

تولید فیلم بیونانو کامپوزیتی از ایزوله پروتئینی گاودانه و نانو ذرات اکسید روی و بررسی خصوصیات عملکردی و موثر بر نگهداری مواد غذایی آن

مریم قدسی^{۱*}، محمد شاهی^۲، مهدی کدیور^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- استاد گروه صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- استاد گروه صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۸)

چکیده

اهداف چهارگانه بسته بندی عبارتند از: نگهداری، محافظت، سهولت و اطلاع رسانی. تمایل به حداقل رساندن فرآیند فرآورده های غذایی، حفظ کیفیت آن و همچنین ممانعت از شیوع بیماری ها باعث شده راه های جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها و استفاده از مواد ضد میکروبی در بسته بندی محصولات غذایی گسترش زیادی پیدا کند. بسته بندی فعال، یکی از روش های بسیار کارآمد در حفظ کیفیت و امنیت فرآورده های غذایی و بستری مناسب جهت افزودن طیف وسیعی از ترکیبات مختلف از جمله عوامل ضد میکروبی است. در این مطالعه، فیلم بیونانوکامپوزیتی از پروتئین گیاه گاودانه به همراه نانو ذرات اکسید روی، جهت تولید یک بسته ضد میکروبی از افزودن ۰.۵W/W از ایزوله پروتئینی گاودانه و سطوح مختلف ۱، ۰.۲۵ و ۲ درصد نانو ذرات اکسید روی، به همراه گلیسرول به عنوان نرم کننده تهیه شد. خصوصیات مکانیکی و ممانعتی فیلم های بیونانوکامپوزیتی ارزیابی شده و مشخص گردید که افزودن نانو ذرات اکسید روی به عنوان یک عامل ضد میکروبی به فیلم های پروتئینی سبب کاهش شدید تراوایی فیلم ها نسبت به عبور گاز اکسیژن می شود. همچنین میزان نفوذ پذیری فیلم های بیونانوکامپوزیتی نسبت به عبور بخار آب در مقایسه با فیلم شاهد کاهش یافت. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد در غلظت های کم نانو ذرات مصرفی به دلیل بهم چسبیدن کمتر ذرات، توده های حجیم درون بافت فیلم کمتر ایجاد شده، بنابراین تاثیر سطوح پایین تر بر بهبود خواص عملکردی فیلم بیونانوکامپوزیتی بیشتر بود. اثر افزودن نانو ذرات بر خواص مکانیکی سبب افزایش مقاومت کششی نمونه ها، کاهش کشش پذیری و افزایش مدول الاستیسیته شد.

کلید واژگان: فیلم بیونانوکامپوزیتی، گاودانه، نانو ذرات اکسید روی، خصوصیات عملکردی

* مسئول مکاتبات: m.ghodsi_info@yahoo.com

۱- مقدمه

بسته بندی‌های فعال مواد غذایی، نقش پویایی در حفظ و نگهداری مواد غذایی ایفا می‌کنند و تعامل مناسبی بین غذا و محیط ایجاد می‌کنند. جنبه‌های مختلفی که در تعیین عمر مفید غذاهای بسته بندی شده نقش مهمی دارند شامل: فرآیندهای فیزیولوژیکی (تنفس میوه های تازه و سبزیجات)، شیمیایی (اکسیداسیون لیپیدها)، فیزیکی (کم آبی) و همچنین جنبه های میکروبیولوژیکی بوده که این نوع بسته‌ها توانایی تنظیم آنها را دارند [۱]. مواد ضد میکروبی فراوانی در بسته‌های مواد غذایی استفاده می‌شوند که هریک از این مواد، ویژگی‌ها و مکانیسم اثر خاص خود را دارند. این مواد بر حسب عواملی چون نوع ماده غذایی، نوع میکروارگانیسم‌های موجود و سرعت رشد آنها، فعالیت و گستردگی اثر ضد میکروبی، ترکیب شیمیایی ماده ضد میکروبی و عوامل دیگر انتخاب شده و بکار برده می‌شوند. مواد ضد میکروبی مورد استفاده در این بسته‌ها، باید حتی الامکان اثر گسترده‌ای بر میکروارگانیسم‌ها داشته باشند و در اندازه و مقدار معینی استفاده شوند که هم بتوانند به عمق ماده غذایی نفوذ کرده و موثر باشند و هم اثرات منفی بر روی مصرف کننده نداشته باشند [۲]. از آنجائیکه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها نسبت به ترکیبات ضد میکروبی رایج از جمله آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند، استفاده از فناوری نانو افق روشنی را نمایان می‌سازد. این مزایا از جمله اصلاح مقاومت مکانیکی و مقاومت در برابر اکسیداسیون، خصوصیات محافظتی بالا و در نهایت قابلیت تجزیه پذیری بیولوژیکی ماتریس مواد پلیمری مورد استفاده در بسته بندی هاست. همچنین برخی از نانو مواد می‌توانند ویژگی‌های نفوذ پذیری مواد بسته بندی را تغییر داده، سبب بهبود ویژگی‌های مکانیکی، شیمیایی، حرارتی و میکروبی شوند [۳]. نانو ذرات به تناسب سطح بزرگتری که در مقایسه با ذرات مشابه در مقیاس میکرومتری دارند، بر هم کنش مناسبی بین مواد زمینه‌ای و پرکننده ایجاد کرده و کارایی کامپوزیت حاصله را افزایش می‌دهند [۴]. در بین نانو ذرات فلزی، اکسید روی یکی از نانو ذرات مهم است که به علت داشتن فعالیت تجزیه نوری^۱ مطلوب، ثبات بالا، خواص ضد میکروبی و غیر سمی بودن بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۵]. روی یک فلز کمیاب در طبیعت است و وجودش برای تعداد زیادی از آنزیم‌هایی که

