

ساخت و مشخصه‌یابی نانوذرات ایزوله پروتئین شیر به روش الکترواسپری

سیامک رهبری^۱، حمید توکلی پور^{۲*}، احمد کلباسی اشتری^۳

۱- دانشجوی دکتری تخصصی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*۲- نویسنده مسئول) دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۱۱/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۳

چکیده

در این پژوهش، نانوذرات ایزوله پروتئین شیر (MPI) به روش الکترواسپری تولید شدند. به منظور بهینه‌سازی شرایط الکترواسپری نانوذرات MPI، غلظت محلول MPI (برحسب درصد وزنی)، ولتاژ فرایند (برحسب کیلوولت)، فاصله حرکتی ذرات بین نوک سوزن و جمع‌کننده (برحسب سانتی‌متر) و سرعت جریان پمپ (برحسب میلی‌لیتر بر ساعت) در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) بررسی و به روش سطح پاسخ (RSM) مدل‌سازی و تجزیه و تحلیل شدند. نتایج بررسی‌ها نشان داد که غلظت محلول MPI بیشترین تأثیر و فاصله بین نوک سوزن و جمع‌کننده کمترین تأثیر را بر قطر نانوذرات دارند. بر طبق نتایج به دست آمده، با بهینه‌سازی غلظت محلول MPI (۲/۵ درصد وزنی)، سرعت جریان پمپ (۰/۲ میلی‌لیتر بر ساعت)، فاصله بین نوک سوزن و جمع‌کننده (۱۵ سانتی‌متر) و ولتاژ (۱۷/۵ کیلوولت) می‌توان نانوذرات یکنواخت MPI تولید کرد. تصاویرهای حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) موفقیت روش الکترواسپری را در تولید نانوذرات کروی با میانگین قطر ۲۰۴/۳ نانومتر و حداکثر یکنواختی در توزیع اندازه ذرات تأیید کردند. آنالیز طیف‌سنجی فروسرخ با تبدیل فوریه (FTIR) چگونگی ساختار شیمیایی نانوذرات را بیان کرد.

واژه‌های کلیدی: الکترواسپری، ایزوله پروتئین شیر، روش سطح پاسخ، مدل‌سازی

مقدمه

ریزپوشانی، بهبود دسترسی زیستی ماده ریزپوشانی شده و رهایش سریع‌تر و یکنواخت‌تر به دلیل نسبت سطح به حجم بیشتر حامل‌های در مقیاس نانو ایجاد می‌شود (Steipel *et al.*, 2019). روش‌های مختلف نانوریزپوشانی انواع مواد مؤثر مختلف مانند داروها، ویتامین‌ها، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی (Emam-Djomeh *et al.*, 2023a; Mirzakhani *et al.*, 2018)

اخیراً استفاده از فناوری نانو در ریزپوشانی اجزای جامد، مایع یا گاز ترکیبات زیست فعال درون حامل‌های کوچک به دلیل ایجاد ویژگی‌های منحصر به فرد از جمله رهایش با سرعتی کنترل شده تحت شرایط خاص بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Morais *et al.*, 2020). افزایش راندمان

ماده غذایی و آزادسازی هدمند و کنترل شده آنها در زمان و مکان معین و با سرعت مشخص است. رهایش کنترل شده به دو صورت تأخیری و پایدار قابل اجراست (Ekrami *et al.*, 2022b). در رهایش کنترل شده ترکیبات ریزپوشانی شده در داخل ریزحامل ها محصور هستند، اما با فراهم شدن شرایط زمانی یا مکانی مناسب به سرعت و به طور کامل آزاد می‌شوند (Ekrami *et al.*, 2022c). در رهایش پایدار مواد محصور ریزحامل ها به یکباره آزاد نمی‌شوند، بلکه مکانیسم آن به گونه‌ای است که همواره غلظت ثابتی از ماده ریزپوشانی شده در نقطه هدف وجود داشته باشد. رهایش طعم‌دهنده‌ها مثال بارز این نوع آزادسازی است (Zare *et al.*, 2021).

تاکنون طیف وسیعی از پلیمرهای طبیعی و سنتزی در فرایند الکترواسپری استفاده شده است اما در کاربردهای غذایی تنها پلیمرهای ایمن شناخته شده قابل استفاده هستند. از مهم‌ترین بیوپلیمرهای مورد استفاده به‌عنوان حامل در ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال غذایی به روش الکترواسپری می‌توان به پروتئین‌ها اشاره کرد (Ekrami *et al.*, 2022b). پروتئین‌ها برای الکترواسپری امولسیون بسیار مفید هستند زیرا ممکن است به دلیل ماهیت آمفی فیلک به‌عنوان امولسیفایر در ریزپوشانی ترکیبات آب‌گریز استفاده شوند (Asadi *et al.*, 2021). برای حل کردن جزء آب‌گریز، از روغن‌های زنجیره متوسط به‌عنوان پایه استفاده می‌شود و تکنیک‌های هوموژنیزاسیون/سونیکاسیون برای ایجاد امولسیون روغن در آب (O/W) به کار گرفته می‌شود (Araiza- Calahorra *et al.*, 2018). پروتئین ماده حامل مؤثر است زیرا امولسیون‌های روغن در آب را تثبیت می‌کند. پودر ایزوله پروتئین شیر (MPI) با استفاده از فرایندهای سالم‌سازی

از جمله هیدروژل ها، ساختارهای لیپوزومی، کامپوزیت‌ها و تکنیک‌های پیشرفته مانند پرینتر سه‌بعدی و فرایندهای الکتروهیدرودینامیکی (Ekrami *et al.*, 2022a; Ekrami *et al.*, 2022d; Emam-Djomeh *et al.*, 2023b; Nejat *et al.*, 2023; Shakouri *et al.*, 2022) تاکنون توسط محققان مختلف بررسی شده‌اند. فرایند الکترواسپری از فناوری‌های نوین در تولید نانو ساختارها و نانوریزپوشانی ترکیبات فعال است. در این فرایند، محلول پلیمری از لوله موینه‌ای خارج و تحت میدان الکتریکی قوی باردار می‌شود. زمانی که نیروی الکترواستاتیک ایجاد شده در محلول از کشش سطحی آن قوی‌تر باشد، قطره سیال تولیدی در نوک لوله موینه (که به آن جت سیال گفته می‌شود) به سرعت به سمت صفحه جمع‌کننده حرکت می‌کند، و طی برخورد با مولکول‌های هوا، حلال تبخیر می‌شود (Mendes & Chronakis, 2021). بر اثر تبخیر حلال، ذرات کوچک‌تر می‌شوند، در نتیجه بار الکتریکی آنها افزایش می‌یابد. افزایش دانسیته بارهای الکتریکی قطره منجر به انفجار آن و تولید قطره‌های ریزتر می‌شود. از مزایای این روش، نسبت به روش‌های متداول ریزپوشانی، ساده بودن فرایند، راندمان بالا و تولید نانوذرات در شرایط معمول بدون نیاز به اعمال دماهای بالا برای حذف حلال یا دمای پایین برای تشکیل ذرات است (Munteanu & Vasile, 2021).

در گذشته، ریزپوشانی برای پوشاندن طعم نامطلوب برخی از ترکیبات و همچنین برای تبدیل مواد مایع به جامد به‌منظور تسهیل حمل و نقل و نگهداری آنها استفاده می‌شد، اما در مهر و موم‌های اخیر رهایش کنترل شده مکانی یا زمانی اجزای ریزپوشانی شده مورد توجه قرار گرفته است (Calamak, 2021). یکی از هدف‌های اصلی ریزپوشانی محصور کردن و جداسازی برخی از اجزا و عناصر از دیگر ترکیبات موجود در

روش‌ها

تهیه محلول الکترواسپری

محلول الکترواسپری از مخلوط کردن MPI با آب مقطر پس از تنظیم pH با محلول هیدروکسید سدیم تا ۷ و حرارت دادن در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه تهیه و پس از آن به مدت ۹۰ ثانیه تحت تیمار فراصوت در فرکانس ۲۴ کیلوهرتز و شدت ۱۰۰ درصد یکنواخت شد (McCarthy *et al.*, 2014).

الکترواسپری

از دستگاه الکترواسپری تک‌محوره مجهز به یک منبع انرژی با ولتاژ بالا در دامنه صفر تا ۳۰ کیلوولت ساخت شرکت فناوران نانومقیاس (تهران، ایران) استفاده شد. آند دستگاه به یک سوزن فولادی ضدزنگ با گیج ۲۲ متصل شد و سرنگ در وضعیت افقی روی یک پمپ سرنگ دارای کنترل دیجیتالی قرار گرفت به طوری که سوزن مستقیماً به شکل عمودی و رو به قسمت جمع‌کننده قرار گرفت. سوزن به الکتروود دارای قطبیت مثبت و منبع انرژی ولتاژ بالا متصل شد. از مخروط تیلور یک اسپری از محلول پلیمری با بار مثبت شکل گرفت. که در فاصله هوایی جابه‌جا شد و روی جمع‌کننده قرار گرفت. نانوذرات تولیدی روی ورق فویل آلومینیمی یا جمع‌کننده انباشته می‌شدند. تمام آزمایش‌های الکترواسپری در دمای اتاق اجرا شدند و زمان اجرای هر آزمایش ۳۰ دقیقه بود.

