



بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و مکانیکی فیلم نانوکامپوزیت بر پایه وی پروتئین ایزوله و پکتین حاوی

نانو ذرات اکسید مس و رنگدانه چغندر لبویی (بتانین)

زهرا شباهنگ^۱، لیلا نوری^{۱*}، عبدالرضا محمدی نافچی^۲

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تکنولوژی های صنعتی، دانشگاه علوم مالزی (USM).

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۸

کلمات کلیدی:

فیلم خوراکی،

اکسید مس،

رنگدانه بتانین،

خواص مکانیکی.

DOI: 10.52547/fsct.19.122.71

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.25.8

* مسئول مکاتبات:

nouri.le.ir@gmail.com

امروزه، به علت افزایش نگرانی در مورد مواد زیست تخریب ناپذیر، مواد بسته بندی تجزیه پذیر بسیار مورد توجه قرار گرفته اند؛ لذا هدف از این پژوهش بررسی اثر رنگدانه بتانین در سطوح (۵-۲/۵-۰ وزنی / حجمی) و نانو ذره اکسید مس در سطوح (۴-۲-۰ وزنی / حجمی) در فیلم نانوکامپوزیت بر پایه وی پروتئین ایزوله / پکتین در قالب طرح مرکب مرکزی بر خواص مکانیکی و ویژگی های فیزیکوشیمیایی فیلم تولیدی می باشد. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش درصد رنگدانه بتانین و نانو ذره اکسید مس ضخامت و رطوبت نمونه ها افزایش و حلالیت کاهش یافت ($P < 0/05$). همچنین با افزودن سطوح بالای رنگدانه بتانین قرمزی (a) افزایش و روشنائی (L) و زردی (b) نمونه ها کاهش یافت. افزودن نانو ذره باعث کاهش شاخص b گردید در حالیکه بر شاخص a نمونه ها اثر معناداری نداشت. هم چنین با افزودن رنگدانه و نانوذره مقاومت کششی و ازدیاد طول نمونه های فیلم به طور معناداری افزایش یافت ($P < 0/05$). مطابق با تمامی نتایج حاصله استفاده از نانوذره اکسید مس و رنگدانه بتانین در فیلم نانوکامپوزیت منجر به تولید فیلمی مناسب برای بسته بندی مواد غذایی با خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مکانیکی مطلوب می باشد.

۱- مقدمه

در طی سال‌های اخیر، کاربرد فیلم‌های خوراکی به علت خواص مطلوب آن‌ها افزایش یافته است. بسته بندی زیست تخریب پذیر معمولاً برای دستیابی به اهداف خاصی به ویژه برای نگهداری و حفاظت از مواد غذایی، حفظ کیفیت حسی مواد غذایی و ایمنی، افزایش عمر مفید و همچنین حفظ اثرات مفید محصولات غذایی طراحی می‌شود و به دلیل افزایش آگاهی نسبت به مشکلات زیست محیطی پلاستیک‌های پتروشیمی، از مواد بسته بندی جدید مبتنی بر پلیمرهای زیستی به عنوان جایگزین استفاده می‌شود [۱]. پروتئین‌های آب پنیر که از تولید پنیر به‌عنوان یک محصول جانبی به دست می‌آیند و در غذاهای مخصوص ورزشکاران و شیرخشک‌های مخصوص نوزادان استفاده می‌شوند، هنگامی که برای تولید فیلم‌های خوراکی استفاده می‌شوند، خواص مفیدی از خود نشان می‌دهند. از جمله توانایی تشکیل فیلم و خواص مکانیکی خوبی دارند و خواص مانع گاز خوبی را در رطوبت نسبی کم ارائه می‌دهند همچنین به عنوان حامل برای مواد ضد میکروبی نیز عمل کند [۲]. پکتین هتروپولی ساکارید آنیونی گران قیمتی است که کاربردهای گسترده ای در صنایع غذایی دارد. این بیوپلیمر قادر به تشکیل ژل در حضور کاتیون‌های دو ظرفیتی است؛ علاوه بر این، قادر به ایجاد فیلم‌های خوراکی زیست تخریب پذیر با ویژگی‌های قابل اندازه گیری هستند [۳]. همچنین پکتین به دلیل خواص مطلوب نظیر غیر سمی بودن، عدم نفوذ اکسیژن، بالا بودن ظرفیت نگهداری ترکیبات فرار، حامل بودن برای مواد ضد میکروبی و ... برای تهیه فیلم‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۴]. نانو کامپوزیت‌ها دسته‌ای از کامپوزیت‌ها هستند که در آنها حداقل یکی از ابعاد ذرات اضافه شده به ماتریکس پلیمری در مقیاس نانو می‌باشد [۵]. استفاده از نانوذرات برای اصلاح خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مکانیکی فیلم‌های خوراکی، یکی از انواع بسته بندی فعال است که امروزه به به علت توانایی آن‌ها در مقاومت به شرایط سخت فرایند در صنایع غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ که در این بین استفاده از نانو ذرات اکسید مس به طور گسترده در ابرخازن‌ها و کاربردهای انرژی خورشیدی به دلیل ماهیت نیمه‌رسانایی آن مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۶]. همچنین به دلیل

هزینه کم تولید، غیرسمی بودن، خواص الکترونیکی و حرارتی خوب، نانوذرات مس به عنوان پرکننده مناسبی برای تقویت خواص مکانیکی نانوکامپوزیت‌های پلیمری استفاده می‌شود [۷]. همچنین خواص ضد باکتریایی نانوذرات مس توجه قابل توجهی را در زمینه بسته بندی مواد غذایی به خود جلب کرده است [۸]. چغندر لبویی با نام علمی *Beta vulgaris* گیاهی از تیره اسفناج می‌باشد. چغندر لبویی منبع خوبی برای پیگمان‌های قرمز بوده و تحت عنوان بتالائین شناخته شده‌اند. بتالائین به خوبی در آب حل شده و در الکل نامحلول می‌باشد و از سوی دیگر دارای فعالیت بالای مهار رادیکال‌های آزاد بوده و در غلظت‌های پایین مانع پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنزیم‌های کبد شده و دارای خواص ضد سرطانی، ضد التهابی نیز می‌باشند [۹].

