



مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ویژگی‌های عملکردی، مکانیکی و ساختاری فیلم زیست‌تخریب‌پذیر ایزوله پروتئین سویا حاوی

نانورس (مونت موریلونیت) و اسانس مریم‌گلی

رقیه اشرفی یورقانلو^{۱*}، مهلا پیروزی فرد^۲، هاله همتی^۳

۱- رقیه اشرفی یورقانلو^{*}: دانشیار، گروه مهندسی کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

۲- مهلا پیروزی فرد: کارشناسی ارشد، گروه مهندسی کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

۳- هاله همتی: کارشناسی ارشد، گروه مهندسی کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت:

تاریخ پذیرش:

کلمات کلیدی:

اسانس مریم‌گلی،

ایزوله پروتئین سویا،

فیلم زیست‌تخریب‌پذیر،

نانورس.

DOI: 10.22034/FSCT.21.146.93

* مسئول مکاتبات:

r.ashrafi1@yahoo.com

در این پژوهش فیلم‌های تولیدی بر پایه پروتئین سویا با دو متغیر نانورس در سه سطح (۰، ۰/۵ و ۱٪) و اسانس مریم‌گلی در سه سطح مختلف (۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm) تولید شده و تاثیر این دو متغیر بر خصوصیات عملکردی و مکانیکی و ساختاری فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر تولیدی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزودن درصدهای مختلف از نانورس بر بستر فیلم پروتئین سویا، محتوای رطوبتی، میزان حلالیت، نفوذپذیری نسبت به بخار آب و شفافیت نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش در شاخص‌ها با افزایش غلظت به کار رفته از اسانس مریم‌گلی مشهودتر بود. به طوریکه در بین نمونه‌های تولیدی، فیلم حاوی ۱٪ نانورس و ۵۰۰ ppm اسانس مریم‌گلی، دارای تراوایی نسبت به بخار آب معادل 10^{-11} g/m.s.pa بود. همچنین افزودن نانورس و اسانس مریم‌گلی سبب افزایش معنی‌داری در محتوای آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها شد و نمونه محتوی ۱٪ نانورس و ۵۰۰ ppm اسانس مریم‌گلی با ۳۲/۸۸٪ بیشترین محتوای آنتی‌اکسیدانی را داشت. بررسی نتایج طیف‌سنجی و ریزساختاری فیلم‌های بدست آمده نیز بیانگر تعامل مناسب بین نانوذره و اسانس با بستر پروتئین سویا و ایجاد پیوندهای قوی و جدید می‌باشد. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن نانورس و اسانس مریم‌گلی می‌تواند اثرات مثبتی بر خصوصیات فیزیکی و ساختاری فیلم ایزوله پروتئین سویا داشته باشد.

۱- مقدمه

بسته‌بندی یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای حفظ کیفیت فرآورده‌های غذایی به منظور نگهداری، ذخیره‌سازی، حمل و نقل و استفاده پایانی است و علاوه بر این مانع از بین رفتن کیفیت غذا می‌شود و روند توزیع و بازاریابی آن را آسان می‌سازد. علاوه بر کارکرد اصلی بسته‌بندی که حفظ و نگهداری مواد غذایی است، یک بسته‌بندی خوب نه تنها می‌تواند کیفیت غذا را حفظ کند بلکه به صورت معناداری با سودآوری تجاری نیز ارتباط مستقیم دارد [۱]. پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها، بیوپلیمرهای اصلی به کاربرده شده در ساخت فیلم‌های خوراکی می‌باشند که در این بین، فیلم‌ها و پوشش‌های پروتئینی به دلیل ویژگی‌های عملکردی و تغذیه‌ای بیشتر مورد توجه هستند [۲]. ایزوله پروتئین سویا یک محصول خوراکی بوده که دارای خاصیت جایگزینی پروتئین حیوانی است و در صنایع مختلف بیسکویت‌سازی، شیرینی‌سازی و مصارف گوشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ایزوله سویا باقی‌مانده از فلیک‌های بدون چربی سویا بوده و تنها محصولی از سویا است که به صورت تجاری با بالاترین درصد پروتئین تولید می‌گردد. ایزوله پروتئین سویا به صورت ماده خشک حاوی حدود ۹۰٪ پروتئین بوده و در واقع بیشترین مقدار پروتئین در تمامی محصولات سویا را داراست. این ماده بالاترین منبع غذایی جهت تامین اسیدهای آمینه می‌باشد. پروتئین حاصل از آرد سویای روغن‌کشی شده، از جمله ایزوله سویا و کنسانتره سویا را می‌توان برای فیلم‌های پوششی به کار برد. این پروتئین، پوششی با بافت یکنواخت، شفاف و انعطاف‌پذیر ایجاد می‌کند که نسبت به نفوذ اکسیژن و چربی بسیار مقاوم است. ولی به دلیل خواص آبدوستی پروتئین سویا، فیلم تهیه شده از آن، مقاومت کمی در برابر رطوبت دارد. پوشش پروتئین سویا در محصولات سرخ‌شده باعث کاهش جذب روغن می‌شود و از تبادل رطوبت جلوگیری می‌کند. تلاش‌های مختلف به منظور بهبود مقاومت در برابر آب فیلم ایزوله پروتئین سویا توسط بهبوددهنده‌های فیزیکی و شیمیایی، از جمله بهبود باقلیایی شدن، الکیله شدن با آلژینات سدیم یا پروپیلن گلیکول، اتصال عرضی با استفاده از آلدئید یا روش‌های آنزیمی، گرما و ترکیب با برخی مواد افزودنی آبریز و پلیمرهای انجام شده است [۳]. استفاده از فیلم‌های بیوپلیمری بدلیل مشکلات مرتبط با عملکرد آنها، حساسیت ذاتی به آب و مقاومت کم به‌ویژه در محیط‌های مرطوب با محدودیت‌هایی همراه است. به طور کلی به علت خواص ممانعت‌کنندگی و مکانیکی ضعیف فیلم‌های

بیوپلیمری، استفاده از آنها به عنوان بسته‌بندی دارای محدودیت‌هایی می‌باشد. افزودن ترکیبات تقویت‌کننده و تشکیل کامپوزیت‌های بیوپلیمری باعث بهبود عملکرد آنها می‌شوند. تکنولوژی نانو در این پلیمرها می‌تواند روش نوینی نه تنها برای بهبود خصوصیات آنها فراهم کند، بلکه هزینه‌های آنها را نیز کاهش داده و موجب بهبود بسته‌بندی مواد غذایی و ارتقای قابلیت‌های آن شود. نانورس‌ها مهم‌ترین و پرکاربردترین موادی هستند که در تولید نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری مورد استفاده قرار می‌گیرند. از مزایای عمده نانورس که نقش مهمی در تولید نانوکامپوزیت‌ها ایفا می‌کنند می‌توان به توانایی آنها در پخش شدن به صورت لایه‌های مجزا از هم و قابلیت تغییر در خواص سطحی این مواد و ایجاد سازگاری با انواع پلیمرها و بیوپلیمرها اشاره کرد [۴]. از دیگر دلایلی که باعث افزایش توجه به استفاده از نانورس در تولید نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری شده است تولید ساده‌تر، در نتیجه قیمت پایین‌تر، دسترسی آسان‌تر و سازگاری بیشتر با بیوپلیمرها است [۵]. یکی از مهم‌ترین مزایای فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی در مقایسه با پلیمرهای سنتزی این است که این نوع پوشش‌ها می‌توانند به عنوان حامل برای افزودنی‌ها و ترکیبات مختلف مانند مواد ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان‌ها و غیره عمل کنند. که در این حالت به آنها بسته‌بندی فعال گفته می‌شود. این نوع بسته‌بندی علاوه بر درآلودن خواص بازدارندگی بسته‌بندی‌های معمول، مانند ممانعت‌کنندگی در برابر گازها و بخار آب و تنش‌های مکانیکی، با تغییر شرایط بسته‌بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های حسی ماده‌ی غذایی را بهبود می‌بخشد و در عین حال کیفیت ماده‌ی غذایی حفظ می‌گردد [۶]. قرار دادن اسانس‌ها در فرمولاسیون فیلم‌ها در جهت بهبود ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد. بدلیل وجود دغدغه‌های سلامت افراد، اسانس‌های استخراج شده از گیاهان به جای ترکیبات ضد میکروبی مصنوعی، به عنوان منبع ترکیبات پلی فنولیک مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۷]. مریم‌گلی متعلق به خانواده *Lamiaceae* بوده و برگ این گیاه دارای اسانس و تانن می‌باشد. اسانس آن که معمولاً از نوع وحشی گیاه تهیه می‌گردد، مایعی به رنگ زرد یا زرد مایل به سبز و دارای بوی مخصوص است. به علاوه این اسانس دارای پینن، سینئول و بورنئول راست و چپ می‌باشد [۸]. با توجه به اهمیت سلامت و ایمنی مواد غذایی بسته‌بندی شده و جایگزین نمودن پلیمرهای سنتتیک با پلیمرهای زیستی در ترکیب تولیدی بسته‌بندی‌ها و بهبود

جهت اندازه‌گیری میزان رطوبت، ابتدا نمونه‌های فیلم در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم به مدت ۴۸ ساعت مشروط شدند. تعیین رطوبت در سه تکرار انجام گرفت. میزان رطوبت طبق رابطه زیر محاسبه گردید [۱۱].