(پاستوریزاسیون)، فرآپالایش (اولترافیلتراسیون)، دیافیلتراسیون، تبخیر در خلأ و خشک کردن افشانی (اسپری) تولید می‌شود که حداقل ۹۰ درصد پروتئین دارد. دو نوع اصلی پروتئین در شیر وجود دارد، کازئین و آب پنیر، و ایزوله پروتئین شیر حاوی هر دو اینهاست. ایزوله پروتئین شیر دارای نسبت مشابهی از کازئین و پروتئین است که به طور طبیعی در شیر یافت می‌شود (۸۰ درصد کازئین در لخته که در جریان انعقاد شیر تولید می‌شود به ۲۰ درصد باقیمانده در آب شیر). ایزوله پروتئین شیر از دیرباز به دلیل پروتئین بالا با مقدار کم چربی و لاکتوز و داشتن شاخص‌های فیزیکی شیمیایی مطلوب به‌عنوان یک عنصر غذایی کاربردی شناخته شده است (Tavares *et al.*, 2014). ایزوله پروتئین شیر یک افزودنی غذایی است که در طیف وسیعی از غذاها مانند پنیر، ماست و نوشیدنی‌های مغذی یافت می‌شود (Ji *et al.*, 2015). با توجه به اطلاعاتی که در حال حاضر در دسترس است، هیچ تحقیقی در مورد استفاده از ایزوله پروتئین شیر به‌عنوان ریزحامل و پوشاننده مواد حساس غذایی و دارویی نشده است. بنابراین، ما در این تحقیق به ساخت و مشخصه‌یابی ریز (نانو) ذرات ایزوله پروتئین شیر به روش الکترواسپری پرداختیم.

مواد و روش‌ها

مواد

ایزوله پروتئین شیر (MPI) ۹۲ درصد از شرکت آلیندا^۱ یونان تهیه شد. تمام مواد شیمیایی از برند مرک^۲ آلمان بدون هیچ‌گونه خالص‌سازی مجدد تهیه شدند.

² Merck

¹ Alinda

تجربه و تحلیل آماری

باید یک مکعب باشد و اگر بزرگتر از ۱ باشد نشان می‌دهد که خارج از مکعب است (Lenth, 2010).

جدول ۱ سطوح کدگذاری شده پارامترهای الکترواسپری را نشان می‌دهد. میانگین قطر نانوذرات (برحسب نانومتر) به‌عنوان پاسخ انتخاب شد. پاسخ و آنالیز واریانس (ANOVA) و داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار آماری Design-Expert 11 تحلیل شدند.

چهار متغیر اصلی طرح آماری عبارت بودند از غلظت محلول (MPI) ایزوله پروتئین شیر (A)، سرعت تغذیه محلول (B)، فاصله بین نوک سوزن تا جمع‌کننده (C) و ولتاژ اعمال شده (D). این متغیرها با سه دامنه مختلف -۱، ۰، +۱ کدگذاری شدند. مقدار آلفا (α) را می‌توان به‌عنوان فاصله محاسبه شده هر نقطه محوری از مرکز در طرح RSM تعریف کرد. اگر آلفا (α) کمتر از ۱ باشد نشان می‌دهد نقطه محوری

جدول ۱- مقادیر واقعی و کدگذاری شده متغیرها بر اساس طراحی مرکب مرکزی برای نانوذرات MPI

Table - Actual and coded values of the variables based on central composite design for MPI nanoparticles

Coded values	Actual Values			
	MPI concentration (% wt.)	Pump rate (mL/h)	Distance (cm)	Applied voltage (kV)
- α	1.79289 ~ 1.8	0.0585786 ~ 0.06	7.92893 ~ 7.9	13.9645 ~ 13.9
-1	2	0.1	10	15
0	2.5	0.2	15	17.5
+1	3	0.3	20	20
+ α	3.20711 ~ 3.2	0.341421 ~ 0.34	22.0711 ~ 22.1	21.0355 ~ 21.1

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

از میکروسکوپ نیروی اتمی (دی ام ای^۴، دانمارک) دارای پروب پوششی (SPM^۵) برای مشاهده ریزساختار نانوذرات استفاده شد. ثبت تصاویر توسط کاونده با پایه مستطیلی شکل و نوک مخروطی دارای پوشش پلاتین با نیروی ثابت ۰/۱۵ - نیوتن بر متر استفاده شد. متوسط زبری و انحراف معیار پروفیل ارزیابی شده رایج‌ترین پارامترهای کمی برای تعیین زبری سطحی نمونه هستند که با استفاده از نرم‌افزار مربوط به این دستگاه محاسبه شدند.

آزمون‌ها

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به‌منظور مطالعه ریزساختارهای تولیدی تصاویر از سطح نانوذرات با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (تی اسکن^۱، جمهوری چک) تهیه شد. پیش از عکس‌برداری، نمونه‌ها با لایه‌ای از طلا پوشانده و از روش رسوب‌دهی فیزیکی بخار (PVD^۲) و دستگاه پوشش دهی پاششی^۳ استفاده شد. از سیستم تحلیل تصویری با شتاب ولتاژ ۱۵ کیلوولت بهره‌گیری و از نمونه‌ها در بزرگ‌نمایی‌های $\times 20000$ تصویربرداری شد.

⁴ DME⁵ Scanning probe microscope¹ TESCAN² Physical vapor deposition³ Sputter coater

طیف فرسرخ در حالت عبور فیلم‌ها در گستره $4000 - \text{cm}^{-1}$ ثبت گردید.

طیف‌سنجی فرسرخ با تبدیل فوریه (FTIR)

دستگاه اسپکتروفتومتر طیف‌سنج فرسرخ با تبدیل فوریه (بروکر^۱، انگلستان) برای نمایش پیوند بین گروه‌های عملگر شیمیایی ماتریس پلیمری به کار گرفته شد. برای تعیین طیف FTIR نانوذرات، نمونه‌ها در بین دو قرص برمید پتاسیم فشرده شدند. قرص‌های حاوی نمونه داخل سل دستگاه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

تأثیر پارامترهای فرایندی بر قطر نانوذرات MPI

جدول ۲، طراحی آزمایش و پاسخ اندازه‌گیری شده در هر آزمایش را نمایش می‌دهد.

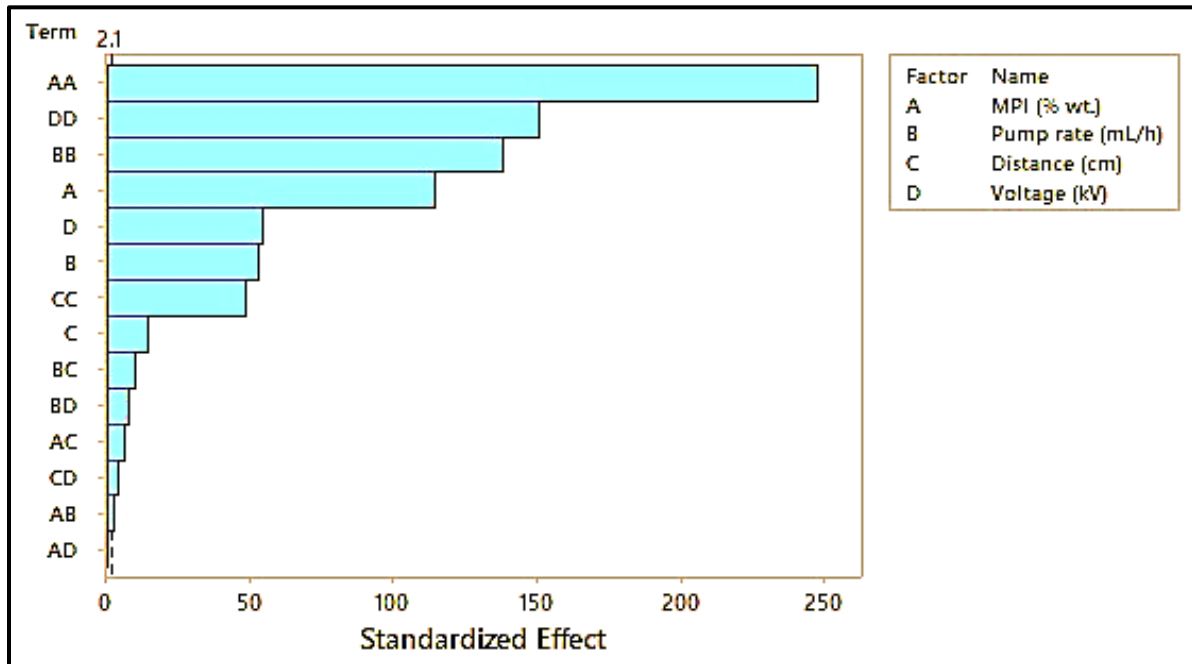
جدول ۲- طراحی مرکب مرکزی متغیرها و پاسخ تجربی

