



بهینه‌سازی ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و حرارتی فیلم نانوکامپوزیت پروتئین میوفیبریل-نانوکریستال سلولز

بهاره شعبانپور^۱، محسن کاظمی^{۲*}، سید مهدی اجاق^۳، پرستو پورعاشوری^۴

۱. استاد، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲. دانشجو دکتری، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳. دانشیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴. استادیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۱۷، تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱۵)

چکیده

فیلم‌های نانوکامپوزیت بر پایه پروتئین میوفیبریل ماهی تقویت شده با نانوکریستال سلولز (NCC) به روش قالب گیری تولید شدند. نانوکریستال‌های سلولز در سه سطح (وزنی/وزنی) ۲، ۴ و ۶٪ به ماتریکس پلیمر افزوده شدند. مشخص شد که نانوکامپوزیت محتوی NCC ۶٪ بالاترین میزان استحکام کششی را دارد که در مقایسه با تیمار شاهد حدود ۴۹٪ بهتر بود. بهبود خواص مکانیکی پلیمر نانوکامپوزیت به تشکیل شبکه محکم نانوذرات سلولز درون بستر پلیمر پروتئینی و برقراری پیوند بین آن‌ها نسبت داده شد. حضور نانوذرات هم‌چنین سبب بهبود خواص سدکنندگی پلیمرهای نانوکامپوزیت شد به طوری که فیلم محتوی NCC ۶٪ نسبت به تیمار شاهد نفوذپذیری به بخار آب را به میزان ۳۳٪ کاهش داد. بررسی شاخص‌های تورم‌پذیری و حلالیت نیز نشان داد که افزودن نانوذرات سلولز، حساسیت به آب پلیمر پروتئینی را کاهش داد که این پدیده در پلیمرهای خوراکی مورد استفاده در بسته‌بندی بسیار مطلوب است. آنالیز FTIR فیلم‌های مختلف، تشکیل برهمکنش‌های ملکولی بین نانوذرات و بستر پلیمر را تایید کرد. بررسی شاخص‌های مرتبط با آزمون DSC (Tg, Tc, Tm) حاکی از این مطلب بود که پایداری حرارتی نانوکامپوزیت‌های بر پایه پروتئین بعد از افزودن نانوکریستال‌های سلولز بهبود می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین میوفیبریل، نانوکریستال سلولز، نانوکامپوزیت، خواص مکانیکی.

1- مقدمه

در میان چهار ماده اساسی بسته‌بندی، کاغذ و مقوا، پلاستیک، شیشه و فلز، مواد پلاستیکی با منشا نفت از نیمه قرن بیستم به بعد به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند که این اساساً به دلیل ارزانی، راحتی استفاده، ویژگی فرایندی مناسب، کیفیت زیبایی شناختی مطلوب و خواص فیزیکوشیمیایی عالی آن‌ها می‌باشد [3-1]. با این وجود، پلیمرهای سنتزی به دلیل عدم تجزیه‌پذیری در محیط طبیعی، سبب مشکلات جدی زیست محیطی شده و نگرانی جهانی را در این رابطه افزایش داده‌اند [1، 4]. امروزه مشخص شده است که فیلم‌های خوراکی/زیست تخریب‌پذیر حاصل از زیست پلیمرها قادرند حداقل به‌طور جزئی جایگزین پلاستیک‌های سنتزی مصرفی شوند [5]. در این رابطه، خواص ذاتی مناسب پروتئین‌های گیاهی و حیوانی از قبیل فراوانی نسبتاً بالا، توانایی بالقوه در تشکیل فیلم‌ها و همچنین کیفیت بالای تغذیه‌ای، آن‌ها را به موادی مناسب برای تولید فیلم‌های خوراکی مبدل کرده است [4، 6-8]. پروتئین‌های میوفیبریل ماهی از جمله منابعی هستند که می‌توانند برای تهیه فیلم‌هایی با شفافیت و استحکام مناسب استفاده شوند، زیرا این پروتئین‌ها به‌طور کامل رشته‌ای و کشسان بوده و به سبب داشتن گروه‌های عاملی جهت ایجاد پیوندهای درون ملکولی و بین ملکولی در سیستم غذایی نقش عملکردی را به عهده دارند [9، 10]. همچنین پروتئین‌های میوفیبریل ماهی از جنبه نیاز به یافتن روش اقتصادی و مناسب به‌منظور بهره‌گیری از ضایعات و محصولات جنبی بر جای مانده از خط تولید و عمل‌آوری آبزیان مدنظر هستند [8، 11]. تاکنون پروتئین‌های میوفیبریل استخراج شده از عضله ماهیان مختلفی نظیر ساردین [12]، کپور نقره‌ای [13]، کپ هیک [14]، تریوالی نوار زرد [4] و آنچووی [7] به‌طور موفقیت آمیز برای تولید فیلم‌های خوراکی و ارزیابی خواص مختلف آن‌ها استفاده شده است. به‌طور کلی، فیلم‌های پروتئینی خواص سدکنندگی مناسبی را نسبت به اکسیژن، چربی‌ها و ترکیبات منشا طعم و بو نشان داده‌اند، اما خواص مکانیکی آن‌ها نسبت به پلیمرهای سنتزی ضعیف است. این فیلم‌ها در محیط‌های آبی به‌نسبت ناپایدارند و نفوذپذیری بالایی به بخار آب نشان می‌دهند. روش موثری که در این زمینه به‌صورت گسترده برای بهبود خواص

مختلف فیلم‌های پروتئینی مورد استفاده قرار گرفته، تکنیک تولید پلیمرهای ترکیبی متشکل از دو یا چند ماده مختلف است که بین آن‌ها پیوندهای فیزیکی و شیمیایی برقرار می‌شود [9، 15]. زیست نانوکامپوزیت‌ها مفهوم جدیدی از مواد ترکیبی و کاربردی هستند که به‌وسیله شرکت دادن تقویت‌کننده‌هایی با حداقل یک بعد در مقیاس نانو در بستر پلیمر طبیعی تولید می‌شوند [2]. نانوکامپوزیت‌ها در مقام مقایسه با پلیمرهای خالص خصوصیات مکانیکی، حرارتی، نوری، سدکنندگی و فیزیکوشیمیایی به مراتب بهتری را نشان می‌دهند [1، 16]. پتانسیل کاربرد نانوذرات سلولز به‌عنوان تقویت‌کننده مواد پلیمری، مسیر جدیدی را برای تولید و توسعه کامپوزیت‌های بهتر همراه با ایجاد ارزش افزوده فراهم می‌کند. نانوذرات سلولز از دیواره سلولی منابع مختلف طبیعی (از قبیل چوب و پالپ پنبه) به‌وسیله تیمارهای شیمیایی، مکانیکی و یا ترکیبی از این تیمارها استخراج می‌شوند [19-17]. این نانوذرات به سبب ویژگی‌های مثبتی از قبیل زیست تخریب‌پذیری، تجدیدپذیر بودن، فراوانی و هزینه ارزان، دانسیته پایین، استحکام و دوام بالا (خواص مکانیکی عالی) و همچنین امکان مشتق شدن از ضایعات کشاورزی و صنعت غذا به‌عنوان گزینه‌ای مناسب جهت ارتقا خواص کیفی زیست پلیمرها محسوب می‌شوند [2، 19، 20]. نانوکریستال‌های سلولز تاکنون به‌عنوان تقویت‌کننده در پلیمرهای مختلفی از قبیل کیتوزان [21]، نشاسته [22، 23]، پلی وینیل الکل [24] و ژلاتین [25] به‌کار گرفته شده‌اند و طبق نتایج گزارش شده در بهبود خواص مختلف فیلم‌های تولیدی موثر بوده‌اند. بنابر مطالب عنوان شده، در این تحقیق پروتئین‌های میوفیبریل حاصل از عضله ماهی کپور نقره‌ای به‌عنوان بستر پلیمر خوراکی به‌کار گرفته شدند و به‌منظور بهبود خواص فیزیکوشیمیایی و حرارتی این فیلم‌ها از غلظت‌های مختلف نانوکریستال سلولز استفاده شد. تعیین سطح بهینه نانوذرات سلولز در بستر پلیمر توسط آزمون‌های فیزیکی، مکانیکی، حرارتی و FTIR انجام گرفت.

2- مواد و روش‌ها

2-1- تولید پروتئین میوفیبریل ماهی

ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) به‌صورت

2-3-2- ارزیابی ویژگی‌های مختلف فیلم‌های تولیدی**2-3-2-1- ضخامت**

سنجش میزان ضخامت نمونه‌ها با استفاده از ریزسنج دیجیتالی مدل Mitutoyo ساخت کشور ژاپن با دقت 0/001 میلی‌متر انجام گرفت. نه نقطه از هر نمونه برای اندازه‌گیری انتخاب شد. میانگین ضخامت‌های به دست آمده برای تعیین میزان استحکام کششی و نفوذپذیری به بخار آب استفاده گردید.

2-3-2-2- رطوبت و حلالیت

نخست نمونه‌های فیلم با ابعاد 4×4 سانتی‌متر توزین شده درون پتری دیش‌هایی با وزن مشخص قرار داده شدند. فیلم‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 105°C کاملاً خشک شده سپس وزن شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر غوطه‌ور شده و به مدت 24 ساعت در دمای 25°C به شکل ملایمی تکان داده شدند. سپس نمونه‌ها توسط کاغذهای صافی که از قبل خشک و توزین شده بودند فیلتر شدند و دوباره در دمای 105°C به مدت 24 ساعت خشک شدند. درصد رطوبت و حلالیت فیلم‌ها به ترتیب از رابطه‌های (1) و (2) محاسبه گردید [27].