رابطه ۱-۲

$$MC_{wb} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100$$

MC_{wb} : درصد رطوبت بر اساس وزن مربوط

m_1 : وزن نمونه قبل از خشک کردن ب حسب گرم

m_2 : وزن نمونه بعد از خشک کردن بر حسب گرم

۲-۲-۳- حلالیت در آب

برای اندازه‌گیری حلالیت، تکه‌هایی از فیلم پس از توزین در دمای 105°C به مدت ۶ ساعت خشک و سپس وزن گردید (M_1)، در مرحله بعد، فیلم در 50 میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور و به مدت ۶ ساعت در دمای 25°C با دور 250 rpm به هم زده شد. سپس محلول از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ عبور داده شد و در آخر وزن (M_2) آن بعد از خشک کردن در آون بدست آمد [۱۱].

درصد حلالیت با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

رابطه ۲-۲

$$\text{Solubility (\%)} = \left(\frac{M_1 - M_2}{M_1} \right) \times 100$$

۲-۲-۴- نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

اندازه‌گیری انتقال بخار آب طبق روش ASTM E96-92 استفاده شده در تحقیق کاساریگو و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفت. برای این کار از فالكون‌هایی مخصوص با قطر 2 cm استفاده شد. 10 میلی‌لیتر آب مقطر داخل فالكون‌ها ریخته شد. قطعه‌ای از فیلم بریده شده روی درپوش فالكون قرار گرفته و درب ویال بسته شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها از روی کاهش وزن فالكون تعیین شد. آهنگ انتقال بخار آب $WVTR$ و نفوذپذیری به بخار آب WVP طبق روابط زیر محاسبه گردید [۱۲].

رابطه ۳-۲

$$WVTR = \frac{\text{Slope}}{A}$$

رابطه ۴-۲

$$WVP = \frac{(WVTR \times L)}{\Delta P}$$

خصوصیات بسته‌بندی، هدف از این پژوهش، تولید فیلم زیست تخریب‌پذیر بر پایه پروتئین ایزوله سویا و بررسی تاثیر افزودن نانورس و اسانس گیاه مریم‌گلی به عنوان عامل تقویت‌کننده و بهبوددهنده ویژگیهای فیزیکی، مکانیکی و ریزساختاری آن می باشد.

۲- مواد و روش ها

در این پژوهش از ایزوله پروتئین سویا (شرکت لبن پودر میلاد خراسان)، مونت موریلونیت، پودر ۲ و ۲- دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل جهت تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها از شرکت سیگما-آمریکا، گلیسرول، سدیم هیدروکسید و کلرید کلسیم (مرک آلمان) و اسانس مریم‌گلی (زردبند یاسوج) استفاده شد.

۲-۱- تهیه فیلم

محلول 50 گرم بر لیتر از پروتئین ایزوله سویا با انحلال 5 گرم از پودر ایزوله پروتئین سویا در 100 میلی‌لیتر آب مقطر بدست آمد. سپس نرم‌کننده گلیسرول به میزان $1:2$ (ایزوله پروتئین سویا: گلیسرول) به فیلم تهیه شده اضافه گردید و به طور کامل هم زده شد. جهت حل شدن بهتر، هموژنیزاسیون محلول با استفاده از یک همزن با دور بالا (4000 دور دقیقه) به مدت 3 دقیقه انجام گرفت. pH محلول با استفاده از سود 2 نرمال بر روی 8 تنظیم گردیده و محلول در 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه حرارت داده شد و سپس تا دمای اتاق سرد گردید. نانوذره مونت موریلونیت (نانورس) نیز در غلظت‌های صفر، $0/5$ و $1/1$ به نمونه‌ها اضافه شدند. پس از اضافه کردن غلظت‌های مختلف از اسانس (0 ، 250 و 500 ppm)، در نهایت $25-20$ گرم از این محلول، به روش کاستینگ در پلیت‌هایی با قطر 10 سانتی‌متر ریخته شده و به مدت 24 ساعت در دمای اتاق خشک گردید [۹].

۲-۲- آزمون ها

۲-۲-۱- تعیین ضخامت فیلم ها

برای تعیین ضخامت فیلم‌ها از میکرومتر با دقت $0/01\text{ mm}$ استفاده شد. اندازه‌گیری در 5 نقطه مختلف فیلم انجام گرفت و سپس میانگین آن‌ها محاسبه شد. میانگین ضخامت محاسبه شده در تعیین مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخار آب استفاده گردید [۱۰].

۲-۲-۲- محتوای رطوبتی فیلم ها

WVTR: آهنگ انتقال بخار آب ($\text{Kg/m}^2 \text{ s}$)

L: ضخامت فیلم (m)

ΔP : اختلاف فشار بخار آب نسبی بر حسب پاسکال بین دو طرف

فیلم

A: سطح فیلم (m^2)

۲-۲-۵- تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی

توانایی از دست دادن اتم هیدروژن توسط ترکیبات فنولیک یا میزان بی رنگ کردن محلول بنفش ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل-هیدرازیل عصاره اتانولی فیلم ها مورد سنجش قرار گرفت. در این آزمون از DPPH به عنوان ترکیبات رادیکالی پایدار استفاده گردید. به منظور تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلم ها از طریق قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) از روش Byun و همکاران (۲۰۱۰) استفاده شد [۱۳].

رابطه ۲-۵

$$\text{DPPH}_{\text{scavenging activity}} (\%) = \frac{(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}})}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$$

Abs control: میزان جذب نمونه شاهد

Abs film sample: میزان جذب نمونه حاوی نانوذره و اسانس

۲-۲-۶- اندازه گیری رنگ سطحی فیلم ها

برای اندازه گیری رنگ سطحی از دستگاه رنگ سنج (Japan Colorimeter Minolta model CR-410). نتایج شامل اندازه سه بعد رنگ با شاخص های کمی L^* ، a^* و b^* می باشد، که به ترتیب نمایانگر روشنایی (از $L=0$ برای سیاه تا $L=100$ برای سفید)، سبز تا قرمز ($a=-60$ برای سبز تا $a=60$ برای قرمز) و آبی تا زرد ($b=-60$ آبی تا $b=60$ برای زرد) می باشند. طبق روابط زیر به ترتیب مقادیر اختلاف کل رنگ (ΔE)، ضریب سفیدی (WI)، کروما (C^*) و ضریب زردی (YI) فیلم ها محاسبه گردید [۱۴].

رابطه ۲-۶

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

رابطه ۲-۷

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

رابطه ۲-۸

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

رابطه ۲-۹

$$YI = \frac{42.86 \times b^*}{L^*}$$

۲-۲-۷- شفافیت یا میزان عبور نور (Transmittance)

ویژگی ممانعت کنندگی در برابر نور مرئی در فیلم ها با استفاده از روش هان و فلوروس (۱۹۹۷) در طول موج تعیین شده اندازه گیری گردید. قطعه فیلم در دیواره شفاف داخل سل کوارتزی دستگاه قرار داده شده و میزان جذب نمونه قرائت گردید. میزان عبور نور از رابطه ۲-۱۰ محاسبه شد [۱۵].

رابطه ۲-۱۰

$$\text{Opacity} = \frac{A_{600}}{X} \times 100$$

در این معادله A_{600} میزان جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر و X متوسط ضخامت فیلم بر حسب میلی متر می باشد.

۲-۲-۸- اندازه گیری خواص مکانیکی فیلم ها

آزمون تنش-کرنش یکی از پر کاربردترین آزمون های تعیین رفتار مکانیکی فیلم ها می باشد. آزمون های کشش با استفاده از دستگاه بافت سنج و طبق استاندارد [ASTM D882] (91-22) اندازه گیری شد. فاکتورهای اندازه گیری شامل مقاومت کششی^۳ (UTS) و درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی^۴ (STB) می باشد [۱۴].