Table 2- Central composite design for the variables and experimental response

Run	Coded				Uncoded				Average diameter (nm)
	A	B	C	D	MPI concentration (% wt.)	Pump rate (mL/h)	Distance (cm)	Applied voltage (kV)	
1	-1	+1	+1	-1	2	0.1	20	20	332.4
2	0	0	+2	0	2.5	0.2	22.0711	17.5	230.3
3	-1	-1	+2	-1	2	0.1	20	15	358.5
4	0	0	0	0	2.5	0.2	15	17.5	204.3
5	-1	+1	-1	-1	2	0.1	10	20	332.3
6	0	0	0	0	2.5	0.2	15	17.5	207.6
7	0	0	0	-2	2.5	0.0585786	15	17.5	272.7
8	-2	0	0	0	1.79289	0.2	15	17.5	319.8
9	+1	-1	-1	+1	3	0.3	10	15	426.1
10	+1	+1	+1	-1	3	0.1	20	20	373.9
11	-1	+1	-1	+1	2	0.3	10	20	360.4
12	-1	+1	+1	+1	2	0.3	20	20	351.2
13	0	+2	0	0	2.5	0.2	15	21.0355	278.5
14	+1	-1	-1	-1	3	0.1	10	15	403.3
15	0	0	0	0	2.5	0.2	15	17.5	206.4
16	-1	-1	+1	+1	2	0.3	20	15	371
17	+1	+1	+1	+1	3	0.3	20	20	395.8
18	0	0	0	+2	2.5	0.341421	15	17.5	301.7
19	+2	0	0	0	3.20711	0.2	15	17.5	383.6
20	+1	+1	-1	-1	3	0.1	10	20	380
21	0	0	-2	0	2.5	0.2	7.92893	17.5	239.3
22	0	0	0	0	2.5	0.2	15	17.5	207.7
23	0	0	0	0	2.5	0.2	15	17.5	207.4
24	+1	-1	+1	-1	3	0.1	20	15	400.8
25	0	-2	0	0	2.5	0.2	15	13.9645	310.6
26	+1	-1	+1	+1	3	0.3	20	15	415.3
27	-1	-1	-1	-1	2	0.1	10	15	355.1
28	-1	-1	-1	+1	2	0.3	10	15	376.6
29	+1	+1	-1	+1	3	0.3	10	20	409.8
30	0	0	0	0	2.5	0.2	15	17.5	205.9

نمودار پارتو به منظور مقایسه میزان اثر متغیرهای مورد مطالعه و بررسی اثر هر فاکتور بر پاسخ در شکل ۱ نشان داده شده است.

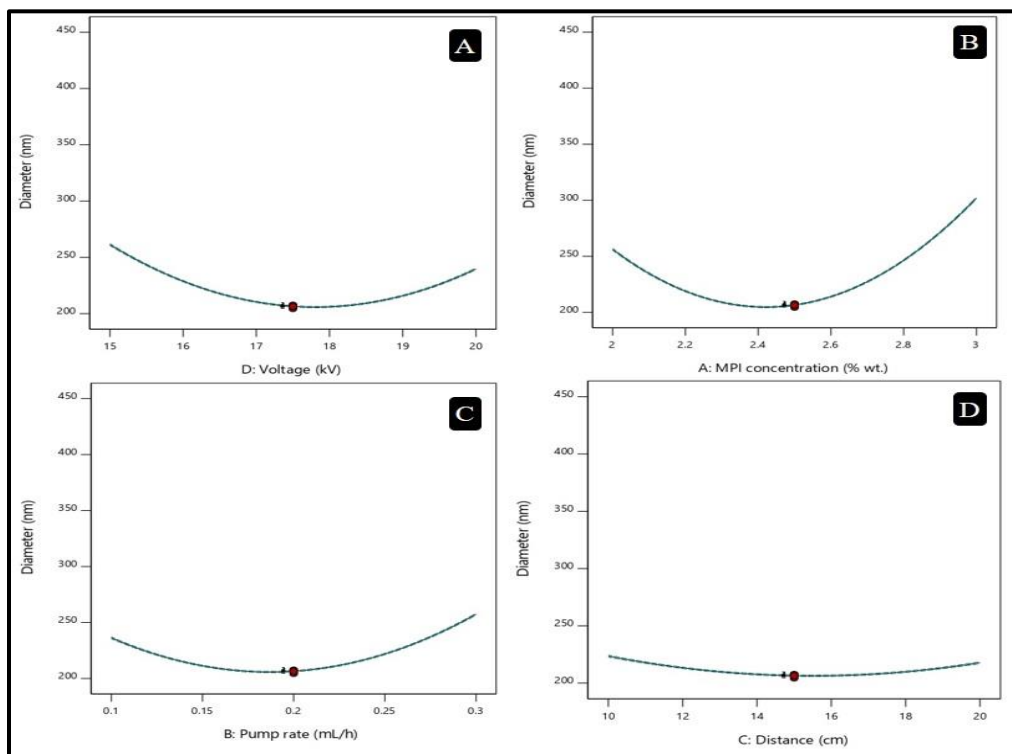
¹ Bruker



شکل ۱- ارزیابی اثر متغیرهای فرآیند بر میانگین قطر (نانومتر) نانوذرات MPI در نمودار پارتو

Fig. 1- Evaluation of the effects of process variables on the average diameter (nm) of MPI nanoparticles in the Pareto chart

نمودار پارتو به منظور برجسته کردن مهم‌ترین عامل‌ها در مؤثرترین متغیر غلظت پلیمر است. با توجه به خط مرجع، تنها میان مجموعه‌ای (معمولاً بزرگ) از عوامل به کار می‌رود (Bezerra *et al.*, 2008). بر اساس نمودار پارتو و ارزیابی اثر متغیرهای فرآیند بر میانگین قطر (نانومتر) نانوذرات MPI، مؤثرترین متغیر غلظت پلیمر است. با توجه به خط مرجع، تنها متغیر غلظت MPI \times ولتاژ (AD) بی‌معنی است. اثر پارامترهای این فرآیند (غلظت پلیمر، ولتاژ، سرعت محلول و فاصله بین نوک سوزن و جمع‌کننده) بر قطر نانوذرات در شکل ۲ آورده شده است.



شکل ۲- اثر (A) غلظت MPI (درصد وزنی) (B) سرعت پمپ (میلی لیتر بر ساعت) (C) فاصله (سانتی متر) و (D) ولتاژ اعمالی (کیلوولت) بر قطر نانوذرات MPI (نانومتر)

Fig. 2- Effect of (A) MPI concentration (% wt.) (B) pump rate (mL/h) (C) distance (cm) and (D) applied voltage (kV) on diameter (nm) of MPI nanoparticles

Wang, 2013). با توجه به ماهیت پلیمر اگر با افزایش غلظت، ویسکوزیته به میزان زیادی تغییر کند، میزان درهم آمیختگی زنجیره‌های پلیمری در محلول بیشتر می‌شود و بارهای الکتریکی قرار گرفته روی جت الکترواسپری قادرند کشش کاملی به محلول وارد آورند و در نتیجه ذرات یکنواخت تشکیل می‌گردند. با افزایش ویسکوزیته، قطر نانوذرات افزایش خواهد یافت (Shao *et al.*, 2015). همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، با افزایش غلظت پلیمر، قطر نانوذرات افزایش می‌یابد. این امر ممکن است ناشی از مقاومت بیشتر محلول در برابر کشش توسط بارهای قرار گرفته روی فواره باشد (Cui *et al.*, 2007). شکل ۲-C تأثیر فاصله بین نوک سوزن و جمع‌کننده را بر میانگین قطر نانوذرات MPI نمایش می‌دهد. فاصله بین نوک سوزن و جمع‌کننده تأثیر معنی‌دار ($p > 0.05$)

با افزایش غلظت پلیمر (شکل ۲-A) و سرعت پمپ (شکل ۲-B)، ویسکوزیته افزایش می‌یابد و ذرات پاششی تولیدی از شکل کروی یا بیضی به صورت مخروطی و سپس رشته‌ای تبدیل می‌شوند (Jacobs *et al.*, 2010). در غلظت پلیمر کم، معمولاً نانوذرات قرار گرفته روی صفحه جمع‌کننده دارای ساختار جدا شده‌ای هستند. وقتی میزان غلظت پلیمر افزایش یابد، تغییری جزئی در شکل نانوذرات تولیدی به وجود می‌آید یعنی آنها از کروی به مخروطی تبدیل می‌شوند و در صورت افزایش هم‌زمان ویسکوزیته در نهایت به شکل یک لیف یکنواخت در می‌آیند. اما در ویسکوزیته کمتر پلیمر، مقدار مولکول‌های آزاد حلال پلیمر بیشتر است و میزان درهم آمیختگی زنجیره‌ها کمتر می‌گردد و در نهایت به جای ذرات، مهره‌های به هم چسبیده ریز ذرات تشکیل می‌شوند (Li &

می‌یابد (Li & Wang, 2013). این امر موجب کاهش زمان پرواز جت می‌شود و نانوذرات زمان کمتری برای کاهش اندازه پیدا می‌کنند و سریع‌تر روی جمع‌کننده انباشته می‌شوند، در نتیجه قطر نانوذرات افزایش می‌یابد (Angammana & Jayaram, 2016).