(1)

رطوبت (%) =

$$\text{رطوبت (\%)} = \frac{\text{وزن فیلم اولیه} - \text{وزن فیلم خشک}}{\text{وزن فیلم اولیه}} \times 100$$

(2)

حلالیت (%) =

$$\text{حلالیت (\%)} = \frac{\text{وزن فیلم خشک بعد از غوطه‌وری} - \text{وزن فیلم خشک}}{\text{وزن فیلم خشک}}$$
2-3-3-2- نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب بر اساس روش E96 مصوب ASTM اندازه‌گیری شد [28]. نخست فیلم‌ها جهت رسیدن به تعادل رطوبتی به مدت 48 ساعت درون دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم (رطوبت نسبی $50 \pm 5\%$) قرار گرفتند. سپس توسط گریس روی سطح سلول‌های اندازه‌گیری با محتوای 10 میلی‌لیتر آب مقطر ثابت شده و درون دسیکاتور حاوی

تازه از بازار ماهی فروشان گرگان تهیه شده و پس از شست و شو با آب، استخوان‌گیری شد. گوشت چرخ شده حاصل به منظور استخراج پروتئین‌های میوفیبریل مورد استفاده قرار گرفت [9]. بدین منظور ابتدا گوشت چرخ شده ماهی با آب مقطر سرد مخلوط شده (نسبت 3:1، گوشت:آب) و در دور 13000 به مدت 2 دقیقه توسط همزن به مدل IKA T25 Ultra-ساخت کشور آلمان همگن شد و پس از آن توسط یک پارچه صافی نایلونی آبیگری شد. در مرحله بعد گوشت چرخ شده با آب نمک 0/5 میلی مولار سرد (نسبت 5:1، گوشت:آب نمک) به مدت 5 دقیقه همگن شده و متعاقباً طبق مرحله قبل آبیگری گردید. فرایند شست و شو دو بار تکرار شد. سپس محصول نهایی تا زمان استفاده برای تولید فیلم در میان یخ ذخیره‌سازی شد.

2-2- تهیه فیلم‌ها

تولید محلول فیلم ساز پروتئینی به روش لیمپان و همکاران با کمی اصلاح انجام شد. ابتدا پروتئین میوفیبریل ماهی با آب مقطر جهت تولید محلول 2٪ پروتئین مخلوط شده و به وسیله هموژنایزر در دور 13000 به مدت 2 دقیقه همگن شد. گلیسرول به میزان 50٪ (وزن/وزن پروتئین) به محلول فیلم ساز افزوده شده سپس مخلوط به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق در شیکر IKA ساخت کشور آلمان، با دور ملایم قرار گرفت. در مرحله بعد pH مخلوط با هدف محلول شدن پروتئین‌ها توسط HCl (1نرمال) روی 3 تنظیم شد و به منظور حذف بقایای نامحلول، محلول فیلم‌ساز به وسیله یک پارچه نایلونی فیلتر شد. در مرحله بعد محلول ژلی التراسوند شده نانوکریستال‌های سلولز با نسبت‌های مختلف (وزن پروتئین/وزن) 2، 4 و 6 [25] به محلول پروتئین افزوده شده و به منظور توزیع مناسب نانوذرات، محلول در دور 18000 rpm همگن شد [26]. قبل از این که محلول‌های فیلم ساز به داخل پلیت‌های لبه‌دار (20×20 cm) ریخته شوند، تحت شرایط خلا حباب زدایی شدند. محلول‌ها در دمای 26°C و رطوبت نسبی 50٪ به مدت 24 ساعت خشک شده و فیلم‌های حاصل به منظور انجام آزمون‌های مربوطه در کیسه‌های پلی اتیلنی نگهداری شدند.

سلیکاژل قرار داده شدند. آب در دمای 25°C رطوبت 100% آزمون برای هر کدام از نمونه‌ها، 5 تکرار در نظر گرفته شد.

2-3-6- ویژگی‌های مکانیکی

استحکام و کشسانی فیلم‌ها با استفاده از دستگاه سنجش خواص مکانیکی مدل TexVol، ساخت کشور سوئد، انجام گرفت. فیلم‌ها به شکل مستطیل در ابعاد 10×2/54 سانتی‌متر بریده و به مدت 48 ساعت در دسیکاتور محتوی نیترات منیزیم به تعادل رطوبت رسیدند. فاصله بین دو فک دستگاه 50 میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها 50 میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد. فاکتورهای مقاومت به کشش (TS¹) و درصد افزایش طول تا نقطه پاره شدن (EAB²) طبق استاندارد ASTM D882-02 از روی منحنی‌های نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمدند [30].

2-3-7- رنگ سطحی

ارزیابی رنگ سطحی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ سنج مدل BYK Gardner، ساخت کشور آمریکا انجام گرفت. نمونه‌ها روی کاشی استاندارد سفید رنگ (a* = -0/88, b* = 0/65, L* = 94/63) قرار گرفتند و 3 فاکتور (شفافیت)، a* (+ قرمز/ - سبز) و b* (+ زرد/ - آبی) برای آن‌ها تعیین گردید. همچنین برای محاسبه اختلاف رنگ (ΔE)، شاخص سفیدی (WI) و میزان Chroma نمونه‌ها، داده‌های به دست آمده برای سه فاکتور فوق مرتبط با مرجع و نیز سه فاکتور L*, a* و b* مرتبط با هر نمونه در رابطه‌های زیر قرار داده شدند [32].

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (5)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (6)$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (7)$$

2-3-8- آزمون طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (ATR-FTIR)

با هدف حذف آب اضافی، فیلم‌ها قبل از انجام این آزمون به

ایجاد می‌کند. همچنین اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای 25°C اختلاف فشار بخاری معادل $2/337 \times 10^3$ (پاسکال) ایجاد می‌کند. سلول در لحظه صفر و 8 ساعت پس از شروع آزمایش توزین و میزان تغییرات وزنی آن‌ها محاسبه شد. نفوذپذیری به بخار آب از طریق رابطه (3) به دست آمد.

$$WVP = W.X / A.t.\Delta P \quad (3)$$

W: میزان کاهش وزن (گرم)، X: میانگین ضخامت فیلم (میلی‌متر)، A: سطح در معرض فیلم (مترمربع)، t: زمان کاهش وزن (ثانیه)، ΔP: میزان اختلاف فشار در دو سوی فیلم (پاسکال).

2-3-4- شاخص تورم‌پذیری (جذب آب)

نخست نمونه‌های فیلم (ابعاد 2 × 2 سانتی‌متر) به منظور رطوبت‌زدایی به مدت یک هفته درون دسیکاتور حاوی سلیکاژل قرار گرفتند سپس وزن آن‌ها مشخص شد. در مرحله بعد فیلم‌ها درون ظروف محتوی 50 میلی‌لیتر آب مقطر در دمای 25 °C قرار داده شدند. فیلم‌ها به صورت دوره‌ای و در فواصل زمانی معین از ظرف خارج و قبل از وزن کردن سطح آن‌ها به طور کامل توسط کاغذ صافی خشک شده و توزین نمونه تا رسیدن به وزن ثابت ادامه پیدا کرد. میزان تورم‌پذیری از رابطه (4) محاسبه گردید [29].

$$= \text{تورم‌پذیری } (\%) \quad (4)$$

(وزن فیلم قبل از غوطه‌وری - وزن فیلم پس از غوطه‌وری) / (وزن فیلم قبل از غوطه‌وری) × 100

2-3-5- زاویه تماس

اندازه‌گیری زاویه تماس فیلم‌ها با روش قطره چسبنده¹ که یک روش متداول در تعیین میزان آب‌گریزی سطوح جامد می‌باشد انجام شد. بدین منظور، 5 میکرولیتر آب دیونایز توسط دستگاه Kruss G10 ساخت کشور آلمان، بر روی نمونه‌ها قرار داده شد و زاویه تماس قطره با فیلم در زمان اولیه گزارش گردید. در این

1. Tensile Strength
2. Elongation at break

1. Sessile drop

مدت یک هفته در دمای اتاق درون دسیکاتور محتوی سیلیکاژل قرار گرفتند. فیلم‌ها با استفاده از دستگاه FTIR اسپکترومتر Bruker Equinox 55, Banner Lane ساخت کشور آلمان، مجهز به یک سلول کریستال افقی (ZnSe)؛ 45°؛ 80 میلی‌متر طول؛ 10 میلی‌متر عرض؛ 4 میلی‌متر ضخامت) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد ارزیابی شدند [9]. نمونه‌ها درون سلول کریستالی قرار داده شدند و سلول در محل مربوطه دستگاه نصب شد. در نهایت طیف سنجی در گستره $650-4000\text{ cm}^{-1}$ و در تفکیک‌پذیری 4 cm^{-1} انجام شد.

9-3-2- آزمون گرمایشی روبشی افتراقی (DSC)
به منظور بررسی رفتار حرارتی فیلم‌ها، از دستگاه گرماسنج روبشی افتراقی مدل Faith B-500، ساخت کشور چین، استفاده شد. نمونه‌ها با یک وزن مشخص درون محفظه آلومینیمی کاملاً بسته قرار گرفته و با سرعت تقریبی $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ارزیابی شدند. دامنه حرارتی مورد استفاده برای هر نمونه در گستره $180-20$ درجه سانتی‌گراد تحت جریان ثابت اتمسفر نیتروژن قرار داشت. از روی منحنی‌های دمایی، دمای ذوب (T_m)، دمای کریستالیزاسیون (T_c) و دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) نمونه‌ها تعیین شد [27].