رابطه ۲-۱۱

$$UTS = \frac{\text{Maximum Load}}{\text{Cross sectional area of samples}}$$

رابطه ۲-۱۲

$$\% STB = \frac{\text{Elongation at breaking point}}{\text{original length}}$$

که در این روابط، Maximum Load بیشینه نیروی وارد شده به فیلم بر حسب نیوتون، Cross sectional area سطح مقطع عرضی اولیه فیلم بر حسب مترمربع، Elongation at breaking point مقدار اتساع تا لحظه پارگی بر حسب میلی متر، Original length طول اولیه نمونه دو فک بر حسب میلی متر، UTS میزان مقاومت به کشش بر حسب مگاپاسکال و STB میزان ازدیاد طول تا نقطه شکست بر حسب درصد می باشد.

۲-۲-۹- طیف سنجی فروسرخ (FT-IR)

فیلم‌ها با افزودن نانورس می‌تواند افزایش ماده خشک فیلم‌ها و همچنین جذب آب در ناحیه تک لایه توسط ترکیب هیدروژنی باشد، بطوریکه نسبت به نمونه کنترل هنگام خشک کردن رطوبت کمتری از فیلم‌ها خارج شده و مجموع این تغییرات سبب افزایش ضخامت فیلم‌های تولیدی می‌گردد [۱۶]. افزایش درصد اسانس در ترکیب فیلم‌های پروتئینی فاقد نانورس نیز موجب افزایش ضخامت شده است ولی این افزایش در گروه مربوط به نمونه‌های دارای نانورس و فاقد اسانس مریم‌گلی مشهودتر می‌باشد. به کارگیری همزمان اسانس مریم‌گلی و نانورس موجب افزایش معنی‌داری در میزان ضخامت نمونه‌های تولیدی شد ($P < 0.0001$). بطوریکه نمونه فیلم حاوی ۱٪ نانورس و ۱٪ اسانس مریم‌گلی دارای بیشترین ضخامت (۰/۲۱۳ mm) بین تمام نمونه‌های تولیدی بود. نتایج حاصل با نتایج پیروزی‌فرد و همکاران (۲۰۲۰) مبنی بر تاثیر اسانس مریم‌گلی بر افزایش ضخامت فیلم‌های تولیدی بر پایه نشاسته سیب‌زمینی مطابقت داشت [۱۷]. نتایج حاصل از پژوهش قادرمرزی و همکاران (۱۳۹۴) و سالارباشی و همکاران (۱۳۹۵) مغایر با نتایج این تحقیق می‌باشد. آنها در بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلم‌های تهیه شده حاوی نانو اکسید تیتانیوم با پایه پلی‌ساکارید آرد سویا گزارش کردند که ضخامت فیلم‌ها با افزایش مقدار نانو اکسید تیتانیوم کاهش می‌یابد [۱۸، ۱۹].

Design-Expert® Software
Thickness
X1=A: Essential oil
X2=B: Nano clay

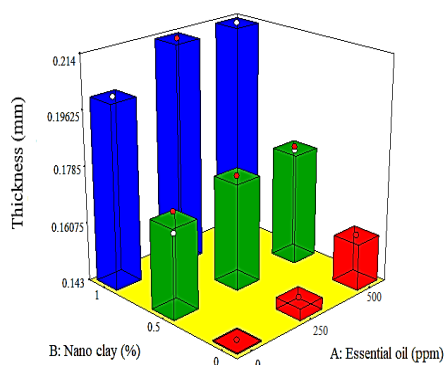


Fig 1: Influence of Nanoclay and *salvia officinalis* essential oil on thickness of films

۲-۳- محتوای رطوبتی

افزودن نانورس از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی و کوالانسی با شبکه پروتئینی موجب کاهش گروه‌های هیدروژنی آزاد در دسترس جهت تشکیل پیوندهای آب‌دوست با آب و نهایتاً موجب کاهش فعالیت آبی و رطوبت فیلم‌های پروتئینی شده است [۲۰]. با توجه به نتایج حاصل از شکل ۲، با افزودن نانورس به فیلم شاهد و افزایش

برای طیف‌سنجی IR، قرص‌های نازک با ضخامت کمتر از یک میلی‌متر از اختلاط و آسیاب نمونه فیلم پوشش‌دار شده با پتاسیم‌برمید خشک به نسبت ۱:۲۰ و اعمال فشار حدود ۶۰ Kpa به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه تهیه قرص، به دست آمد و طیف عبور نمونه‌ها در ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1} محدوده عدد موجی و با قدرت تفکیک ۰/۵ cm^{-1} در دستگاه (Spectrum Two, Perkin Elmer) گروه شیمی دانشگاه ارومیه مورد آنالیز قرار گرفت.

۲-۲- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

بررسی ریزساختار فیلم‌های تولیدی به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی Tescan Vegan-3 موجود در پژوهشگاه متالورژی تهران انجام گرفت. تصویربرداری از نمونه‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی با کاربری ۲۰ کیلووات و در بزرگ‌نمایی ۲۰ μm انجام پذیرفت [۱۲].

۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

جامعه آماری شامل ۹ فیلم ایزوله پروتئین سویا حاوی نانوذره مونت موریلونیت در غلظت‌های مختلف (۰، ۵۰ و ۱۰۰٪) و اسانس مریم‌گلی با غلظت‌های مختلف (۰، ۵۰۰، ۲۵۰ ppm و صفر) می‌باشد. همه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند. تحلیل و ارزیابی داده‌ها (ANOVA) در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار Design Expert در سطح احتمال ۰/۰۱٪ ($P < 0.0001$) انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ضخامت

ضخامت ازجمله فاکتورهای مهم در فیلم‌ها بوده و به‌طور مستقیم روی ویژگی‌های نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن، خواص مکانیکی و در نتیجه بر ویژگی‌های بیولوژیکی و ماندگاری محصول بسته‌بندی شده تأثیر می‌گذارد. طبق بررسی نتایج داده‌های حاصل از ضخامت نمونه فیلم‌های تولیدی در شکل ۱، اختلاف بین ضخامت تیمارهای مختلف معنی‌دار بود ($P < 0.0001$). نمونه فیلم ایزوله پروتئین سویای خالص نسبت به سایر نمونه‌ها کمترین میزان ضخامت (۰/۱۴۳ mm) را در بین فیلم‌های تولیدی دارا بود. در بین نمونه‌های فاقد اسانس با افزوده شدن درصد‌های مختلف از نانورس به ترکیب فیلم پروتئینی، میزان ضخامت نمونه‌ها افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.0001$). علت افزایش ضخامت

باشد. حلالیت فیلم ها در آب، تعیین کننده انتشار ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی از فیلم های فعال است زمانی که برای پوشش مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد [۲۳]. میزان حلالیت فیلم های تولیدی در آب در شکل ۳ ارائه شده است. دلیل این کاهش حلالیت بین نمونه های دارای نانورس فاقد اسانس را می توان افزایش خواص ممانعتی پروتئین سویا در اثر افزودن نانورس به دلیل ساختار دیسک مانند نانورس و یا فعل و انفعالات ناشی از تشکیل پیوند بین نانوذره و پروتئین سویا و تثبیت ساختار فیلم در نتیجه آن بیان کرد. به عبارت دیگر آب به اندازه کافی قادر به شکستن پیوند هیدروژنی بین لایه های نانورس و پروتئین سویا نبوده که این موضوع موجب کاهش حلالیت در نانوکامپوزیت می گردد. با افزوده شدن اسانس مریم گلی به ترکیب ساختاری فیلم، شاهد کاهش چشم گیر میزان حلالیت نمونه ها هستیم. دلیل این امر را می توان ایجاد پیوندهای عرضی بین محتوای اسانس و ایزوله پروتئین سویا دانست. اتصالات عرضی ایجاد شده در کاهش میزان حلالیت فیلم و تولید فیلم مقاوم در برابر آب بسیار موثر است. ایجاد این اتصالات منجر به کاهش گروه های هیدروکسیل و آمین آزاد موجود در شبکه فیلم می شود. بر این اساس می توان گفت افزودن اسانس گیاهی به ماتریس فیلم پروتئینی، میزان اتصالات هیدروژنی موجود بین مولکول های آب و گروه های عاملی زنجیرهای پلیمری را کاهش داد که در نهایت کاهش اتصالات هیدروژنی منجر به کاهش میزان رطوبت فیلم های حاوی اسانس شد [۲۴]. نتایج مشابهی از مطالعات دیگر محققان مبنی بر تاثیر نانوذرات و اسانس های مختلف و افزایش غلظت به کار رفته از آنها در ترکیب فیلم های تولیدی بر کاهش میزان انحلال پذیری فیلم ها گزارش شده است [۲۴، ۲۵].

