



اثر نوع کیتوزان بر ویژگی‌های فیلم‌های زیست تخریب پذیر تولید شده از ژلاتین حاصل از پوست فیل ماهی (*Huso huso*)

میلاذ زعفرانی تبریزی^۱، سید مهدی اجاق^{۲*}، علیرضا عالیشاهی^۲ و محسن کاظمی^۱

۱. دانشجوی دکتری، فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. دانشیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۲۳، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۷/۴/۹، تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۲۳)

چکیده

قابلیت تشکیل فیلم از ژلاتین و هم‌چنین کیتوزان موجب شده که به‌عنوان فیلم‌های خوراکی با خواص فیزیکی و مکانیکی مناسب در صنعت بسته‌بندی و نگهداری مورد استفاده قرار گیرند. در این مطالعه اثر ترکیب کیتوزان‌های مختلف محلول در آب، محلول در اسید، الیگوساکارید با نسبت وزنی ۵۰:۵۰ با ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی پرورشی برای تولید فیلم مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور ارزیابی اثر نوع کیتوزان در ترکیب با ژلاتین استخراج شده از ضایعات پوست فیل ماهی پرورشی و خواص فیلم‌ها، آزمون‌های فیزیکی، مکانیکی، نوری و طیف‌سنجی مادون قرمز و آزمون سنجش تغییرات گرمایی-وزنی فیلم‌های مربوطه انجام گرفت. در این تحقیق بالاترین میزان استحکام کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست به ترتیب در فیلم‌های ژلاتین ۱۰۰٪ و فیلم ژلاتین کیتوزان محلول در آب ۵۰٪ بود. در فیلم‌های ترکیبی با کیتوزان الیگوساکارید بالاترین و در فیلم‌های ژلاتینی ۱۰۰٪ کم‌ترین میزان رطوبت و حلالیت مشاهده شد. در نتایج مربوط به درصد تورم پذیری مشاهده شد که فیلم‌های (ژلاتین/کیتوزان محلول در اسید) حل شدند و در حالی که کم‌ترین درصد تورم پذیری را فیلم ژلاتینی ۱۰۰٪ داشت. نتایج حاصل از بررسی نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی بیانگر این بود که فیلم‌های ژلاتینی ترکیب شده با کیتوزان الیگوساکارید و محلول در اسید به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب را از خود نشان دادند. خواص نوری و شفافیت فیلم‌ها به‌طور کلی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند. نتایج حاصل از طیف سنجی مادون قرمز بیانگر این بود که فیلم ژلاتین/کیتوزان الیگوساکارید به دلیل فرایند تخریبی کم‌تر و باند جذبی قوی‌تر در ناحیه آمید، خواص بهتری نسبت به سایر فیلم‌ها دارد. هم‌چنین پایداری حرارتی و باقی‌مانده وزنی فیلم‌های ترکیبی از فیلم ژلاتین خالص بیش‌تر بود که این پدیده را می‌توان به اثر افزودن کیتوزان‌ها و حضور آن‌ها در ماتریکس فیلم‌ها مرتبط دانست.

واژه‌های کلیدی: فیلم خوراکی ترکیبی، ژلاتین، کیتوزان، ساختار، پایداری حرارتی.

۱. مقدمه

بسیاری در این حوزه قرار گرفته‌اند. نحوه تولید این فیلم‌ها باید به گونه‌ای باشد که در هنگام حمل و نقل و هم‌چنین نگهداری محصول سالم بماند و در طی فرایند مصرف نظیر پخت و یا جویدن شروع به تجزیه کند [۸]. از راه‌های غلبه بر این محدودیت‌های ژلاتین می‌توان به ترکیب کردن آن با سایر پلیمرهایی چون کیتوزان و تهیه فیلم مخلوط نام برد [۵].

کیتوزان، پلی ساکارید خطی و حاصل از استیل زدایی کیتین می‌باشد. استفاده از فیلم‌های بیوپلیمری به دلیل مشکلات مرتبط با عملکرد آن‌ها، حساسیت ذاتی به آب و مقاومت نسبتاً کم به ویژه در محیط‌های مرطوب با محدودیت‌هایی همراه است [۹]. کیتوزان نیز از این ویژگی عمومی مستثنی نبوده و ویژگی آبدوستی و در نهایت خصوصیات مکانیکی ضعیف آن در محیط‌های مرطوب و هم‌چنین ناکافی بودن مقاومت حرارتی و سختی، کاربرد تنهای آن را در صنعت بسته‌بندی با مشکل روبرو کرده است [۱۰]. کامپوزیت یک جایگزین جدید برای روش‌های سنتی بهبود خصوصیات پلیمرها به حساب می‌آید [۱۱]. از مزایای فیلم‌های ترکیبی می‌توان به بهبود خصوصیات آن‌ها، کاهش هزینه‌ها اشاره کرد [۹، ۱۰]. این کامپوزیت‌ها در مقایسه با پلیمرهای خالص یا کامپوزیت‌های قدیمی خصوصیات مکانیکی، حرارتی، نوری و فیزیکوشیمیایی به مراتب بهبود یافته‌تری را نشان می‌دهند که از جمله می‌توان به افزایش مدول، استحکام و مقاومت حرارتی و کاهش نفوذپذیری به گازها با افزودن کیتوزان اشاره کرد [۱].

لذا این مطالعه با هدف بررسی مشخصات و ویژگی‌های فیلم‌های ترکیبی ژلاتین با سه نوع کیتوزان محلول در آب، محلول در اسید، الیگوساکارید با نسبت وزنی مختلف ۵۰:۵۰ ژلاتین-کیتوزان و هم‌چنین بهبود خواص فیزیکی، مکانیکی از طریق افزودن کیتوزان به منظور بهینه سازی آن‌ها برای کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی انجام گردید.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. مواد مصرفی

در این تحقیق از ژلاتین پوست فیل ماهی پرورشی تازه، کیتوزان (محلول در آب، محلول در اسید و الیگو ساکارید) با درجه استیل زدایی بالای ۸۰ ساخت شرکت کیمیا کاسپین مازند و NaOH، اسید استیک و گلیسرول ساخت شرکت Merck،