4-2- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 16 انجام گرفت. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف و سپس همگنی وایانس داده‌ها با آزمون لون انجام شد. سپس به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به دست آمده از بررسی فیلم‌ها از تجزیه واریانس یک طرفه در قالب طرح آزمایشی فاکتوریل، و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون Duncan صورت گرفت. مقایسه‌های آماری در سطح اطمینان 95٪ انجام گرفت و تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه گردید ($p < 0/5$).

3- نتایج و بحث

3-1- ویژگی‌های فیزیکی (حلالیت، رطوبت، تورم‌پذیری، نفوذپذیری به بخار آب و زاویه تماس)

نتایج مرتبط با بررسی خواص فیزیکی فیلم‌های

1. Differential scanning calorimetry

تولیدی در جدول (1) ارائه شده است. بررسی میزان رطوبت فیلم‌های نانوکامپوزیت نشان داد که با افزودن NCC به ماتریکس پروتئین، محتوای رطوبت آن‌ها به شکل معنی‌داری کاهش یافت و از 41/83٪ در تیمار شاهد به 27/68٪ در تیمار محتوی NCC 6٪ رسید. شاخص رطوبت نمایانگر کل حجم اشغال شده ریزساختار شبکه‌ای فیلم توسط مولکول‌های آب است در حالی که شاخص حلالیت با میزان آب دوستی فیلم‌ها مرتبط است [31]. کاهش رطوبت در فیلم‌های نانوکامپوزیت در قیاس با فیلم شاهد احتمالاً ناشی از کاهش گنجایش و فضاهای خالی موجود در بستر پلیمر و در واقع مرتبط با پدیده فشرده شدن شبکه ساختاری فیلم در اثر حضور نانوذرات سلولز است [32]. این نتیجه هم‌چنین بیانگر این مطلب است که نانوکامپوزیت‌ها خواص آب‌گریزی بیشتری نسبت به فیلم‌های متشکل از پروتئین خالص نشان دادند. در واقع در این حالت گروه‌های عاملی پروتئین (آمین و کربوکسیل) با نانوذرات سلولز تشکیل پیوند هیدروژنی داده و متعاقباً تعداد آن‌ها برای تشکیل پیوند با ملکول‌های آب کاهش می‌یابد. گروه‌های هیدروکسیل موجود در سلولز و هم‌چنین گروه‌های عاملی پروتئین در حالت آزاد جذب کننده آب از طریق باند هیدروژنی هستند. اما در طول مرحله تشکیل فیلم بین این گروه‌های عاملی پیوندهای هیدروژنی فراوانی تشکیل شده و تعداد آزاد آن‌ها برای جذب ملکول‌های آب کاهش می‌یابد [33]. نتایج مشابهی در این زمینه در اثر حضور نانوذرات کیتوزان در بستر پلیمر ژلاتین توسط حسینی و همکاران [34] گزارش شد. هم‌چنین پنگ و همکاران [35]، فرناندز و همکاران [36] و عبدالهی و همکاران [37] نتایج مشابهی در رابطه با عملکرد نانوذرات سلولز در بستر پلیمرهای خوراکی گزارش کردند، اما دهنداد و همکاران [38] اشاره داشتند که حضور نانوکریستال‌های سلولز، در محتوای رطوبت فیلم‌های کیتوزانی تغییری ایجاد نکرد.

مقایسه تیمارهای مختلف به کار رفته از جنبه تاثیر بر میزان حلالیت فیلم‌ها (جدول 1) نشان داد که این شاخص با افزایش محتوای NCC در ماتریکس فیلم پروتئین به شکل معنی‌داری کاهش یافت. این یافته حاکی از تاثیر مثبت نانو ذرات سلولز بر کاهش حساسیت فیلم‌های پروتئینی به آب است. حلالیت نشان دهنده مقاومت فیلم‌ها در برابر آب بوده و برای پلیمرهای

وسعی از آمینواسیدهای آب‌دوست بوده و در نتیجه فیلم‌های تولیدی از آن‌ها درصد جذب آب بالایی نشان می‌دهند. بنابراین نیاز است این نقیصه فیلم‌های متشکل از پروتئین به‌منظور کاربرد آن‌ها در بسته‌بندی غذا مرتفع گردد. در تحقیق حاضر، بررسی میزان تورم‌پذیری نشان داد که افزودن نانوذرات سلولز به فیلم‌های پروتئینی، در کاهش میزان این شاخص اثر معنی‌دار داشت. کاهش تورم و در واقع افزایش مقاومت به آب فیلم‌های نانوکامپوزیت را می‌توان به حضور ذرات NCC در بستر پلیمر و تاثیر مثبت آن‌ها بر افزایش قوام و استحکام به‌دلیل سازگاری آن‌ها با بستر پلیمر پروتئینی و برقراری پیوند بین آن‌ها نسبت داد. به‌علاوه این‌که برهمکنش‌های تشکیل شده بین NCC و بستر پروتئین جایگاه‌های هیدروفیل موجود در پروتئین را اشغال کرده و ظرفیت اتصال به آب پروتئین را کاهش می‌دهد. در واقع واکنش پروتئین-NCC جایگزین برهمکنش پروتئین-آب می‌شود که در پلیمرهای آب‌دوست خالص غالب‌اند و همین امر سبب محدود شدن امکان اتصال و جذب ملکول‌های آب می‌شود [25]. این نوع رفتار سلولز در تحقیق مشابه انجام شده روی تولید پلیمرهای ترکیبی از هیدروکسی پروپیل متیل سلولز تقویت شده با میکروکریستال‌های سلولز گزارش شده است [45]. هم‌چنین گزارش شده است که کاهش تورم در اثر حضور نانوذرات سلولز می‌تواند به‌دلیل نفوذ بالای نانوذرات به درون بستر پلیمری باشد که در واقع نفوذ آب در میان ریز منافذ پلیمر را محدود و سبب کاهش تورم فیلم‌های تولیدی می‌شود [46]. هوک و همکاران [47] گزارش کردند حضور درصد‌های پایین نانوکریستال‌های سلولز در ماتریس پلیمر آلژینات میزان جذب آب و تورم آن را به شکل معنی‌داری کاهش می‌دهد. مشاهدات تحقیق حاضر با نتایج حاصل از مطالعات مرتبط دیگری نیز در این زمینه که به بررسی اثر نانوذرات سلولز روی پلیمرهای زیستی مختلفی نظیر سدیم کازئینات [48]، پروتئین سویا [46] و ژلاتین [25] پرداختند مطابقت داشت اما با نتایج مطالعه روی فیلم‌های تولیدی از آرابینوکسی ژلان استیله شده هم‌خوانی نداشت [49].

نتایج مرتبط با نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی در جدول (1) گزارش شده است. این شاخص در فیلم‌های پروتئینی به‌دلیل طبیعت آب‌دوست آن‌ها میزان به‌نسبت بالایی

مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی با فعالیت آبی بالا و یا زمانی که فیلم‌ها در تماس مستقیم با آب قرار می‌گیرند و هم‌چنین در فیلم‌هایی که به‌عنوان نگه‌دارنده غذایی عمل می‌کنند فاکتوری مهم محسوب می‌شود [27، 39]. بنابراین یکی از اهداف این تحقیق کاهش حلالیت فیلم‌های تولیدی با اعمال تیمارهای متفاوت بود. حلالیت نسبتاً بالای فیلم‌های پروتئینی نشان دهنده حساسیت آن‌ها در مقابل آب است که این پدیده از آب‌دوستی ذاتی بالای این فیلم‌ها در اثر حضور درصد بالای آمینواسیدهای هیدروفیل ناشی می‌شود. با این وجود تمامی فیلم‌های دارای بستر پروتئینی تولید شده در این تحقیق حتی بعد از 24 ساعت غوطه‌وری در آب مقطر تمامیت، یکپارچگی و شکل اولیه خود را حفظ کردند که این نشان می‌دهد فیلم پروتئینی و هم‌چنین فیلم‌های نانوکامپوزیت متشکل از پیوندها و شبکه‌های بین ملکولی بوده‌اند که سالم مانده و فقط مونومرها در آب حل شده‌اند [40]. کاهش در حلالیت فیلم‌های نانوکامپوزیت در قیاس با فیلم شاهد اساساً به پیوندهای هیدروژنی قوی تشکیل شده بین نانوذرات سلولز و بستر پلیمر مربوط است. گروه‌های هیدروکسیل نانوکریستال-های سلولز می‌توانند باندهای هیدروژنی قوی با گروه‌های کربوکسیل و آمین بستر پروتئینی پلیمر برقرار کنند که این واکنش‌ها در واقع چسبندگی و قوام بستر پلیمر را بهبود داده و در نتیجه حساسیت آن را به ملکول‌های آب کاهش می‌دهند. به این دلیل که ملکول‌های آب قادر به شکست این پیوندها نبوده و در نتیجه نفوذ آن‌ها در بستر پلیمر و متعاقباً حلالیت آن کاهش می‌یابد [27، 41]. هم‌چنین دی‌پاولا و همکاران [42] پیشنهاد کرده‌اند که کریستالیزاسیون بالای نانوذرات سلولز و انتقال آن به پلیمر علاوه بر باندهای هیدروژنی مسئول بهبود مقاومت به آب نانوکامپوزیت‌های حاصل است. نتایج مشابهی در رابطه با اثر نانوذرات سلولز بر کاهش حلالیت فیلم‌های زیستی مختلف توسط محققان دیگر گزارش شده است [27، 41، 43، 44]. اما دهناد و همکاران [38] نتایج متفاوتی را در این رابطه گزارش کردند.