Design-Expert® Software
Solubility
X1=A: Essential oil
X2=B: Nano clay

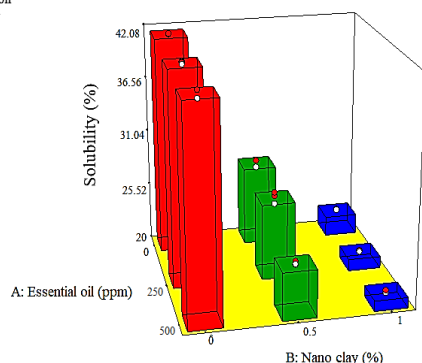


Fig 3: Influence of Nanoclay and *salvia officinalis* essential oil on Solubility of films

۳-۴- نفوذپذیری نسبت به بخار آب

میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم های خوراکی و زیست تخریب پذیر با نوع کاربرد آنها مرتبط است؛ به طوری که نمی توان

درصد افزوده شده به همراه اسانس، میزان رطوبت فیلم ها کاهش یافت. این کاهش رطوبت در نمونه های حاوی اسانس دارای افزایش بیشتری بوده است. علت این پدیده، افزایش میزان مواد جامد و نیز اثر دافع اسید چرب موجود در اسانس با پوشاندن گروه های فعال پروتئین سبب از دسترس خارج نمودن آنها شده و لذا از اتصالات هیدروژنی توسط مولکول های آب با آن گروه ها جلوگیری می کند [۲۱]. طبق نتایج بدست آمده، اثر اسانس بر میزان رطوبت معنی دار بود که احتمالاً به دلیل آب گریز بودن اسانس و جلوگیری از جذب بیشتر رطوبت باشد که البته بسته به ترکیبات اسانس های مختلف میزان این تاثیرگذاری می تواند متفاوت باشد. اسانس ترکیب شده با فیلم باعث جلوگیری از جذب رطوبت زیاد توسط گلیسرول ترکیب شده با فیلم به خاطر خاصیت آب گریزی اسانس می شود در حالی که گلیسرول در فیلم بدون اسانس بدون هیچ مانعی می تواند حداکثر رطوبت را جذب خود کرده و متورم شود و باعث افزایش ضخامت فیلم گردد [۱۸]. افزودن نانورس از طریق پیوندهای هیدروژنی و کووالانسی با شبکه پروتئینی موجب کاهش گروه های هیدروژنی آزاد در دسترس جهت تشکیل پیوندهای آب دوست با آب و نهایتاً موجب کاهش فعالیت آبی و رطوبت فیلم های پروتئینی شده است [۲۰]. نتایج حاصل با نتایج تحقیق سالارباشی و همکاران (۱۳۹۵) که ویژگی های فیلم حاوی نانو اکسید تیتانیوم با پایه پلی ساکارید آرد سویا را بررسی کردند مطابقت داشته و گزارش نمودند که با افزودن نانو اکسید تیتانیوم به ترکیب فیلم، میزان رطوبت موجود در آن ها به طور معنی داری کاهش یافت [۱۹]. نتیجه حاصل از تاثیر اسانس بر کاهش محتوای رطوبتی فیلم ها با نتایج تحقیقات مشابه پژوهشگران مطابقت داشت [۱۷، ۲۲].

Design-Expert® Software
Moisture
X1=A: Essential oil
X2=B: Nano clay

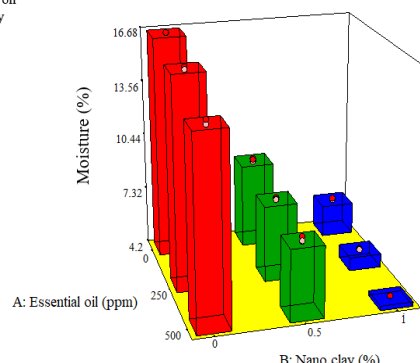


Fig 2: Influence of Nanoclay and *salvia officinalis* essential oil on Moisture of films

۳-۳- حلالیت

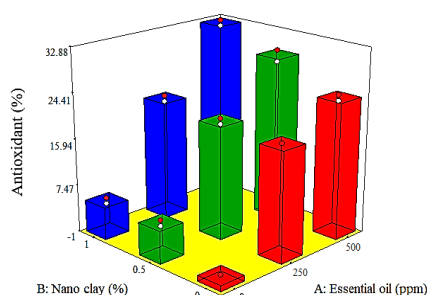
حلالیت در آب می تواند یکی از مهم ترین خصوصیات برای فیلم های خوراکی به دلیل مقاومت در برابر آب به ویژه در محیط های مرطوب

Fig 4: Influence of Nanoclay and *salvia officinalis* essential oil on WVP of films

۳-۵- خاصیت آنتی اکسیدانی

مقدار ترکیبات فنولیک کل شاخصی از توان آنتی اکسیدانی گیاه است. مریم گلی دارای ترکیبات فنولیک بالاتری نسبت به بسیاری از گیاهان دارویی دیگر مانند بابونه، همیشه بهار، ریواس و اسطوخودوس می باشد [۳۱]. در اسانس مریم گلی، مونوترپن های اکسیژن دار با مقدار نزدیک به ۶۰ درصد و بعد از آن هیدروکربن های اکسیژن دار با حدود ۲۰ درصد وجود دارند و مهم ترین ترکیبات این گروه ها، آلفاتوژن، کامفور، ویریدی فلورول، بورنئول، ۱ و ۸- سینئول، بتاتوژن و بورنیل استات هستند که مقدار این ترکیبات در شرایط مختلف، قدرت آنتی اکسیدانی مختلفی خواهند داشت [۳۲]. نتایج بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم ها در شکل ۵ ارائه شده است. افزودن درصد های مختلف از نانورس به ترکیب فیلم ایزوله پروتئین سویا موجب افزایش معنی داری در محتوای آنتی اکسیدانی نمونه های فاقد اسانس شد و این افزایش در بین نمونه های فاقد نانورس با اضافه شدن غلظت های بیشتر از اسانس در ترکیب فیلم بسیار مشهودتر می باشد. در نمونه های ترکیبی نانورس و اسانس، افزایش معنی داری در میزان محتوای آنتی اکسیدانی نمونه ها دیده می شود که بیانگر تشدید محتوای آنتی اکسیدانی نمونه ها به دلیل وجود همزمان نانوذره و اسانس می باشد (نمونه N_1E_{500} با $32/88\%$ بیشترین محتوای آنتی اکسیدانی را بین نمونه ها دارا بود). نتایج تحقیقات دیگر نیز حاکی از افزایش قدرت آنتی اکسیدانی در اثر افزودن اسانس و عصاره گیاهی به ماتریس پروتئینی و کربوهیدراتی فیلم ها می باشد [۱۷، ۲۲، ۲۷، ۳۳].

Design-Expert® Software
Antioxidant
X1=A: Essential oil
X2=B: Nano clay

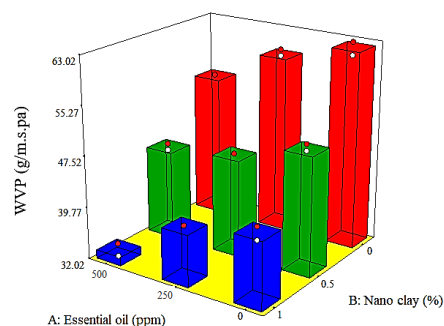
Fig 5: Influence of Nanoclay and *salvia officinalis* essential oil on Antioxidant property of films

۳-۶- رنگ سنجی

جدول ۱ پارامترهای L^* , a^* , b^* , WI , YI و C^* و ΔE اندازه گیری شده برای نمونه ها را نشان می دهد. شاخص a^* بیانگر میزان قرمزی-سبزی نمونه ها می باشد به طوری که اعداد مثبت نشان دهنده قرمزی و اعداد منفی نشان دهنده سبزی رنگ نمونه ها می باشند. به همین ترتیب

هر نوع غذایی را با یک پلیمر یکسان بسته بندی نمود. اندازه ذرات از جمله عوامل تاثیرگذار بر میزان WVP فیلم های خوراکی و زیست تخریب پذیر است [۲۶]. با توجه به نتایج حاصل از آنالیز شاخص نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم های تولیدی در شکل ۴، علت کاهش نفوذپذیری به بخار آب در اثر افزودن نانورس به ساختار فیلم ها این است که در این غلظت ها زنجیره نانوپروتئین اتصالات کووالانسی و هیدروژنی با یکدیگر دارند و پراکندگی مناسب نانوذره در ماتریس فیلم پروتئینی، مسیر پیچ خورده ای برای عبور مولکول های آب ایجاد کرده و متقابلاً مسیر آب بلوکه شده و نفوذ بخار آب را در سراسر فیلم پوششی مورد نظر، محدود می سازد [۲۷]. همچنین به نظر می رسد کاهش مشاهده شده در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم های با درصد نانورس بالاتر به دلیل حضور نانورس با نسبت بالا بوده باشد که به طور یکنواختی در ماتریکس پلیمری پراکنده شده اند. با اضافه شدن مقادیر مختلف از اسانس مریم گلی به ترکیب فیلم ها، کاهش معنی داری در میزان شاخص WVP نمونه ها دیده شد. در بیان علت این کاهش می توان این گونه بیان کرد که گاهی اوقات زنجیره های پلیمری سبب کاهش ترک پلیمر می شود از این رو با کاهش انتشار از طریق آب از طریق فضای میانی زنجیره های پروتئینی موجب کاهش نفوذپذیری می شود. این موضوع می تواند با شکل گیری شبکه برهم کنشی چربی در ساختار فیلم پروتئینی توضیح داده شود [۲۸]. آتارس و همکاران (۲۰۱۰) با افزودن اسانس های زنجبیل و دارچین به فیلم ایزوله پروتئین سویا، نتیجه گرفتند که اسانس باعث ایجاد تغییرات معنی دار در نفوذپذیری فیلم ها نمی شود [۲۹]. تحقیقات دیگر نشان دهنده کاهش نفوذپذیری به بخار آب فیلم های زیست بسپاری در اثر افزودن اسانس است. محققین علت کاهش میزان نفوذپذیری را اثر دفع کننده ترکیبات غیرقطبی موجود در اسانس ها بر مولکول های آب ذکر کرده اند [۱۷، ۳۰].