مواد بسته‌بندی به‌عنوان یک محافظ فیزیکی محصول بوده و با ایجاد شرایط فیزیکوشیمیایی مناسب منجر به افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌گردد. بسته‌بندی‌های تهیه شده از پلیمرهای زیستی می‌توانند سدی در برابر رطوبت، بخار آب، گازها و مواد محلول باشند و هم‌چنین مناسب برای افزودن طیف گسترده‌ای از افزودنی‌ها و ترکیبات غذایی هستند که مزیت اصلی آن‌ها نسبت به پلیمرهای مصنوعی زیست تخریب پذیر بودن آن‌ها است [۱]. ایده استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های زیست تخریب پذیر خوراکی با خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی بالا به دلیل تقاضای مصرف کنندگان مواد خوراکی با کیفیت بالا و نگرانی ناشی از مصرف مواد نگهدارنده مصنوعی، به‌عنوان جایگزینی سالم و مناسب مورد توجه است [۲]. هم‌چنین فیل ماهی *Huso huso* از ماهیان ارزشمند خاویاری ایران محسوب می‌شود که در چند ساله اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۳]. ضایعات پوست حاصل از پرورش این ماهی منبع خام بسیار مناسبی برای استخراج ژلاتین می‌باشد. در مطالعات اخیر در همین راستا تحقیق‌های قابل توجهی در مورد توسعه و کاربردهای بیوپلیمرهای استخراج شده از منابع طبیعی مختلف صورت گرفته و هم‌چنین از بیوپلیمرهایی از قبیل ژلاتین فلس ماهی، پوست ماهی، کیتین، کیتوزان، پروتئین‌ها با منشا حیوانی و گیاهی و چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند [۴]. ژلاتین، پروتئینی است که از هیدرولیز کنترل شده کلاژن به‌دست می‌آید و فیلم‌هایی با ویژگی مکانیکی مناسب و حفاظت خوب در برابر نفوذ اکسیژن و آب دوست بودن، نسبت به رطوبت نفوذ پذیر است [۵]. امروزه در بسته‌بندی مواد غذایی، فیلم و پوشش‌های خوراکی در بسیاری از موارد به‌طور کامل جایگزین پلیمرهای سنتزی یا ترموپلاستیک شده‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به استفاده در فراورده‌های غذایی نظیر فراورده‌های قنادی (فون‌ها)، میوه‌ها و سبزی‌های تازه، فراورده‌های گوشتی، طیور و ماهی، فراورده‌های منجمد، خشک شده و نظایر آن اشاره کرد [۶]. یکی از راه‌های افزایش ماندگاری مواد غذایی استفاده از پوشش‌های خوراکی تولید شده از مواد طبیعی است که به شکل ورقه‌های جامد ساخته می‌شوند [۷]. کیتوزان و ژلاتین به‌دلیل خواص تشکیل فیلم مناسب و تشکیل لایه‌هایی با ویژگی فیزیکی و مکانیکی مقاوم مورد توجه

۶.۲. تعیین میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب (WVP)

نفوذپذیری فیلم‌ها بر اساس روش ASTM E96 مصوب اندازه‌گیری شد [۱۳]. فیلم‌ها توسط گریس روی سطح سلول‌های اندازه‌گیری ثابت شده و درون دسیکاتور حاوی سلیکاژل قرار داده شدند. آب در دمای 25°C رطوبت 100% ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای 25°C سبب اختلاف فشار بخاری معادل $2/337 \times 10^3 \text{ pa}$ می‌شود. سلول در لحظه صفر و 10 h پس از شروع آزمایش توزین و میزان تغییرات وزنی آن‌ها محاسبه شد. نفوذپذیری به بخار آب طبق رابطه (۱) به‌دست آمد.

$$\text{WVP} = W \times X / A \times t \times \Delta P \quad (1)$$

WVP: نفوذ پذیری به بخار آب، W: کاهش وزن، X: میانگین ضخامت فیلم، A: سطح در معرض فیلم، t: زمان و ΔP : اختلاف فشار دو سمت فیلم.

۷.۲. تعیین میزان جذب آب

نمونه‌ها ابتدا به مدت 24 h درون دسیکاتور حاوی سلیکاژل قرار گرفته و سپس وزن اولیه آن‌ها مشخص شد. در مرحله بعد فیلم‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر در دمای 25°C قرار داده شدند. فیلم‌ها به صورت دوره‌ای و در فواصل زمانی معین (5 min) از ظرف خارج و قبل از وزن کردن سطح آن‌ها به آرامی توسط دستمال خشک شده و توزین نمونه تا رسیدن به وزن ثابت ادامه پیدا کرد. میزان جذب رطوبت از رابطه (۲) محاسبه گردید [۱۴].

$$(2)$$

$\text{وزن فیلم پس از غوطه وری} = \text{جذب رطوبت} (\%)$
 $100 \times [\text{وزن فیلم قبل از غوطه وری} / \text{وزن فیلم قبل از غوطه وری}]$

۸.۲. تعیین میزان رطوبت

مقدار رطوبت به‌وسیله خشک کردن تکه‌های کوچکی از فیلم در دمای 105°C به مدت 24 h تعیین شد. وزن فیلم‌ها قبل قرار دادن در آن و بعد از خشک کردن در آن ثبت شد. مقدار رطوبت به صورت درصد از دست رفتن وزن براساس وزن اولیه محاسبه شد.

۹.۲. تعیین حلالیت فیلم‌ها

ابتدا وزن اولیه نمونه‌ها پس از خشک شدن در دمای 105°C

آب اکسیژنه H_2O_2 ساخت شرکت آرمان سینا استفاده گردید.

۲.۲. تهیه محلول کیتوزان‌ها

محلول کیتوزان‌های مختلف (محلول در آب، محلول در اسید، الیگوساکارید) را با حل کردن نسبت w/v ۴ کیتوزان محلول در اسید و الیگوساکارید در اسید استیک با نسبت $1 v/v$ و حل کردن کیتوزان محلول در آب در آب مقطر به‌دست آمدند. برای حل شدن بهتر کیتوزان‌ها، محلول‌ها به مدت 3 h در دمای اتاق با هم زن مغناطیسی هم زده شدند.

۳.۲. تهیه فیلم‌های ژلاتین/کیتوزان

ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی پرورشی به میزان w/v ۴ در آب مقطر حل شد. به منظور تورم و انحلال بهتر در دمای اتاق به مدت 15 min قرار داده و با همزن مغناطیسی هم زده شد. به منظور نرم شدن و انعطاف پذیری فیلم‌ها، $30 w/w$ گلیسرول به‌عنوان نرم کننده به محلول اضافه و به مدت 10 min هم زده شد. فیلم‌ها به صورت مخلوط تولید شدند. برای ایجاد فیلم‌های مخلوط ابتدا محلول کیتوزان‌ها و محلول ژلاتین با نسبت‌های وزنی تعیین شده مختلف $50:50$ ترکیب و پس از خشک شدن از قالب‌ها جدا شدند [۲۲].