درصد تورم‌پذیری نیز به نوعی نشان‌دهنده حساسیت فیلم‌ها در حضور آب است و بسته به ماهیت و طبیعت ماتریکس و پرکننده متفاوت است. پروتئین‌های میوفیبریل محتوی دامنه

جدول (1) ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های نانوکامپوزیت برپایه پروتئین حاوی درصدهای مختلف نانوکریستال سلولز

| نوع فیلم | رطوبت (%) | حلالیت (%) | تورم پذیری (%) | زاویه تماس در زمان اولیه (°) | نفوذ پذیری به بخار آب (g/ms Pa 10 ⁻¹⁰) | ضخامت (mm) |
|-------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|--|--------------------------|
| شاهد | 41/83±1/26 ^a | 35/80±1/52 ^a | 215/43±4/61 ^a | 82/03±2/77 ^b | 3/41±0/06 ^a | 0/055±0/002 ^a |
| پ- 2% سلولز | 28/09±1/85 ^b | 32/37±1/27 ^{ab} | 212/58±6/51 ^a | 82/76±1/32 ^b | 2/95±0/08 ^b | 0/064±0/002 ^a |
| پ- 4% سلولز | 28/44±1/28 ^b | 28/19±3/26 ^c | 199/23±7/54 ^b | 84/67±1/91 ^{ab} | 2/73±0/10 ^c | 0/061±0/008 ^a |
| پ- 6% سلولز | 27/68±1/74 ^b | 29/64±1/19 ^{bc} | 172/15±6/42 ^c | 87/70±2/48 ^a | 2/28±0/09 ^d | 0/063±0/004 ^a |

حروف متفاوت (a, b, c, ...) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0/05$ است.

داده‌ها به صورت میانگین (حداقل 3 تکرار) ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

پ: پروتئین؛ سلولز: نانوکریستال سلولز

کندتر شدن پروسه نفوذ و انتشار بخار آب می‌شوند [47]. مشاهدات عنوان شده با نتایج تحقیقات مشابه در زمینه به‌کار گرفتن نانوذرات سلولز در تقویت پلیمرهای زیستی/خوراکی نظیر نشاسته، کاپاکارژینان، آرابینوکسی ژلان استیل شده و سدیم کازئینات و اثر آن‌ها بر کاهش نفوذپذیری به بخار آب هم‌خوانی داشت [2, 48, 49, 51]. هوک و همکاران [47] گزارش کردند که نفوذپذیری به بخار آب ماتریکس پلیمر آلژینات در اثر حضور 5٪ وزنی نانوکریستال‌های سلولز حدود 31٪ کاهش یافت. چنین رفتاری از نانوکریستال‌های سلولز در تولید پلیمرهای ترکیبی ژلاتین-نانوکریستال سلولز نیز توسط گئورگ و سیدارامایه [25] گزارش شده است. از طرفی دهناد و همکاران [38] گزارش کردند که حضور نانوذرات سلولز سبب افزایش نفوذپذیری به بخار آب فیلم کیتوزانی شد که این پدیده به طبیعت آب‌دوست نانوذرات و هم‌چنین بزرگ بودن اندازه ذرات سلولز نسبت داده شد.

بررسی نتایج مرتبط با سنجش زاویه تماس سطح صاف فیلم‌های تولیدی در جدول (1) نشان داد که فیلم‌های نانوکامپوزیت با افزایش سطح NCC زاویه تماس بیشتری نسبت به فیلم شاهد نشان دادند به طوری که این شاخص به بالاترین میزان خود (87/70) در نانوکامپوزیت محتوی NCC 6٪ رسید که به شکل معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود. این مشاهدات نشان می‌دهد که خاصیت آب‌گریزی فیلم پروتئینی با شرکت نانوکریستال‌های سلولز بهبود می‌یابد که این به میزان کریستالیزاسیون بالای نانوذرات سلولز وابسته است [27]. بنابراین می‌توان عنوان کرد که نانوکریستال‌های سلولز از پتانسیل مناسبی برای غلبه بر خاصیت آب‌دوستی و نم‌گیری

نشان داد. سدکنندگی بخار آب با افزودن ذرات NCC بشکل معنی‌داری بهبود یافت و به کم‌ترین میزان خود در تیمار NCC 6% ($2/28 \times 10^{-10}$ g/ms Pa) رسید. به‌طور کلی ویژگی سدکنندگی بخار آب نانوکامپوزیت‌ها، در صورت وجود پرکننده‌هایی با نفوذپذیری کم، پراکنش همگن و نسبت سطح بالا می‌تواند بهبود یابد [27]. کاهش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های نانوکامپوزیت می‌تواند ناشی از حضور بخش‌های مقاوم به آب و کریستال NCC باشد که به کاهش نرخ انتقال بخار آب کمک می‌کنند [50]. در واقع این کاهش می‌تواند به خاصیت هیگروسکوپیک پایین ناشی از کریستالیزاسیون بالای نانوذرات سلولز نسبت داده شود. عبور بخار آب ترجیحاً از طریق نواحی آمورف سلولز است و نبود نواحی بی‌نظم، آشفته و غیرکریستال در نانوذرات سلولز نفوذپذیری به بخار آب را کاهش می‌دهد. در واقع تیمارهای (هیدرولیز اسیدی) به‌کار رفته در طول سنتز نانوکریستال‌های سلولز، منجر به حذف نواحی آمورف می‌شود در حالی‌که بخش‌های کریستالی سالم باقی می‌مانند و حضور نانوذرات با درصد کریستالیزاسیون بالا می‌تواند ضریب جذب، نفوذ و انتشار آب در بستر پروتئینی پلیمر را کاهش دهد [25]. هم‌چنین تاثیر مثبت نانوذرات بر کاهش نفوذپذیری به بخار آب می‌تواند ناشی از پراکنش همگن و ایجاد باندهای بین ملکولی بالا (هیدروژنی) بین نانوذرات و پلیمر پروتئینی باشد که تا حدی توانسته‌اند مقاومت پلیمر را در برابر آب افزایش دهند [25, 49] که اثر این پدیده در بهبود خواص مکانیکی فیلم‌های تولیدی (افزایش میزان TS) نیز مشاهده شد. این تصور نیز وجود دارد که حضور نانوکریستال‌های سلولز پیچ و خم و انحنا بستر پروتئینی پلیمر را افزایش داده و سبب

فیلم‌های پروتئینی برخوردارند که در واقع برای کاربرد این فیلم‌ها به‌عنوان مواد مورد استفاده در بسته‌بندی غذا محدودیت ایجاد می‌کند. در مطالعه‌ای دیگر عبدالهی و همکاران [37] گزارش کردند که زاویه تماس فیلم‌های نانوکامپوزیت آلژینات-نانوکریستال سلولز در زمان یک دقیقه بعد از قرارگیری قطره آب روی سطح فیلم نسبت به تیمار شاهد افزایش می‌یابد که این پدیده و افزایش آب‌گریزی فیلم‌های نانوکامپوزیت به میزان کریستالیزاسیون بالای نانوذرات سلولز و انتقال این ویژگی به بستر پلیمری فیلم‌ها نسبت داده شد.

2-3- ویژگی‌های مکانیکی (استحکام کششی و درصد افزایش طول)

نتایج مرتبط با بررسی ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیت در جدول (2) ارائه شده است. افزودن NCC به فیلم پروتئینی تغییرات معنی‌داری را در شاخص‌های مکانیکی آن به‌دنبال داشت به‌طوری که استحکام کششی فیلم‌ها (TS) با افزایش سطح NCC به‌طور مرتب به شکل معنی‌داری افزایش یافت و از 6 MPa در تیمار شاهد به بالاترین میزان خود یعنی 8/94 MPa در تیمار NCC 6٪ رسید. داده‌های مرتبط با کشسانی فیلم‌های تولیدی نیز در جدول مربوطه ارائه شده است. این شاخص در فیلم‌های نانوکامپوزیت در قیاس با فیلم شاهد با افزایش سطح NCC کاهش نشان داد و به کم‌ترین میزان خود (86/84٪) در تیمار NCC 4٪ رسید. بررسی خواص مختلف مکانیکی فیلم‌ها از جنبه نیاز پلیمرهای خوراکی به داشتن استحکام و کشسانی مطلوب و همچنین عاری بودن از نقص‌هایی نظیر حفره و شکستگی‌های ریز مهم است [48]. افزایش TS فیلم‌های نانوکامپوزیت نسبت به فیلم شاهد احتمالاً ناشی از پراکنش و توزیع مناسب و همگن ذرات NCC در بستر زیست پلیمر و برقراری پیوندهای محکم با ماتریس پروتئین است. همچنین ماهیت سفت و محکم نانوذرات سلولز می‌تواند در افزایش سختی و استحکام پلیمرهای حامل آن موثر باشد. نتایج مشابهی در این رابطه توسط محققان دیگر ارائه شده است [2، 52]. در واقع نانوکریستال‌های سلولز به‌عنوان مواد ترکیبات تحمل‌کننده بار و فشار عمل می‌کنند، بدین صورت که بار و فشار وارده به پلیمر از طریق زنجیره‌های پلیمر به