مدل‌سازی

برای آنالیز رگرسیون همه نقاط ۳۰ آزمایش ارزیابی شدند که نتایج آن در جدول ANOVA (جدول ۳) نشان داده شده است.

بر میانگین قطر نانوذرات دارد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌گردد، میانگین قطر ذرات با افزایش فاصله به دلیل کاهش شدت میدان الکتریکی افزایش می‌یابد و منجر به کشش کمتر نانوذرات می‌شود (Thompson *et al.*, 2007). شکل ۲-D تأثیر ولتاژ را بر قطر نانوذرات MPI نشان می‌دهد. در ولتاژ پایین، نیروی کششی کافی برای نانوذرات مجزا و منفرد ایجاد نمی‌شود و قطر نانوذرات نسبتاً بالاست. با افزایش ولتاژ، میانگین قطر نانوذرات ابتدا کاهش و پس از آن به تدریج افزایش می‌یابد زیرا با افزایش ولتاژ، شتاب فواره نیز افزایش

جدول ۳- تجزیه و تحلیل نتایج واریانس برای قطر (نانومتر) نانوذرات MPI
Table 3- Analysis of variance results for diameter (nm) of MPI nanoparticles

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	1.657E+05	14	11839.18	14807.77	< 0.0001	significant
A-MPI concentration (%) (wt.)	10475.69	1	10475.69	13102.40	< 0.0001	
B-Pump rate (mL/h)	2224.20	1	2224.20	2781.90	< 0.0001	
C-Distance (cm)	164.90	1	164.90	206.25	< 0.0001	
D-Voltage (kV)	2339.20	1	2339.20	2925.74	< 0.0001	
AB	4.10	1	4.10	5.13	0.0388	
AC	30.53	1	30.53	38.18	< 0.0001	
AD	0.0756	1	0.0756	0.0946	0.7627	
BC	74.39	1	74.39	93.04	< 0.0001	
BD	46.58	1	46.58	58.26	< 0.0001	
CD	11.73	1	11.73	14.67	0.0016	
A ²	49191.34	1	49191.34	61525.73	< 0.0001	
B ²	15194.47	1	15194.47	19004.37	< 0.0001	
C ²	1868.27	1	1868.27	2336.73	< 0.0001	
D ²	18088.41	1	18088.41	22623.95	< 0.0001	
Residual	11.99	15	0.7995			
Lack of Fit	3.34	10	0.3338	0.1928	0.9868	not significant
Pure Error	8.65	5	1.73			
Cor Total	1.658E+05	29				

برابر نتایج به دست آمده، غلظت محلول بیشترین تأثیر و فاصله حرکتی ذرات کمترین تأثیر را بر تغییرات میانگین قطر آنها دارد. مقدار F-value نشان می‌دهد که مدل معنی‌دار (p > 0.05) است و تنها (۰/۰۰۰۱) درصد احتمال دارد که یک مقدار F به این بزرگی به دلیل عوامل پیش بینی نشده ایجاد شود. فاکتورهای A, B, C, D, AB, AC, BC, BD, CD, A²,

برابر نتایج به دست آمده، غلظت محلول بیشترین تأثیر و فاصله حرکتی ذرات کمترین تأثیر را بر تغییرات میانگین قطر آنها دارد. مقدار F-value نشان می‌دهد که مدل معنی‌دار (p > 0.05) است و تنها (۰/۰۰۰۱) درصد احتمال دارد که یک مقدار F به این بزرگی به دلیل عوامل پیش بینی نشده ایجاد شود. فاکتورهای A, B, C, D, AB, AC, BC, BD, CD, A²,

از معادله بر حسب عوامل واقعی می‌توان برای پیش‌بینی پاسخ سطوح معین هر عامل استفاده کرد. در اینجا سطوح باید در واحدهای اصلی برای هر عامل مشخص شود. این معادله نباید برای تعیین تأثیر نسبی هر عامل استفاده شود، زیرا ضرایبها برای تطبیق واحدهای هر عامل مقیاس‌بندی شده‌اند (Baş & Boyacı, 2007).

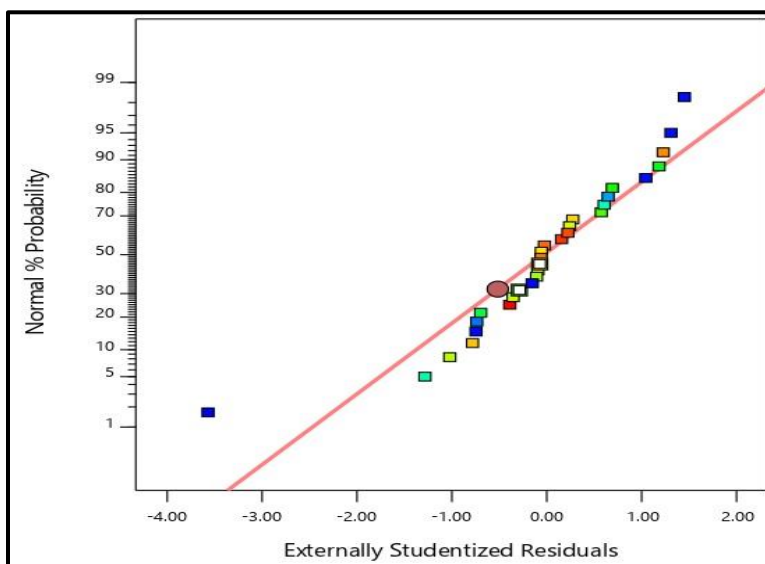
علاوه بر ضرایب مدل رگرسیون، صحت مدل را می‌توان با آنالیز پلات باقیمانده‌ها^۱ تعیین کرد. باقیمانده‌ها عنصری از متغیر هستند که نمی‌توان با مدل توضیح داد و معمولاً دارای توزیع نرمال هستند. پلات احتمال نرمال بودن^۲ روش گرافیکی مناسب برای تعیین نرمال بودن باقیمانده‌ها را نشان می‌دهد (Khuri & Mukhopadhyay, 2010). شکل ۳ پلات احتمال نرمال بودن باقیمانده‌ها را نشان می‌دهد و بیانگر این است که باقیمانده‌ها به طور منطقی بر خط مستقیم برازش شده‌اند که نشان دهنده توزیع نرمال باقیمانده‌هاست.

D^2 ، C^2 ، B^2 در مدل معنی‌دار ($p > 0.05$) هستند. مدلی که می‌توان برای این ۴ متغیر بر اساس روش پاسخ سطح پیشنهاد داد به شرح ذیل است:

$$\text{Final Equation of Diameter (nm) in Terms of Coded Factors} = + 206.53 + 22.89 A + 10.55 B - 2.87 C - 10.81 D + 0.50 AB - 1.38 AC - 2.16 BC + 1.71 BD - 0.86 CD + 72.60 A^2 + 40.35 B^2 + 14.15 C^2 + 44.02 D^2$$

معادله بر حسب فاکتورهای کدگذاری شده می‌تواند برای پیش‌بینی پاسخ برای سطوح معین هر عامل استفاده شود. به طور پیش‌فرض، سطوح بالای فاکتورها به صورت +۱ و سطوح پایین به صورت -۱ کدگذاری می‌شوند. معادله کدگذاری شده برای شناسایی تأثیر نسبی عوامل با مقایسه ضرایب عامل مفید است (Lenth, 2010).

$$\text{Final Equation of Diameter (nm) in Terms of Actual Factors} = + 4391.05 - 1398.97 \text{ MPI concentration} - 1588.53 \text{ Pump rate} - 14.11 \text{ Distance} - 251.06 \text{ Voltage} + 10.12 \text{ MPI concentration} - 0.55 \text{ MPI concentration} - 0.05 \text{ MPI concentration} * \text{Voltage} - 4.31 \text{ Pump rate} * \text{Distance} + 6.82 \text{ Pump rate} * \text{Voltage} - 0.07 \text{ Distance} * \text{Voltage} + 290.39 \text{ MPI concentration}^2 + 4034.82 \text{ Pump rate}^2 + 0.56 \text{ Distance}^2 + 7.04 \text{ Voltage}^2$$