Design-Expert® Software
WVP
X1=A: Essential oil
X2=B: Nano clay



مونت موریولیت بر خصوصیات فیلم ترکیبی کفیران - پروتئین آب پنیر پرداختند، به نتایج مشابهی دست یافته اند [۳۴]. کروما (C*) معیار تفاوت یک رنگ از رنگ خاکستری می باشد و به صورت معیار خلوص تعریف می شود. محاسبه میزان کروما در نمونه ها حاکی از بیشترین میزان خلوص رنگ در نمونه های فیلم حاوی NiE_{500} به مقدار ۲۸/۵۷ و کمترین میزان کروما در نمونه شاهد به میزان ۱۵/۳۵ می باشد. نوشیروانی و همکاران نیز با تهیه فیلم های فعال بر پایه کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسیداولئیک حاوی اسانس زنجبیل گزارش دادند که افزودن اسانس زنجبیل باعث کاهش معنی دار روشنایی و افزایش زردی و سبزی فیلم ها شد. همچنین درجه خلوص رنگ (شاخص کروما) با افزودن اسانس زنجبیل و افزایش غلظت آن به طور معنی داری افزایش یافت که بیانگر اثر اسانس زنجبیل بر روی رنگ فیلم کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسیداولئیک بوده است [۳۵]. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج قادرمرزی و همکاران که تاثیر اسانس مریم گلی را بر روی فیلم های خوراکی HPMC بررسی کردند مطابقت دارد [۱۸].

شاخص b^* بیانگر زرد-آبی بودن رنگ نمونه ها بوده و ارزش b^* منفی، نشان دهنده وجود ته رنگ آبی و b^* مثبت، نشان دهنده ته رنگ زرد در نمونه ها می باشد. مقادیر a^* به دست آمده برای تمامی نمونه ها مقداری منفی بودند که مطابق توضیحات ارائه شده، بیانگر رنگ سبز در نمونه ها می باشد. اسانس مریم گلی دارای رنگ زرد کم رنگ می باشد که با افزودن غلظت های مختلف از این اسانس به ترکیب فیلم ها و اثر هم افزایی رنگ این اسانس با نانورس، میزان ضریب سفیدی و شفافیت نمونه های حاوی اسانس نسبت به نمونه های فاقد اسانس به طور معنی داری کاهش یافته است. به طور کلی با افزودن نانورس فاکتور L^* و b^* افزایش یافته است. همان طور که ملاحظه می شود کاهش در مقدار فاکتور L معنی دار نبوده که این می تواند ناشی از خاصیت آب دوستی نانورس و سازگاری آن با شبکه پروتئینی باشد [۲۴]. اختلاف رنگ کلی (ΔE) معیاری برای سنجش میزان شفافیت فیلم هاست. کاهش فاکتور a^* و افزایش فاکتور b بیانگر افزایش رنگ سبز و زرد در نانو کامپوزیت های حاصله است. همچنین افزایش نانورس باعث افزایش ΔE و اندیس زردی (YI) و کاهش اندیس سفیدی (WI) شده است. زلفی و همکاران (۲۰۱۴) که به بررسی اثر

Table 1: Colorimetric data (L^* , a^* , b^* , WI, C*, YI, ΔE) analysis of biodegradable films

Sample	L^*	a^*	b^*	C*	WI	YI	ΔE
N_0E_0	59.63 ^a	-1.419 ^g	13.017 ⁱ	15.351 ⁱ	65.403 ^a	4.006 ⁱ	61.473 ^a
N_0E_{250}	78.107 ^c	-1.651 ^h	14.604 ^h	16.413 ^h	64.364 ^c	9.722 ^h	63.516 ^c
N_0E_{500}	78.964 ^b	-1.995 ⁱ	14.890 ^g	16.973 ^g	64.994 ^b	10.481 ^g	63.842 ^b
$N_{0.5}E_0$	77.171 ^d	-4.375 ^d	26.410 ^f	27.527 ^f	59.166 ^d	31.682 ^f	80.517 ^d
$N_{0.5}E_{250}$	76.351 ^e	-4.627 ^e	26.607 ^e	27.892 ^e	58.514 ^e	33.005 ^e	80.680 ^e
$N_{0.5}E_{500}$	76.618 ^f	-4.831 ^f	26.981 ^d	27.907 ^d	57.755 ^f	34.207 ^d	80.794 ^f
N_1E_0	80.207 ^g	-5/116 ^c	23.019 ^c	28.146 ^c	54.110 ^g	44.155 ^c	83.251 ^g
N_1E_{250}	81.318 ^h	-5.326 ^b	24.163 ^b	28.296 ^b	54.376 ^h	46.362 ^b	84.559 ^h
N_1E_{500}	81.956 ⁱ	-5.710 ^a	24.876 ^a	28.571 ^a	53.101 ⁱ	48.172 ^a	84.847 ⁱ

Different letters in each column indicate the significance of the differences ($P < 0.0001$)

مات و غیر شفاف در فیلم های زیست تخریب پذیر محتوی نانورس مسیر عبور نور را از میان شبکه فیلم مسدود می نماید و در نتیجه سبب کاهش شفافیت فیلم های کامپوزیتی دارای نانورس می شود. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج سوتورنویت و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت [۲۴].

Design-Expert® Software
Transparency
X1=A: Essential oil
X2=B: Nano clay

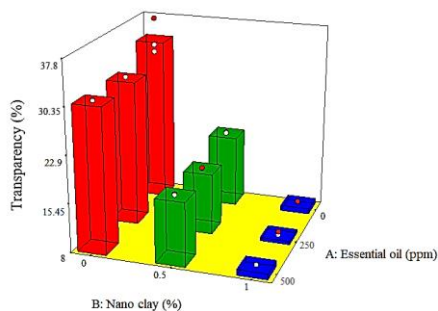


Fig 6: Influence of Nanoclay and *salvia officinalis* essential oil on Transparency of films

۳-۸- خواص مکانیکی

۳-۷- شفافیت و عبور نور

تابش نور یکی از مهم ترین عوامل فساد مواد غذایی می باشد، برخی از محصولات به حدی نسبت به نور حساس اند که رنگ، بو و طعم آن ها با حداقل اکسیداسیون حاصل از تاثیرات نور دچار تغییرات شدیدی می شود. چالش عمده برای چنین محصولاتی محافظت از محتویات بسته در برابر ورود نور از منابع مختلف می باشد [۳۶]. در بررسی میزان شفافیت فیلم ها، نمونه شاهد نسبت به دیگر نمونه ها از اختلاف معنی داری برخوردار بود. شفافیت فیلم ها تحت تاثیر ضخامت فیلم ها قرار می گیرد. مطابق با شکل ۶، نمونه شاهد با کمترین میزان ضخامت، نسبت به سایر نمونه ها از میزان شفافیت بالا و کدورت کمتری برخوردار بود. شفافیت فیلم های نانو کامپوزیتی به طور معنی داری با افزایش مقدار نانورس کاهش یافت. این کاهش شفافیت در بین نمونه های با درصد بالاتر نانورس و اسانس مشهودتر می باشد. ظاهر

[۱۴]. افزایش TS فیلم در اثر افزودن MMT^۹ را می‌توان به چند عامل از جمله پراکندگی یکنواخت نانو ذرات MMT در ماتریس پروتئینی سویا، برهمکنش قوی بین ایزوله پروتئین سویا و سطح گسترده سیلیکات لایه‌ای نانورس از طریق پیوندهای هیدروژنی و یا یونی و اثر تقویت‌کنندگی نانورس در نتیجه انتقال تنش موثر از طریق سطح مشترک به صفحات نانو رس نسبت داد. رفتار مشابهی در مورد اثر افزودن نانو ذرات به سایر نانوکامپوزیت‌های پلیمری همچون نشاسته، آگار و پروتئین سویا گزارش شده است [۳۸، ۳۹].

