الیاف در دمای اتاق و تحت سرعت برشی ۱۰۰ بر ثانیه و زاویه مخروط و صفحه ۱ رادیان صورت گرفت که نتیجه این آنالیز در جدول (۳) گزارش شده است.

۳-۶- میکروسکوپ الکترونی روبشی

پس از بهینه‌سازی فرمولاسیون نانو الیاف، آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی روی نمونه بهینه انجام شد که حاصل آن الیافی یکنواخت و بدون نقص با قطری قابل قبول و در ابعاد نانو بود که در شکل (۳) مشاهده می‌شود.

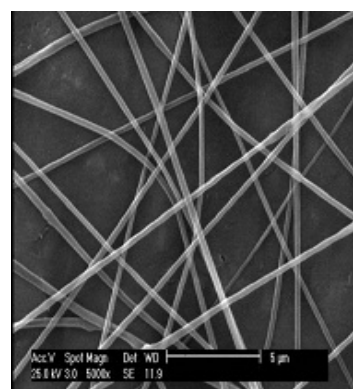


Fig 3 SEM image of optimal nanofibers

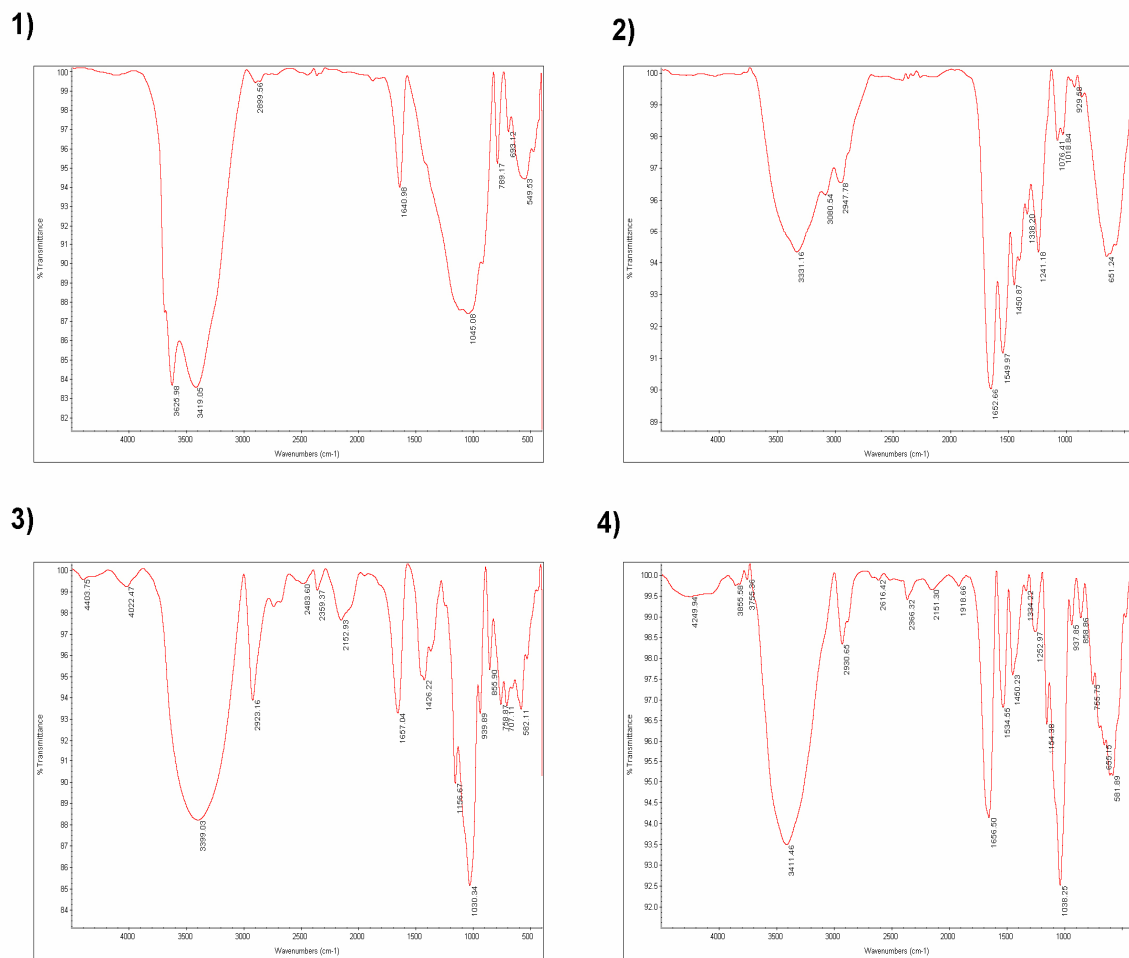


Fig 4 Infrared spectroscopy of; 1) Nanoclay, 2) Collagen, 3) Beta cyclodextrin and 4) Optimal nanofibers

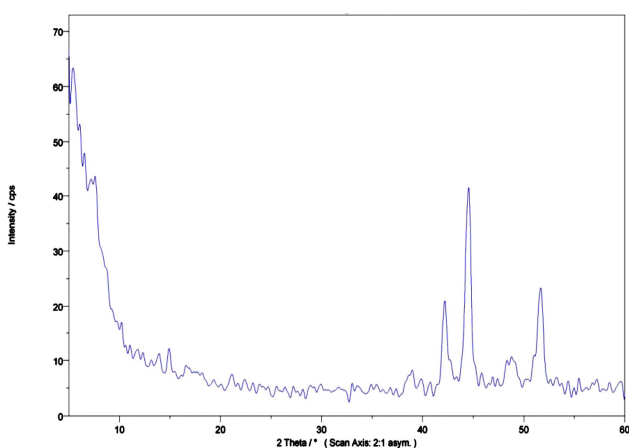


Fig 5 X-Ray diffraction of optimal nanofibers

نمودار حاصل از آنالیز پراش اشعه ایکس نانو الیاف بهینه، نشان دهنده ساختار GB-Cyclodextrin که یکی از انواع

پیک موجود در طول موج $1534/55 \text{ cm}^{-1}$ نشان دهنده حضور گروه N-H و پیک موجود در ناحیه $1252/97 \text{ cm}^{-1}$ به دلیل وجود گروه C-N می باشد که به ترتیب مربوط به ارتعاشات خمشی و کششی در کلاژن می باشد. در