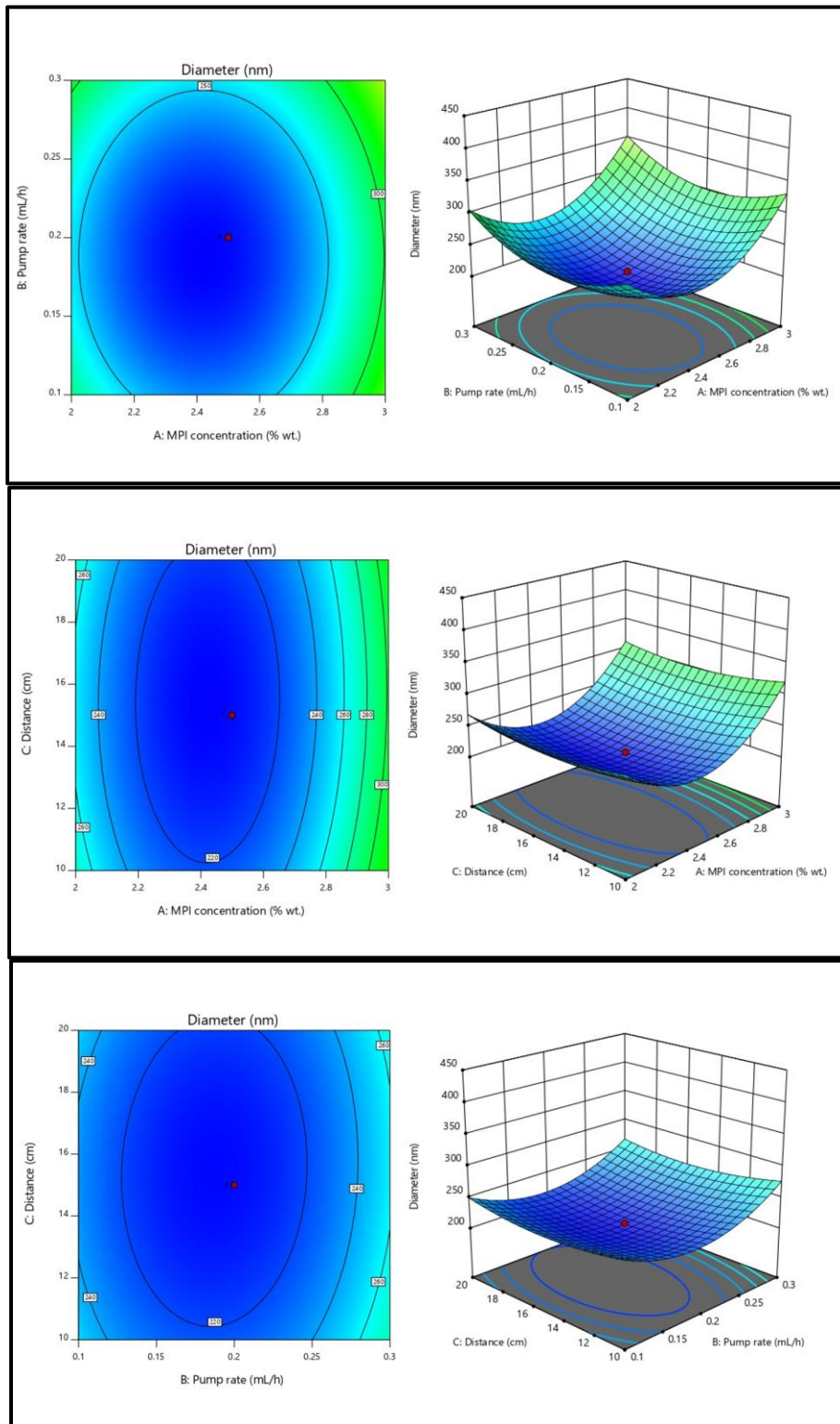
شکل ۳- احتمال نرمال بودن برای باقیمانده‌ها

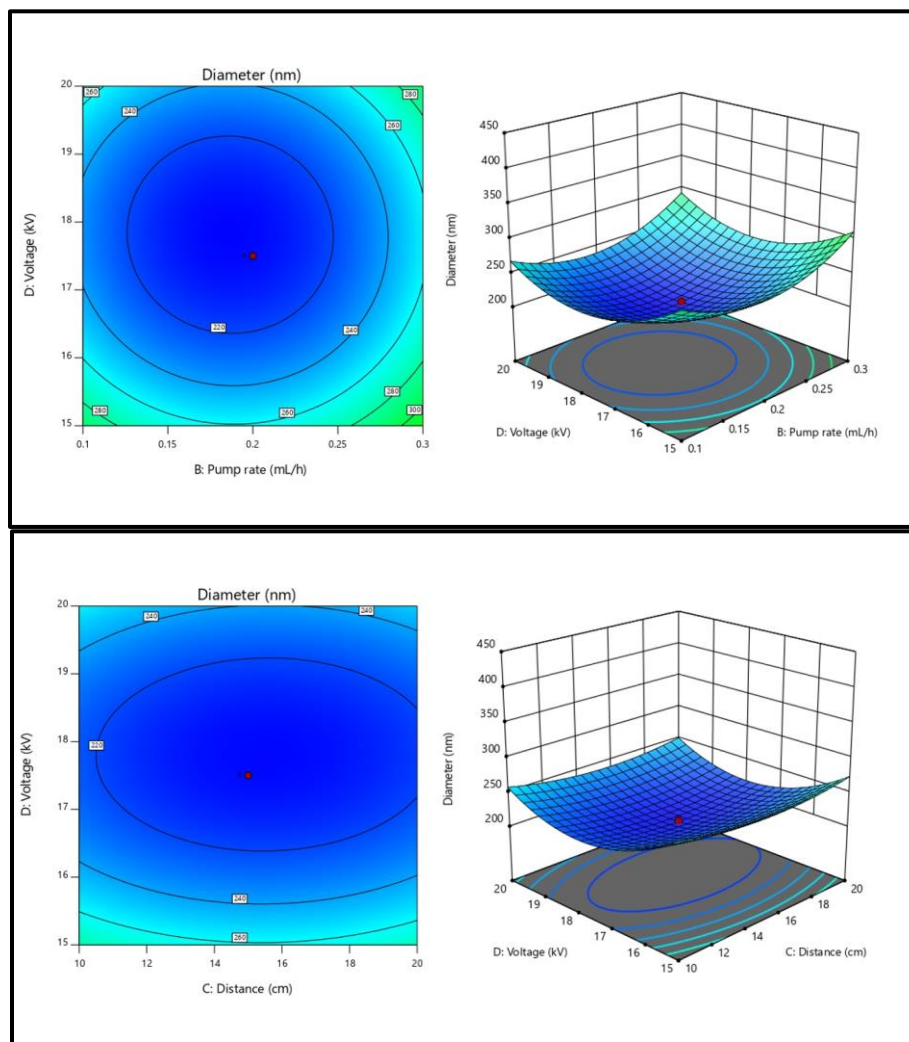
Fig. 3- The probability of normality for residuals

شکل ۴ بیانگر سطح پاسخ سه‌بعدی میانگین قطر نانوذرات به‌عنوان تابعی از تعاملات متغیرها است.

² Normal probability plot

¹ Residual plot





شکل ۴- نمودارهای سه‌بعدی/کانتور اثر برهمکنش‌های چندگانه متغیرها بر قطر (نانومتر) نانوذرات MPI

Fig. 4- 3D surface/contour plots of multiple interactions effects of variables on the diameter (nm) of MPI nanoparticles

در این حالت، میزان درهم‌رفتگی نانوذرات نیز کمتر است. در غلظت‌های بالای پلیمر، به دلیل افزایش زیاد نسبت وزن به سطح جت در نوک مخروط تیولور، جداسازی نانوذرات همراه با مهره انجام می‌پذیرد که افزایش هم‌زمان سرعت پمپ موجب تشدید این افزایش قطر می‌شود (Li *et al.*, 2020).

کشش سطحی تأثیر زیادی بر جت الکترواسپری دارد. در غلظت‌های بالای پلیمر، میزان درهم‌رفتگی زنجیره‌های پلیمری

تصویر سه‌بعدی و دوبعدی سطح پاسخ نشان می‌دهد که قطر نانوذرات نسبت به تمامی متغیرها تغییرات دارد. غلظت پلیمر نشان‌دهنده تراکم زنجیر پلیمر است و بر گرانیوی محلول اثر می‌گذارد. در سرعت‌های پایین پمپ، نانوذرات فرارگرفته روی صفحه جمع‌کننده، حالت گلوله مانند دارند (Coelho *et al.*, 2021). از این رو افزایش هم‌زمان غلظت پلیمر و سرعت پمپ موجب کاهش قطر نانو ذرات می‌گردد.