فعالیتشان وابسته به وجود فلزات است، ضروری است [۶]. خاصیت ضد میکروبی اکسید روی از گذشته بسیار دور شناخته شده و کاربردهای فراوانی در ضد عفونی کردن وسایل پزشکی، تصفیه آب، کرم‌ها، لوسیون‌ها و پمادهای ضد باکتری دارد [۷]. بنابراین سعی شد از نانو ذرات اکسید روی استفاده شود تا علاوه بر ایجاد خاصیت ضد میکروبی، خواص عملکردی بسته‌ها بهبود یابد. از طرف دیگر کنترل هزینه های تولید در بسته بندی مواد غذایی فاکتور مهم دیگری که باید مورد توجه قرار گیرد. یافتن منابع اولیه ارزان قیمت در این رابطه می‌تواند بسیار موثر باشد. گاودانه^۲ یک منبع غنی و ارزان قیمت از پروتئین است. گاودانه با نام علمی *ویسیا ارویلیا*^۳ از گونه های جنس ماش و خانواده بقولات با میانگین پروتئین خام ۲۵٪ است که این مقدار پروتئین تقریباً دو برابر پروتئین دانه غلات است [۸]. این گیاه یکی از بقولات قدیمی است که بطور گسترده در مناطق مدیترانه‌ای کشت می‌شود و معمولاً به مصرف انسان نمی‌رسد، اما ارزش تغذیه ای دانه آن برای نشخوار کنندگان و استفاده از آن به عنوان پوشش گیاهی منطقه‌ای موجب کشت مداوم آن در بسیاری از نواحی شده است. کشت و برداشت این محصول بسیار ساده است و مراقبت چندانی نمی‌طلبد و می‌تواند در خاک های کم عمق و قلیایی با حاصلخیزی کم تا متوسط رشد کند و نیازی به افزودن کود ندارد [۹]. بنابراین استفاده از آن به عنوان یک منبع پلیمری از نظر اقتصادی بسیار مقرون به صرفه است، ضمن اینکه توانایی تشکیل فیلم با خصوصیات عملکردی و ظاهری مناسبی را نیز دارد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

نانو ذرات اکسید روی از شرکت نانو سانی خراسان رضوی و دانه گاو دانه از بازار محلی در اصفهان تهیه شد. اسید کلریدریک، هیدروکسید سدیم، اسید استیک، نیترات منیزیم، کلرید کلسیم و گلیسرول از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

2. Bitter vetch
3. *Vicia ervilia*

1. Photocatalytic Activity

۲-۲- استخراج پروتئین

پروتئین دانه‌های گاو دانه بر اساس روش استخراج قلیایی طبق روش شکرانی و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. جهت استخراج بهتر و افزایش راندمان، قبل از استخراج ابتدا دانه‌ها توسط آسیاب برقی کاملاً خرد و به پودر تبدیل شدند. سپس به پودر حاصل به نسبت ۱:۱۰ آب مقطر اضافه شد و با استفاده از محلول قلیایی هیدروکسید سدیم ۱ نرمال pH مخلوط خمیر مانند، به ۱۱ رسانیده شد. مخلوط حاصل در دمای اتاق به مدت یک ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی هم زده و پس از آن با استفاده از سانتریفیوژ در ۲۷۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه، مخلوط دو فاز شده و فاز رویی بصورت یک مایع شفاف جدا شد و با استفاده از محلول اسید کلریدریک یک مولار pH آن به ۵/۴ که pH ایزوالکتریک پروتئین گاو دانه است، رسانده شده و محلول مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۷۰۰ g سانتریفیوژ شد. این بار فاز رویی که مایعی شفاف بود دور ریخته شد و رسوب به جا مانده به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک شد [۱۰].

۲-۳- تهیه فیلم

جهت تهیه فیلم شاهد، ۵ گرم از ایزوله پروتئینی تهیه شده از دانه های گاو دانه در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و مخلوط حاصل جهت هیدراته شدن بهتر پروتئین ها، به مدت ۳۰ دقیقه با استفاده از همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس گلیسرول به عنوان نرم کننده به نسبت ۵۰٪ حجمی/وزنی ایزوله (۲/۵ میلی لیتر) اضافه شد. جهت افزایش حلالیت پروتئین ها، با استفاده از هیدروکسید سدیم ۱ نرمال pH محلول تا ۱۱ افزایش داده شد و محلول به مدت یک ساعت هم زده شد. پس از آن محلول در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد و طی هم زدن ثابت، به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد و جهت حباب زدایی محلول به مدت ۲۰ دقیقه فرا صوت شد. محلول عاری از حباب به آرامی و تحت شرایط کنترل شده برای جلوگیری از ورود حباب به داخل ظرف تفلونی با ابعاد ۲۵ cm × ۲۵ cm ریخته شد. پس از تراز کردن دقیق ظرف داخل آون، محلول سازنده فیلم تحت دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷ ساعت خشک شد. پس از خارج کردن ظرف از آون فیلم به آرامی از سطح ظرف تفلون جدا شد [۱۱]. جهت تهیه فیلم های بیونانوکامپوزیتی حاوی ایزوله پروتئینی گاو دانه و نانو ذرات اکسید روی، نانو ذرات اکسید روی در ۱٪

حجمی / حجمی استیک اسید حل شده و محلول حاصل به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه فراصوت شده و بقیه مراحل مانند قبل انجام شد.

۲-۴- مشروط کردن فیلم ها

قبل از انجام آزمون ها، فیلم های بیونانوکامپوزیتی که بصورت یک صفحه نازک از ظرف مورد استفاده برای ساخت فیلم جدا شده بودند، درون یک دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات منیزیم در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی گراد) که رطوبت نسبی ۵۰٪ ایجاد می کند، به مدت ۴۸ ساعت مشروط شدند تا به تعادل رطوبتی برسند.

۲-۵- ضخامت فیلم ها

ضخامت فیلم های تولید شده قبل از انجام آزمون های مختلف، با استفاده از یک میکرومتر دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ میلیمتر در ۱۰ نقطه تصادفی بر روی فیلم که از قسمت های مختلف آن انتخاب شده بودند، اندازه گیری شد. میانگین هر ۱۰ ضخامت اندازه گیری شده برای هر نمونه در محاسبات انجام شده لحاظ شد.

۲-۶- نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به بخار آب

نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به بخار آب طبق استاندارد ASTM 96-00 در ۳ تکرار برای هر یک از نمونه ها اندازه گیری شد. اساس این روش بر پایه وزن سنجی است؛ برای این منظور سه گرم کلرید کلسیم بدون آب به عنوان یک ماده جاذب الرطوبه درون یک سری ظروف شیشه در دار ریخته شد. این ظروف شیشه ای دارای ارتفاع ۸ cm، قطر ۲/۵ cm و کامل نفوذ ناپذیر بودند. روی در این ظروف منفذی با قطر ۸ mm ایجاد شد و نمونه ها با قطر ۲/۵ cm برش داده شده و بر سطح داخلی درب ها قرار گرفتند. ظروف شیشه ای همراه با محتویات آن توزین شده و درون دسیکاتوری با رطوبت نسبی ۹۸٪ در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. سولفات کلسیم بدون آب نیز رطوبت نسبی برابر صفر ایجاد می کند. این ظروف به مدت هفت روز با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شدند، بطوری که در روز ششم و هفتم اختلاف وزن نمونه ها ناچیز بود. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم ها، از روی افزایش وزن ظروف تعیین شد. منحنی افزایش وزن ظرف ها با گذشت زمان رسم و از روی معادله رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه شد. از تقسیم

$$P = \frac{Q \times L}{\Delta P \times A}$$

که در این رابطه P ضریب تراوایی^۱ پلیمر کامپوزیت نسبت به گاز ($ml \cdot \mu m/day \cdot Kpa \cdot m^2$)، Q دبی گاز عبوری از فیلم (ml/day)، L ضخامت فیلم (μm)، ΔP اختلاف فشار گاز در دو طرف فیلم (Kpa) که قابل تنظیم می باشد و سطح مقطع فیلم ها (cm^2) می باشد.

۲-۸- بررسی میکروسکوپی فیلم ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل

میدانی FE-SEM

این آزمون جهت بررسی ریزساختار فیلم های تولید شده در آزمایشگاه لایه نازک و نانوالکترونیک دانشکده برق و کامپیوتر دانشگاه تهران انجام شد. جهت عکس برداری از نمونه ها، مراحل آماده سازی نمونه شامل برش در ابعاد مناسب، تمیز کردن در حمام اولتراسونیک- لایه نشانی طلا و شستشو انجام گرفت. این دستگاه، از نوع گسیل میدانی است و اشعه الکترونی از آن با دقت بالا ساطع می گردد. با استفاده از این میکروسکوپ اندازه ذرات کامپوزیت حاوی نانو ذرات نقره درون فیلم های تولید شده و همچنین چگونگی پراکندگی و توزیع آنها در بستر فیلم پلیمری مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۹- بررسی خصوصیات مکانیکی فیلم ها

مقاومت کششی^۲، درصد ازدیاد طول در نقطه شکست^۳ و مدول الاستیک یانگ^۴ فیلم پروتئینی و فیلم های نانوکامپوزیتی تولید شده با استفاده از روش استاندارد ASTM-D882-02 اندازه گیری شد [۱۵]. برای این منظور سه تکرار برای هر یک از نمونه ها از فیلم های مشروط شده آماده شدند و ضخامت آنها در نقاط مختلف اندازه گیری شد. نمونه ها دبللی شکل بصورت زیر با ابعاد $25 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$ برش داده شد و و آنگاه به اندازه یک سانتی متر از هر طرف با استفاده از نوارهای لاستیکی پوشانیده و بین دو فک دستگاه اینستران قرار داده شده و سفت شدند.

کردن شیب مربوط به هر ظرف، به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت؛ سرعت انتقال بخار آب (WVTR) بدست آمد. سپس با استفاده از رابطه زیر، نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به بخار آب (WVP) محاسبه شد:

$$= \frac{WVTR}{P(A_1 - A_2)} \times 100$$

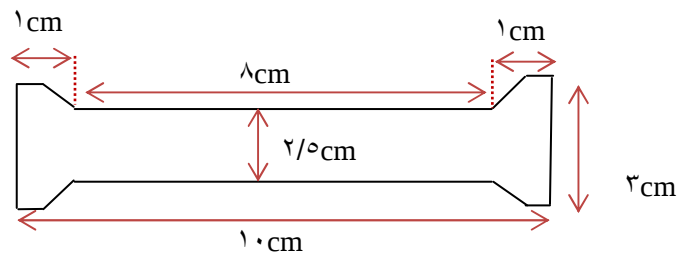
که در این معادله X ضخامت فیلم (m)، P فشار بخار آب خالص در دمای محیط (25 درجه سانتی گراد) (Pa)، R_1 رطوبت نسبی درون دسیکاتور (98 درصد) و R_2 رطوبت نسبی درون ظروف شیشه ای است. از یکسان بودن ضخامت فیلم ها در این آزمون اطمینان حاصل شد [۱۲].

۲-۷- نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به گاز

اکسیژن

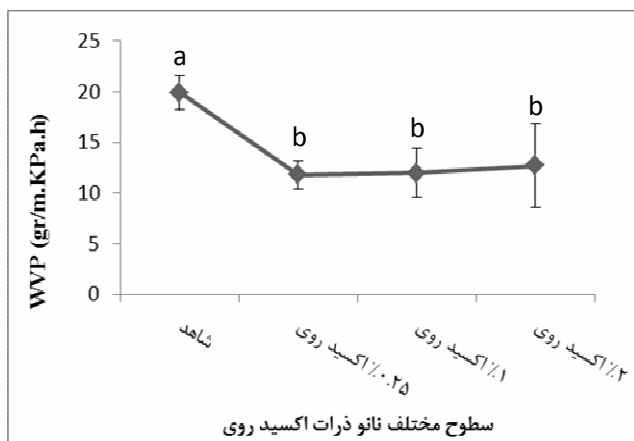
در این آزمون از سیستم حجم ثابت / فشار ثابت تراوش پذیری گاز هادر دانشکده مهندسی شیمی دانشگاه صنعتی اصفهان، برای بررسی میزان نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به گاز اکسیژن استفاده شد [13]. این آزمایش در دمای 25 درجه سانتی گراد انجام شد و نمونه ها قبل از انجام آزمون به مدت 48 ساعت مشروط شدند. این دستگاه شامل بخشی است که نمونه فیلم ها داخل آن قرار گرفته و دو قسمت بالایی و پایینی آن توسط دو گیره روی هم محکم می شود. قطعه بالایی دارای یک شیر ورودی گاز و یک شیر خروجی گاز می باشد. یکی از ورودی های این قسمت گاز اکسیژن را با فشار قابل کنترل به داخل محفظه هدایت کرده و در تماس با نمونه قرار می دهد. در سمت دیگر محفظه یک شلنگ باریک آب قرار گرفته و در اثر فشار گاز عبوری از فیلم، ارتفاع آن افزایش می یابد. برای اینکه فیلم ها در اثر فشار اعمال شده از سوی گاز پاره نشوند قطعه ای دایره ای شکل از جنس تفلون تهیه و به عنوان نگهدارنده فیلم از آن استفاده شد [۱۴]. جهت مسدود کردن کامل قسمت های مختلف و جلوگیری از نشت گاز از لبه های فیلم ها از پارافیلیم استفاده شد. اساس کار این روش تغییرات ارتفاع آب در اثر مقدار گاز عبور کرده از نمونه است و می تواند تحت دماهای مختلف و کنترل شده انجام شود. برای محاسبه میزان تراوایی از شیب خط ارتفاع آب در شلنگ به زمان به عنوان دبی گاز عبوری (Q) استفاده شده و ضریب تراوایی گاز در پلیمر بیونانو کامپوزیتی از رابطه زیر بدست خواهد آمد:

1. Permeability
2. Tensile Strength
3. Elongation At Break
4. Young's Modulus



شکل ۱ حالت دمبلی شکل برش فیلم ها برای آزمون های مکانیکی

حداقل رسانند. بنابراین میزان عبور بخار آب از فیلم ها باید تا حد امکان پایین آورده شود. تراوایی نسبت به بخار آب مواد، مقداری ثابت است که به اختلاف فشار بخار آب در دو طرف ماده بستگی دارد. مواد آبدوست، مانند فیلم های پروتئینی از این رفتار مستثنا هستند که علت آن ممکن است بر همکنش مولکول های آب نفوذ کننده با گروه های قطبی در سطح فیلم باشد. نفوذ پذیری فیلم های خوراکی مربوط به میکرومسیب های موجود در شبکه میکروساختاری پروتئین فیلم است [۱۶]. بنابراین یک راه برای کاهش تراوایی فیلم های پروتئینی پر کردن منافذ موجود در شبکه پروتئینی فیلم است. نانو ذرات فضاهای خالی بین مولکولی را پر می کنند و سبب کاهش نفوذ پذیری نسبت به بخار آب فیلم ها می شوند.



نمودار ۱ اثر سطوح متفاوت نانو ذرات اکسید روی بر

تراوایی نسبت به بخار آب فیلم های بیونانوکامپوزیتی

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می شود، میزان تراوایی نسبت به رطوبت فیلم های بیونانوکامپوزیتی تهیه شده از ایزوله پروتئینی گاودانه حاوی نانو ذرات اکسید روی نسبت به فیلم شاهد کاهش یافت که این موضوع به عنوان یک امتیاز مثبت

فک پایینی دستگاه ثابت و فک بالایی متحرک بود. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب ۸۰ mm و ۵۰ mm/min بود. در این آزمون از لودسل ۵۰ نیوتنی استفاده شد. با شروع کار دستگاه، فیلم بین دو فک کشیده می شود تا زمانی که پاره گردد و داده ها توسط یک رایانه ثبت می شود. مقاومت کششی نمونه ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

مقاومت کششی = حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن / (عرض

فیلم × ضخامت فیلم)

درصد ازدیاد طول در نقطه شکست از رابطه زیر محاسبه شد:

درصد ازدیاد طول = (مقدار اتساع فیلم تا لحظه پارگی / فاصله اولیه

بین دو فک) × ۱۰۰

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

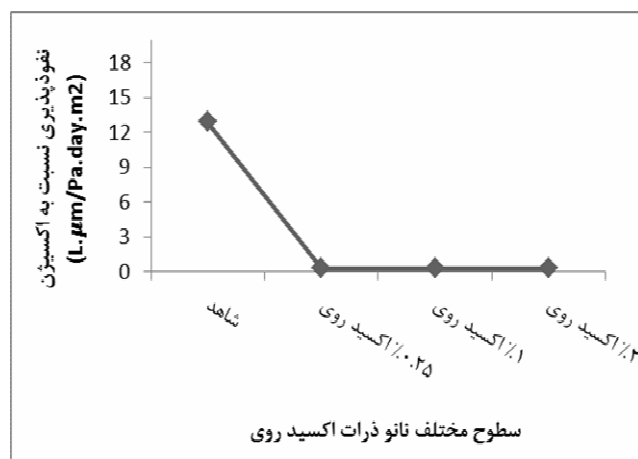
این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار برای هریک از نمونه ها انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل نتایج حاصله از نرم افزار SAS استفاده شده و نمودار ها با استفاده از نرم افزار مایکروسافت اکسل ۲۰۱۰ رسم شد. اثر عوامل مورد بررسی با استفاده از تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) ارزیابی شد.

مقایسه میانگین داده ها بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به بخار آب

فیلم ها به عنوان پوشش و محافظی برای مواد غذایی لازم است مانع از دست رفتن آب سطحی مواد غذایی شده و یا آن را کاهش دهند و تبادل رطوبتی غذا و محیط اطراف را به



نمودار ۲ اثر سطوح متفاوت نانو ذرات اکسید روی بر تراوایی نسبت به گاز اکسیژن فیلم های بیونانوکامپوزیتی

اما سطح میانی نانو ذرات ممانعت ضعیف تری در برابر عبور گاز نشان داد که علت آن ممکن است آگلومره شدن نانو ذرات و در نتیجه افزایش اندازه آنها باشد و این موضوع موجب کاهش تعداد نانو ذرات در حد فاصل رشته های پپتیدی شده و بنابراین نفوذ پذیری افزایش می یابد. مجدداً با افزایش سطح نانو ذرات حتی با وجود آگلومره شدن آنها مشکل کمبود تعداد در فضاهای خالی کمتر شده و نفوذ پذیری مجدداً بهبود می یابد [۱۸]. یینگ و همکاران (۱۹۵۷) نتایج مشابهی در خصوص کاهش نفوذ پذیری نسبت به گاز اکسیژن با افزایش سطح نانو ذرات نقره در غشاء کامپوزیتی تهیه شده از گلو تن گندم گزارش کردند و بیان داشتند در این غشاها نفوذ پذیری در سطوح پایین (۰/۴٪) و سطوح بالا (۱/۸٪) نسبت به سطوح میانی (۱/۲٪) بیشتر بوده است و علت آن را ماهیت فلزی نانو ذرات نقره عنوان کردند که سبب تضعیف واکنش های بین رشته های جانبی زنجیره های پپتیدی و نانو ذرات شده، بنابراین تبلور غشاء نانو کامپوزیتی کمتر شده و نفوذ پذیری غشاء نسبت به گاز اکسیژن افزایش می یابد [۱۹].

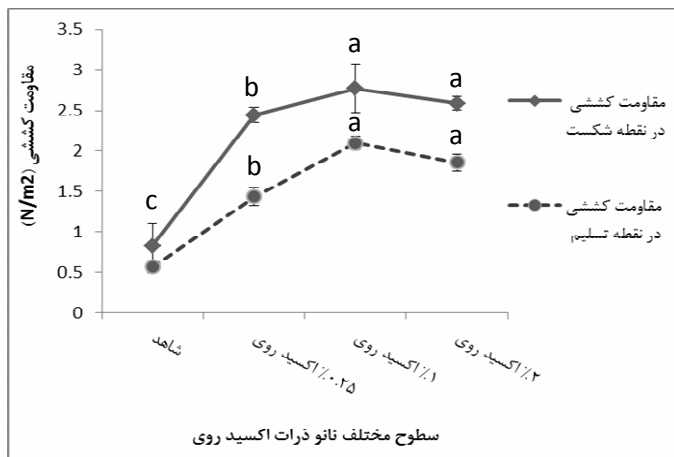
برای این فیلم ها محسوب می شود. اما با توجه به نتایج بدست آمده سطوح متفاوت نانو ذرات تغییر معنی داری در میزان نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به بخار آب ایجاد نکردند و اثر بهبود خواص ممانعتی نانو ذرات با افزایش درصد نانو ذرات مورد استفاده در فیلم ها کاهش یافت که علت آن احتمالاً افزایش تجمع نانو ذرات در قسمت هایی از فیلم و تخریب شبکه پروتئینی در آن نواحی می باشد. پانتانی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند نفوذ پذیری فیلم های پلی لاکتیک اسید حاوی ۱٪ نانو ذرات اکسید روی نسبت به فیلم حاوی ۰٪ نانو ذره کاهش یافت. این اثر برای فیلم حاوی ۳٪ نانو ذره چشمگیرتر بود که دلیل آن نفوذ تعداد بیشتری از نانو ذرات به درون فضاهای خالی ماتریس بسیار می باشد [۱۷].

۲-۳- نفوذ پذیری فیلم ها نسبت به گاز

اکسیژن

تراوایی پایین نسبت به عبور گازها، مخصوصاً گاز اکسیژن در بسته های مواد غذایی حساس به فساد اکسیداتیو و آلودگی به میکروارگانیسم های هوازی از اهمیت بیشتری برخوردار است. بسپارهایی که دارای گروه های توانا در برقراری پیوندهای یونی و هیدروژنی هستند، در رطوبت های نسبی پایین موانع خوبی در برابر عبور گازها هستند. پروتئین ها علی رغم داشتن این ویژگی به علت ماهیت آبدوست آمینواسیدهایی که آنها را تشکیل داده اند، تراوایی نسبتاً بالایی در برابر گازها دارند [۱۸]. همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می شود میزان تراوایی فیلم ها نسبت به عبور گاز با افزودن نانو ذرات نسبت به فیلم شاهد تفاوت معنی داری داشته و تراوایی فیلم های نانو کامپوزیتی به شدت کاهش پیدا کرده است که می تواند به علت نفوذ نانو ذرات در فضای بین زنجیره های پپتیدی در شبکه پروتئینی فیلم و ایجاد مناطق غیر کریستالی بین نانو ذرات و زنجیره های جانبی رشته های پپتیدی و در نتیجه افزایش تراکم فیلم ها باشد.

وجود ساختار منحصر بفرد (بر اساس ۲۰ نوع اسید آمینه متفاوت) و پیوندهای درون مولکولی متعدد در ساختمان آنهاست [۱۸]. از مزایای نانو در صنعت بسته بندی مواد غذایی توسعه موادی با خواص عملکردی متفاوت و جدید است؛ از جمله توسعه بسته هایی با خصوصیات ممانعتی بهبود یافته و افزایش مقاومت در برابر تنش های مکانیکی [۲۱]. همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می شود، با افزودن نانو ذرات اکسید روی حداکثر تحمل کلیه فیلم های بیونانوکامپوزیتی تولید شده افزایش یافته؛ همچنین مقاومت کششی کلیه فیلم ها نسبت به فیلم شاهد تغییر معنی داری را نشان داد.



نمودار ۳ اثر سطوح متفاوت نانو ذرات اکسید روی بر مقاومت کششی فیلم های بیونانوکامپوزیتی

بالاترین مقاومت کششی در نقطه شکست مربوط به فیلم حاوی ۱٪ نانو ذرات اکسید روی بود. مقاومت به کشش فیلم های بیونانوکامپوزیتی تهیه شده نسبت به فیلم های پلی استایرن، سلوفان و فیلم های تهیه شده از متیل سلولز کمتر می باشد که این یکی از معایب این فیلم های زیست تخریب پذیر محسوب می شود. بنابراین بهتر است در مواردی بکار برده شود که فیلم نقش اصلی در حفاظت فیزیکی از فرآورده غذایی در برابر تنش های خارجی را نداشته باشد.

۳-۳- بررسی میکروسکوپی فیلم ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل

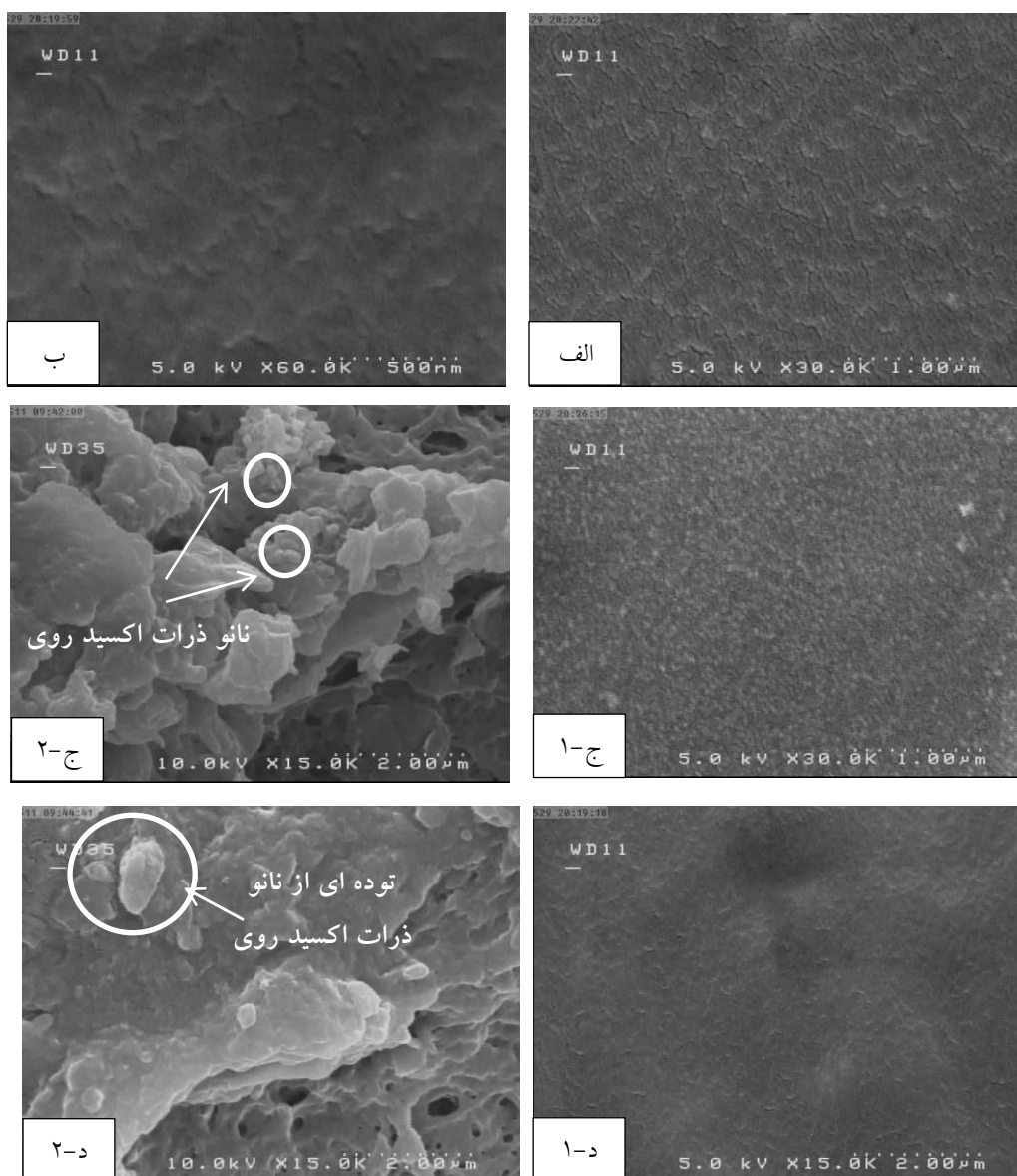
میدانی FE-SEM

برای بررسی شکل شناسی و پراکنش سطوح مختلف نانو ذرات اکسید روی در فیلم های بیونانوکامپوزیتی، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) استفاده شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح و مقطع برش نمونه شاهد و نمونه های حاوی سطوح مختلف نانو ذرات در شکل ۲ نشان داده شده است. فیلم های پروتئینی شاهد فشرده بوده و سطحی نسبتاً صاف و بدون حفره و ترک داشتند (شکل ۲-الف). تراکم مناسب فیلم ها احتمالاً به دلیل برقراری اتصالات محکم بین ترکیبات آبدوست، طی فرآیند آهسته خشک کردن فیلم ها می باشد [۲۰]. تصاویر یکنواختی نسبتاً مطلوبی از نظر توزیع نانو ذرات اکسید روی درون شبکه پروتئینی فیلم را نشان می دهد. توزیع یکنواخت نانو ذرات نشان دهنده عدم بهم چسبیدن آنها و در نتیجه ایجاد اثر مثبت بر خواص ممانعتی، مکانیکی و ظاهری فیلم هاست. با توجه به شکل ۲ (د-۲) که تصویر مقطع عرضی فیلم حاوی ۲٪ نانو ذرات اکسید روی است در مقایسه با تصویر ۲ (ج-۲) که تصویر مقطع عرضی فیلم حاوی ۱٪ نانو ذرات اکسید روی است، توده های درشت تری از نانو ذرات اکسید روی مشاهده می شود که علت آن افزایش مقدار نانو ذرات و بنابراین سطح تماس بیشتر برای چسبیدن نانو ذرات بهم است و اثر منفی آن بر فیلم حاوی ۲٪ نانو ذرات اکسید روی است که در بررسی خصوصیات عملکردی نیز مشهود بود.

۳-۴- بررسی خصوصیات مکانیکی فیلم ها

۳-۴-۱- مقاومت کششی

فیلم های تهیه شده از بسپارهای طبیعی در مجموع خصوصیات عملکردی ضعیفی را در مقایسه با انواع سنتزی نمایان می سازند. اما در بین بسپارهای طبیعی، پروتئین ها خواص مکانیکی مناسب تری در مقایسه با فیلم های پلی ساکاریدی و لیپیدی دارند که به علت



شکل شماره (۲): تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی FE-SEM از فیلم ها

الف - شاهد، ب - ۰/۲۵ درصد اکسید روی، ج- ۱ درصد اکسید روی (تصویر ۲ با بزرگنمایی دو برابر تصویر ۱ گرفته شده است) ،

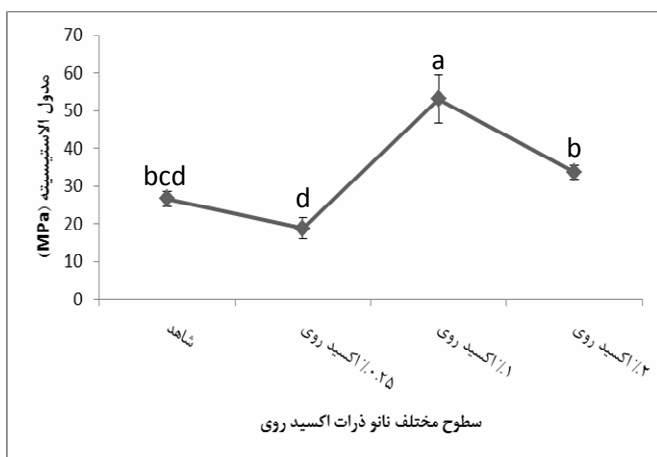
د - ۲ درصد اکسید روی (تصویر ۲ با بزرگنمایی دو برابر تصویر ۱ گرفته شده است)

پیوستگی آن به علت آگلومره شدن نانو ذرات در غلظت های بالا باشد [۲۲].

۳-۴-۲- کشش پذیری

کشش پذیری فیلم های پروتئینی با افزودن نانو ذرات اکسید روی کاهش معنی داری را نشان داد. با توجه به نمودار ۴ بیشترین کشش پذیری مربوط به فیلم پروتئینی شاهد و کمترین کشش پذیری مربوط به فیلم حاوی ۱٪

زائو (۲۰۰۹) طبق گزارش نتایج مشابهی نشان داد که افزودن نانو ذرات اکسید تیتانیوم به فیلم پروتئینی تهیه شده از ایزوله پروتئینی آب پنیر تا سطح ۱٪ از نانو ذرات سبب افزایش مقاومت کششی فیلم ها شده و در مقادیر بیش از ۱٪ از نانو ذرات مقاومت کششی کاهش می یابد و خصوصیات مکانیکی فیلم ها به فیلم شاهد نزدیک می شود که علت آن ممکن است تخریب ساختار شبکه و



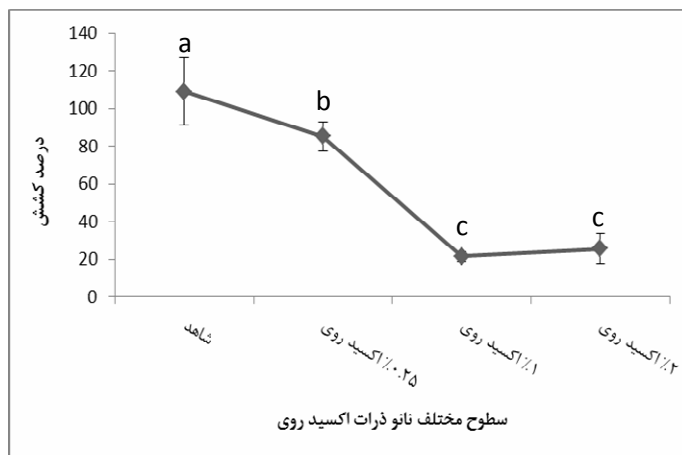
نمودار ۵ اثر سطوح متفاوت نانو ذرات اکسید روی بر مدول الاستیسیته فیلم های بیونانوکامپوزیتی

زائو و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند افزودن نانو ذرات اکسید تیتانیوم به فیلم های پروتئینی آب پنیر تا سطح ۱٪ مقاومت کششی را افزایش و مدول الاستیسیته را کاهش می دهد، اما نانو ذرات نقره و اکسید روی با وجود افزایش مقاومت کششی سبب افزایش مدول الاستیسیته نیز شدند که این موضوع دامنه کاربرد آنها در موارد خاص که نیاز به خصوصیات عملکردی متفاوت در بسته هاست را افزایش می دهد [۲۲]. امامی فر و همکاران (۱۳۸۹) طی گزارش نتایج مشابه نتایج این مطالعه گزارش کردند افزودن نانو ذرات نقره و اکسید روی به فیلم پلی اتیلنی به دلیل تاثیر بر تحرک زنجیره های پلیمر، سبب افزایش مدول الاستیسیته می شود [۲۳].

۴- منابع

- [1] Han, J.H., Ho, C.H., Rodringues, E.T., 2005, Intelligent packaging, Elsevier academic press, London, UK.
- [2] Durango, A.M., Soares, N.F.F., Andrade, N.J., 2006, Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots, Food Control, 17, 336-341.
- [3] Weiss, J., Takhistov, P., McClements, D.J., 2006, Functional Materials in Food Nanotechnology, Journal Of Food Science, 71(9), 107-116.
- [4] Henriette M.C. de Azeredo, 2009, Nanocomposites for food packaging

نانو ذرات اکسید روی بود. در مجموع می توان گفت افزودن نانو ذرات فلزی یا هر نوع ماده دیگری که درون ماتریس مواد پروتئینی قرار گیرد و سبب شکستن پیوندهای بین پروتئین ها شده و نتواند با آنها پیوند جدیدی ایجاد نکرده و یا پیوندهای ضعیف تری نسبت به پیوندهای اولیه ایجاد کند، سبب کاهش کشش پذیری و افت خصوصیات مکانیکی فیلم های مورد استفاده در بسته خواهد شد.



نمودار ۶ اثر سطوح متفاوت نانو ذرات اکسید روی بر کشش پذیری فیلم های بیونانوکامپوزیتی

۳-۴-۳- مدول الاستیسیته

از الاستیسیته برای مقایسه سختی^۱ استفاده می شود. الاستیسیته در واقع شیب نمودار تنش به کرنش است و هرچه شیب منحنی بیشتر باشد، بافت سفت تر خواهد بود. با توجه به نمودار ۵ می توان گفت افزودن نانو ذرات (بجز سطح ۱٪) تغییر معنی داری در مدول الاستیسیته فیلم های بیو نانو کامپوزیتی ایجاد نکرده است.

فیلم بیو نانو کامپوزیتی حاوی ۱٪ نانو ذرات اکسید روی خصوصیات سفت ترین فیلم و فیلم حاوی ۰/۲۵٪ نانو ذرات اکسید روی خصوصیات نرم ترین فیلم را نشان دادند. دلیل سفتی فیلم حاوی ۱ درصد نانو ذرات اکسید روی می تواند توزیع مناسب نانو ذرات درون شبکه و افزایش تراکم بافت فیلم باشد.

- [14] Ramezani Saadat Abadi, A., Gholi Zadeh, M., 1383, Modeling and measurement of oxygen and carbon dioxide gases through low density polyethylene, Ninth National Congress of Chemical Engineering, Iran University of Science and Technology.
- [15] ASTM E D882-02, 2002, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting in manual book of ASTM standards, American Society for Testing and Materials.
- [16] Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G., Leng, X., 2011, Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film, Food Hydrocolloids, 25, 1098-1104.
- [17] Pantani, R., Gorrasi, G., Vigliotta, G., Murariu, M., Dubois, P., 2013, PLA-ZnO nanocomposite films: Water vapor barrier properties and specific end-use characteristics, European Polymer Journal, 49, 3471-3482.
- [18] Wittaya, T., 2012, Protein-Based Edible Films: Characteristics and Improvement of Properties in Structure and Function of Food Engineering, InTech, 43-70.
- [19] Ying, L., L. Runcong, S. Xianliang and L. Guoqing. 1957. Preparation and performance of wheat gluten composite membrane by intermingling nano-silver. Food Science and Technology. 1-7.
- [20] Kowalczyk, D., Baraniak, B. 2011, Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films, Journal of Food Engineering, 105, 295-305.
- [21] Sanguansri, P., Augustin, M.A., 2009, Nanostructured Materials in the Food Industry, Advances in Food and Nutrition Research, 58, 183-213.
- [22] Zhou, J.J., Wang, S.Y., Gunasekaran, S., 2009, Preparation and Characterization of Whey Protein Film Incorporated with TiO₂ Nanoparticles, Journal Of Food Science, 74(7), 50-56.
- [23] Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., Soleimanian-Zad, S., 2011, Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice, Food Control, 22, 408-413.
- applications, Food Research International, 42, 1240-1253
- [5] Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H., Kahru, A., 2008, Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*, Chemosphere, 71, 1308-1316.
- [6] Llorens, A., Lloret, E., Picouet, P.A., Trbojevich, R., Fernandez, A., 2012, Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging, Trends in Food Science and Technology, 24, 19-29.
- [7] Gajjar, P., Pettee, B., Britt, D.W., Huang, W., Johnson, W.P., Anderson, A.J., 2009, Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440, Journal of Biological Engineering, 3(9), 1-13.
- [8] Ghahreman, A., 1372, iran's chromofits, Plant systematics, Second edition, Tehran Academic Publication, Tehran.
- [9] Sadeghi, G.H., Mohammadi, L., Ibrahim, S.A., Gruber, K.J., 2009, Use of bitter vetch (*vicia ervilia*) as a feed ingredient for poultry, World's Poultry Science Journal, 65, 51-64.
- [10] Monsoor, M.A., Yusuf, H.K.M., 2002, In vitro protein digestibility of lathyrus pea (*Lathyrus sativus*), lentil (*Lens culinaris*), and chickpea (*Cicer arietinum*). International Journal of Food Science and Technology., 37, 97-99.
- [11] Bamdad, F., Goli, A.H., Kadivar, M., 2006, Preparation and characterization of proteinous film from lentil (*Lens culinaris*) Edible film from lentil (*Lens culinaris*). Food Research International, 39, 106-111.
- [12] ASTM E 96-00, 2000, Standard test methods for water vapour transmission of materials in manual book of ASTM standards. American Society for Testing and Materials.
- [13] Tabe Mohammadi A., Matsuura T., Sourirajan S., 1995, Design and construction of gas permeation system for the measurement of low permeation rates and permeate compositions; Journal of Membrane Science, 98, 281-286.

Production bionanocomposite films of bitter vetch protein isolate contain ZnO nanoparticles and study functional characterizations and its effect on food storage

Maryam ghodsi, M. ^{1*}, Shahedi, M. ², Kadivar, M. ³

1. Master Student of food science and technology, Isfahan University of Technology

2. Professor of Food Technology Department, Isfahan University of Technology

3. Professor of Food Technology Department, Isfahan University of Technology

(Received: 93/2/23 Accepted: 93/7/8)

The main functions of the packages are: Physical protection, barrier protection, convenience and information. Tendency to minimize food products, quality, safety and preventing of food-borne disease and strict requirements in relation to consumer health caused ways to use antimicrobial agents in food packaging and prevent the development of microorganism growth. Active packaging is one of the methods of efficient packaging, that protect safety and quality of foods. The material of these packages is a suitable base for adding a wide range of different combinations such as antimicrobial agents to them. Pursuant to this, bionanocomposite films of Bitter vetch seed's protein with zinc oxide nanoparticles to produce an antimicrobial packages with 5% w/w of Bitter vetch protein isolate and 0.25, 1 and 2% zinc oxide nanoparticles. Glycerol was used as plasticizer. The mechanical and barrier properties of bionanocomposite films were assessed and determined that the addition of zinc oxide nanoparticles as an antimicrobial agent to the protein film caused a sharp decrease of oxygen permeability through the films. The rate of water vapor permeability of bionanocomposite films decreased comparing with control film. The results indicated that lower levels concentrations of nanoparticles cause better functional properties of bionanocomposites films because of fewer particles coagulation. Effect of nanoparticles on the mechanical properties, tensile strength and modulus of elasticity were increased, but elongation of the film was reduced.

Keywords: Bionanocomposites, Bitter Vetch, Zinc oxide nanoparticles, Functional properties

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