نهایت، با مقایسه نمودار مربوط به نانوالیاف بهینه با نمودارهای دیگر به این نتیجه می رسیم که پیوندهایی بین نانو مواد برقرار شده و اجزاء با هم ترکیب شده اند و نانو کامپوزیت تشکیل شده است.

۳-۸- آنالیز پراش اشعه ایکس

نتایج حاصل از بررسی پراش اشعه ایکس نانو الیاف بهینه در شکل (۵) قابل مشاهده می باشد.

همچنین نمونه نانو الیاف بهینه نشان داد که نمونه حاوی عناصر کلسیم، روی، مس، کبالت و آهن می‌باشد.

۳-۱۰- آنالیز گرماسنجی روبشی تفاضلی

جهت انجام آنالیز ابتدا نمونه تا -40 درجه سانتی گراد سرد شد و به مدت 30 دقیقه در همان دما باقی ماند، سپس تا 10 درجه سانتی گراد گرم شده و پس از آن دوباره تا دمای -40 درجه سانتی گراد سرد شد. این آنالیز تحت نرخ 1 درجه سانتی گراد بر دقیقه بر روی نمونه های خالص و نانو الیاف بهینه انجام شد و دمای انتقال شیشه ای و آنتالپی نمونه‌ها، از روی منحنی‌های دمایی مشخص شد که نتایج و نمودارهای حاصل از آن در شکل (۶) نشان داده شده است.

آنالیز به دست آمده از گرماسنجی روبشی تفاضلی (شکل ۶) حاکی از آن است که نانوالیاف بهینه به ترتیب دارای دمای انتقال شیشه ای و پیک آنتالپی $24/72$ - و $5/29$ درجه سانتی گراد می‌باشد.