۴.۲. ضخامت فیلم‌ها

سنجش میزان ضخامت نمونه‌ها با استفاده از ریزسنج دیجیتالی Mitutoyo ساخت ژاپن و با دقت 0.001 mm انجام گرفت. 10 نقطه از هر نمونه برای اندازه‌گیری انتخاب شد. میانگین ضخامت‌های به‌دست آمده برای تعیین میزان مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخار آب است.

۵.۲. تعیین خواص مکانیکی

خواص مکانیکی با استفاده از دستگاه تجزیه و تحلیل بافت SANTAM-STM-5 ارزیابی شد. نمونه‌های فیلم در ابعاد $2/54 \times 10 \text{ cm}$ برای انجام اندازه‌گیری‌ها برش داده شدند. فاصله بین دو فک 50 mm و سرعت حرکت فک‌ها 50 mm/min بود. حداقل سه تکرار برای هر فیلم در نظر گرفته شد. فاکتورهای شامل مقاومت به کشش TS و درصد افزایش طول تا نقطه پاره شدن E طبق استاندارد ASTM D882-02 از روی منحنی‌های نیرو بر حسب تغییر شکل به‌دست آمدند [۱۲].

گرمایش $10^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ به همراه گاز نیتروژن خالص با سرعت جریان $20\text{mm} \cdot \text{min}^{-1}$ با دستگاه TGA-7، Perkin Elmer، Norwalk، CT ساخت آمریکا، مورد آنالیز قرار گرفتند.

۱۳.۲. تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS انجام گردید که در آن جهت بررسی اختلاف بین داده‌های حاصله از فیلم‌ها، از تجزیه واریانس یک طرفه One-way ANOVA استفاده شد. همچنین جهت تعیین وجود تفاوت معنی‌دار بین مقادیر میانگین تیمارهای مختلف از آزمون Duncan در سطح $p < 0.05$ استفاده شد. تمام آزمایش‌ها با حداقل ۳ تکرار انجام شد.

۴. نتایج و بحث

۴.۱. خواص مکانیکی

نتایج حاصل از آزمون‌های مکانیکی فیلم‌های ژلاتینی ترکیب شده با کیتوزان‌های (محلول در آب، محلول در اسید و الیگوساکارید) در جدول (۱) آورده شده است. استحکام یا مقاومت کششی TS مولفه‌ای جهت سنجش استحکام پلیمر است که متأثر از به هم پیوستگی زنجیره‌های پلیمر در بستر ورقه‌ای فیلم‌ها می‌باشد [۲۴]. کرنش در نقطه شکست E نیز معیاری جهت بررسی کشش در فیلم قبل از پاره شدن است [۱۴]. مشاهده شد که بالاترین میزان استحکام کششی به میزان $6/87\text{ Mpa}$ در فیلم‌های ژلاتین 100% بود. همچنین ازدیاد طول در نقطه شکست فیلم‌ها در فیلم‌های ژلاتین/کیتوزان محلول در آب 50% به مقدار $277/95\text{ Mpa}$ به بالاترین میزان خود رسید و این احتمالاً به دلیل وجود آب درون پیوندهای این فیلم به نسبت فیلم‌های دیگر بوده است که این خود سبب کشسانی بیش‌تر فیلم می‌شود. مقاومت کششی فیلم‌ها به شکل قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با فیلم ژلاتین خالص با اضافه کردن کیتوزان الیگوساکارید نسبت به فیلم‌های دیگر افزایش داشت که این افزایش مقاومت کششی می‌تواند ناشی از پراکنش یکنواخت کیتوزان و شکل‌گیری ترکیب با ژلاتین از نوع یکنواخت و همچنین تشکیل پیوند هیدروژنی قوی در ساختار پروتئینی ژلاتین و کربوهیدرات کیتوزان الیگوساکارید باشد و کاهش مقاومت ناشی از افزایش قدرت جذب ذرات کیتوزان محلول در آب به دلیل وجود آب در فیلم و پیوندهای ضعیف بین ژلاتین و

تعیین گردید. سپس نمونه‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر غوطه‌ور شده و به مدت 24 h در دمای 25°C به شکل ملایمی تکان داده شدند. سپس فیلم‌ها توسط کاغذهای صافی که از قبل خشک و توزین شده بودند فیلتر و دوباره در دمای 105°C خشک شدند. حلالیت فیلم‌ها از رابطه (۳) محاسبه گردید [۱۳].

(۳) - وزن نمونه خشک اولیه = حلالیت فیلم (%)
وزن نمونه خشک اولیه / $100 \times$ (وزن فیلم بعد از غوطه وری

۴.۲. سنجش رنگ سطحی، کدورت و میزان عبور نور از فیلم‌ها

به منظور سنجش میزان رنگ سطحی از دستگاه رنگ سنج BYK Gardner ساخت آمریکا، استفاده گردید. نمونه‌ها روی کاشی استاندارد سفید رنگ قرار گرفتند و ۳ فاکتور L^* شفافیت، a^* + قرمز - / سبز و b^* + زرد - / آبی برای آن‌ها تعیین گردید. همچنین برای محاسبه اختلاف رنگ نمونه‌ها ΔE ، داده‌های به دست آمده برای سه فاکتور فوق مرتبط با مرجع و نیز سه فاکتور L^* ، a^* و b^* مرتبط با هر نمونه در رابطه (۴) قرار داده شد [۷].

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (4)$$

جهت سنجش میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها، نمونه‌های فیلم جهت انجام آنالیز درون سلول‌های اسپکتروفتومتری قرار گرفتند. به منظور سنجش میزان عبور نور و کدورت، به ترتیب از طول موج $200-800\text{ nm}$ و برای اسکن استفاده گردید. جهت محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها از رابطه (۵) استفاده شد:

(۵)

ضخامت فیلم / میزان جذب در طول موج 600 nm = کدورت فیلم

۱۱.۲. طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)

طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه در حالت عبور با استفاده از دستگاه FTIR در گستره $4000-650\text{ cm}^{-1}$ و در تفکیک‌پذیری 4 cm^{-1} تعیین گردید.

۱۲.۲. آزمون سنجش تغییرات گرمایی-وزنی (TGA)

نمونه فیلم‌های خشک‌شده از دمای 25°C تا 600°C با سرعت

کیتوزان محلول در اسید باشد [۲۱، ۱۰]

۲.۳. خواص فیزیکی فیلم‌های تولیدی (رطوبت، حلالیت، تورم، نفوذ پذیری به بخار آب)

ژلاتین/کیتوزان محلول در اسید کم‌ترین میزان رطوبت را داشت که احتمالاً می‌تواند ناشی از پیوندهای عرضی بین پروتئین‌های ژلاتین و گروه‌های آمیدی و استری کیتوزان باشد [۵]. ایجاد این اتصالات در فیلم منجر به کاهش گرایش فیلم به آب شده و فیلمی با رطوبت و حلالیت کم‌تر در آب تولید می‌شود ۴/۳۰٪.