Yang و همکاران (۲۰۲۱)، از عصاره تفاله تمشک در فیلم‌های کامپوزیت پکتین/سدیم آلژینات/صمغ زانتان برای تهیه فیلم‌های رنگی استفاده کردند و بیان کردند که فیلم‌های تمشک دارای نفوذپذیری به بخار آب کمتر، استحکام کششی، کدورت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بودند و همچنین می‌توان از این فیلم در نظارت بر تازگی مواد غذایی غنی از پروتئین استفاده کرد [۱۰].

Koosha and Hamedi (۲۰۱۹)، به بررسی فیلم‌های نانوکامپوزیتی کیتوزان/PVA هوشمند حاوی آنتوسیانین هویج سیاه و نانورس‌های بتنونی با خواص مکانیکی، حرارتی و ضد باکتریایی بهبود یافته پرداختند. نتایج حاصله نشان داد که افزودن بتنونیت استحکام کششی و نفوذپذیری به بخار آب را کاهش و نتایج عکس برای آنتوسیانین مشاهده گردید. فیلم‌های حاوی بتنونیت و آنتوسیانین پایداری حرارتی بهتری داشتند. همچنین بالا بودن مهار رشد باکتریایی در برابر اشیریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس مشاهده شد [۱۱].

Sharifi and Pirsara (۲۰۲۱)، به مطالعه فیلم زیست تخریب پذیر پکتین/کلروفیل برگ توت سیاه کپسوله شده با نانوذرات کربوکسی متیل سلولز/سیلیکا و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی پرداختند و عنوان کردند که سیلیس باعث افزایش ضخامت و کاهش رطوبت و حلالیت لایه ها شد. افزایش مقدار CMC در کپسول‌های مورد استفاده در فیلم باعث افزایش ضخامت، رطوبت و حلالیت فیلم ها شد. سیلیس استحکام

حمام اولتراسوند به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت و گلیسرول به میزان ۴۰ درصد وزن ماده خشک اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه روی همزن قرار گرفت و محلول شکل گرفته به مدت ۱۰ دقیقه هواگیری و در پلیت ریخته و سپس فیلم تولیدی در داخل آون با دمای ۳۸ درجه سانتی گراد خشک گردید و پس از خشک شدن، فیلم از سطح پلیت جدا و آزمون های فیزیکوشیمیایی و مکانیکی بر روی آن انجام گرفت [۱۴].

۲-۲-۲-۲- ارزیابی ویژگی های فیلم نانوکامپوزیت

۲-۲-۲-۲-۱- رطوبت

برای اندازه گیری رطوبت، نمونه ها به قطعات ۳×۳ سانتی متر مربع بریده و وزن گردید و سپس در آون در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت قرار داده و در نهایت رطوبت فیلم از رابطه زیر به دست آمد [۱۳].

$$\text{رطوبت} = 100 \times \frac{M_1 - M_2}{M_1}$$

که M_1 وزن اولیه نمونه و M_2 وزن نمونه پس از خشک شدن می باشد.

۲-۲-۲-۲-۲- حلالیت

حلالیت در آب به صورت درصد ماده خشک فیلم حل شده بعد از ۲۴ ساعت غوطه وری در آب بیان گردید. نمونه ها به قطعات ۲×۲ cm بریده و توزین گردیدند سپس در ۳۰ mL آب مقطر غوطه ور و به مدت ۳ ساعت همزده شدند. نمونه ها در آون با دمای ۱۰۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت خشک گردیدند [۱۵]. درصد حلالیت در آب فیلم ها مطابق معادله زیر محاسبه گردید:

$$\% \text{حلالیت} = [(W_i - W_f) / W_i] \times 100$$

که W_i و W_f به ترتیب وزن اولیه و وزن نهایی نمونه های فیلم هستند.

۲-۲-۲-۲-۳- رنگ سنجی

با استفاده از رنگ سنج CIE، (Minolta CR300 Series)، اندازه گیری رنگ فیلم ها انجام شد. پارامترهای a ، b و L شاخص زردی، زاویه رنگ و اختلاف کلی رنگ نمونه ها (ΔE)، به صورت زیر محاسبه گردید. که ΔL ، Δa و Δb تفاوت بین پارامترهای رنگ مربوط به نمونه فیلم ها و پارامترهای صفحه

کششی فیلم را افزایش داد و انعطاف فیلم را کاهش داد، در حالی که CMC مقاومت کششی را کاهش داد و انعطاف پذیری فیلم را افزایش داد. کلروفیل و سیلیس خواص آنتی اکسیدانی فیلم را تا حد زیادی افزایش دادند [۱۲].

مطابق بررسی های صورت گرفته، تاکنون تحقیقی در مورد اثر رنگدانه بتانین و نانو ذره اکسید مس در فیلم های خوراکی بر پایه وی پروتئین ایزوله/ پکتین صورت نگرفته است؛ لذا هدف از این پژوهش بررسی تأثیر رنگدانه و نانو ذره در غلظت های مختلف بر روی خواص فیزیکوشیمیایی و مکانیکی فیلم های خوراکی تهیه شده می باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

چغندر لبویی از شرکت سان سی ایران تهیه گردید. گلیسرول با خلوص ۹۹/۵٪، سود و پکتین سیب (درجه متوکسیل پایین، ۵/۱٪) از برند شرکت مرک (آلمان)، نانوذره اکسید مس با اندازه ذرات ۲۰ نانومتر از برند شرکت US-Nano (آمریکا) و وی پروتئین ایزوله (WPI^1) از برند شرکت آرلا (دانمارک) خریداری شدند.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- روش تهیه فیلم نانوکامپوزیت

جهت تهیه فیلم نانوکامپوزیت، ۲/۵ گرم پودر ایزوله پروتئین آب پنیر با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به منظور حل شدن بهتر ایزوله، pH بر روی ۸ به کمک سود ۰/۱ نرمال تنظیم گردید و به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۸۰ درجه بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. سپس ۱ گرم پکتین در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه با همزن مغناطیسی مخلوط گردید [۱۳] و در مرحله بعدی رنگدانه بتانین در سطوح (۵-۲/۵-۰ وزنی/حجمی) اضافه و با استفاده از دستگاه هموژنایزر D9I12 شرکت هایدولف، آلمان) به مدت ۲ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ هموژن شد و سپس نانو ذره اکسید مس در سطوح (۴-۲-۰ وزنی/حجمی) به محلول اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی همگن گردید. در نهایت نمونه حاصل در

1. Whey Protein Isolated

Table 1 List of Experiments in the CCD

Run	Betanin (W/V)	CuO (W/V)
1	5	0
2	5	2
3	2.5	0
4	2.5	2
5	2.5	4
6	0	2
7	0	0
8	5	4
9	2.5	2
10	2.5	2
11	2.5	2
12	0	4
13	2.5	2

سفید استاندارد ($b = 7/16$ ، $a = -5/11$ ، $L = 97/39$)
می‌باشند [۱۶].