ساختارهای موجود سیکلودکسترین‌ها و همچنین ساختار مونت موریلونت که نوعی از نانورس می‌باشد.

۳-۹- طیف‌نگاری فلورسانس اشعه ایکس

آنالیز طیف‌نگاری فلورسانس اشعه ایکس بر روی نمونه‌های خالص و همچنین نانوالیاف بهینه انجام شد. بدین منظور جزء پلیمری منفرد (کلاژن نوع اول استخراجی از دم موش)، نانورس و بتاسیکلودکسترین به صورت پودری و نمونه بهینه نانوالیاف بر روی فویل جهت انجام آنالیز مربوطه آماده سازی شد و استپ سایز و دوتای نمونه به ترتیب 2 درجه بر دقیقه و 5 - 60 درجه بود [۱۸]. نتایج آنالیز به شرح زیر می‌باشد:

نمونه پلیمر خالص کلاژن حاوی عناصر منیزیم، مس، آهن، تیتانیوم، کلسیم و روی بود، که همگی به مقدار بسیار کم مشاهده شدند. آنالیز ذرات نانورس نشان داد که نمونه شامل مقدار زیادی عنصر آهن و مقدار متوسطی از عناصر استرنتیوم، کبالت و زیرکونیوم و هم چنین مقادیر بسیار کمی از عناصر مس، منگنز، کلسیم، تیتانیوم، آرسنیک و روی بود.

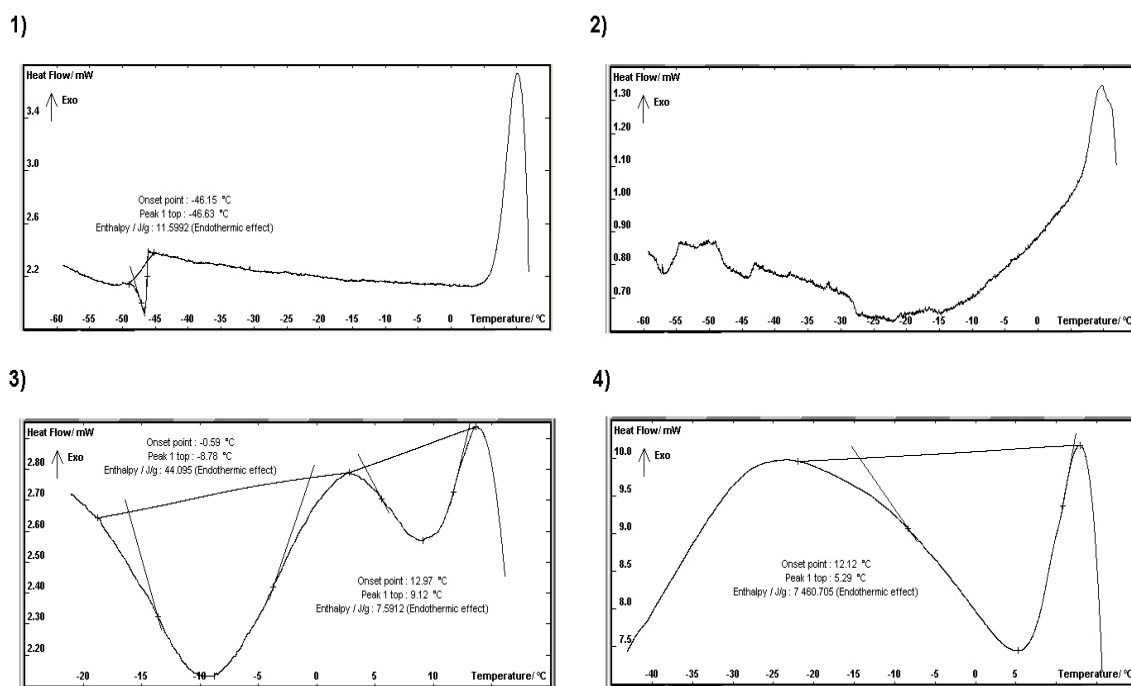


Fig 6 DSC analysis of; 1) Nanoclay 2) Collagen 3) Beta cyclodextrin and 4) Optimal nanofiber