شتاب در حرکت جت می‌شود. در این شرایط ممکن است به‌هنگام رسیدن جت به جمع‌کننده زمان کافی برای تبخیر حلال نبوده و از این رو حلال اضافی سبب شده است ذرات در یکدیگر ادغام شوند. (Zheng *et al.*, 2012). کاهش فاصله، به طور هم‌زمان افزایش ولتاژ و افزایش شدت میدان را در پی دارد. اگر شدت میدان بسیار زیاد باشد، افزایش ناپایداری جت را به دنبال دارد که به تشکیل مهره کمک می‌کند. افزایش فاصله، زمان بیشتری را برای پرواز ایجاد می‌کند که باعث می‌شود محلول قبل از تشکیل روی جمع‌کننده، بیشتر کشیده شود و این منجر به کاهش قطر متوسط نانوذرات می‌شود (Bhushani & Anandharamakrishnan, 2014).

بهینه‌سازی شرایط الکترواسپری نانوذرات MPI

قطر نانوذرات MPI پارامتر مهمی است که از آن برای بهینه‌سازی فرایند استفاده شد. بهینه‌سازی متغیرهای مستقل و اعتبارسنجی پیش‌بینی‌های به عمل آمده مطابق با اطلاعات جدول ۴ آورده شده است.

در محلول بیشتر است. در واقع برهمکنش میان مولکول‌های پلیمر و حلال بیشتر است (Jahangiri & Adibkia, 2016). بنابراین زمانی که محلول تحت تأثیر بارهای الکتریکی کشیده می‌شود مولکول‌های حلال تمایل به گسترش یافتن در میان مولکول‌های درهم‌رفته پلیمری را دارند. از سوی دیگر، ولتاژ بالا بارهای الکتریکی لازم را وارد محلول می‌کند. این بارها میدان الکتریکی خارجی را ایجاد می‌کنند (Farahmand *et al.*, 2023). در این حالت، محلول آویزان از نوک سوزن در هنگام شروع فوران به شکل مخروط تیلور تبدیل می‌شود. در اکثر موارد، ولتاژ بالاتر موجب کشش بیشتر محلول می‌شود و به دنبال آن میدان قوی‌تری ایجاد می‌کند که این موارد در کاهش قطر نانوذرات مؤثرند و به تبخیر سریع‌تر حلال و خشک شدن ذرات کمک می‌کنند (Lim *et al.*, 2019). اما در عمل، در ولتاژهای بالاتر از ولتاژ بحرانی به دلیل کاهش بسیار زیاد قطر، گرایش بیشتری برای تشکیل مهره وجود دارد. با کاهش فاصله، شدت میدان افزایش پیدا می‌کند و موجب افزایش

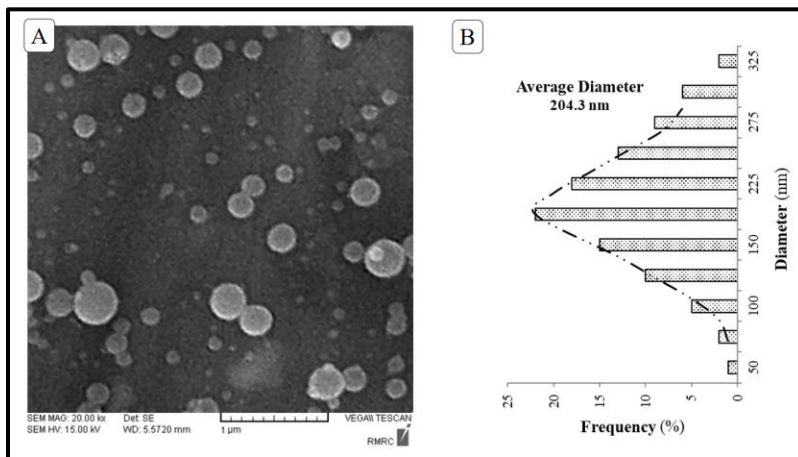
جدول ۴- شرایط و پاسخ‌های بهینه پیش‌بینی شده برای نانوذرات MPI
Table 4- Predicted optimum conditions and responses for the MPI nanoparticles

Properties	Goal	Lower limit	Upper limit	Predicted value	Actual value (Run 4)
MPI concentration (% wt.)	In range	2	3	2.427	2.5
Pump rate (mL/h)	In range	0.1	0.3	0.189	0.2
Distance (cm)	In range	10	20	14.737	15
Applied voltage (kV)	In range	15	20	17.838	17.5
Diameter (nm)	Minimize	204.3	426.1	203.571	204.3

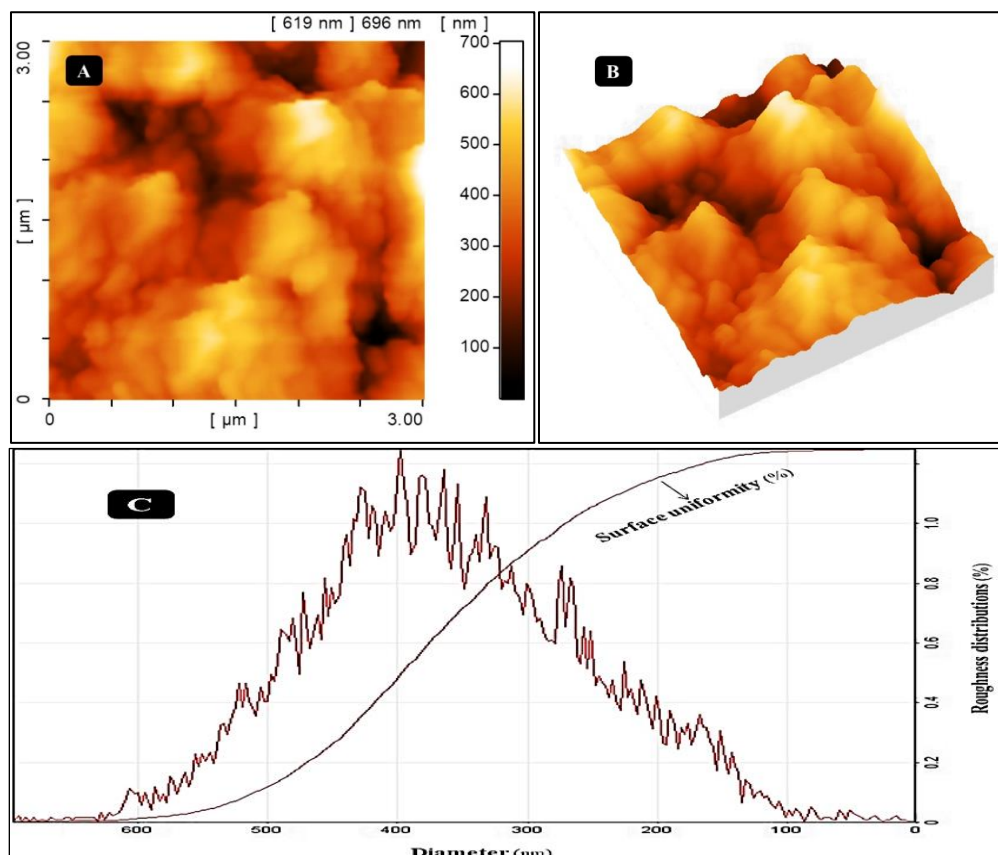
ریزساختار

الکترواسپری شده در شرایط بهینه MPI را نشان می‌دهند.

به منظور بررسی اثر بهینه‌سازی بر ریزساختار نانو ذرات MPI شکل‌های ۵ و ۶ تصویرهای SEM و AFM نمونه‌های



شکل ۵- تصویرهای SEM از نانوذرات MPI با (A) بزرگنمایی $\times 20000$ در شرایط بهینه الکتروپاشی همراه با (B) هیستوگرام توزیع قطر
 Fig. 5- SEM images of MPI nanoparticles with (A) 20000 \times magnifications at optimum electro-spraying conditions along with (B) histogram of diameter distributions



شکل ۶- تصویرهای میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) از نانوذرات MPI در شرایط بهینه الکتروپاشی و بزرگنمایی ۳ میکرومتر با نماهای مختلف (A) تصویر دوبعدی (B) تصویر سه بعدی و (C) هیستوگرام توزیع زبری

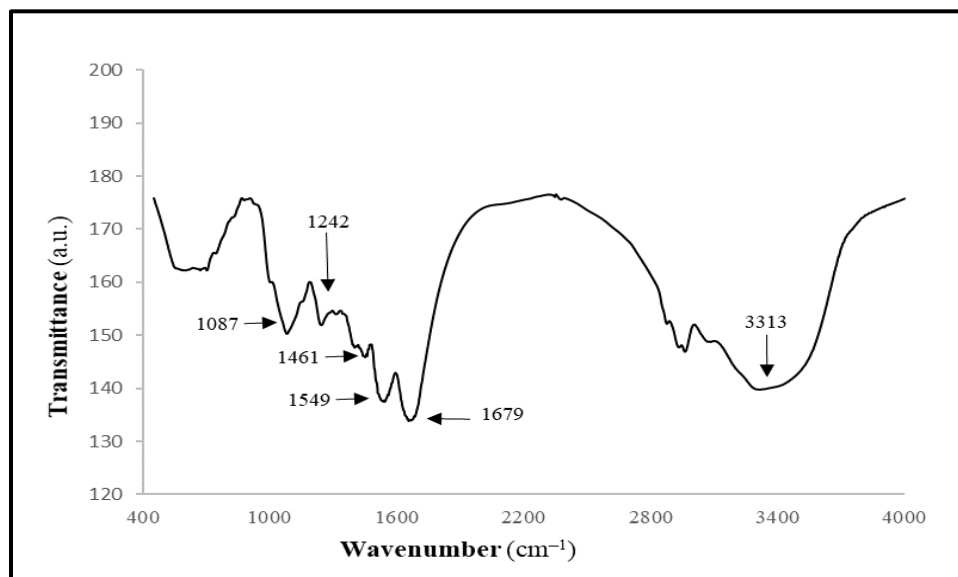
Fig. 6- Atomic force microscopy (AFM) images of MPI nanoparticles at optimum electro-spraying conditions and 3 μm magnification with different views (A) 2D, (B) 3D, and (C) roughness distributions histogram.