Table 2: Data analysis of mechanical properties of biodegradable films

Sample	Tensile Strength (MPa)	Gradient (kg.s)	Strain to Break (%)
NoE ₀	5.037 ^d	0.209 ^d	22.325 ^a
NoE ₅₀₀	6.137 ^c	0.265 ^c	20.417 ^b
No.5E ₂₅₀	8.452 ^a	0.295 ^b	12.639 ^c
N ₁ E ₀	8.637 ^a	0.308 ^a	8.527 ^d

Different letters in each column indicate the significance of the differences (P<0.0001)

۳-۹- طیف سنجی فروسرخ

فرکانس تابش الکترومغناطیس در ناحیه زیرقرمز (IR) مطابق با فرکانس ارتعاش طبیعی اتم‌های یک پیوند است و پس از جذب امواج زیرقرمز در یک مولکول، باعث ایجاد مجموعه‌ای از حرکت‌های ارتعاشی در آن می‌شود که اساس و مبنای طیف‌سنجی زیرقرمز را تشکیل می‌دهد [۴۰]. شکل ۷ طیف‌های مربوط به فیلم ایزوله پروتئین سویای خالص و فیلم‌های حاوی نانورس و اسانس مریم‌گلی را نشان می‌دهد. طیف‌های به‌دست آمده از نمونه شاهد با سایر فیلم‌های تولیدی مشابه هم بوده و تنها در چند قسمت دارای تفاوت می‌باشند که این تفاوت‌ها بیانگر ایجاد پیوندهای جدید بدلیل ترکیبات مختلف مورد استفاده در ساختار فیلم‌ها می‌باشند که پیک‌های تولیدی به طول موج‌های دیگری شیف‌ت داده شده‌اند. هر سه نمونه فیلم مورد بررسی دارای پیک‌های مشترک در طول موج‌های 747.64 cm^{-1} تا 747.64 cm^{-1} $1652/70$ می‌باشند که بیانگر وجود پیوندهای قوی C-Br، C-Cl، پیوندهای کششی قوی C-OH و C-O-C در ساختار ایزوله پروتئین سویا می‌باشد. این مجموعه پیک‌ها را به پیوندهای هیدروژنی کششی و گروه‌های هیدروکسیل خمشی موجود در ساختار نانورس نیز می‌توان نسبت داد. این تغییرات در طیف‌های نمونه‌های حاوی نانورس احتمالاً به سبب واکنش بین باندهای کششی O-H داخلی و گروه‌های O-H موجود در گروه‌های کربوکسیل ایزوله پروتئین سویا با گروه‌های سطحی نانورس است [۴۱]. پیک‌های ایجاد شده در محدوده طول موج $1502/76 \text{ cm}^{-1}$ در نمونه‌های b و c بیانگر وجود پیوندهای ضعیف آروماتیک C=C و پیوندهای آمیدی C=O به دلیل حضور اسانس مریم‌گلی در ترکیب ساختاری این فیلم‌ها می‌باشد. این

نتایج مربوط به درصد ازدیاد طول و مقاومت کششی فیلم‌ها در جدول ۲ نشانگر افزایش TS و کاهش میزان ازدیاد طول در نقطه شکست در اثر افزودن نانورس و اسانس مریم‌گلی به درون ماتریس پروتئینی می‌باشد نمونه فیلم خالص ایزوله پروتئین سویا میزان مقاومت کششی کمتری نسبت به نانوکامپوزیت دارا می‌باشد. بیشترین مقدار TS مربوط به نمونه N₁E₀ و بیشترین درصد ازدیاد طول در نقطه شکست مربوط به فیلم شاهد (NoE₀) می‌باشد. بطورکلی با افزوده شدن درصد‌های مختلف از نانورس به ترکیب فیلم، شاهد افزایش معنی‌داری در میزان شاخص مقاومت کششی نمونه‌ها هستیم. این افزایش در نمونه فاقد اسانس مریم‌گلی مشهودتر می‌باشد. میتوان گفت افزودن اسانس تا حدودی موجب کاهش میزان مقاومت کششی نمونه‌ها در مقایسه با حالت فاقد اسانس شده است. به‌طورکلی حضور اسانس سبب به‌هم خوردن تراکم ساختاری و کاهش مقاومت نمونه‌های حاوی اسانس در برابر کشش می‌شود. بر اساس تحقیقات صورت‌گرفته توسط محققین مختلف، افزودن ترکیبات اسانس به بسپارهای مختلف به علت ایجاد تغییرات در سطح مولکولی، سبب تغییر خواص مکانیکی فیلم‌های تولید شده از این بسپارها می‌شود. این تغییرات به علت تخریب ماتریکس فیلم، در اغلب موارد در جهت کاهش مقاومت فیلم‌ها در برابر کشش می‌باشد [۳۷]. قادرمرزی و همکاران گزارش دادند که در اثر افزودن اسانس مریم‌گلی به فیلم HPMC مقاومت کششی حدود ۳ برابر و مدول‌یابگ بیشتر از ۲ برابر کاهش نشان داد. این محققین بیان کردند که هنگامی که غلظت اسانس زیاد باشد واکنش‌های ضعیفی بین پلیمر و اسانس روغنی ایجاد می‌شود و این امر باعث کاهش مقاومت کششی و درصد کرنش تا نقطه شکست رشته‌های پلیمر می‌شود در حالی‌که در غلظت‌های پایین‌تر این اتفاق کمتر رخ می‌دهد [۱۸]. پیروزی‌فرد و همکاران (۲۰۲۰) در ارزیابی خواص مکانیکی فیلم‌های خوراکی بر پایه نشاسته سیب‌زمینی بیان کردند که افزودن اسانس مریم‌گلی سبب کاهش معنی‌داری بر میزان درصد کشش و مقاومت کششی فیلم‌ها نسبت به نمونه شاهد شد [۱۷]. افزایش سفتی فیلم‌ها بیانگر اثر تقویت‌کنندگی نانوذرات و گواهی بر رفتار شکننده نانوکامپوزیت در اثر افزودن پرکننده یا فیلر به نانوکامپوزیت‌ها است. افزایش در استحکام کششی ممکن است است به استحکام و سفتی ذاتی زنجیره نانورس، توزیع یکنواخت نانوپرکننده‌ها در بستر ماتریس پروتئینی و سازگاری بالا بین ذرات نانو و شبکه پروتئینی به دلیل مساحت سطح بالا و برهمکنش‌های ایجادشده بین نانورس و شبکه پروتئینی مربوطه شود و کاهش آن‌ها در سطوح بالاتر می‌تواند به دلیل تجمع احتمالی نانو ذرات رس و عدم توزیع یکنواخت نانوذرات در بستر پروتئینی باشد

از سطح فیلم های تولیدی در شکل ۸ نشان داده شده است. سطح فیلم شاهد تقریباً صاف بوده و مقدار کمی زبری و برجستگی هایی که در سطح فیلم شاهد مشاهده می شود به احتمال زیاد، به دلیل وجود گرانول های پروتئینی می باشد [۴۲]. تراکم مناسب فیلم شاهد به دلیل برقراری اتصالات محکم بین ترکیبات ایزوله پروتئین سوپای آب دوست هنگام خشک شدن فیلم ها می باشد. با افزودن نانورس به شبکه پروتئینی، سطح کامپوزیت ناهموار و زبرتر و تراکم آن ها کم تر می شود. در نمونه b (۰/۵٪ نانورس و ۲۵۰ ppm اسانس مریم گلی) با افزایش نانورس حالت صافی شبکه از بین رفته و غیر یکنواختی بیشتری نسبت به فیلم شاهد مشاهده می شود، این غیر یکنواختی با افزایش نانورس به مقدار ۱٪ منجر به ایجاد صفحات سیلیکاتی بر روی فیلم می گردد. ترک ها و حفره هایی که در نمونه فیلم های b و c مشاهده می شود ممکن است ناشی از کاهش نیروی بین سطحی ماتریس و نانورس، عدم پخش یکنواخت در سطح شبکه و کاهش چسبندگی بین نانورس و شبکه پروتئینی باشد [۴۳]. با افزودن غلظت های مختلف از اسانس مریم گلی به فیلم ها، سطح فیلم ها نسبت به نمونه شاهد، صاف تر و هموارتر شده و از میزان ترک ها و شکاف های موجود در سطح فیلم به طور قابل ملاحظه ای کاسته شده است که به عنوان یکی از دلایل این امر می توان به ساختار روغنی اسانس اشاره کرد که به دلیل آب گریز بودن، سطح فیلم را پوشش داده و موجب بسته شدن شکاف ها شده است. این کاهش در میزان شکاف ها با توجه به شکل ۸، در نمونه c (۱٪ نانورس و ۵۰۰ ppm اسانس مریم گلی) مشهودتر است. سانگ و همکاران (۲۰۱۳)، اعلام کردند که افزودن نانوذرات رس به فیلم های پروتئینی سبب می شود که فیلم های نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات رس از غیر یکنواختی بیشتری نسبت به فیلم شاهد برخوردار باشند و دلیل آن را قرار گرفتن نانوذرات در میان شبکه به هم پیوسته پروتئین و تخریب پیوستگی شبکه بیان نمودند [۲۰].