نانوکریستال‌های سلولز و شبکه تشکیل شده ناشی از آن‌ها منتقل شده و در نتیجه استحکام کششی فیلم‌های حاصل بهبود می‌یابد. در این رابطه نسبت ابعاد بالاتر نانوذرات نقش مهمی را در افزایش و بهبود کارایی انتقال و تحمل فشار ایفا می‌کنند. در این زمینه تشکیل برهمکنش پرکننده-ماتریکس و همچنین پرکننده-پرکننده عواملی مهمی محسوب می‌شوند. تشکیل شبکه صاف و منظم نانوذرات سلولز درون بستر پلیمر همانند یک اسکلت ساختاری در داخل ماتریکس پلیمر عملکرده و به‌عنوان تحمل‌کننده بار و فشار تحمیل شده در پلیمر نانوکامپوزیت به‌کار می‌رود. هرچند با فرایند سونیکاسیون دیسپرس و توزیع مناسب نانوذرات سلولز در ماتریکس پلیمر پروتئین حاصل می‌شود اما نانوکریستال‌های سلولز در حین تبخیر شدن آب دوباره آرایش یافته و به‌منظور تشکیل یک شبکه صاف، نافذ و محکم در بستر پلیمر با یکدیگر و همچنین با ماتریکس وارد پیوند می‌شوند. این نوع از شبکه‌ها در اثر شکل‌گیری پیوندهای ناشی از برهمکنش‌های هیدروژنی ایجاد شده و بالاترین سهم را در تحمل فشار و همچنین انتقال فشار و استرس وارده در سرتاسر پلیمر و در واقع تمرکز زدایی از آن بر عهده دارند. گروه‌های عاملی (هیدروفیل) پروتئین مانند گروه N-H می‌توانند با گروه‌های هیدروکسیل سطحی نانوکریستال‌های سلولز وارد واکنش شده و پیوند هیدروژنی تشکیل دهند که این نوع از واکنش‌ها می‌توانند به بهبود خواص مکانیکی فیلم‌ها منجر شوند [25]. به‌طور کلی و خلاصه بهبود خواص مکانیکی نانوکامپوزیت‌ها در قیاس با فیلم پروتئینی را می‌توان به دو عامل نسبت داد: 1) ارتباط و پیوند مناسب بین پلیمر و نانوذرات (بیش‌تر از نوع هیدروژنی) و تشکیل شبکه ناشی از آن 2) انتقال مناسب و موثر فشار و استرس وارده در کل پلیمر و در واقع توزیع مناسب فشار و به حداقل رساندن مناطق تمرکز آن [38]. هوک و همکاران [47] در این رابطه گزارش کردند که شرکت نانوکریستال‌های سلولز سبب افزایش استحکام فیلم‌های آلژیناتی شد. این نتیجه به اثر مثبت ذرات NCC به‌عنوان عامل تقویت‌کننده در بستر پلیمری فیلم و القا و ایجاد استحکام در آن‌ها نسبت داده شد. در واقع گزارش شده که برهمکنش‌های مناسب و قوی شکل گرفته بین نانوکریستال‌های سلولز و آلژینات بستر پلیمر به‌دلیل شباهت

جدول (2) ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیت برپایه پروتئین حاوی درصد‌های مختلف نانوکریستال سلولز

| نوع فیلم | استحکام کششی (MPa) | کشسانی تا نقطه شکست (%) |
|------------|------------------------|--------------------------|
| شاهد | 6/00±0/28 ^c | 93/58±3/03 ^a |
| پ-2٪ سلولز | 6/84±0/09 ^b | 90/49±2/93 ^{ab} |
| پ-4٪ سلولز | 7/19±0/09 ^b | 86/84±3/12 ^b |
| پ-6٪ سلولز | 8/94±0/33 ^a | 87/63±2/52 ^b |

حروف متفاوت (a, b, c, ...) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0/05$ است.

داده‌ها به صورت میانگین (حداقل 3 تکرار) ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

پ: پروتئین؛ سلولز: نانوکریستال سلولز

3-3- رنگ سطحی

نتایج مرتبط با بررسی شاخص‌های رنگ سطحی فیلم‌های مختلف از جمله شاخص‌های رنگ هانتر (L^* ، a^* و b^*)، شاخص‌های سفیدی (WI) و C_{ab} (chroma) و همچنین اختلاف رنگ فیلم‌ها ΔE در جدول (3) گزارش شده است. رنگ سطحی فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی به دلیل تاثیر بر ظاهر و بازاریابی محصول از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. بررسی شاخص L^* (روشنایی) فیلم‌های مختلف نشان داد که میزان آن با افزایش نانوذرات سلولز به فیلم شاهد تغییر معنی‌داری نشان نداد که این مساله مطلوب بوده و نشان می‌دهد که نانوکریستال‌های سلولز با جود اعمال اثر تقویت‌کنندگی، بر خصوصیت ظاهری پلیمر از جنبه شفافیت آن تاثیر منفی ندارند. شاخص a^* فیلم‌ها با افزودن NCC در سطوح بالاتر (4 و 6٪) نسبت به تیمار شاهد اندکی کاهش یافت. بررسی شاخص b^* نیز حاکی از عدم تغییر آن در تیمارهای مختلف نانوکامپوزیت بود به طوری که با افزودن سطح غلظت NCC نیز تغییری در میزان آن حاصل نشد که این نتیجه هم موید عدم تاثیر منفی نانوذرات سلولز بر خصوصیات ظاهری و رنگی پلیمرهای تولیدی است. اختلاف رنگ کل و همچنین شاخص‌های سفیدی و C_{ab} فیلم‌های نانوکامپوزیت نیز تحت تاثیر شاخص‌های اصلی رنگ (L^* ، a^* و b^*) بوده و به سبب عدم تغییر شاخص‌های ذکر شده، آن‌ها نیز اختلافی با تیمار شاهد نشان ندادند. این نتایج به طور کلی حاکی از عدم تاثیر نانوکریستال‌های سلولز بر شاخص‌های رنگ فیلم‌های نانوکامپوزیت در قیاس با فیلم شاهد بود. نتایج مشابهی در

ساختاری و طبیعت آب دوست هر دو ترکیب بود که در نهایت سبب افزایش استحکام فیلم‌های نانوکامپوزیت شد [47]. خان و همکاران [21] بهبود استحکام کششی فیلم‌های کیتوزانی در اثر حضور نانوکریستال‌های سلولز را به دو عامل نسبت دادند: 1) برهمکنش‌های مطلوب تشکیل شده بین نانوذرات سلولز و ماتریس پلیمر؛ 2) اثر تقویت‌کنندگی شکل گرفته در اثر حضور نانوذرات از طریق انتقال موثر و کارآمد فشار و استرس وارده به پلیمر در سطح مابین پلیمر و نانوکریستال‌های سلولز. واکنش بین گروه‌های آمین سولفات NCC و گروه‌های کاتیون آمینی پروتئین می‌تواند برای تشکیل برهمکنش‌های بین سطحی ماتریکس و پرکننده مطلوب بوده و عاملی برای ایجاد استحکام بالا در نانوکامپوزیت‌ها در نظر گرفته شود. گزارشات متعددی دیگری نیز در تایید این نتایج در تحقیقات مختلف روی ظرفیت تقویت‌کنندگی نانوذرات سلولز ارائه شده است [2، 51-53].

کاهش کشسانی فیلم‌های نانوکامپوزیت‌ها نسبت به فیلم شاهد می‌تواند به این دلیل باشد که مشتقات سلولز پس از اضافه شدن به بستر پلیمر پروتئینی به دلیل ماهیت سختی بیشتر، تحرک ملکولی را در بستر پلیمر کاهش داده و در نتیجه سبب افت کشش پذیری فیلم‌های نانوترکیب در مقایسه با پروتئین خالص شده‌اند [48]. این نتیجه با مشاهدات حاصل از تحقیق روی پوره انبه، سدیم کازئینات، ژلاتین و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز مطابقت داشت [48، 52-54]. گئورگ و سیدارامایه [25] گزارش کردند که با به کار بردن نانوکریستال‌های سلولز در بستر پلیمر ژلاتینی درصد کشسانی آن‌ها کاهش یافت که این پدیده به خواص ذاتی نانوکریستال‌های سلولز (استحکام و کریستالیزاسیون بالا) و تشکیل شبکه سفت و محکم نانوذرات سلولز نسبت داده شد که می‌تواند سبب سفت شدن زنجیره‌های نرم و روان ژلاتین شده و بنابراین کشسانی پلیمر را کاهش دهد. خان و همکاران [21] و همچنین هوک و همکاران [47] نیز نتایج و تفاسیری مشابه را در این زمینه ارائه کردند اما دنهد و همکاران [38] گزارش کردند که با شرکت نانوکریستال‌های سلولز در بستر پلیمر کیتوزانی کشسانی تا نقطه شکست افزایش می‌یابد.