در جدول (۲) نتایج مربوط به رطوبت، حلالیت، تورم پذیری، نفوذ پذیری در برابر بخار و ضخامت فیلم‌های ژلاتین/کیتوزان با نسبت ۵۰:۵۰ مختلف ارائه شده است. در ارتباط با درصد رطوبت همانگونه که مشخص است، بیش‌ترین رطوبت در فیلم ژلاتین/کیتوزان الیگوساکارید ۹/۲۶٪ و کم‌ترین در فیلم ژلاتین خالص ۳/۲۷٪ مشاهده شد. با صرف نظر از مقایسه فیلم ژلاتینی خالص با فیلم‌های ترکیبی، در بین فیلم‌های ترکیبی، فیلم

داده‌های مربوط به حلالیت نیز نشان داد که کم‌ترین حلالیت در فیلم ژلاتین خالص ۱۶/۵۳٪ و بیش‌ترین حلالیت در فیلم ژلاتین/کیتوزان الیگوساکارید ۳۷/۲۳٪ وجود دارد اما در بین سه فیلم ترکیب شده با ژلاتین، فیلم ژلاتین/کیتوزان محلول در اسید ۳۰/۰۳٪ کم‌ترین حلالیت را نسبت به بقیه فیلم‌های ترکیبی از خود نشان داد. نتایج مشابهی برای حلالیت در آب

جدول (۱) خواص مکانیکی فیلم‌های ژلاتینی (فیلم‌های شاهد) و فیلم‌های ژلاتینی حاوی کیتوزان محلول در اسید، محلول در آب و کیتوزان-الیگوساکارید. **Table 1** mechanical properties of gelatin films(control films) and gelatin films incorporated with Acid soluble chitosan, Water Soluble, chitosan oligosaccharide.

ضخامت Thickness (mm)	ازدیاد طول Elongation at break (%)	مقاومت به کشش Tensile Strength (Mpa)	تیمار Treatment
0/047±0/75 ^{bc}	28/6±3/05 ^c	1/111±0/003 ^a	ک.م.ا 50: 50 Gelatin50: Acid soluble chitosan50
0/065±0/004 ^b	277/95±2/00 ^a	3/561±0/003 ^a	ک.م.آ 50: 50 Gelatin50: Water soluble chitosan50
0/03±0/43 ^a	276/04±1/005 ^a	4/37±0/005 ^b	ک.ال 50: 50 Gelatin50: Oligosaccharide chitosan50
0/0047±0/006 ^b	52/57±14/77 ^b	6/87±1/16 ^a	ژ Gelatin

حروف متفاوت (a, b, c, ..) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ < p است. ک.م.ا: کیتوزان محلول در اسید؛ ک.م.آ: کیتوزان محلول در آب؛ ک.ال: کیتوزان الیگوساکارید؛ ژ: ژلاتین خالص.

جدول (۲) خواص فیزیکی فیلم‌های ژلاتینی (فیلم‌های شاهد) و فیلم‌های ژلاتینی حاوی کیتوزان محلول در اسید، محلول در آب و کیتوزان-الیگوساکارید. **Table 2** Physical properties of gelatin films(control films) and gelatin films incorporated with Acid soluble chitosan, Water Soluble, chitosan oligosaccharide.

ضخامت Thickness (mm)	نفوذ پذیری Penetrability (10 ⁻¹⁰ g/ms Pa)	تورم پذیری Inflation (%)	حلالیت Solubility (%)	رطوبت Moisture (%)	تیمار Treatment
0/047±0/75 ^{bc}	1/28±0/1 ^b	---	30/03±1/1 ^c	4/30±0/15 ^{bc}	ک.م.ا 50: 50 Gelatin50: Acid soluble chitosan50
0/065±0/004 ^b	1/03±0/07 ^c	4337/5±2/0 ^a	37/20±0/39 ^c	9/00±0/16 ^b	ک.م.آ 50: 50 Gelatin50: Water soluble chitosan50
0/03±0/43 ^a	0/65±0/02 ^c	1737/50±2/0 ^b	37/23±0/30 ^a	9/26±0/62 ^b	ک.ال 50: 50 Gelatin50: Oligosaccharide chitosan50
0/074±0/76 ^a	1/12±0/02 ^a	707/5±2/0 ^d	16/53±1/35 ^d	3/27±0/22 ^d	ژ Gelatin

حروف متفاوت (a, b, c, ..) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ < p است. ک.م.ا: کیتوزان محلول در اسید؛ ک.م.آ: کیتوزان محلول در آب؛ ک.ال: کیتوزان الیگوساکارید؛ ژ: ژلاتین خالص

جلوگیری از تورم برای فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی امری مفید است. بنابراین و باتوجه به نتایج حاصل از حلالیت می‌توان گفت که فیلم‌های حاصل از ژلاتین/ کیتوزان الیگو ساکارید ۵۰٪ بیش‌ترین مقاومت را بعد از فیلم‌های ژلاتینی ۱۰۰٪ نسبت به سایر تیمارها در برابر آب دارند.

نفوذ پذیری به بخار آب یک روش ساده برای اندازه‌گیری میزان نفوذ و عبور رطوبت به داخل یک ماده است. نتایج حاصل از بررسی نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی نشان داد که بیش‌ترین میزان در فیلم‌های ترکیبی ژلاتین/کیتوزان محلول در اسید ۱/۲۸٪ و کم‌ترین میزان در فیلم ترکیبی ژلاتین/کیتوزان الیگوساکارید ۰/۶۵٪ مشاهده شد. نفوذپذیری نسبت به بخار آب عاملی مهم در درک تغییر رطوبت بین پوشش محصول و محیط اطراف است. کاهش مشاهده شده در میزان نفوذ پذیری به بخار آب در فیلم‌های ترکیبی کامپوزیت به نظر می‌رسد به دلیل حضور ذرات کیتوزان به‌طور یکنواخت در ماتریس پلیمری فیلم‌ها است [۱۹]. نتایج این تحقیق با نتایج حاصل تحقیقات مچوگ و همکاران در یک راستا بود.

۳.۳. رنگ سطحی، کدورت و میزان عبور نور از فیلم‌ها

رنگ بسته‌بندی عامل مهم و موثری بر ظاهر محصول و پذیرش مصرف کننده در مواجهه با آن‌هاست و یکی از عوامل اصلی تعیین کیفیت فیلم‌های خوراکی به شمار می‌آید. همانگونه که در جدول (۳) مشهود است، شاخص L^* فیلم‌های ژلاتین/ کیتوزان محلول

فیلم‌های کیتوزان توسط گارسیا و همکاران [۲۶] و عاطف و همکاران [۲۵] گزارش شده است. حلالیت یکی از ویژگی‌های مهم در فیلم‌های زیست تخریب پذیر است به‌طور کلی ژلاتین نسبت به رطوبت محیط تغییر پذیر است و هم‌چنین ژلاتین ماهی در مقایسه با ژلاتین پستانداران ایمینواسید، پرولین و هیدروکسی پرولین کم‌تری دارد که این می‌تواند دلیل حلالیت بیش‌تر فیلم‌های حاصل از آن‌ها در مقایسه با پستانداران باشد [۱۵]. اما نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان حلالیت در فیلم‌های تولیدی از ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی به تنهایی کم‌تر از فیلم‌های ژلاتینی ترکیب شده با کیتوزان‌های محلول در آب و محلول در اسیدو الیگوساکارید است.

طبق نتایج مربوط به درصد تورم پذیری (جدول ۳)، مشاهده شد که فیلم ترکیبی (ژلاتین/کیتوزان محلول در اسید) در لحظات اولیه به میزان زیادی آب جذب کرده و متورم شد و پیش از رسیدن به تعادل متلاشی شد، اما همه فیلم‌های ترکیبی به تعادل رسیدند اما میزان آب جذب کرده به مراتب بیش‌تر از فیلم ژلاتینی خالص بود که فیلم ژلاتینی خالص کم‌ترین درصد تورم پذیری ۷۰۷/۵٪ و کم‌ترین درصد تورم پذیری در فیلم ژلاتین/ کیتوزان الیگوساکارید ۱۷۳۷/۵۰٪ در بین فیلم‌های ترکیب با ژلاتین را دارا است. جذب رطوبت ابزاری است برای تعیین خواص جذب رطوبت در فیلم، که در نهایت به درون سیستم بسته‌بندی منتقل شده و در تماس با ماده غذایی قرار می‌گیرد [۱۶]. به علاوه تورم فیلم اغلب با تضعیف خواص مکانیکی آن همراه است و

جدول (۳) ویژگی‌های رنگ سطحی فیلم‌های ژلاتینی (فیلم‌های شاهد) و فیلم‌های ژلاتینی حاوی کیتوزان محلول در اسید، محلول در آب و کیتوزان الیگوساکارید.

Table 3 Surface Color properties of gelatin films (control films) and gelatin films incorporated with Acid soluble chitosan, Water Soluble, chitosan oligosaccharide.

ΔE	b^*	a^*	L^*	تیمار Treatment
16/61±0/40 ^c	9/00±0/00 ^b	3/23±0/46 ^{bc}	82/86±0/40 ^a	ک.م. 50؛ 50 Gelatin50: Acid soluble chitosan50
12/88±0/54 ^b	6/33±0/63 ^c	2/7±0/00 ^{ab}	85/63±0/61 ^a	ک.م. آ. 50؛ 50 Gelatin50: Water soluble chitosan50
30/09±0/51 ^a	17/60±0/00 ^b	6/96±0/46 ^b	73/03±0/61 ^a	ک.ال. 50؛ 50 Gelatin50: Oligosaccharide chitosan50
10/70±0/94 ^b	5/36±0/92 ^a	2/00±0/00 ^a	87/46±0/63 ^b	ژ Gelatin

حروف متفاوت (a, b, c, ...) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.05$ است. ک.م: کیتوزان محلول در اسید؛ ک.م.آ: کیتوزان محلول در آب؛ ک.ال: کیتوزان الیگوساکارید؛ ژ: ژلاتین خالص

واقع قادر به جذب اشعه فرابنفش می‌باشند. هرچه فیلم خاصیت سد کنندگی بیش‌تری در برابر فرابنفش داشته باشد، مناسب‌تر است و می‌تواند سبب جلوگیری از بروز فساد اکسیداسیونی در مواد غذایی بسته‌بندی شده گردد. در ناحیه نور مرئی نیز فیلم‌ها گذردهی مناسبی نشان دادند که این مطلب نیز در نتایج تحقیقات مشابه اثبات شده است [۲۰، ۲۱]. کدورت نیز معیاری جهت سنجش شفافیت فیلم‌هاست که هرچه کدورت بالاتر باشد شفافیت کم‌تر است. مقایسه میزان کدورت فیلم‌های تولیدی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود داشت و رنج پایین کدورت در فیلم‌های ژلاتینی خالص و در فیلم‌های ترکیب شده با ژلاتین در فیلم ژلاتین/کیتوزان الیگوساکارید مشاهده شد که بیانگر وجود ناخالصی در کیتوزان محلول در آب و محلول در اسید است که باعث کدورت فیلم‌های تولیدی شده است.

۴.۳. طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)

نتایج مرتبط با طیف سنجی مادون قرمز فیلم‌های ژلاتین خالص و ژلاتینی/کیتوزان در شکل (۱) ارائه شده است. نمودارهای مرتبط با فیلم ژلاتین خالص و هم‌چنین فیلم‌های ترکیب شده با کیتوزان‌ها در حالت کلی تقریباً شبیه هم بودند. اما در بررسی دقیق بسته به نوع کیتوزان‌ها تغییراتی در شدت پیک‌ها نشان دادند. پیک‌های اصلی در ناحیه‌ای موسوم به Amide ارائه دادند. باندهای واقع در ۱۶۲۱، ۱۶۵۴، ۳۰۰۰ و ۳۳۴۷ به ترتیب به آمید A، آمید B، آمید I، آمید II و

در آب و ژلاتین /کیتوزان محلول در اسید و ژلاتین خالص، تفاوت معنی‌داری نشان ندادند و شاخص L^* آن‌ها به استاندارد سفید رنگ نزدیک بود. هم‌چنین بررسی شاخص a^* فیلم‌های مختلف، گرایش آن‌ها به سمت مثبت را نشان داد. بررسی شاخص زردی b^* فیلم‌ها نیز نشان داد که در فیلم ژلاتین/کیتوزان الیگوساکارید این شاخص به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. شاخص اختلاف رنگ فیلم‌های تولیدی نیز گواه بر این مسئله داشت که با افزایش درصد کیتوزان الیگوساکارید به فیلم‌های ژلاتینی استخراج شده از پوست فیل ماهی پرورشی اختلاف رنگ فیلم‌ها با کاشی استاندارد سفید رنگ افزایش می‌یابد. به‌طور کلی می‌توان عنوان کرد که فیلم‌های ژلاتینی ترکیب با کیتوزان محلول در آب از خواص رنگی بهتری نسبت به فیلم‌های دیگر برخوردار بودند [۸]. درصد عبور اشعه نور فرابنفش و مرئی و هم‌چنین میزان کدورت فیلم‌های ترکیبی از ژلاتین استخراج شده با کیتوزان‌های محلول در آب، محلول در اسید، الیگوساکارید با نسبت ۵۰:۵۰ در طول موج‌های انتخابی ۲۰۰ تا ۸۰۰ nm در جدول (۴) ارائه شده است. در ناحیه طول موج فرابنفش ۲۸۰-۲۰۰ nm فیلم‌های ژلاتین و ژلاتین/کیتوزانی خاصیت سدکنندگی خوبی در برابر اشعه فرابنفش نشان دادند که با نتیجه حاصل از تحقیق میونگا و همکاران مطابقت نشان داد که این می‌تواند ناشی از تغییرات آمینواسیدهای حلقوی در ژلاتین حاصل از پوست فیل ماهی و وجود کیتوزان در ژلاتین باشد که بیش‌ترین تاثیر را در فیلم ترکیبی ژلاتین/کیتوزان محلول در اسید از خود نشان داده و در

جدول (۴) ویژگی کدورت و نفوذ پذیری به نور فیلم‌های ژلاتینی (فیلم‌های شاهد) و فیلم‌های ژلاتینی حاوی کیتوزان محلول در اسید، محلول در آب و کیتوزان-الیگوساکارید.

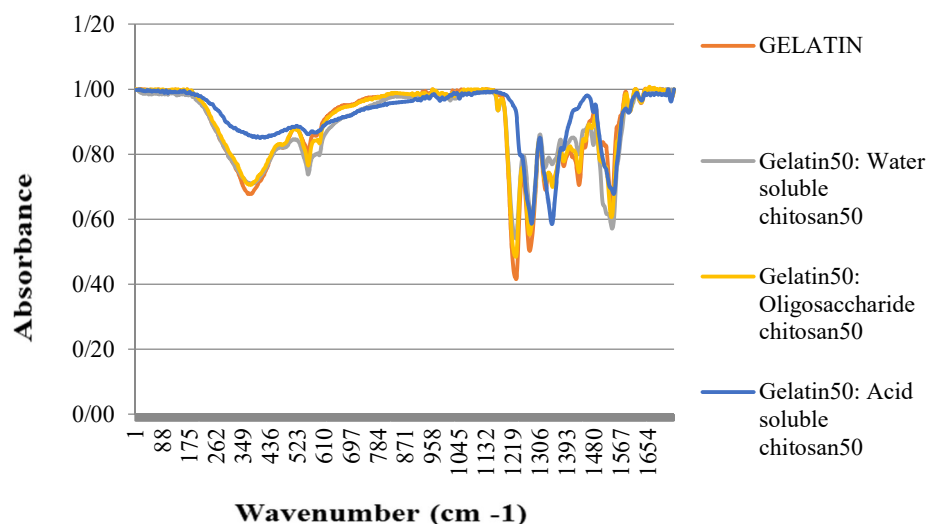
Table 4 Light transmission of gelatin films (control films) and gelatin films incorporated with Acid soluble chitosan, Water Soluble, chitosan oligosaccharide.

کدورت Opacity	طول موج Wavelength								تیمار Treatment
	800	700	600	500	400	350	280	200	
0/09±0/002 ^a	83/3	82/3	78/9	72/2	58/2	32/2	5/1	1/2	ک.م.ا 50:50 Gelatin50: Acid soluble chitosan50
0/65±0/02 ^b	88/7	86	83/4	81/4	79/4	67/7	24/3	3/3	ک.م.آ 50:50 Gelatin50: Water soluble chitosan50
0/14±0/003 ^a	80/4	82/4	71/8	59/3	31/1	9/6	2/4	1/5	ک.ال 50:50 Gelatin50: Oligosaccharide chitosan50
0/09±0/004 ^a	81	82/5	79/6	79/2	76/2	66	10/3	0	ژ Gelatin

حروف متفاوت (a, b, c و...) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.05$ است. طول موج (nm) ک.م.ا: کیتوزان محلول در اسید؛ ک.م.آ: کیتوزان محلول در آب؛ ک.ال: کیتوزان الیگوساکارید؛ ژ: ژلاتین خالص

حضور زنجیره‌های تصادفی و ساختار ناسازگار شده است [۲۷]. جذب در ناحیه آمید II و آمید III به دلیل حضور کیتوزان کمی افزایش داشت که به بخش آمینو و کربونیل مربوط می‌شود [۲۸]. هم‌چنین در تحقیقات کتناوا و همکاران بیان شده است که فعالیت پروتئین‌ها و پپتیدها به هم وابسته نیست به دلیل این که پروتئین‌ها حاوی مقادیر اسیدهای آمینه متفاوتی هستند و خواص متفاوتی از خود نشان می‌دهند [۲۳]. در تحقیقات بیان شده که این تغییرات ممکن است به دلیل حضور گروه‌های آمینو و کربونیل باشد که به‌طور کلی این گروه‌ها الکترواستاتیک هستند. پلیمر کیتوزان به‌طور موثری از طریق پیوند هیدروژنی با اسید آمینه‌های ژلاتین واکنش داده است و در نهایت توانسته است یک ساختار به هم پیوسته و یکنواختی را به کمک اتصالات عرضی میان رشته‌های پلیمر ایجاد کند. این ساختار به هم فشرده و یکنواخت می‌تواند یکی از عوامل بهبود خواص مکانیکی توسط کیتوزان بوده باشد [۷]. می‌توان گفت که فیلم ژلاتین-کیتوزان الیگوساکارید نسبت به فیلم‌های دیگر با استناد به پیک‌های موجود و به دلیل فرایندهای تخریبی کم‌تر، ساختار ثانویه پروتئین باند جذبی قوی تری در ناحیه آمید I دارد، بنابراین از خواص مکانیکی بهتری نیز برخوردار است.

آمید III، مربوط است که در فیلم‌های مختلف باهم شباهت دارند. آمید A نشان دهنده C=O کششی همراه با پیوند هیدروژنی N-H کششی/ OH کششی، آمید B، آمید I نشان دهنده C=O کششی/ پیوند هیدروژنی به همراه COO، آمید II ناشی از ارتعاشات خمشی گروه N-H و ارتعاشات کششی گروه‌های C-N و آمید III به ارتعاشات گروه‌های C-N و N-H محدود آمیدی و یا ارتعاشات گروه CH₂ گلاسیسین وابسته است. باندهای جذبی طیف محدود آمیدی، در ناحیه‌ای مشابه به فیلم‌های تولیدی از ژلاتین حاصل از پوست ماهی مرکب در تحقیق ونگ و همکاران و فیلم‌های تولیدی از ژلاتین غشای تخم مرغ و کیتوزان در تحقیق محمدی و همکاران قرار گرفته است [۲۳]. تغییرات جزئی در طول موج‌های جذب شده از فیلم‌های ژلاتین با افزودن کیتوزان مشاهده شد. علاوه بر این افزودن کیتوزان منجر به تغییرات کانونی در زنجیره‌های پلی پپتیدی ژلاتین و کاهش شدت اوج در محدوده ۱۶۵۴ تا ۱۶۵۰ شد. با توجه به این که فیلم‌ها حاوی ژلاتین هستند تغییر در این دامنه فرکانس نشان دهنده تغییرات در کلاژن و ژلاتین است که مربوط به ساختار ثانویه در منطقه آمید I است. علاوه بر این کیتوزان باعث تغییرات سازمانی در زنجیره‌های پلی پپتیدی ژلاتین شده و سبب کاهش



شکل (۱) نمودار FTIR فیلم‌های ژلاتینی (فیلم‌های شاهد) (G) و فیلم‌های ژلاتینی حاوی کیتوزان محلول در اسید (ASC)، محلول در آب (WSC) و کیتوزان-الیگوساکارید (OSC)

Fig. 1 FTIR spectra of gelatin films (control films) (G) and gelatin films incorporated with Acid soluble chitosan (ASC), Water Soluble chitosan (WSC), chitosan oligosaccharide (OSC)

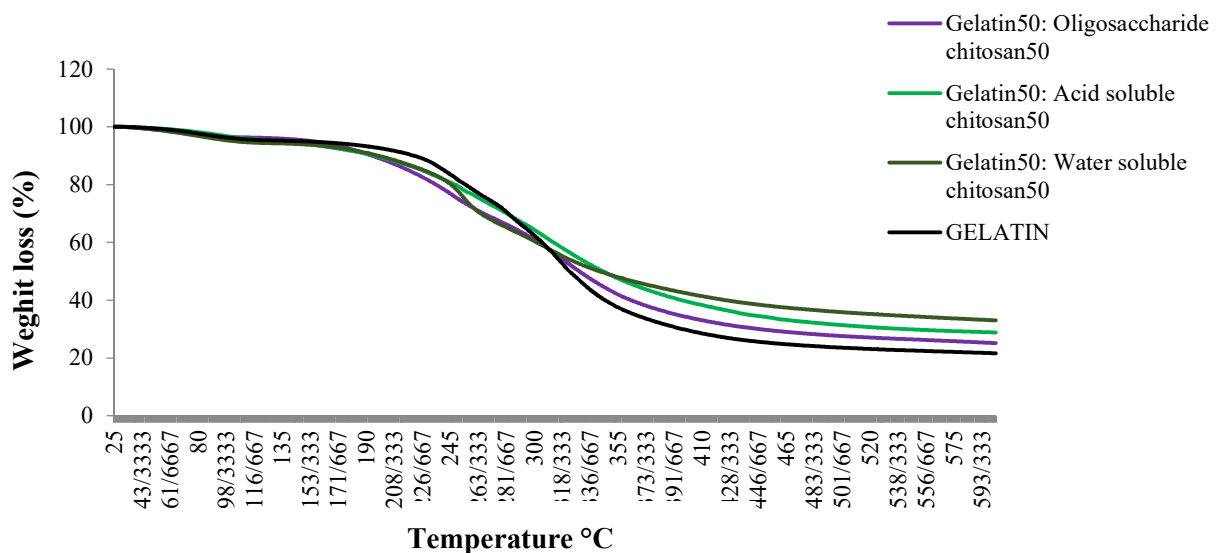
۵.۳. آزمون سنجش تغییرات گرمایی-وزنی (TGA)

الگوهای رفتاری مرتبط با تغییرات گرمایی-وزنی فیلم‌های ژلاتینی/کیتوزان در شکل (۲) ارائه شده است. طبق نمودارها سه مرحله اصلی تخریب و کاهش وزن در تمام فیلم‌های تولیدی مشاهده شد. کاهش وزن اولیه که در تمام فیلم‌ها در دامنه دمایی کمتر از ۱۰۰ درجه سانتی گراد مشاهده شد احتمالاً به دلیل کاهش یا تبخیر آب آزاد، آب متصل و همچنین ترکیبات فرار جذب شده در فیلم‌ها می‌باشد. کاهش کم‌تر وزن در فیلم‌های ترکیبی می‌تواند با محتوای کم‌تر رطوبت نسبت به فیلم ژلاتینی خالص مرتبط باشد. مهم‌ترین دمای شروع کاهش وزن مرحله دوم تخریب است که نشان دهنده شروع تخریب و تجزیه دمایی فیلم‌ها است که به تخریب و یا تجزیه بخش‌هایی از پروتئین با وزن مولکولی پایین و پیوندهای ساختمانی مرتبط با آب نسبت داده می‌شود. سومین مرحله تخریب/کاهش وزن ۴۹/۵۶٪-W3Δ=۳۸/۷۵ در تمام فیلم‌ها در محدوده دمایی Td3، ۳۲۷/۶۵-۴۴۴/۵۷٪ آغاز شد. به‌طور کلی فیلم‌های کامپوزیت پایداری حرارتی بالاتری را در مرحله ۲ و ۳ تخریب در مقایسه با فیلم ژلاتینی نشان دادند و این پایداری می‌تواند به دلیل ساختار کریستاله بیش‌تر تولید شده در ماتریس فیلم‌ها در اثر حضور کیتوزان مرتبط باشد [۲۰]. بالاترین درصد وزن باقی مانده در فیلم

ترکیبی ژلاتین/کیتوزان محلول در آب مشاهده شد و این نشان دهنده پایداری حرارتی بالاتر آن با افزودن کیتوزان محلول در آب بود این نتیجه نشان دهنده ی این بود که افزودن کیتوزان‌ها در سطوح مناسب قادر به پایداری گرمایی پلیمرهای تولیدی است.

۴. نتیجه گیری

تحقیق حاضر نشان داد که افزودن کیتوزان به نسبت ۵۰:۵۰ به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب بهبود خواص مکانیکی و فیزیکی و ساختاری فیلم‌های ژلاتینی شده و از میزان حساسیت آن‌ها نسبت به رطوبت می‌کاهد. بر طبق مشاهدات، بسیاری از خواص فیلم کیتوزان/ژلاتین متأثر از نسبت کیتوزان اضافه‌شده به فیلم تولیدی بود؛ به‌طوری‌که استفاده از ژلاتین و کیتوزان به نسبت ۵۰:۵۰ درصد تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر کاهش عبور دهی فیلم‌ها نسبت به طیف UV داشت و همچنین اضافه کردن کیتوزان الیگوساکارید و کیتوزان محلول در آب به فیلم با همین نسبت، به‌ترتیب باعث بهبود WVP و مقاومت کششی فیلم TS در فیلم‌های تولیدی شد. در این رابطه آزمون‌های طیف سنجی مادون قرمز و سنجش تغییرات گرمایی-وزنی اثبات کرد که کیتوزان الیگو ساکارید و محلول در آب می‌توانند به‌طور یکنواخت



شکل (۲) نمودار TGA فیلم‌های ژلاتینی (فیلم‌های شاهد (G) و فیلم‌های ژلاتینی حاوی کیتوزان محلول در اسید (ASC)، محلول در آب (WSC) و کیتوزان-الیگوساکارید (OSC)

Fig. 2 TGA graph of gelatin films(control films) (G) and gelatin films incorporated with Acid soluble chitosan (ASC), Water Soluble chitosan (WSC), chitosan oligosaccharide (OSC)

خوراکی ژلاتین/کیتوزان بعنوان یک پلیمر کمکی در ترکیب با پلیمرهای زیستی با هدف بهبود اثر محافظتی و همچنین کاهش میزان مصرف آن‌ها با هدف کاهش آلودگی زیست محیطی استفاده کرد.

در بستر فیلم ژلاتینی توزیع شده و به شکل مناسبی با رشته‌های پلیمری واکنش دهند. با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد به‌کارگیری مشتقات مختلف کیتوزان در تقویت بستر پلیمری فیلم‌های ژلاتینی با هدف بهبود و نزدیک کردن آن‌ها به کاربردهای تجاری موثر باشد. در این رابطه می‌توان از فیلم

منابع

- packaging utilizing crude extract from durian leaf waste. *Food Control.*, 90, 66-72
- [12] 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.
- [13] 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/E96. 730-739
- [14] Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., and Buonocore, G. G. (2010). Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydr Polym.*, 82(2), 291-298.
- [15] Hanani, Z. N., Roos, Y. H., Kerry, J. P. (2014). Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *Int. J. Biol. Macromo.*, 71, 94-102.
- [16] da Trindade Alfaro, A., Fonseca, G. G., Prentice-Hernández, C. (2013). Enhancement of functional properties of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin at different pH values. *Food Bioprocess Tech.*, 6(8), 2118-2127.
- [17] Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., Tharanathan, R. N. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocoll.*, 21(7), 1113-1122.
- [18] Cussler, E., Hughes, S., Ward III, W., Aris, R. (1988). Barrier membranes. *J. Membrane Sci.*, 38(2), 161-174.
- [19] Ferreira, A. R., Torres, C. A., Freitas, F., Sevrin, C., Grandfils, C., Reis, M. A., Coelho, I. M. (2016). Development and characterization of bilayer films of FucoPol and chitosan. *Carbohydr Polym.*, 147, 8-15.
- [20] Kerch, G., Zicans, J., Meri, R. M. (2010). The effect of chitosan oligosaccharides on bread staling. *J. Cereal Sci.*, 52(3), 491-495.
- [21] Silva-Castro, I., Martín-Ramos, P., Matei, P. M., Fernandes-Correa, M., Hernández-Navarro, S., Martín-Gill, J. (2017). Eco-Friendly Nanocomposites of Chitosan with Natural Extracts, Antimicrobial Agents, and Nanometals. *Handbook of Composites from*
- [1] Rhim, J., Ng, P. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 47(4), 411-43.
- [2] Ketnawa, S., Benjakul, S., Martínez-Alvarez, O., Rawdkuen, S. (2017). Fish skin gelatin hydrolysates produced by visceral peptidase and bovine trypsin: Bioactivity and stability. *Food Chem.*, 215, 383-390.
- [3] Mahjoorian, A., Mortazavi, S. A., Tavakolipour, H., Motamedzadegan, A., Askari, B. (2013). Rheological properties of skin gelatin of Beluga Sturgeon (*Huso huso*) from The Caspian Sea. *Eur. J. Biol. Res.*, 4(7), 227-23.
- [4] Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydr Polym.*, 82(2), 277-283.
- [5] Aider, M., (2010), Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review, *LWT-Food Sci. Technol.*, 43(6), 837-842.
- [6] Abdollahi, M., Rezaei, M., Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *J. Food Eng.*, 111(2), 343-350.
- [7] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H., (2010), Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water, *Food Chem.*, 122(1), 161-166
- [8] Rui, L., Xie, M., Hu, B., Zhou, L., Yin, D., Zeng, X. (2017). A comparative study on chitosan/gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid. *Carbohydr Polym.*, 173, 473-481.
- [9] Arora, A., Padua, G. (2009). Review: Nanocomposites in Food Packaging. *Journal of Food Science*, 75(1), 43 [8] Azeredo, H. 2009. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res. Int.*, 42(9), 1240-1253
- [10] Azeredo, H. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res. Int.*, 42(9), 1240-1253.
- [11] Kam, W. Y. J., Mirhosseini, H., Abas, F., Hussain, N., Hedayatnia, S., Chong, H. L. F. (2018). Antioxidant activity enhancement of biodegradable film as active

Renewable Materials, Nanocomposites: Advanced Applications., 8, 35.

[22] Qiao, C., Ma, X., Zhang, J., Yao, J. (2017). Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. *Food Chem.*, 235, 45-50.

[23] Mohammadi, R., Mohammadifar, M. A., Rouhi, M., Kariminejad, M., Mortazavian, A. M., Sadeghi, E., Hasanvand, S. (2018). Physico-mechanical and structural properties of eggshell membrane gelatin-chitosan blend edible films. *Int. J. Biol. Macromo.*, 107, 406-412.

[24] Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. A., Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocoll.*, 25(8), 1813-1827.

[25] 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.

[26] García, M. A., Pinotti, A., Martino, M. N. Zaritzky, N. E., (2004), Characterization of composite hydrocolloid films, *Carbohydr Polym.*, 56(3), 339-345.

[27] Muyonga, J., Cole, C. G., Duodu, K. (2004). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem.*, 86, 325-332.

[28] Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A., Martucci, J. F. (2011). Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocoll.*, 25, 1372-1381.