یکی از تکنیک‌های موثر در تولید نانوالیاف و همچنین نوآوری در صنایع بسته‌بندی مورد توجه قرار گرفته است. از این رو در این مطالعه از کلاژن که یک منبع غنی پروتئینی است، به عنوان پوششی زیست تخریب پذیر، از بتا سیکلودکسترین به عنوان

۴- نتیجه گیری

با توجه به مزیت‌های بارز محصولات زیست تخریب پذیر و پتانسیل تقاضا برای مصرف آن، فناوری الکترورسی به عنوان

- methods, Quarterly Journal of Applied Research in Engineering, Year 1, Number 3.
- [7] Sotirios, I., Marras, Konstantina, P., Kladi, Ioannis, T., Ioannis, Z. & Costas, P., 2008, Biodegradable polymer nanocomposites: The role of nanoclays on the thermomechanical characteristics and the electrospun fibrous structure, *ActaBiomaterialia*, 4, 756-765.
- [8] Preliminary feasibility studies of Nanoclay production, Amirkabir University Industrial Development Jihad, Research Deputy, 1390.
- [9] Jorda-Beneyto, M., Ortuño N., Devis, A., Aucejo, S., Puerto, M., Gutiérrez-Praena, D., Houtman, J., Pichardo, S., Maisanaba, S. & Jos A., 2014, Use of nanoclay platelets in food packaging materials: technical and cytotoxicity approach, *Food AdditContam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 31(3), 354-63.
- [10] Yu, L. & Cebe, P., 2009, Crystal polymorphism in electrospun composite nanofibers of poly (vinylidene fluoride) with nanoclay *Polymer*, 50, 2133-2141.
- [11] Agarwal, A., Raheja, A., Natarajan, T.S. & Chandra, T.S., 2014, Effect of electrospun montmorillonite-nylon6 nanofibrous membrane coated packing on potato chips and bread, *Innovative food science & Emerging technologies*.
- [12] GholamShahbazi, N., Samandanian, S. and Asadi, A. 1395, A review of the use of nanofiber composites in the food packaging industry.
- [13] Costoya, A., Concheiro, A. & Alvarez-Lorenzo, C., 2017, *Electrospun Fibers of Cyclodextrins and Poly(cyclodextrins)*, Elsevier Ltd, All rights reserved.
- [14] Pour Khalil, A. and Farrokhzad, H., 1394, Cyclodextrin, a nanoparticle with many uses.
- [15] Yogeshwar Chakrapani, V., Gnanamani, A., Giridev, V.R., Madhusoothanan, M. & Sekaran, G., 2011, Electrospinning of type I Collagen and PCL Nanofibers Using Acetic Acid.
- [16] Bahria, H., 2017, Electrospinning of collagen: Formation of Biomedical Scaffold.
- [17] Buttafoco, L., Kolkman, N.G., Engbers-Buijtenhuijs, P., Poot, A.A., Dijkstra, P.J., Vermes, I. & Feijen, J., 2006, Electrospinning of collagen and elastin for tissue engineering applications, *Biomaterials*, 27, 724-734.
- [18] Ghosal, K., Thomas, S., Kalarikkal, N. & Gnanamani, A., 2014, Collagen-coated electrospun polycaprolactone (PCL) with titanium dioxide (TiO₂) from an environmentally benign solvent: preliminary physico-chemical studies for skin substitute, *J Poly Res*, 21, 410.

پایدار کننده و کنترل کننده رهایش و از نانورس برای افزایش ماندگاری استفاده شده است. نتایج بدست آمده از نمودار سطح پاسخ نشان داد که با کاهش نسبت کلاژن به بتاسیکلودکسترین و همچنین افزایش نسبت کلاژن به نانورس، قطر نانو الیاف کاهش می‌یابد. با توجه به مطالعات صورت گرفته بر روی ساختار نانوالیاف بهینه مشخص گردید که همه نانو الیاف دارای قطر کمتر از نانومتر، دارای ساختار یکنواخت می‌باشند. نانوذره بهینه با مشخصات نسبت کلاژن به بتاسیکلودکسترین برابر ۰/۷، نسبت کلاژن به نانورس برابر ۰/۷، نرخ تغذیه ۰/۵ دارای اندازه قطر ۱۲۳/۰۱ نانومتر و ویسکوزیته ۱۴۵/۳۳ پاسکال-ثانیه به‌دست آمد.

۵- فهرست واژگان لاتین

- 1- Excel
- 2- Measurement
- 3- Merk
- 4- Montmorillonite
- 5- Philips
- 6- Research
- 7- Sigma-Aldrich

۶- منابع

- [1] Eslah, s. and Noori, M., 1394, A Review on the Applications of Electrospinning Nanofibres in Food Packaging, *Journal of Applied Science and Technology*, Vol. 6, No. 24.
- [2] Karimi, N., 1390, Introduction and Application of Edible Coatings in Packaging, *Journal of Propagating Science and Technology of Packaging*, Year 2, No. 5.
- [3] Jamil, A., Matthews, Gary, E., Wnek, David, G., Simpson, Gary, L. & Bowlin. 2002, Electrospinning of Collagen Nanofiber, *Biomacromolecules*, 3, 232-238.
- [4] Seyfzadeh, N., Bagheri, Z. and Babaie, f. 1392, Smart and active Food Package, 21st Congress of Food Science & Technology, Shiraz, Shiraz University.
- [5] Hall Barrientos, I.J., Paladino, E., Szabo, P., Brozio, S., Hall, P.J., Oseghale, C.I., Passarelli, M.K., Moug, S.J., Black, R.A., Wilson, C.G., Zelko, R. & Lamprou, A.D., 2017, Electrospun collagen-based nanofibers: A sustainable material for improved antibiotic utilization in tissue engineering applications, *International Journal of Pharmaceutics*, 531, 67-79.
- [6] Naderi Semirami, A. and Mohammadian, j. 1396, Collagen and Collagen production

Formulation of Collagen-Cyclodextrin protein nanofibers containing nano clay using electrospinning process

Nouri HoseinAbadi, F.¹, Shahsavari, Sh.^{2*}, Vaziri Yazdi, A.³, Hemmati, A.⁴

1. Department of Chemical Engineering, Faculty of Oil and Chemical Engineering, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Chemical Engineering, Varamin-Pishva branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
3. Department of Chemical Engineering, Faculty of Oil and Chemical Engineering, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Department of Chemical Engineering, Faculty of Oil and Chemical Engineering, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2018/06/06 Accepted:2019/04/20)

Nowadays the use of natural and biodegradable nanofibers in the packaging industry due to the contamination of non-biodegradable polymers in food packaging is dramatically obvious and electrospinning is one of the easiest ways to produce these nanofibers. In this study, the electrospinning of collagen polymer type I (extracted from the rat-tail) with Beta Cyclodextrin and Nanoclay was investigated and Acetic acid was used as a safe solvent in terms of the environment. After designing the experiments using an experimental design software (Design Expert 7.0), the effects of independent variables such as weight-weight ratio of Beta Cyclodextrin to Collagen (X_1), Volume-weight ratio of Nanoclay to Collagen (X_2) and solution feed rate (X_3) was evaluated on dependent variable, including nanofibers diameter (Y_1). Also, electrospinning process was performed with a voltage of 12 Kv and the distance between the needle and the collector 120 mm at ambient temperature and pressure. Nanoclay have been used due to barrier and antimicrobial properties; in addition, Beta cyclodextrin was used for the specificity of the structure that causes hydrophilic and hydrophobic surfaces. Furthermore, to investigate the shape of nanofibers Scanning Electron Microscopy, to investigate the structure Transform Infrared Spectroscopy, to investigate existing elements X-Ray Fluorescence Spectroscopy and to determine thermal resistance Differential scanning calorimetry was applied. The results showed that optimal nanofiber with a average size of 123.01 nm and a flawless structure with a viscosity of 145.33 mpa.s was obtained.

Keywords: Electrospinning, Beta Cyclodextrin, Food packaging, Collagen, Nanoclay.

* Corresponding Author E-Mail Address: sh.shahsavari@srbiau.ac.ir