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

$$\text{Hue angle} = \tan^{-1}(b/a)$$

$$\text{Chroma } C = \sqrt{a^2 + b^2}$$

$$\Delta H (\text{Yellow Index}) = (\Delta E)^2 - (\Delta L)^2 - (\Delta C)^2$$

۲-۲-۴- ضخامت

ضخامت فیلم‌ها با ریزسنج دیجیتالی (Mitutoyo-Co, Japan) یا دقت 0.001 میلی‌متر به طور تصادفی در 10 موقعیت تعیین و میانگین آن‌ها در محاسبات استفاده شد [۱۷].

۲-۲-۵- خواص مکانیکی

مقاومت کششی و ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم‌ها توسط دستگاه بافت سنج (TA.TX.plus Texture analyser) اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های فیلم در ابعاد $5 \times 1 \text{ cm}$ بریده و به مدت 72 ساعت در رطوبت نسبی 55% (کلسیم نیترات) و دمای محیط مشروط گردیدند. فاصله اولیه بین دو فک دستگاه و سرعت حرکت فک‌ها به ترتیب 30 mm و 0.83 sec/mm بود [۱۸]. پارامترهای مکانیکی با روابط زیر محاسبه شدند:

$$\text{مقاومت کششی} = F_{\max} / A$$

$$\text{ازدیاد طول تا نقطه شکست} = L_{\max} / L_0 \times 100$$

که A برابر سطح مقطع عرضی فیلم (m^2)، F_{\max} برابر حداکثر نیرو در نقطه شکست (N)، L_{\max} برابر کشیدگی فیلم در نقطه پارگی (m)، L_0 برابر طول اولیه نمونه فیلم (m)، می‌باشد.

۳-۲-۲- تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، جهت تهیه فیلم نانوکامپوزیت بر پایه وی پروتئین ایزوله-پکتین و حاوی نانوذرات اکسید مس و رنگدانه بتانین از طرح مرکب مرکزی در سه سطح برای دو متغیر مستقل نانوذره اکسید مس ($0-2/5-5\%$) و رنگدانه بتانین ($0-2/5-5\%$) در 13 تیمار مطابق با جدول ۱ در قالب طرح مرکب مرکزی استفاده شد.

برای آزمون معنی‌داری فاکتور از روش تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) و نرم افزار Design Expert 11.0.0 استفاده گردید و ضریب تغییرات^۲، ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین اصلاح شده ($Adj-R^2$)، آزمون عدم تطابق مدل ($P > 0.05$)^۳ و سطح معنی داری 95% تعیین شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آزمون های فیزیکوشیمیایی

۳-۱-۱- رطوبت

با توجه به نتایج آنالیز واریانس (جدول ۲)، اثر تکی رنگدانه بتانین و نانوذره اکسید مس بر رطوبت فیلم‌ها معنادار بود ($P \leq 0.05$) بطوریکه با افزایش میزان رنگدانه بتانین نانوذره اکسید مس رطوبت نمونه‌ها افزایش یافت (شکل ۱-ا). علت افزایش رطوبت به هنگام افزودن رنگدانه بتانین به علت کاهش اتصالات عرضی در بین زنجیره‌های بیوپلیمری، افزایش گروه‌های هیدروکسیل و وجود ترکیبات آبدوست مانند ترکیبات فنولی در رنگدانه بتانین است که در نهایت باعث جذب بیشتر مولکول‌های آب می‌شود [۱۹]. از طرفی علت افزایش رطوبت با افزودن نانو ذره اکسید مس می‌تواند به علت کاهش برهمکنش بین زنجیره بیوپلیمری و نانوذره اضافه شده به فیلم تولیدی و به دنبال آن افزایش گروه هیدروکسیل باشد [۲۰]. نتایج مشابهی توسط Ojagh و همکاران (۲۰۱۸)، با افزودن نانوذره دی اکسید تیتانیوم در فیلم خوراکی بر پایه آگار/ژلاتین بیان کردند [۲۱]. همچنین نتایج در تطابق با نتایج Sugita و همکاران (۲۰۲۰) بود که عنوان کردند افزودن رنگدانه بتاکاروتن و هیدروکسی تولوئن در فیلم خوراکی بر پایه کیتوزان باعث افزایش رطوبت می‌شود [۲۲].

۳-۱-۲- حلالیت

با توجه به نتایج آنالیز واریانس و ضرایب رگرسیونی (جدول ۲)، اثر تکی فاکتورهای مورد مطالعه و برهمکنش رنگدانه بتانین- نانوذره اکسید مس بر حلالیت فیلم‌ها معنادار

2. Coefficient of variation
3. Lack of Fit

شود [۲۵]. نتایج در تطابق با نتایج Abdul-Rahman و Abass (2021) بود که از پوست انار در فیلم خوراکی بر پایه کیتوزان استفاده کردند [۲۶].

۳-۱-۳- ضخامت

با توجه به ضرایب رگرسیونی پیش بینی کننده (جدول ۲)، اثر تکی رنگدانه بتانین و نانوذره اکسید مس بر ضخامت فیلم‌ها معنادار بود ($P \leq 0.05$). مطابق شکل ۱-۳، با افزایش میزان رنگدانه بتانین و نانوذره اکسید مس ضخامت فیلم‌ها افزایش یافت و بیشترین میزان ضخامت در نمونه‌هایی با حداکثر میزان رنگدانه بتانین - نانوذره اکسید مس مشاهده شد. افزایش ضخامت فیلم‌ها با افزایش رنگدانه بتانین؛ به علت افزایش میزان مواد جامد محلول در ماتریس پلیمری بوده و همچنین نحوه قرارگیری مولکول‌های رنگدانه که سبب ایجاد ساختار غیریکنواخت همراه با منافذ شده و این منافذ می‌تواند با محبوس کردن مولکول‌های آب منجر به افزایش رطوبت و تورم فیلم‌ها و در نهایت افزایش ضخامت آن‌ها گردند [۲۷ و ۱۳].