کلونیدی ایجاد می‌شود. چون در pHهای بالاتر، یونیزاسیون گروه‌ها افزایش می‌یابد در نتیجه آزادی عمل گروه‌های کربوکسیل کمتر می‌شود و به جذب قوی آنها می‌انجامد افزایش در ارتفاع این پیک می‌تواند به فرآیند پروتئولیز و لیپولیز نیز مربوط باشد (Chen *et al.*, 1998). وقتی مولکول‌های آب در تماس با یک پیوند هیدروژنی قرار می‌گیرند، فرکانس O=C در ناحیه 1700 cm^{-1} فعال می‌شود که نشانگری برای برهم‌کنش این عوامل و در نهایت بیشتر شدن ارتفاع هیدروژنی ذکر شده هست. بنابراین، ایجاد پیک در این ناحیه را می‌توان به تشکیل پیوند هیدروژنی گروه‌های عاملی کربونیلی پروتئین‌ها با مولکول‌های آب نسبت داد که منجر به افزایش انحلال‌پذیری پروتئین می‌شود (Nie *et al.*, 2005). پیک حدود 1549 cm^{-1} مربوط به ارتعاش پیوند C=C و پیک در محدوده 1461 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند N-C است. پیک حدود 1242 cm^{-1} مربوط به ارتعاش پیوند H-C و پیک در محدوده 1549 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات حلقه پیرول هست. پیک حدود 1087 cm^{-1} مربوط به تغییر شکل در صفحه $\text{N}+\text{H}_2$ است. پیک پهن در محدوده پیک cm^{-1} ۳۳۱۳ به ارتعاش کششی پیوند H-N نسبت داده می‌شود ولی می‌تواند ناشی از وجود رطوبت و مولکول‌های آب نیز باشد که با تبدیل پروتئین خام به حالت محلول و نانوذره این حفظ رطوبت افزایش پیدا کرده است (Kher *et al.*, 2007; Taha *et al.*, 2020).

نرمال بودن پراکنش نانوذرات تشکیل شده یکی از عوامل مهم تأیید این فرایند است. با توجه به نتایج تصویر SEM، نانوذرات یکنواخت و بدون مهره تشکیل شده‌اند. تجمع خاصی نیز در تصویر مشاهده نمی‌شود که نشان دهنده بهینه بودن شرایط متغیرهای الکترواسپری است (Desai *et al.*, 2004). پراکنندگی قطر نانوذرات به صورت نرمال است. اندازه حدود ۷۰ درصد نانوذرات در محدوده ۱۲۵ تا ۲۵۰ نانومتر قرار دارد که مطلوب است. می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات MPI حاصل شده با قطری در محدوده ۲۰۰ نانومتر از نظر یکنواختی قابل قبول است. از سوی دیگر، با بررسی تصویرهای دوبعدی و سه‌بعدی AFM یکنواختی نانوذرات تولید شده، حداکثر زبری مشاهده شده ۶۱۹ نانومتر است که نشان دهنده تجمع یکنواخت نانوذرات بر روی جمع کننده و به دلیل تبخیر حلال قبل از جمع کننده است و نشان دهنده بهینه بودن فاصله و ولتاژ دستگاه است. هیستوگرام توزیع زبری حداکثر اختلاف را ۱ درصد نشان می‌دهد که بسیار ایده‌آل است (Kessick & Tepper, 2003).

طیف‌سنجی فرسرخ با تبدیل فوریه

با توجه به طیف‌سنجی فرسرخ با تبدیل فوریه نانوذرات MPI (شکل ۷) و پیک مربوط به گروه کربونیل استرها و اسیدها (در طول موج 1679 cm^{-1}) مشخص می‌شود که در زمان قلیایی کردن، با افزایش pH، تغییراتی در فسفات کلسیم



شکل ۷- طیف‌سنجی فرسرخ با تبدیل فوریه نانوذرات MPI

Fig. 7- FTIR spectra of MPI nanoparticles

(۲/۵ درصد وزنی)، سرعت جریان پمپ (۰/۲ میلی‌لیتر بر ساعت) فاصله بین نوک سوزن و جمع‌کننده (۱۵ سانتی‌متر) و ولتاژ (۱۷/۵ کیلوولت) می‌توان نانوذرات یکنواخت MPI با میانگین قطر ۲۰۴/۳ نانومتر تولید کرد که با توجه به نتایج SEM و AFM از یکنواختی لازم برخوردار باشند. با توجه به نتایج FTIR در زمان قلیایی‌کردن، با افزایش pH تغییراتی در فسفات کلسیم کلوئیدی ایجاد می‌شود. چون در pH های بالاتر، یونیزاسیون گروه‌ها افزایش می‌یابد در نتیجه آزادی عمل گروه‌های کربوکسیل کمتر و به جذب قوی آنها منجر می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به مزایای حامل‌های طبیعی مانند ایزوله پروتئین شیر برای مواد حساس غذایی و دارویی، ساخت و مشخصه‌یابی ریز ذرات ایزوله پروتئین شیر به روش الکترواسپری در این تحقیق با موفقیت انجام پذیرفت. بر طبق نتایج مدل‌سازی، غلظت محلول MPI بیشترین تأثیر و فاصله بین نوک سوزن و جمع‌کننده کمترین تأثیر را بر قطر نانوذرات تولیدی داشتند. بر طبق نتایج به‌دست آمده، با بهینه‌سازی غلظت محلول MPI

تعارض منافع

نویسندگان در خصوص انتشار مقاله ارائه شده به‌طور کامل از سوء اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه پرهیز نموده‌اند و منافع تجاری در این راستا وجود ندارد.

مراجع

- Angammana, C.J. and Jayaram, S.H. 2016. Fundamentals of electrospinning and processing technologies. *Particulate Science and Technology*. 34(1): 72-82.
- Araiza-Calahorra, A., Akhtar, M. and Sarkar, A. 2018. Recent advances in emulsion-based delivery approaches for curcumin: From encapsulation to bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology*. 71(1): 155-169.
- Asadi, M., Salami, M., Hajikhani, M., Emam-Djomeh, Z., Aghakhani, A. and Ghasemi, A. 2021. Electro spray production of curcumin-walnut protein nanoparticles. *Food Biophysics*. 16(1): 15-26.
- Baş, D. and Boyacı, I.H. 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of food engineering*. 78(3): 836-845.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S. and Escaleira, L. A. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry, *Talanta*. 76(5): 965-977.
- Bhushani, J. A. and Anandharamakrishnan, C. 2014. Electrospinning and electro spraying techniques: Potential food based applications. *Trends in Food Science & Technology*. 38(1): 21-33.
- Calamak, S. 2021. Micro/Nanoencapsulation of Active Food Compounds: Encapsulation, Characterization and Biological Fate of Encapsulated Systems. In: *Sustainable Agriculture Reviews*. 55(1): 93-114.
- Chen, M., Irudayaraj, J. and McMahon, D.J. 1998. Examination of full fat and reduced fat Cheddar cheese during ripening by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*. 81(11): 2791-2797.
- Coelho, S. C., Estevinho, B. N. and Rocha, F. 2021. Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electro spraying—A review. *Food Chemistry*. 339(1): 127850.
- Cui, W., Li, X., Zhou, S. and Weng, J. 2007. Investigation on process parameters of electrospinning system through orthogonal experimental design. *Journal of applied polymer science*. 103(5): 3105-3112.
- Desai, K., Lee, J. S. and Sung, C. 2004. Nanocharacterization of electrospun nanofibers of polyaniline/poly methyl methacrylate blends using SEM, TEM and AFM. *Microscopy and Microanalysis*. 10(02): 556-557.
- Ekrami, A., Ghadermazi, M., Ekrami, M., Hosseini, M. A., Emam-Djomeh, Z. and Hamidi-Moghadam, R. 2022. Development and evaluation of *Zhumeria majdae* essential oil-loaded nanoliposome against multidrug-resistant clinical pathogens causing nosocomial infection. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 69(1): 103-148.
- Ekrami, M., Ekrami, A., Esmaeily, R. and Emam-Djomeh, Z. 2022a. Nanotechnology-based Formulation for Alternative Medicines and Natural Products: An Introduction with Clinical Studies. *Biopolymers in Nutraceuticals and Functional Foods*. 545-580.
- Ekrami, M., Ekrami, A., Moghadam, R.H., Joolaei-Ahramjani, P. and Emam-Djomeh, Z. 2022b. Food-based Polymers for Encapsulation and Delivery of Bioactive Compounds. In: *Biopolymers in Nutraceuticals and Functional Foods*, Royal Society of Chemistry. 488-544.
- Ekrami, M., Ekrami, A., Hosseini, M. A. and Emam-Djomeh, Z. 2022c. Characterization and optimization of salep mucilage bionanocomposite films containing *Allium jesdianum* Boiss. Nanoliposomes for antibacterial food packaging utilization. *Molecules*, 27(20): 7032.
- Ekrami, M., Roshani-Dehlaghi, N., Ekrami, A., Shakouri, M. and Emam-Djomeh, Z. 2022d. pH-Responsive Color Indicator of Saffron (*Crocus sativus* L.) Anthocyanin-Activated Salep Mucilage Edible Film for Real-Time Monitoring of Fish Fillet Freshness. *Chemistry*. 4(4): 1360-1381.
- Emam-Djomeh, Z., Ekrami, M. and Ekrami, A. 2023a. Design and Use of Hydrogels for Food Component Encapsulation. *Materials Science and Engineering in Food Product Development*, 211-226.
- Emam-Djomeh, Z., Ekrami, M. and Ekrami, A. 2023b. Overview of Types of Materials Used for Food Component Encapsulation. *Materials Science and Engineering in Food Product Development*, 73-92.
- Farahmand, E., Emam-Djomeh, Z., Ekrami, M. and Razavi, S. H. 2023. Polymethacrylate coated electrospun chitosan/PEO nanofibers loaded with thyme essential oil: a newfound potential for antimicrobial food packaging. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*.
- Jacobs, V., Anandjiwala, R. D. and Maaza, M. 2010. The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers. *Journal of applied polymer science*. 115(5): 3130-3136.
- Jahangiri, A. and Adibkia, K. 2016. Applications of electrospinning/electro spraying in drug delivery. *BioImpacts*, 6(1): 1-2.