موج‌های $2920-2935\text{ cm}^{-1}$ مشاهده شد. Amid-A با N-H کششی جفت شده با پیوند هیدروژنی مرتبط است و باند Amid-B با CH کششی ارتعاشی نامتقارن و هم‌چنین گروه NH_3 در ارتباط است [56، 57]. این که در مطالعه حاضر همه فیلم‌ها یک پیک جذب عمده را در حدود ناحیه 1640 cm^{-1} (Amid-I) نشان می‌دهند، می‌تواند نشان‌دهنده غالب بودن صفحات چین‌دار بتا در ساختار پروتئین باشد [19]. پیک مرتبط با Amid-A و Amid-I در پلیمرهای نانوکامپوزیت مرکب از پروتئین-NCC نسبت به فیلم پروتئین خالص به طول موج پایین‌تر منتقل شد که نشان‌دهنده برهمکنش‌های شکل گرفته بین گروه‌های عاملی پروتئین و نانوکریستال سلولز و اساساً از نوع هیدروژنی (بین گروه‌های هیدروکسیل فراوان موجود در سطح NCC و هم‌چنین گروه‌های آمین و کربوکسیل پروتئین) است که با بهبود خواص مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیت و افزایش استحکام آن‌ها مرتبط است [19، 37، 57 و 58]. انتقال پیک Amid-I هم‌چنین می‌تواند مشخصه فرایندهای پیچیده‌تری مثل نظم گرفتن بیش‌تر ساختار صفحات چین‌دار بتا باشد که این پدیده نیز می‌تواند در بهبود خواص مکانیکی فیلم‌ها نقش داشته باشد [19]. دو باند جذبی در ناحیه بین عدد موجی 1000 تا 1110 فیلم‌های پروتئینی (در نواحی 1038 cm^{-1} و 1106 cm^{-1}) موجود است که با C-O کششی ارتعاشی پروتئین مطابقت دارد [25]. هم‌چنین در بررسی دقیق‌تر پیک‌های مرتبط با فیلم شاهد و نانوکامپوزیت‌ها، افزایش کمی در شدت پیک‌های موجود در طول موج‌های 1038 cm^{-1} ، 1106 cm^{-1} و 1640 cm^{-1} (Amide-I) در فیلم‌های محتوی نانوسلولز در مقایسه با فیلم شاهد مشاهده شد. پیک مربوط به طول موج 1038 cm^{-1} مشخصه پیوند C-O کششی در سلولز است، در حالی که پیک موجود در 1106 cm^{-1} با اسکلت ارتعاشی درگیر با C-O کششی

این زمینه توسط دهنداد و همکاران [38] گزارش شد. از طرفی این نتایج با یافته‌های حاصل از رنگ سنجی فیلم‌های مرکب از کیتوزان-نانوذرات سلولز مطابقت نداشت [41].

3-4- طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)

FTIR یکی از مفیدترین روش‌های مورد استفاده برای بررسی ساختار ملکولی ماده است [55]. نتایج مرتبط با طیف سنجی مادون قرمز فیلم پروتئین خالص و نانوکامپوزیت‌های محتوی سطوح مختلف NCC در شکل (1) نشان داده شده است. نمودارهای مرتبط با فیلم پروتئین خالص و هم‌چنین نانوکامپوزیت‌های محتوی NCC در حالت کلی تقریباً شبیه بودند. اما در بررسی دقیق، بسته به ترکیبات شرکت‌کننده تغییراتی را در شدت و مکان پیک‌ها نشان دادند. این فیلم‌ها به‌طور کلی پیک‌های عمده‌ای را در نواحی موسوم به Amide ارائه دادند. طول موج بین $600-1800\text{ cm}^{-1}$ از Amid I (حاصل از C=O کششی و باندهای هیدروژنی جفت شده با گروه COO) برای فیلم پروتئینی در طول موج 1643 cm^{-1} ، Amid II (حاصل از خمش و ارتعاش گروه N-H و کشش و ارتعاش گروه‌های C-N، برای فیلم پروتئینی در طول موج 1540 cm^{-1}) و Amid III (حاصل از ارتعاش در سطح C-N و گروه‌های N-H مرتبط با پیوند آمینی و یا ارتعاش گروه‌های CH_2 متعلق به گلیسین، برای فیلم پروتئینی در طول موج 1238 cm^{-1}) تشکیل می‌شود. باند واقع در طول موج $1036-1039\text{ cm}^{-1}$ در همه فیلم‌ها مشاهده شد که به واکنش بین پلاستی سائزر (گروه OH گلیسرول) و ساختار فیلم مربوط می‌شود. باند Amid-A در تمامی فیلم‌ها مابین طول موج‌های $3270-3280\text{ cm}^{-1}$ مشاهده شد. باند مرتبط با Amid-B نیز در فیلم‌های مختلف بین طول

جدول (3) شاخص‌های مرتبط با رنگ سطحی فیلم‌های نانوکامپوزیت برپایه پروتئین حاوی درصد‌های مختلف نانوکریستال سلولز

| نوع فیلم | L* | a* | b* | ΔE | WI | C_{ab} |
|-------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| شاهد | 92/17±0/17 ^a | 1/42±0/05 ^{ab} | 4/38±0/44 ^a | 5/03±0/26 ^a | 90/91±0/07 ^a | 4/61±0/42 ^a |
| پ- 2٪ سلولز | 91/59±1/03 ^a | 1/46±0/11 ^a | 4/26±0/09 ^a | 5/28±0/12 ^a | 90/45±0/89 ^a | 4/52±0/11 ^a |
| پ- 4٪ سلولز | 91/42±0/73 ^a | 1/31±0/02 ^b | 4/11±0/14 ^a | 5/02±0/29 ^a | 90/73±0/35 ^a | 4/31±0/13 ^a |
| پ- 6٪ سلولز | 91/64±0/51 ^a | 1/36±0/08 ^{ab} | 4/12±0/23 ^a | 5/12±0/15 ^a | 90/56±0/37 ^a | 4/35±0/21 ^a |

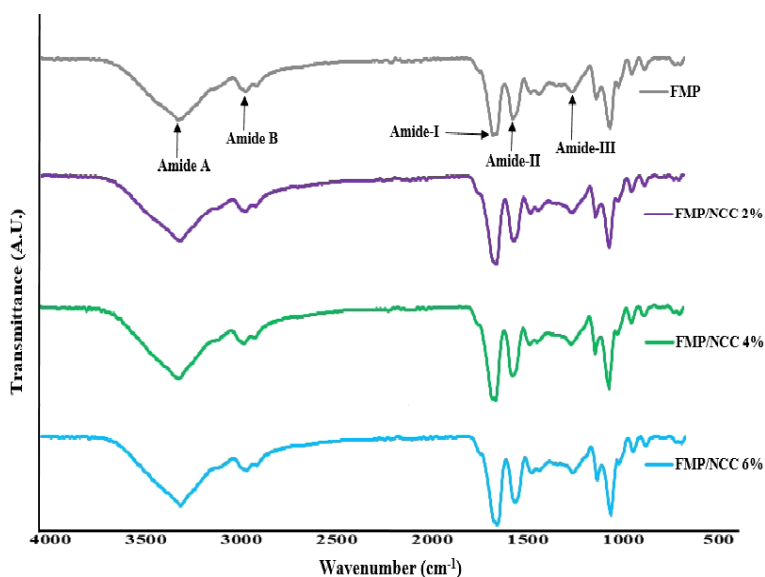
حروف متفاوت (a، b، c) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0/05$ است. داده‌ها به صورت میانگین (حداقل 3 تکرار) ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

پ: پروتئین؛ سلولز: نانوکریستال سلولز

دخیل در پیوند (β 1-4) گلیکوزیدی واحدهای β-D- خواص حرارتی فیلم‌ها

نتایج مرتبط با آزمون گرمایشی روبشی افتراقی (DSC) فیلم‌های مختلف در جدول (4) نشان داده شده است. این آزمون در واقع برای بررسی اثر تیمارهای مختلف بر خواص گرمایی فیلم‌های تولیدی انجام گرفت. پارامترهای حرارتی مختلف موسوم به؛ دمای انتقال شیشه‌ای (Tg) دمای کریستالیزاسیون (Tc) و دمای ذوب (Tm) در فیلم‌های مختلف بررسی و ارائه شده است. این داده‌ها در واقع از نمودارهای مربوطه استخراج و در جدول مذکور گزارش شده است. فیلم شاهد و فیلم‌های نانوکامپوزیت Tg نزدیک به هم در دامنه 22/3-27/2 داشتند. با افزودن NCC به فیلم‌های شاهد Tg تا حدی افزایش نشان داد. Tg در واقع بیان‌کننده دمایی است که در آن ساختار ماده از حالت آمورف به حالت لاستیکی و ویسکوز تغییر می‌کند [63]. Tg تحت تاثیر تغییر در میزان تحرک پذیری زنجیره‌های پلیمری فیلم قرار می‌گیرد. به‌طور کلی افزایش در Tg فیلم‌های محتوی NCC را می‌توان به پدیده‌های مختلفی از قبیل: واکنش سلولز با آب و توزیع مجدد ملکول‌های آب در ماتریس پلیمر و در نتیجه آن کاهش اثر پلاستی سایزری آب، واکنش بین ترکیبات ماتریس پلیمر و NCC و متعاقب آن کاهش تحرک زنجیره‌های پلیمر که این نوع رفتار در اثر افزودن نانوکریستال‌های سلولز در بستر پلیمر ژلاتین [25] و پلی وینیل الکل [59] مشاهده شد، و هم‌چنین اثر خود نانوذرات سلولز که به نوعی طبیعتاً ارتقا دهنده

glucopyranose در سلولز ارتباط دارد. باند موجود در ناحیه 1590-1690 با ارتعاش Amid-I مرتبط است (معمولاً در پروتئین‌ها)، هم‌چنین این باند با جذب ملکول‌های آب در ساختار غیرکریستالی سلولز نیز ارتباط داشته و افزایش شدت آن در فیلم‌های نانوکامپوزیت نشان دهنده عدم کریستالیزاسیون کامل نانوکریستال‌ها است [48]. افزودن NCC به فیلم پروتئینی تا حدی شدت پیک Amid-A را افزایش داد. این تغییر نشان‌دهنده کاهش میزان آب جذب شده توسط پروتئین‌ها در اثر حضور ذرات NCC است. این پدیده به دلیل رقابت ذرات NCC برای اتصال به ملکول‌های آب است که می‌تواند یکی از دلایل اثر ضد پلاستی سایزری NCC در بستر پلیمر باشد که سبب کاهش کشسانی فیلم‌ها شدند [52]. از طرفی کمی افزایش شدت و نوک تیزتر شدن این پیک (Amid-A) به‌ویژه در نانوکامپوزیت‌های محتوی NCC 6% در قیاس با فیلم شاهد مشاهده شد که مرتبط با ارتعاشی ساختار کریستالی نانوذرات سلولز است. هم‌چنین افزایش شدت این پیک در نانوکامپوزیت‌ها در قیاس با فیلم شاهد مرتبط با باندهای هیدروژنی تشکیل شده بین پروتئین و نانوکریستال‌های سلولز است [47]. شدت باند موجود در ناحیه 1540 در فیلم پروتئینی بعد از افزودن NCC افزایش یافت و هم‌چنین مکان آن به طول موج پایین‌تر منتقل شد که روندی مشابه مشاهدات خان و همکاران [21] نشان داد.