بود ($P \leq 0.05$) مطابق (شکل ۱-۳b)، با افزایش میزان رنگدانه بتانین و نانوذره حلالیت نمونه‌ها کاهش یافت و بیشترین میزان حلالیت در نمونه‌هایی با کمترین میزان رنگدانه بتانین - نانوذره اکسید مس مشاهده گردید. نانو ذرات اکسید مس از طریق پیوند هیدروژنی و برهمکنش الکترواستاتیکی با زنجیره‌های وی پروتئین ایزوله-پکتین ارتباط برقرار نموده و باعث افزایش برهمکنش زنجیره‌ها می‌شود بنابراین در اثر افزایش برهمکنش‌ها و افزایش آبگریزی ماتریس بیوپلیمری، حلالیت ماکرومولکول‌ها کاهش می‌یابد [۲۳]. نتایج مشابهی در خصوص کاهش حلالیت با افزودن نانوذرات اکسید روی در فیلم خوراکی حاوی پکتین/آلژینات توسط Ngo و همکاران (۲۰۱۸) بیان شده است [۲۴]. از طرفی دلیل کاهش حلالیت در آب با افزودن رنگدانه را نیز می‌توان به کاهش آبدوستی فیلم‌ها در اثر برهمکنش بین ترکیبات فنولی رنگدانه بتانین و زنجیره بیوپلیمری فیلم‌ها نسبت داد که می‌تواند دسترسی راحت گروه‌های هیدروکسیل برای واکنش با مولکول‌های آب را کاهش داده و متعاقباً منجر به آبگریزی فیلم‌ها

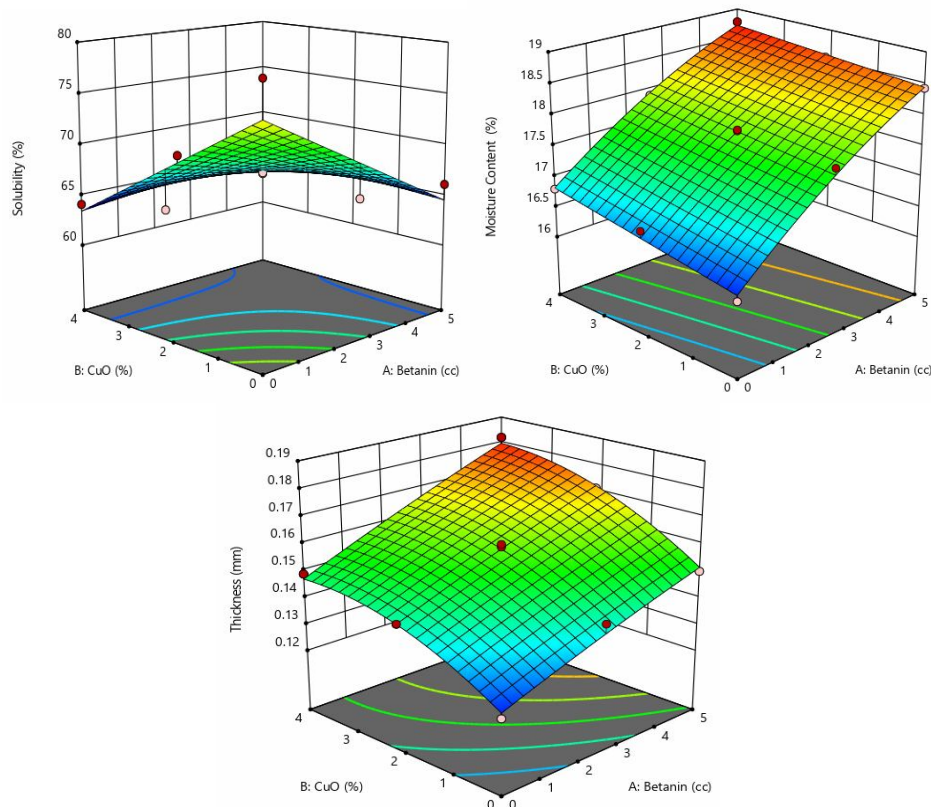


Fig 1 Effect of CuO Nanoparticles and Betanin on Moisture (a), Solubility (b) and Thickness (c) of Whey Protein Isolated / Pectin Nanocomposite Film

نانوذره اکسید مس بر پارامترهای رنگ نمونه‌های فیلم معنادار بود ($P \leq 0.05$). همانطور که ملاحظه می‌گردد (شکل ۲)، افزایش سطوح نانو ذرات اکسید مس سبب کاهش کمی در شاخص L فیلم‌ها شد و با افزودن بتانین میزان روشنایی (L) فیلم‌ها به طور قابل توجهی کاهش یافت. همچنین افزودن بتانین به ترتیب سبب افزایش و کاهش شاخص a (قرمزی) و b (زردی) فیلم‌ها شد. دلیل این رفتار به علت بالا بودن رنگدانه‌های قرمزی و پایین بودن رنگدانه زردی در بتانین می‌باشد. نتایج مشابهی در این خصوص با افزودن متیلن بلو به فیلم بر پایه پکتین گزارش شد [۳۱]. به علاوه افزودن نانوذرات اکسید مس تاثیر چندانی روی میزان قرمزی فیلم‌ها نداشت در حالیکه سبب کاهش در میزان b (زردی) نمونه‌ها شد.