- Ji, J., Cronin, K., Fitzpatrick, J., Fenelon, M. and Miao, S. 2015. Effects of fluid bed agglomeration on the structure modification and reconstitution behaviour of milk protein isolate powders. *Journal of Food Engineering*. 167(1): 175-182.
- Kessick, R. and Tepper, G. 2003. Microscale electrospinning of polymer nanofiber interconnections. *Applied physics letters*, 83(3): 557-559.
- Kher, A., Udabage, P., McKinnon, I., McNaughton, D. and Augustin, M.A. 2007. FTIR investigation of spray-dried milk protein concentrate powders. *Vibrational Spectroscopy*. 44(2): 375-381.
- Khuri, A.I. and Mukhopadhyay, S. 2010. Response surface methodology. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*. 2(2): 128-149.
- Lenth, R.V. 2010. Response-surface methods in R, using rsm. *Journal of Statistical Software*. 32(1): 1-17.
- Li, Z. and Wang, C. 2013. Effects of working parameters on electrospinning. In: *One-dimensional nanostructures*, Springer. 15-28.
- Li, J., Pan, K., Tian, H. and Yin, L. 2020. The Potential of electrospinning/electrospraying technology in the rational design of hydrogel structures. *Macromolecular Materials and Engineering*. 305(8), 2000285.
- Lim, L.-T., Mendes, A. C. and Chronakis, I. S. 2019. Electrospinning and electrospraying technologies for food applications. *Advances in food and nutrition research*. 88(1): 167-234.
- Mendes, A.C. and Chronakis, I.S. 2021. Electrohydrodynamic encapsulation of probiotics: A review. *Food Hydrocolloids*. 117(1): 106688.
- McCarthy, N. A., Kelly, P. M., Maher, P. G. and Fenelon, M. A. 2014. Dissolution of milk protein concentrate (MPC) powders by ultrasonication. *Journal of Food Engineering*, 126(1): 142-148.
- Mirzakhani, M., Ekrami, M. and Moini, S. 2018. Chemical composition, total phenolic content and antimicrobial activities of *Zhumeria majdae*. *Journal of Food and Bioprocess Engineering (JFBE)*. 1(1): 8.
- Morais, A.Í., Vieira, E.G., Afewerki, S., Sousa, R.B., Honorio, L.M., Cambrussi, A.N., Santos, J.A., Bezerra, R.D., Furtini, J.A. and Silva-Filho, E.C. 2020. Fabrication of polymeric microparticles by electrospray: the impact of experimental parameters. *Journal of functional biomaterials*. 11(1): 4.
- Munteanu, B.S. and Vasile, C. 2021. Encapsulation of natural bioactive compounds by electrospinning—applications in food storage and safety. *Polymers*. 13(21): 3771.
- Nejat, M. S., Ekrami, M. and Emam-Djomeh, Z. 2022. Microencapsulation Liposomal Technologies in Bioactive Functional Foods and Nutraceuticals. In *Biopolymers in Nutraceuticals and Functional Foods*, Royal Society of Chemistry. 232-263
- Nie, B., Stutzman, J. and Xie, A. 2005. A vibrational spectral maker for probing the hydrogen-bonding status of protonated Asp and Glu residues. *Biophysical Journal*. 88(4): 2833-2847.
- Shakouri, M., Salami, M., Lim, L.-T., Ekrami, M., Mohammadian, M., Askari, G. and McClements, D. J. 2023. Development of active and intelligent colorimetric biopolymer indicator: Anthocyanin-loaded gelatin-basil seed gum films. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 17(1):472-484.
- Shao, H., Fang, J., Wang, H. and Lin, T. 2015. Effect of electrospinning parameters and polymer concentrations on mechanical-to-electrical energy conversion of randomly-oriented electrospun poly (vinylidene fluoride) nanofiber mats. *RSC advances*. 5(19): 14345-14350.
- Steipel, R.T., Gallovic ,M.D., Batty, C.J., Bachelder, E.M. and Ainslie, K.M. 2019. Electrospray for generation of drug delivery and vaccine particles applied in vitro and in vivo. *Materials Science and Engineering: C*. 105(1): 110070.
- Taha, S., El-Sherbiny, I., Enomoto, T., Salem, A. ,Nagai, E., Askar, A., Abady, G. and Abdel-Hamid, M. 2020. Improving the functional activities of curcumin using milk proteins as nanocarriers. *Foods*. 9(8): 986.
- Tavares, G.M., Croguennec, T., Carvalho, A.F. and Bouhallab, S. 2014. Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: Applications and trends. *Trends in Food Science & Technology*. 37(1): 5-20.
- Thompson, C., Chase, G.G., Yarin, A. and Reneker, D. 2007. Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. *Polymer*. 48(23): 6922-6913.
- Zare, M., Dziemidowicz, K., Williams, G.R. and Ramakrishna, S. 2021. Encapsulation of pharmaceutical and nutraceutical active ingredients using electrospinning processes. *Nanomaterials*. 11(8): 1968.
- Zheng, J., Zhang, H., Zhao, Z. and Han, C. C. 2012. Construction of hierarchical structures by electrospinning or electrospraying. *Polymer*, 53(2): 546-554.



Original Research

Fabrication and characterization of milk protein isolate nanoparticles by electro spraying method

Siamak Rahbari, Hamid Tavakolipour, Ahmad Kalbasi Ashtari

* **Corresponding Author:** PhD. Department of Food Science and Industry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. :H.tavakolipour@gmail.co

Received:28 August 2022 **Accepted:** 12 June 2022

<http://doi: 10.22092/FOODER.2023.361340.1358>

Abstract

In this research, nanoparticles of milk protein isolate (MPI) were produced by electro spraying method. In order to optimize the electro spraying conditions of MPI nanoparticles, the concentration of MPI solution (%wt.), the process voltage (kV), the moving distance of the particles between the tip of the needle and the collector (cm) and the pump flow rate (mL/h) in the form of a composite plot central (CCD) were investigated and modeled and analyzed by the response surface method (RSM). The results showed that the concentration of MPI solution had the greatest effect and the distance between the tip of the needle and the accumulator had the least effect on the diameter of nanoparticles. According to the results, by optimizing the concentration of MPI solution (2.5%wt.), pump flow rate (0.2 mL/h), the distance between the tip of the needle and the collector (15 cm) and voltage (17.5 kV), uniform MPI nanoparticles can be obtained. The images from the scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM) confirmed the success of the electro spray method in producing spherical nanoparticles with an average diameter of 329.3 nm and maximum uniformity in particle size distribution. Also, Fourier transform infrared spectroscopic (FTIR) analysis revealed the chemical structure of nanoparticles.

Keywords: Electro spray, Milk protein isolate, Response surface method, Modeling