گروه ها در ارتباط با ترکیبات موجود در اسانس و تغییر در ارتعاش های ترکیبات پروتئینی و نشان دهنده پیوندهای C-O کششی در پروتئین سوپا و ارتعاش های ساختاری در نانورس می باشد. نوشیروانی و همکاران با بررسی فیلم های فعال بر پایه کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک حاوی اسانس زنجبیل گزارش دادند که با افزودن اسانس به بستر فیلم، پیک مربوط به گروه های آمین و هیدروکسیل در عدد موج های متفاوت تری نسبت به فیلم شاهد ظاهر گردید که بیانگر برقراری پیوندهای هیدروژنی بین بستر پلیمر و اسانس زنجبیل می باشد. این محققین عنوان کردند که شدت پیک های مربوط به متیلن متقارن و نامتقارن در گروه های CH_2 و CH_3 که مربوط به چربی ها می باشد، نیز پس از افزودن اسانس زنجبیل افزایش یافت که بیانگر افزایش آب گریزی فیلم ها با افزودن اسانس زنجبیل می باشد [۳۵]. در مجموع طیف اسپکتروفتومتری فیلم کامپوزیتی نشانگر تاثیر نانورس و اسانس بر موقعیت، عرض و شدت طیف های مربوط به برهمکنش های پروتئین-نانورس بود.

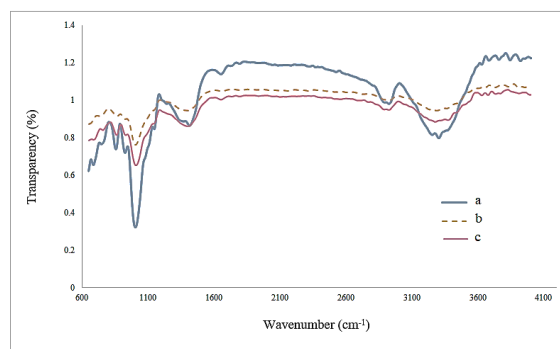


Fig 7: Infrared spectroscopy of Biodegradable films ((a) Soy Protein Isolate without Nano-clay and *salvia officinalis* essential oil, (b) Soy Protein Isolate containing 0.5% Nano-clay and 250 ppm *salvia officinalis* essential oil, (c) Soy Protein Isolate containing 1% Nano-clay and 500 ppm *salvia officinalis* essential oil)

۳-۱۰- میکروسکوپ الکترونی رومیزی

جهت مشاهده و ارزیابی مورفولوژی فیلم ها و پلیمرها از آزمون SEM استفاده می شود. تصویر میکروسکوپی (SEM) گرفته شده

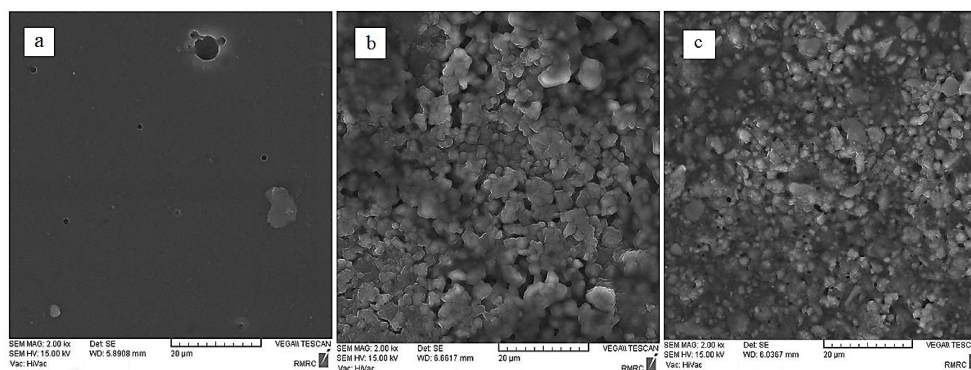


Fig 8: Scanning electron microscopy image of Biodegradable films ((a) Soy Protein Isolate without Nano-clay and *salvia officinalis* essential oil, (b) Soy Protein Isolate containing 0.5% Nano-clay and 250 ppm *salvia officinalis* essential oil, (c) Soy Protein Isolate containing 1% Nano-clay and 500 ppm *salvia officinalis* essential oil)

۴- نتیجه گیری کلی

فناوری نانو پتانسیل بالایی برای ارائه تغییرات مهم در بخش بسته‌بندی مواد غذایی از خود نشان داده است. بکارگیری نانو تقویت‌کننده‌های نانورس باعث بهبود عملکرد کلی ایزوله پروتئین سویا و عاملی برای گسترش استفاده از آن به عنوان بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر خواهد شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، افزودن مقادیر اندک نانورس و اسانس مریم‌گلی به ماتریس شبکه پروتئینی باعث بهبود قابل ملاحظه‌ای در خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم گردید. تعامل مناسب بین ماتریس پروتئینی، نانورس و اسانس مریم‌گلی به عنوان عامل اصلی کاهش WVP و محتوای رطوبتی و افزایش میزان مقاومت کششی و کاهش ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم ایزوله پروتئین سویا بیان شد. با افزایش درصد نانورس و غلظت اسانس، شفافیت فیلم‌ها تحت تاثیر غلظت نانورس کاهش یافت و با توجه به نتایج آزمون SEM سطح فیلم‌های کامپوزیتی غیریکنواخت شد. بررسی سازگاری اسانس مریم‌گلی با ایزوله پروتئین سویا به منظور تولید فیلم فعال بیونانوکامپوزیتی و اثرات آنتی‌اکسیدانی نیز نتایج رضایت‌بخشی در پی داشت و ترکیب اسانس قدرت آنتی‌اکسیدانی مطلوبی به فیلم‌ها بخشید.

۶- منابع

- [8] Zargari, Ali. (2015). Medicinal Plants, Volume 4, Issue 8, University of Tehran Publications, Tehran, 65-61.
- [9] Wang, Y., Zhang, Q., Zhang, C. L., & Li, P. (2012). Characterisation and cooperative antimicrobial properties of chitosan/nano-ZnO composite nanofibrous membranes. *Food Chemistry*, 132(1), 419-427.
- [10] Rhim, J. W., Lee, S. B., & Hong, S. I. (2011). Preparation and characterization of agar/clay nanocomposite films: the effect of clay type. *Journal of food science*, 76(3), 40-48.
- [11] Peng, Y., Wu, Y., & Li, Y. (2013). Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 282-289.
- [12] Casariego, A., Souza, B., Cerqueira, M., Texeira, J., Cruz, Diaz, R., & Vicente, A. (2009). Chitosan-clay films properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles concentration. *Food Hydrocolloids*, 23, 1895- 1902.
- [13] Byun, Y., Kim, Y. T., & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 239-244.
- [14] Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., & Miraki, R. (2013). Plasticizers for zein: their effect on tensile properties and water absorption of zein films. *Cereal chemistry Journal*, 81, 1-5.
- [15] 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.
- [16] Shifeng, Z., Changlei, X., Youming, D., Yutao, Y., & ianzhang, L. (2016). Soy protein isolate-based films reinforced by surface modified cellulose Nano crystal. *Industrial Crops and Products*, 80, 207-213.
- [17] Pirouzifard, M., Ashrafi Yorghani, R., & Pirs, S. (2020). Production of active film based on potato starch containing Zedo gum and essential oil of *Salvia officinalis* and study of physical, mechanical, and antioxidant properties. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 33(7), 1-23.
- [18] Ghadermarzi, R., Karamat, J., & Goli, S. M. (2015). Effect of Oregano Essential Oil on Properties of Hydroxypropylmethylcellulose-Based Edible Film. *Journal of new food technologies*, 2(7), 61-74.
- [19] Salarbashi, D., Mortazavi, A., Shahidi Nougabi, M., Fazli Bazaz, B., Sadaqat, N., Ramezani, M., & Shahabi, A. (2016). Physicochemical and microbial properties of prepared films containing nano titanium oxide based on soybean flour polysaccharide. *Bi-monthly scientific research magazine Tolo Health*, 15(4), 91-103.
- [20] Song, N.B., Jo, W.S., Song, H.Y., Chung, K.S., Won, M., & Song, K.B. (2013). Effect of plasticizers and nano-clay content on physical properties of chicken feather protein composite films. *Food Hydrocolloid*, 31, 340-345.
- [21] Ghasemlou, M., Khaksar, R., Mardani, T., Shahniya, M., & Rashedi, H. (2012). Preparation and evaluation of biodegradable anti-microbial packaging based on corn
- [1] Jung, H. Han. (2013). New technologies in food packaging, Mardafkan, N., & Golzadeh, H. Serva Publications, 550.
- [2] Wu, J., Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., ... & Zhang, Q. (2015). The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocolloids*, 43, 427-435.
- [3] Li, Y., Chen, H., Dong, Y., Li, K., Li, L., & Li, J. (2016). Carbon nanoparticles/soy protein isolate bio-films with excellent mechanical and water barrier properties. *Industrial Crops and Products*, 82, 133-140.
- [4] Picard, E., Gauthier, H., Gérard, J. F., & Espuche, E. (2007). Influence of the intercalated cations on the surface energy of montmorillonites: consequences for the morphology and gas barrier properties of polyethylene/montmorillonites nanocomposites. *Journal of Colloid and Interface Science*, 307(2), 364-376.
- [5] Rhim, J. W., & Kim, Y. T. (2014). Biopolymer-based composite packaging materials with nanoparticles. In *Innovations in food packaging* (pp. 413-442). Academic Press.
- [6] Ghanbarzadeh, B., PEZESHKI, N. A., & Almasi, H. (2011). Antimicrobial edible films for food packaging. *Journal of Food Science and Technology*, 8(1), 123-135.
- [7] Behnam, B., & Aliakbarlou, J. (2013). Antioxidant effects of *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia* essential oils on chicken meat stored at 4 °C. *Journal of Food Industry Research*, 23(4), 533-543.

- Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT - Food Science and Technology*, 46, 477-484.
- [34] Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M. & Hashemi, M. (2014). The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefiran-whey protein by nanoparticle incorporation, *Carbohydrate polymers*, 109, 118-125.
- [35] Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Rezaei Mokarram, R., & Hashemi, M. (2018). Antimicrobial, Antioxidant and Physical Properties of Chitosan-Carboxymethyl Cellulose-Oleic Acid Based Films Incorporated with Cinnamon Essential Oil, *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 13(1), 135-148.
- [36] Oleyayi, Amir., Ghanbarzadrh, Babak., Moayedi, Aliakbar., Poursani, Parisa., & Khatameyan, Masomeh. (2015). Production and investigation of nanostructures and physicochemical properties of biocomposite starch film containing TiO₂ nanoparticles. *Quarterly Journal of Modern Food Technology*, 2(8), 87-101.
- [37] Chen, M. C., Yeh, G. H., & Chiang, B. H. (1996). Antimicrobial, Mechanical and Moisture barrier properties of low pH whey protein based edible films containing a preservative. *Journal of Food Processing and Preservation*, 20, 379-390.
- [38] Huang, M., & Yu, I. (2006). Structure and properties of thermoplastic corn starch/montmorillonite biodegradable composites. *Journal of applied polymer science*, 99, 170-176.
- [39] Kumar, P., Sandeep, K. P., Alavi, S., Truong, V.D., & Gorga, R. (2010). Effect Type and Content of Modified Montmorillonite on the structure and properties of B Nanocomposite Films Based on Soy Protein Isolat and Montmorillonite. *Journal Food Science*, 75, 46-56.
- [40] Jamshidi Kaljahi, N., Ghanbarzadeh, B., DehghannyaM J., Entezami, A. A., & Sowti khiyabani, M. (2014). Plasticized Starch Based Bionanocomposites Containing Cellulose Nanowhiskers and Titanium Dioxide Nanoparticles: Study of Structure and Water Vapor Permeability, *Iranian Journal of Polymer Science & Technology*, 27(3), 192-179.
- [41] Jimenez, A., Fabra, M. J., Talens, P., & Chialt, A. (2012). Effect of sodium caseinate on properties and ageing behavior of corn starch. *Food Hydrocolloids*, 29, 265-271.
- [42] Kowalczyk, D., & Baraniak, B. (2011). Effect of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. *Journal of applied polym science*, 99, 170-176.
- [43] Pereda, M., Amica, G., Racez, I., & Marcovich, N.E. (2011). Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *Journal of Food Engineering*, 103, 76-83.
- starch. *Iranian Journal of Nutrition and Food Technology*, 7(5), 115-123.
- [22] Ashrafi Yorghanlu, R., Hemmati, H., Mohtarami, F., & Moghaddas Kia, E. (2018). Evaluation of Functional, Mechanical and Structural Properties of Film Based Sodium Caseinate-Nanoclay and Echinophora Platyloba Essential Oil, *Journal of Food Science and Technology*, 81(15), 443-455.
- [23] Zahedi, Y., Ghanbarzadeh, B., & Sedaghat, N. (2010). Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. *Journal of Food Engineering*, 100, 102-108.
- [24] Sothornvit, R., Rhim, j., & Hong, s., (2009). Effect of Nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films, *Journal of Food Engineering*, 91, 468-473.
- [25] Alizadeh. V., Barzegar. H., Nasehi. B., & Samavati. V. (2018). Development of a chitosan-montmorillonite nanocomposite film containing *Satureja hortensis* essential oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 13(6), 131-143.
- [26] Perez-Gago, M. B. & Krochta, J. M. (2001). Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein-beeswax emulsion films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 996-1002.
- [27] Abdollahi. M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). A novel bio nanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanolay into chitosan. *Journal of food Engineering*, 111, 343-350.
- [28] Rhim, J. W. & Kim. Y. T. (2014). *Chapter 17 – Biopolymer-Based Composite Packaging Materials with Nanoparticles. In "Innovations in Food Packaging (Second Edition)"* (I. H. Han, ed.). Academic Press. San Diego.
- [29] Atares, L., Jesus, C. D., Talens, P., & Chiralt, A. (2010). Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 99, 384-391.
- [30] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., & Batista, M. (2013). Hake protein edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloid*, 30, 224-231.
- [31] Miliauskasa, G., Venskutonis, P. R., & Beek, T. A.V. (2004). Screening of Radical Scavenging Activity of Some Medicinal and Aromatic Plant Extracts. *Food Chemistry*, 85, 231-237.
- [32] Tel, G., Ozturk, M., Duru, M. E., Harmandar, M., & Topcu, G. (2010). Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3189-3193.
- [33] Moradi, M., Tajik, H., Razavi Rohani., Oromiehie, A., Malekinejad, H., Aliakbarlu, & Hadian, (2012).



Investigating the Functional, Mechanical and Structural Characteristics of Soy Protein Isolate Biodegradable Film Containing Nanoclay (Montmorillonite) and *Salvia officinalis* Essential oil

Roghiye Ashrafi Yorghanlu^{1*}, Mahla Pirouzifard², Haleh Hemmati³

1-Roghiye Ashrafi Yorghanlu^{*}: Associate Professor, Department of Agricultural Engineering, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran.:

2-Mahla Pirouzifard: MSc., Department of Agricultural Engineering, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran.

3-Haleh Hemmati: MSc., Department of Agricultural Engineering, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: Accepted: Keywords: Biodegradable film, Nanoclay, <i>Salvia officinalis</i> essential oil, Soy Protein Isolate DOI: 10.22034/FSCT.21.146.93 *Corresponding Author E-Mail: r.ashrafi1@yahoo.com	In this research, production films based on soy protein were produced with two variables of nanoclay at three levels (0, 0.5 and 1%) and <i>Salvia officinalis</i> Essential oil at three different levels (0, 250 and 500 ppm) and the effect of this Two variables were investigated on the functional, mechanical and structural characteristics of the produced biodegradable films. The results showed that by adding different percentages of nanoclay on the soy protein film substrate, the moisture content, solubility, permeability to water vapor and transparency of the samples decreased significantly compared to the control sample. This decrease in indicators was more evident with increasing concentration of <i>Salvia officinalis</i> Essential oil. Among the production samples, the film containing 1% nanoclay and 500 ppm of <i>Salvia officinalis</i> Essential oil had a water vapor permeability of 32.02×10^{-11} g/m.s.pa. Also, the addition of nanoclay and <i>Salvia officinalis</i> essential oil caused a significant increase in the antioxidant content of the samples, and the sample containing 1% nanoclay and 500 ppm of <i>Salvia officinalis</i> essential oil had the highest antioxidant content with 32.88%. Examining the results of spectroscopy and microstructure of the obtained films also shows the proper interaction between nanoparticle and essential oil with soy protein substrate and creating strong and new bonds. The obtained results showed that the addition of nanoclay and <i>Salvia officinalis</i> essential oil can have positive effects on the physical and structural properties of soy protein isolate film.