نتایج مشابهی در خصوص افزایش ضخامت توسط Sugita و همکاران (۲۰۲۰) در فیلم کیتوزان با افزودن بتاکاروتن و هیدروکسی تولوئن گزارش شده است [۲۸]. همچنین افزایش ضخامت فیلم‌های نانوکامپوزیتی با افزودن نانوذره اکسید مس نه تنها به علت محتوای جامد بالاتر در اثر افزودن نانوذره می‌باشد؛ بلکه با ایجاد پیوندهای الکترواستاتیکی بین پکتین و نانو ذره اکسید مس و پخش شدن خوب نانو ذره در ساختار ماتریس پلیمری منجر به افزایش ضخامت در نمونه‌ها می‌شود [۲۹]. نتایج مشابهی توسط Jebel and Almasi (۲۰۱۶) در فیلم‌های سلولزی حاوی نانو ذره ZnO گزارش شده است [۳۰].

۳-۱-۴- رنگ سنجی

با توجه به نتایج آنالیز واریانس (جدول ۳)، اثر رنگدانه بتانین و

Table 2 Regression coefficients of physicochemical properties of nanocomposite films

Factor	Moisture	Solubility	Thickness
Model	**1.3	*39.74	**0.0005
Intercept	16.29	75.71	0.12
A	0.56**	2.23*-	0.005**
B	0.13**	3.07*-	0.01**
AB	0.01-	0.68*	0.0003
A ²	0.02**	0	0.0001-
B ²	0.0002-	0	0.001*-
R ²	0.99	0.71	0.97
Adj-R ²	0.98	0.61	0.96
Lack of fit	12.53 ^{ns}	92.07 ^{ns}	11.73 ^{ns}
CV%	0.46	1.58	1.74

*: $p \leq 0.05$; **: $p < 0.01$; ns(non-significant) $p \geq 0.05$

A :Betanin B :CuO Nanoparticles

Table 3 film nanocomposite of parameters colorimetric of coefficients Regression

Factor	L	a	b	Hue	ΔE	Yellow index
Model	**815.07	**336.66	*6.28	**1430.46	*513.33	**5610.36
Intercept	70.91	0.08	22.07	94.51	72.02	34.60
A	27.90**	17.31**	1.76-	33.03**	12.80-	81.48**
B	10.31-	2.16**	0.05*-	54.7**	15.22*-	4.96
AB	2.97**	1.18*-	0.71**	3.25**	0.64-	5.19*-
A ²	3.06**	2.28**	0	3.61**	2.78*	10.82-
B ²	1.14	0.68-	0	1.65**	2.99	0.99**
R ²	0.95	0.90	0.57	0.94	0.80	0.94
Adj-R ²	0.93	0.84	0.43	0.91	0.66	0.90
CV%	2.46	1.58	1.79	1.60	0.69	1.25

*: $p \leq 0.05$; **: $p < 0.01$; ns(non-significant) $p \geq 0.05$

A :Betanin B :CuO Nanoparticles

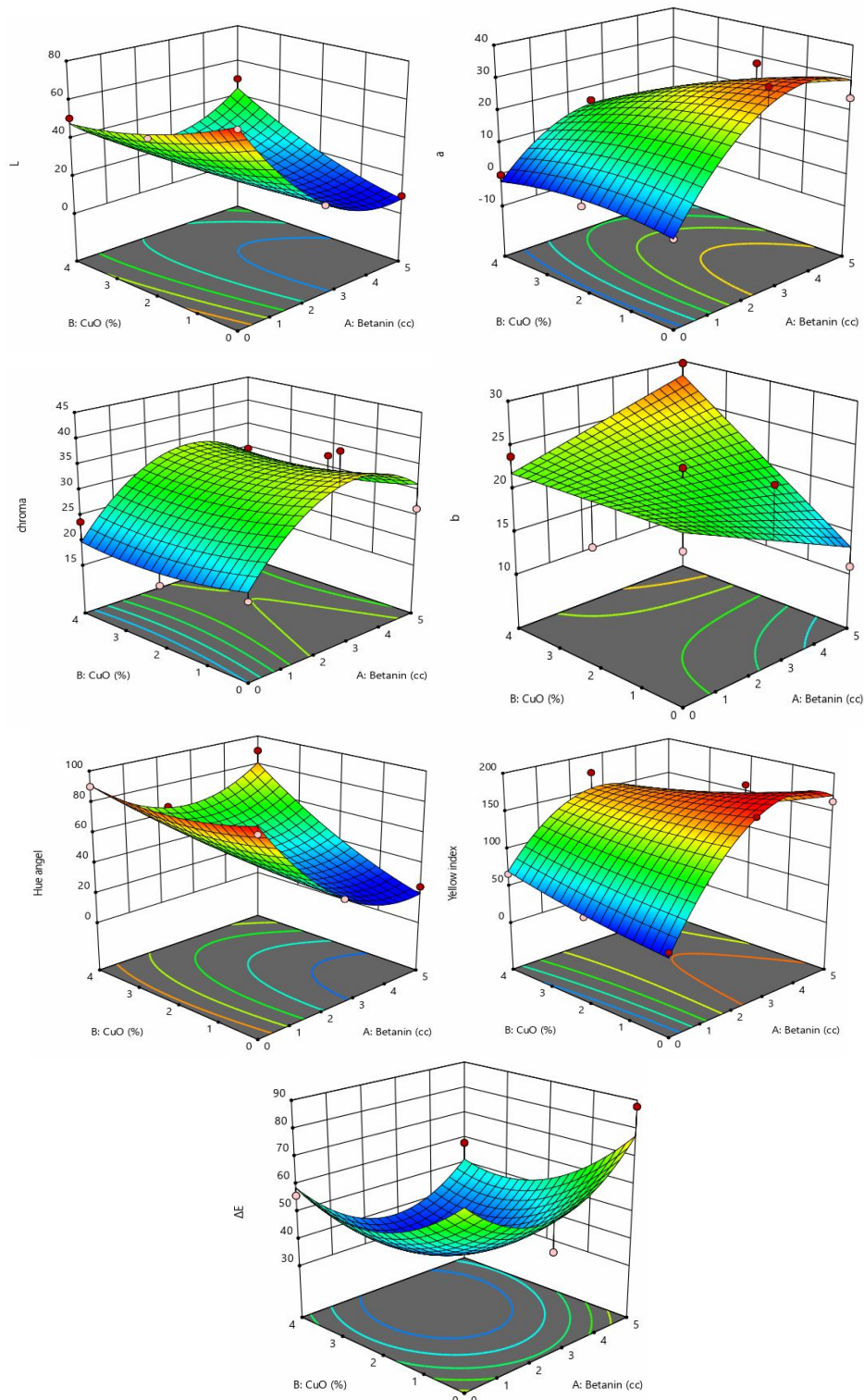


Fig 2 Effect of CuO Nanoparticles and Betanin on Colorimetric Parameters of Whey Protein Isolated / Pectin Nanocomposite Film

که بیان کردند با افزودن نانوذرات اکسید روی به فیلم بر پایه ژلاتین از میزان L^* و b^* نمونه‌های فیلم کاسته شد [۳۲]. افزودن

نتایج مشابهی در خصوص کاهش میزان شاخص روشنایی و قرمزی فیلم‌ها توسط Shankar و همکاران (۲۰۱۴) گزارش شد.