شکل (1) نمودارهای مرتبط با آزمون FTIR فیلم پروتئینی و نانوکامپوزیت‌های پروتئین-نانوکریستال سلولز (وزن لوزن) 2، 4، 6، 8؛ NCC: Nanocrystalline cellulose؛ FMP: Fish myofibrillar protein

جدول (4) شاخص‌های مرتبط با بررسی خواص حرارتی (DSC) فیلم‌های نانوکامپوزیت بر پایه پروتئین حاوی درصد‌های مختلف نانوکریستال سلولز

| نوع فیلم | Tg (°C) | Tc (°C) | Tm (°C) |
|-------------|---------|---------|---------|
| شاهد | 22/3 | 64/9 | 106/2 |
| پ- 2/ سلولز | 25/3 | 57/3 | 111/2 |
| پ- 4/ سلولز | 27/2 | 58 | 109/6 |
| پ- 6/ سلولز | 26/9 | 60/4 | 112/1 |

پ: پروتئین؛ سلولز: نانوکریستال سلولز؛ Tg: دمای انتقال شیشه‌ای؛ Tc: دمای کریستالیزاسیون؛ Tm: دمای ذوب

پروتئین تاثیر گذاشته و سبب انتقال Tm به دماهای بالاتر شده است. این تغییرات نشان دهنده تاثیر مثبت NCC بر افزایش پایداری حرارتی پلیمرهای پروتئینی است [25]. نتایج مشابهی در زمینه افزایش پایداری گرمایی پلیمرهای ترکیبی با سلولز توسط محققان دیگر گزارش شده است [2, 25, 47 و 62].

4- نتیجه‌گیری

در این مطالعه به منظور تقویت خواص کلی فیلم‌های خوراکی بر پایه پروتئین میوفیبریل ماهی، از نانوکریستال‌های سلولز استفاده شد. نتایج نشان داد که نانوذرات سلولز در این زمینه موثر بوده و قادرند خواص فیزیکی و شیمیایی و گرمایی این فیلم‌ها را بهبود دهند. به طوری که با افزودن نانوکریستال‌های سلولز به ماتریکس پلیمر، استحکام کششی فیلم‌ها افزایش یافت. همچنین نانوذرات بر خواص فیزیکی فیلم‌ها اثر مثبت داشته و مقاومت به آب آن‌ها را افزایش دادند به طوری که حلالیت، تورم‌پذیری و نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های نانوکامپوزیت (NCC 6٪) در قیاس با فیلم شاهد کاهش یافت. نانوذرات سلولز بر خواص گرمایی پلیمر تاثیر مثبت داشته و سبب افزایش دمای انتقال شیشه‌ای و دمای ذوب پلیمر پروتئینی شدند. این اثرات مثبت در مجموع، به سبب نانومقیاس کریستال‌های سلولز، میزان بالای کریستالیزاسیون، پخش همگن نانوذرات و برقراری پیوندهای قوی و تشکیل شبکه نانوذرات درون بستر پلیمر نسبت داده شد. نتایج حاصل از FTIR تایید کننده پراکنش نانوذرات درون بستر پلیمر و تشکیل برهمکنش‌های مولکولی (عمدتاً هیدروژنی) بین آن‌ها بود.

مقاومت گرمایی و میزان کریستالیزاسیون پلیمر است نسبت داد [54]. این اثر نانوکریستال‌های سلولز بر کاهش تحرک زنجیره‌ها به نوعی در آنالیز خواص مکانیکی فیلم‌ها و کاهش کشسانی فیلم‌های نانوکامپوزیت در اثر حضور نانوذرات سلولز مشاهده شد. همچنین مکانیسمی که توسط عزیزی و همکاران ارائه شده است می‌تواند برای توضیح دقیق‌تر دلیل افزایش Tg توسط ذرات NCC به کار رود. بدین صورت که سطح رشته‌های جامد سلولز می‌تواند تحرک زنجیره‌های پلیمر در نزدیکی و مجاورت ناحیه بین دو سطح را محدود کرده و در نتیجه آن Tg به دماهای بالاتر منتقل می‌شود [48]. محققان در زمینه تولید فیلم‌های مرکب پروتئین-ژئین-PVA در حضور اکریلیک اسید، گزارش کردند که Tg با افزایش غلظت اسید اکریلیک افزایش می‌یابد. دلیل اولیه این افزایش به حضور اسید اکریلیک و دخالت آن در ماتریس پلیمر با ایجاد واکنش بین ژئین و PVA و بنابراین کاهش تحرک زنجیره‌ها نسبت داده شد [60]. حضور نانوذرات سلولز سبب کاهش دمای کریستالیزاسیون فیلم‌ها شد. این تغییرات می‌تواند ناشی از میزان کریستالیزاسیون بالای نانوذرات و انتقال این ویژگی به فیلم‌های نانوکامپوزیت باشد. دمای ذوب در فیلم‌های نانوکامپوزیت نسبت به فیلم شاهد تغییر نشان داد و حضور ذرات NCC سبب افزایش دمای ذوب آن‌ها شد به طوری که با بالا رفتن غلظت NCC بر دمای ذوب فیلم‌ها افزوده شد. این پدیده می‌تواند ناشی از برهمکنش‌های قوی تشکیل شده بین ماتریکس پروتئین و ذرات NCC باشد [61]. کریستالیزاسیون بالای ذرات NCC و انتقال این خاصیت‌ذرات NCC و انتقال این خاصیت به فیلم‌های نانوکامپوزیت نیز می‌تواند عاملی برای افزایش دمای ذوب فیلم‌های حاصل باشد. همچنین می‌توان گفت افزودن NCC، بر پیک گرم‌گیر ناشی از دناتوره شدن و تغییر مارپیچ هلیکس

منابع

- antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll.*, 30, 224-231.
- [9] Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., Prasarpran, S. (2012). Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly (vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. *Food Hydrocoll.*, 29, 226-233.
- [10] Blanco-Pascual, N., Fernández-Martín, F., Montero, P. (2014). Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) myofibrillar protein concentrate for edible packaging films and storage stability. *LWT- Food Sci. Technol.*, 55, 543-550.
- [11] Hamaguchi, P. Y., WuYin, W., Tanaka, M. (2007). Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of Blue marlin (*Makaira mazara*). *Food Chem.*, 100, 914-920.
- [12] Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J.-L., Guilbert, S. (1995). Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. *J. Food Sci.*, 60, 1369e1374.
- [13] Nie, X., Gong, Y., Wang, N., Meng, X. (2015). Preparation and characterization of edible myofibrillar protein-based film incorporated with grape seed procyanidins and green tea polyphenol. *LWT- Food Sci. Technol.*, 64, 1042-1046.
- [14] Teixeira, B., Marques, A., Pires, C., Ramos, C., Batista, I., Saraiva, J. A., Nunes, M. L. (2014). Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties. *LWT- Food Sci. Technol.*, 59, 533-539.
- [15] Prodpran, T., Benjakul, S., Phatcharat, S. (2012). Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein.
- [1] Rhim, J. W., Park, H. M., Ha, C. S. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Prog. Polym. Sci.*, 38, 1629-1652.
- [2] Savadekar, N. R., Karande, V. S., Vigneshwaran, N., Bharimalla, A. K., Mhaske, S. T. (2012). Preparation of nano cellulose fibers and its application in kappa-carrageenan based film. *Int. J. Biol. Macromolec.*, 51, 1008-1013.
- [3] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, G., Batista, I., Mendes, R., Nunes, L., Marques, A. (2011). Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *J. Food Eng.*, 105, 422-428.
- [4] Arfat, Y. A., Benjakul, S., Prodpran, T., Osako, K. (2014). Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. *Food Hydrocoll.*, 39, 58-67.
- [5] Jiménez, A., Sánchez-González, L., Desobry, S., Chiralt, A., Tehrany, E.A. (2014). Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate. *Food Hydrocoll.*, 35, 159-169.
- [6] Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., Prasarpran, S. (2010). Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. *J. Food Eng.*, 100, 85-92.
- [7] da Rocha, M., Loiko, M. R., Gautério, G. V., Tondo, E. C., Prentice, C. (2013). Influence of heating, protein and glycerol concentrations of film-forming solution on the film properties of Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) protein isolate. *J. Food Eng.*, 116, 666-673.
- [8] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M. L., Marques, A. (2013). Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical,