پکتین از طریق پیوندهای یونی بیان کرد [۳۴]. از طرفی فیلم‌های نانوکامپوزیت غنی شده با نانو ذرات اکسید مس مانع حرکت زنجیره‌های پلیمری می‌شود که به نوبه خود باعث افزایش مقاومت کششی می‌گردد [۳۵]. این امر همچنین پراکندگی خوب نانو ذرات اکسید مس و سازگاری خوب بین نانوذرات و ماتریس پلیمری را نشان می‌دهد. افزایش مقاومت کششی را می‌توان به مقاومت اعمال شده توسط نانوذرات، جهت‌گیری، نسبت ابعادی بالا و همچنین پراکنش یکنواخت نانوذرات در بستر پلیمری نسبت داد [۳۶]. همچنین با افزودن رنگدانه بتانین، ازدیاد طول تا نقطه شکست و مقاومت کششی فیلم‌ها نسبت به نمونه شاهد به ترتیب افزایش و کاهش یافت ($p < 0.05$). کاهش مقاومت کششی با افزودن رنگدانه بتانین را می‌توان به علت جلوگیری از ایجاد اتصالات بین رشته‌ای در شبکه پلیمرها در اثر قرار گرفتن مولکول‌های رنگدانه در بین زنجیره‌های پلیمر دانست که در نتیجه سبب کاهش مقاومت کششی نمونه‌های فیلم فعال در مقایسه با نمونه شاهد شده است [۳۷]. فیلم حاوی نانو ذرات اکسید مس و بتانین به دلیل اثر هم افزایی اکسید مس و بتانین دارای بالاترین TS و STB نسبت به نمونه شاهد بود. نتایج در توافقی با یافته‌های Farshchi و همکاران (۲۰۱۹)، بود که گزارش کردند با افزایش درصد نانو ذرات TiO_2-Ag ازدیاد تا نقطه شکست فیلم‌های بر پایه کربوکسی متیل سلولز و ژلاتین اصلاح شده افزایش یافت [۳۸]. همچنین نتایج مشابهی برای افزایش مقاومت کششی و مدول یانگ فیلم‌ها توسط Dash و همکاران (۲۰۱۹) برای افزودن نانوذرات تیتانیوم دی اکسید به فیلم بر پایه نشاسته و پکتین ضایعات لیمو گزارش شد [۳۹].

نانوذرات اکسید مس سبب افزایش کمی در شاخص زردی (Yellow index) فیلم‌ها شد. همچنین با افزایش غلظت بتانین، افزایش قابل توجهی در شاخص زردی نمونه‌ها مشاهده گردید. زاویه هیو نمونه‌های فیلم با افزودن نانوذرات اکسید مس و بتانین کاهش یافت که این کاهش در مورد اکسید مس ناچیز است. اختلاف کل رنگ (ΔE) نمونه‌های فیلم بر پایه پکتین با افزایش غلظت بتانین و نانوذرات اکسید مس ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. نتایج مشابهی توسط اولیایی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش شد که بیان کردند با افزودن نانوذرات تیتانیوم دی اکسید به فیلم بر پایه نشاسته میزان a^* و b^* نمونه‌های فیلم به طور معناداری کاهش یافت [۳۳].

۳-۱-۵- خواص مکانیکی

داده‌های مربوط به مقاومت کششی (TS) و ازدیاد طول تا نقطه شکست (STB) فیلم‌های بر پایه وی پروتئین ایزوله-پکتین حاوی رنگدانه بتانین و نانوذره اکسید مس (فیلم شاهد (0%CuO+0%Betanin)، فیلم کامپوزیت با بیشترین رنگدانه بدون نانوذره (0%CuO+5%Betanin)، فیلم کامپوزیت با بیشترین نانوذره بدون رنگدانه (4%CuO+0%Betanin)، فیلم کامپوزیت با بیشترین رنگدانه و نانوذره (4%CuO+5%Betanin) طبق طرح آماری) در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود، با افزودن نانو ذرات اکسید مس، ازدیاد طول تا نقطه شکست و مقاومت کششی فیلم‌ها به طور معناداری افزایش یافت ($p < 0.05$). افزایش STB ممکن است به علت اثر پلاستی‌سایزری و پراکندگی یکنواخت نانو ذره اکسید مس در ماتریس بیوپلیمر وی پروتئین ایزوله-

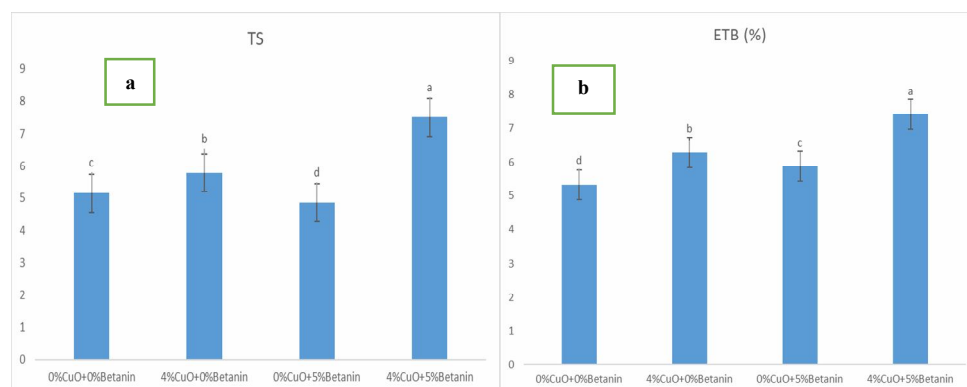


Fig 3 Tensile strength (a) and Elongation to Break (b) of Pec/ WPI films containing Betanin and CuO
Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

on Physicochemical and Antioxidant Properties of Films Based on Gelatin and Russian Olive Flour. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 50(3), 737-748.

- [6] Nouri, A., Yaraki, M. T., Ghorbanpour, M., Agarwal, S., & Gupta, V. K. (2018). Enhanced Antibacterial effect of chitosan film using Montmorillonite/CuO nanocomposite. *International journal of biological macromolecules*, 109, 1219-1231.
- [7] Shankar, S., Wang, L. F., & Rhim, J. W. (2017). Preparation and properties of carbohydrate-based composite films incorporated with CuO nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, 169, 264-271.
- [8] Asdagh, A., Sani, I. K., Pirsā, S., Amiri, S., Shariatifar, N., Eghbaljoo-Gharehgheshlaghi, H., ... and Taniyan, A. (2021). Production and characterization of nanocomposite film based on whey protein isolated/copper oxide nanoparticles containing coconut essential oil and paprika extract. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(1), 335-349.
- [9] Amjadi, S., Almasi, H., Ghorbani, M., & Ramazani, S. (2020). Preparation and characterization of TiO₂NPs and betanin loaded zein/sodium alginate nanofibers. *Food Packaging and Shelf Life*, 24, 100504.
- [10] Yang, J., Fan, Y., Cui, J., Yang, L., Su, H., Yang, P., & Pan, J. (2021). Colorimetric films based on pectin/sodium alginate/xanthan gum incorporated with raspberry pomace extract for monitoring protein-rich food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 185, 959-965.
- [11] Koosha, M., & Hamed, S. (2019). Intelligent Chitosan/PVA nanocomposite films containing black carrot anthocyanin and bentonite nanoclays with improved mechanical, thermal and antibacterial properties. *Progress in Organic Coatings*, 127, 338-347.
- [12] Sharifi, K. A., & Pirsā, S. (2021). Biodegradable film of black mulberry pulp pectin/chlorophyll of black mulberry leaf encapsulated with carboxymethylcellulose/silica nanoparticles: Investigation of physicochemical and antimicrobial properties. *Materials Chemistry and Physics*, 267, 124580.

۴- نتیجه گیری کلی

در این پژوهش اثر نانو ذره اکسید مس در سطوح ۰، ۲ و ۴٪ وزنی/حجمی و رنگدانه بتانین در سطوح ۰، ۲/۵ و ۵٪ وزنی/حجمی در نانوکامپوزیت بر پایه وی پروتئین ایزوله/پکتین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون های فیزیکوشیمیایی و مکانیکی نشان داد که با افزودن رنگدانه بتانین و نانو ذره اکسید مس ضخامت و رطوبت نمونه ها به طور قابل توجهی افزایش و حلالیت کاهش یافت ($P < 0/05$). همچنین با افزودن رنگدانه بتانین شاخص قرمزی (a) افزایش و شاخص روشنایی (L) و زردی (b) نمونه ها کاهش یافت. از طرفی افزودن نانوذره اثری بر شاخص a نمونه ها نداشت ولی باعث کاهش شاخص b گردید. همچنین با افزودن رنگدانه بتانین و نانوذره اکسید مس مقاومت کششی و ازدیاد طول تا نقطه شکست نمونه های فیلم به طور معناداری افزایش یافت ($P < 0/05$). به طور کلی افزودن نانو ذره و رنگدانه مورد بررسی در این پژوهش منجر به بهبود خواص فیلم نانوکامپوزیت تولیدی می گردد.

۵- منابع

- [1] Çakmak, H., Özselek, Y., Turan, O. Y., Firatlıgil, E., & Karbancıoğlu-Güler, F. (2020). Whey protein isolate edible films incorporated with essential oils: Antimicrobial activity and barrier properties. *Polymer Degradation and Stability*, 179, 109285.
- [2] Galus, S., & Kadzińska, J. (2016). Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. *Food Hydrocolloids*, 52, 78-86.
- [3] Shafie, M. H., Yusof, R., Samsudin, D., & Gan, C. Y. (2020). Avertroa bilimbi pectin-based edible films: Effects of the linearity and branching of the pectin on the physicochemical, mechanical, and barrier properties of the films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1276-1282.
- [4] Shahrampour, D., Khomeiri, M., Razavi, S. M. A., & Kashiri, M. (2020). Development and characterization of alginate/pectin edible films containing *Lactobacillus plantarum* KMC 45. *LWT*, 118, 108758.
- [5] Nouraddini, M., Mohtarami, F., & Esmaili, M. (2019). The Effect of ZnO Nanoparticles

- Food Science and Technology Research, 14(1), pp.27-38.
- [22] Sugita, P., Ranindra, A., Arifin, B. and Irwanto, I., 2020, June. Physico-chemical and antioxidant properties of chitosan film with addition of β -carotene and butylated hydroxytoluene. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2243, No. 1, p. 030024). AIP Publishing LLC.
- [23] Esfahani, A., Ehsani, M., Mizani, M. and Mohammadi, A., 2020. The synergistic effects of cinnamon essential oil and nano TiO₂ on antimicrobial and functional properties of sago starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 157, pp.743-751.
- [24] Ngo, T.M.P., Dang, T.M.Q., Tran, T.X. and Rachtanapun, P., 2018. Effects of zinc oxide nanoparticles on the properties of pectin/alginate edible films. *International Journal of Polymer Science*, 2018.
- [25] Rambabu, K, Bharath, G, Banat, F, Show, PL and Cocolletzi, HH 2019, Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126,1234-1243.
- [26] Abdul-Rahman, S.M. and Abass, A.F., 2021, May. Preparation of Edible Films Made from Chitosan with Pomegranate Peel Extract and Study Its Barrier, Mechanical and Antioxidant Properties. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 761, No. 1, p. 012122). IOP Publishing.
- [27] Noronha, C.M., De Carvalho, S.M., Lino, R.C., Barreto, P.L.M., 2014. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules. *Food Chem.* 159, 529–535.
- [28] Sugita, P., Ranindra, A., Arifin, B. and Irwanto, I., 2020, June. Physico-chemical and antioxidant properties of chitosan film with addition of β -carotene and butylated hydroxytoluene. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2243, No. 1, p. 030024). AIP Publishing LLC.
- [29] Liu, Z., Lv, M., Li, F., and Zeng, M., (2016). Development, Characterization, and Antimicrobial Activity of Gelatin/Chitosan/ZnO Nanoparticle Composite
- [13] Nisar, T., Wang, Z. C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., & Guo, Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670-680.
- [14] Seydim, A. C., & Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food research international*, 39(5), 639-644.
- [15] Nafchi, A. M., Alias, A. K., Mahmud, S., & Robal, M. (2012). Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Journal of food engineering*, 113(4), 511-519.
- [16] Mei, L. X., Nafchi, A. M., Ghasempour, F., Easa, A. M., Jafarzadeh, S., & Al-Hassan, A. A. (2020). Characterization of pH sensitive sago starch films enriched with anthocyanin-rich torch ginger extract. *International journal of biological macromolecules*, 164, 4603-4612.
- [17] Hosseini, S. F., et al. (2015). "Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles." *Food Hydrocolloids* ,44: 172-182.
- [18] Ekramian, S., Abbaspour, H., Roudi, B., Amjad, L., & Nafchi, A. M. (2021). Influence of *Nigella sativa* L. Extract on Physico-Mechanical and Antimicrobial Properties of Sago Starch Film. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(1), 201-208.
- [19] Assis, R.Q., Lopes, S.M., Costa, T.M.H., Flôres, S.H. and de Oliveira Rios, A., 2017. Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. *Industrial Crops and Products*, 109, pp.818-827.
- [20] Oleyaei, S.A., Zahedi, Y., Ghanbarzadeh, B. and Moayedi, A.A., 2016. Modification of physicochemical and thermal properties of starch films by incorporation of TiO₂ nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, pp.256-264.
- [21] Ojagh, M., Vejdani, A. and Abdollahi, M., 2018. Effect of nanoclay addition on the properties of agar/fish gelatin bilayer film containing TiO₂ nanoparticles. *Iranian Journal*

- [35] Ahmed, J., Arfat, Y.A., Castro-Aguirre, E., and Auras, R., (2016). Mechanical, structural and thermal properties of Ag–Cu and ZnO reinforced polylactide nanocomposite films. *International journal of biological macromolecules*, 86, 885-892.
- [36] Jayaramudu, J., Das, K., Sonakshi, M., Reddy, G.S.M., Aderibigbe, B., Sadiku, R., and Ray, S.S., (2014). Structure and properties of highly toughened biodegradable polylactide/ZnO biocomposite films. *International journal of biological macromolecules*, 64, 428-434.
- [37] Siripatrawan, U., Vitchayakitti, W., and Sanguandeekul, R., (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of T hai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *Int. J. Food Sci. Technol*, 48(1), 22-27.
- [38] Farshchi, E., Pirs, S., Roufegarinejad, L., Alizadeh, M., and Rezazad, M., (2019). Photocatalytic/biodegradable film based on carboxymethyl cellulose, modified by gelatin and TiO₂-Ag nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, 216, 189-196.
- [39] Dash, K. K., Ali, N. A., Das, D., & Mohanta, D. (2019). Thorough evaluation of sweet potato starch and lemon-waste pectin based-edible films with nano-titania inclusions for food packaging applications. *International journal of biological macromolecules*, 139, 449-458.
- Films. *Journal of aquatic food product technology*, 25(7), 1056-1063.
- [30] Jebel, F.S. and Almasi, H., 2016. Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films. *Carbohydrate polymers*, 149, pp.8-19.
- [31] Pirs, S., (2020). Biodegradable film based on pectin/Nano-clay/methylene blue: Structural and physical properties and sensing ability for measurement of vitamin C. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 666-675.
- [32] Shankar, S., Teng, X., Li, G., & Rhim, J. W. (2015). Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. *Food Hydrocolloids*, 45, 264-271.
- [33] Hejri, Z., Seifkordi, A. A., Ahmadvour, A., Zebarjad, S. M., & Maskooki, A. (2013). Biodegradable starch/poly (vinyl alcohol) film reinforced with titanium dioxide nanoparticles. *International Journal of Minerals, Metallurgy, and Materials*, 20(10), 1001-1011.
- [34] Babapour, H., Jalali, H., & Mohammadi Nafchi, A. (2021). The synergistic effects of zinc oxide nanoparticles and fennel essential oil on physicochemical, mechanical, and antibacterial properties of potato starch films. *Food Science & Nutrition*.



Investigation of physicochemical and mechanical properties of nanocomposite film based on whey protein isolated and pectin containing copper oxide nanoparticles and lip beet pigment (betanine)

Shabahang, Z.¹, Nouri, L.^{1*}, Mohammadi Nafchi, A.^{1,2}

1. Food Science and Technology Department, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
 2. Green Biopolymer Coating and Packaging Centre, School of Industrial Technology, Universiti Sains Malaysia, 11800 USM, Penang, Malaysia.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/11/17
 Accepted 2021/12/29

Keywords:

Edible film,
 CuO,
 Betanin pigment,
 Mechanical properties.

DOI: 10.52547/fsct.19.122.71

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.25.8

*Corresponding Author E-Mail:
 nouri.le.ir@gmail.com

ABSTRACT

Today, biodegradable packaging materials have received a great deal of attention due to growing concerns about non-degradable materials; Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of betanine pigment on surfaces (0, 2/5, 5 W/V%) and CuO nanoparticles on surfaces (0, 2, 4 W/V%) in nanocomposite film based on whey protein isolated / pectin in the form of a central composite design on the mechanical properties and physicochemical properties of the film is produced. The results showed that with increasing the percentage of betanine pigment and CuO nanoparticles, the thickness and moisture of the samples increased and the solubility decreased ($P < 0.05$). Also, by adding high levels of betanin pigment, redness (a) increased and brightness (L) and yellowing (b) of the samples decreased. Addition of nanoparticles decreased b value while it had no significant effect on a value of the samples. Also, by adding pigments and nanoparticles, tensile strength and elongation of film samples increased significantly ($P < 0.05$). According to all the results, the use of CuO nanoparticles and betanine pigment in nanocomposite film leads to the production of a film suitable for food packaging with desirable physicochemical and mechanical properties.