- [24] Zhou, Y., Fu, S., Zheng, L., Zhan, H. (2012). Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly (vinyl alcohol) nanocomposite films. *Express Polym. Lett.*, 6, 794-798.
- [25] Georgea, J., Siddaramaiah. (2012). High performance edible nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals. *Carbohydr. Polym.*, 87, 2031-2037.
- [26] Trovatti, E., Fernandes, S. C., Rubatat, L., da Silva Perez, D., Freire, C. S., Silvestre, A. J., Neto, C. P. (2012). Pullulan–nanofibrillated cellulose composite films with improved thermal and mechanical properties. *Compos. Sci. Technol.*, 72, 1556-1561.
- [27] Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., Behrooz, R. (2013). Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocoll.*, 32, 416-424.
- [28] ASTM. (2010). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: *American Society for Testing and Material, Designation.*, E96/E96M–10.
- [29] Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., Buonocore, G. G. (2010). Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydr. Polym.*, 82, 291-298.
- [30] ASTM. (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: *American Society for Testing and Material.*, D 882-02.
- [31] Jiang, Y. F., Li, Y. X., Chai, Z., Leng, X. J. (2010). Study of the physical properties of whey protein isolate and gelatin composite films. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 5100-5108.
- [32] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a nov-
Int. J. Biol. Macromolec., 51, 774-782.
- [16] Sorrentino, A., Gorrasi, G., Vittoria, V. (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends Food Sci. Technol.*, 18, 84-95.
- [17] Ma, H., Burger, C., Hsiao, B. S., Chu, B. (2014). Fabrication and characterization of cellulose nanofiber based thin-film nanofibrous composite membranes. *J. Membr. Sci.*, 454, 272-282.
- [18] Lee, S. Y., Chun, S. J., Kang, I. A., Park, J. Y. (2009). Preparation of cellulose nanofibrils by high-pressure homogenizer and cellulose-based composite films. *J. Ind. Eng. Chem.*, 15, 50-55.
- [19] Jensen, A., Lim, L. T., Barbut, S., Marcone, M. (2015). Development and characterization of soy protein films incorporated with cellulose fibers using a hot surface casting technique. *LWT- Food Sci. Technol.*, 60, 162-170.
- [20] Panaitescu, D. M., Frone, A. N., Ghiurea, M., Chiulan, I. (2015). Influence of storage conditions on starch/PVA films containing cellulose nanofibers. *Ind. Crop. Prod.*, 70, 170-177.
- [21] Khan, A., Khan, R.A., Salmieri, S., Tien, C.L., Riedl, B., Bouchard, J., Chauve, G., Tan, V., Kamal, M.R. Lacroix, M. (2012). Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. *Carbohydr. Polym.*, 90, 1601-1608.
- [22] Cao, X., Chen, Y., Chang, P. R., Muir, A. D., Falk, G. (2008). Starch-based nanocomposites reinforced with flax cellulose nanocrystals. *Express Polym. Lett.*, 2, 502-510.
- [23] Chang, P. R., Jian, R., Zheng, P., Yu, J., Ma, X. (2010). Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. *Carbohydr. Polym.*, 79, 301-305.

- films. *J. Food Sci.*, 59, 1322-1337.
- [41] Pereda, M., Dufresne, A., Aranguren, M. I., Marcovich, N. E. (2014). Polyelectrolyte films based on chitosan/olive oil and reinforced with cellulose nanocrystals. *Carbohydr. Polym.*, 101, 1018-1026.
- [42] De Paula, E. L., Mano, V., Pereira, F. V. (2011). Influence of cellulose nanowhiskers on the hydrolytic degradation behavior of poly (d, l-lactide). *Polym. Degrad. Stab.*, 96(9), 1631-1638.
- [43] Tunc, S., Angellier, H., Cahyana, Y., Chaliier, P., Gontard, N., Gastaldi, E. (2007). Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. *J. Membr. Sci.*, 289, 159-168.
- [44] Wittaya, T. (2009). Microcomposites of rice starch film reinforced with microcrystalline cellulose from palm pressed fiber. *Int. Food Res. J.*, 16, 493-500.
- [45] Bilbao-Sainz, C., Avena-Bustillos, R. J., Wood, D. F., Williams, T. G. McHugh, T. H.) (2010). Composite edible films based on hydroxypropyl methylcellulose reinforced with microcrystalline cellulose nanoparticles. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 3753-3760.
- [46] Chen, G., Liu, H. (2008). Electrospun cellulose nanofiber reinforced soybean protein isolate composite film. *J. Appl. Polym. Sci.*, 110, 641-646.
- [47] Huq, T., Salmieri, S., Khan, A., Khan, R. A., Tien, C. L., Riedl, B., Fraschinic, C., Bouchard, C., Uribe-Calderon, J., Kamal, M. R., Lacroix, M. (2012). Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable nanocomposite film. *Carbohydr. Polym.*, 90, 1757-1763.
- [48] Pereda, M., Amica, G., Rácz, I., Marcovich, N. E. (2011). Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *J. Food Eng.*, 103, 76-83.
- [49] Stepan, A. M., Ansari, F., Berglund, L., Gatenholm, P. (2014). Nanofibrillated cellulose reinforced el biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chem.*, 122, 161-166.
- [33] Wu, Q., Meng, Y., Concha, K., Wang, S., Li, Y., Ma, L., Fu, S. (2013). Influence of temperature and humidity on nano-mechanical properties of cellulose nanocrystal films made from switchgrass and cotton. *Ind. Crop. Prod.*, 48, 28-35.
- [34] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., Farahmandghavi, F. (2015). Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Ind. Crop. Prod.*, 67, 403-413.
- [35] Peng, X. W., Ren, J. L., Zhong, L. X., Sun, R. C. (2011). Nanocomposite films based on xylan-rich hemicelluloses and cellulose nanofibers with enhanced mechanical properties. *Biomacromolec.*, 12, 3321-3329.
- [36] Fernandes, S. C., Freire, C. S., Silvestre, A. J., Neto, C. P., Gandini, A., Berglund, L. A., Salmén, L. (2010). Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated cellulose. *Carbohydr. Polym.*, 81, 394-401.
- [37] Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., Miraki, R. (2013). Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromolec.*, 54, 166-173.
- [38] Dehnad, D., Emam-Djomeh, Z., Mirzaei, H., Jafari, S. M., Dadashi, S. (2014). Optimization of physical and mechanical properties for chitosan-nanocellulose biocomposites. *Carbohydr. Polym.*, 105, 222-228
- [39] Atef, M., Rezaei, M., Behrooz, R. (2015). Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. *Food Hydrocoll.*, 45, 150-157.
- [40] Stuchell, Y. M., Krochta, J. M. (1994). Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein

- gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. *Food Hydrocoll.*, 41, 265-273.
- [58] El Miri, N., Abdelouahdi, K., Barakat, A., Zahouily, M., Fihri, A., Solhy, A., El Achaby, M. (2015). Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals: Rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films. *Carbohydr. Polym.*, 129, 156-167.
- [59] George, J., Ramana, K. V., Bawa, A. S. Siddaramaiah. (2011). Bacterial cellulose nanocrystals exhibiting high thermal stability and their polymer nanocomposites. *Int. J. Biol. Macromolec.*, 48, 50-57.
- [60] Lee, J. H., Won, M., Song, K. B. (2015). Physical properties and antimicrobial activities of porcine meat and bone meal protein films containing coriander oil. *LWT- Food Sci. Technol.*, 63, 700-705.
- [61] Li, X., Qiu, C., Ji, N., Sun, C., Xiong, L., Sun, Q. (2015). Mechanical, barrier and morphological properties of starch nanocrystals-reinforced pea starch films. *Carbohydr. Polym.*, 121, 155-162.
- [62] Abdulkhani, A., Hosseinzadeh, J., Ashori, A., Dadashi, S., Takzare, Z. (2014). Preparation and characterization of modified cellulose nanofibers reinforced polylactic acid nanocomposite. *Polym. Test.*, 35, 73-79.
- [63] Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A. (2014). Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll.*, 36, 9-19.
- acetylated arabinoxylan films. *Compos. Sci. Technol.*, 98, 72-78.
- [50] Svagan, A. J., Hedenqvist, M. S., Berglund, L. (2009). Reduced water vapour sorption in cellulose nanocomposites with starch matrix. *Compos. Sci. Technol.*, 69, 500-506.
- [51] Savadekar, N. R., Mhaske, S. T. (2012). Synthesis of nano cellulose fibers and effect on thermoplastics starch based films. *Carbohydr. Polym.*, 89, 146-151.
- [52] Santos, T. M., Men de Sá Filho, M. S., Caceres, C. A., Rosa, M. F., Morais, J. P. S., Pinto, A. M., Azeredo, H. M. (2014). Fish gelatin films as affected by cellulose whiskers and sonication. *Food Hydrocoll.*, 41, 113-118.
- [53] Bilbao-Sainz, C., Bras, J., Williams, T., Sénechal, T., Orts, W. (2011). HPMC reinforced with different cellulose nano-particles. *Carbohydr. Polym.*, 86, 1549-1557.
- [54] Azeredo, H., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H. (2009). Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. *J. Food Sci.*, 74, 31-35.
- [55] Wu, J., Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., Zhang, Q. (2014). The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocoll.*, 43, 427-435.
- [56] Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Agustini, T. W. (2012). Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocoll.*, 28, 189-199.
- [57] Arfat, Y. A., Benjakul, S., Prodpran, T., Sumpavapol, P., Songtipya, P. (2014). Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin