مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، صفحات ۱۰۴-۹۳

بررسی عملکرد ضدمیکروبی و فیزیکی فیلم خوراکی بر پایه ایزوله‌ی پروتئین نخود حاوی اسانس آویشن به روش سطح پاسخ

سید محمد مشکانی[۱] ، سید علی مرتضوی[۲]، زهرا پورفلاح[۳]

۱- نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران.، پست الکترونیکی: s.m.meshkani@gmail.com

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲۶

چکیده

سابقه و هدف: سال‌هاست که استفاده از پلیمرهای طبیعی به خصوص پروتئین و اسانس‌های گیاهی در تهیه‌ی فیلم‌های خوراکی مورد توجه بوده است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تولید فیلم خوراکی بر پایه ایزوله‌ی پروتئین نخود و تعیین اثر غلظت پروتئین نخود، گلیسرول و اسانس آویشن بر ویژگی‌های ضدمیکروبی، نفوذپذیری نسبت به بخار آب و حلالیت فیلم خوراکی بود.

مواد و روش‌ها: ابتدا از پودر نخود، واریته‌ی فیلیپ به روش ترسیب نقطه‌ی ایزوالکتریک پروتئین استخراج و سپس در محدوده‌ی ۴ تا ۱۰ گرم پروتئین، گلیسرول به عنوان نرم‌کننده در غلظت هایی بین ۴۰ تا ۶۰ درصد و اسانس آویشن در غلظت هایی بین صفر تا ۱ درصد، فیلم خوراکی تهیه شد. آزمون ضدمیکروبی فیلم خوراکی حاصل روی دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی*، نفوذپذیری نسبت به بخار آب و حلالیت روی فیلم با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی شد.

یافته‌ها: اسانس آویشن اثرمعنی‌داری بر کاهش رشد این دو میکروارگانیسم و کاهش میزان حلالیت و نفوذپذیری نسبت به بخار آب داشت ($p<۰/۰۱$). با افزایش غلظت پروتئین، نفوذپذیری به طور معنی‌داری افزایش و حلالیت کاهش یافت. افزایش گلیسرول نیز باعث افزایش نفوذپذیری و حلالیت شد ($p<۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: در این تحقیق مشخص شد که پروتئین نخود قابلیت تشکیل فیلم را دارد. هم‌چنین، بهینه‌سازی فرمولاسیون نهایی نشان داد که برای داشتن حداکثر عملکرد ضدمیکروبی فیلم خوراکی، حداقل نفوذ بخار آب و حداکثر حلالیت باید از ۴ گرم پروتئین نخود، ۴۴/۴٪ گلیسرول و ۱٪ اسانس استفاده کرد.

واژگان کلیدی: اسانس آویشن، پروتئین نخود، فیلم ضدمیکروبی، ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی

• مقدمه

مطابق بررسی‌ها و آمارگیری‌های صورت گرفته طی سال‌های اخیر توسط سازمان جهانی بهداشت بیان شده که حدود ۳۰٪ مردم در کشورهای صنعتی حداقل از یک نوع مسمومیت غذایی در سال رنج می‌برند. بنابراین نیاز به استفاده از روش‌های جدید به برای کاهش یا از بین بردن باکتری‌های بیماری‌زا و مسموم کننده‌ی غذا احساس می‌شود به خصوص روش‌های ترکیبی که شامل استفاده همزمان از چند عامل نگهدارنده به صورت توأم است و در اکثر موارد با موفقیت در کنترل باکتری‌های بیماری‌زا و حفظ کیفیت غذاها همراه است (۲، ۱).

حضور ترکیبات ضدمیکروبی در مواد غذایی می‌تواند عمر نگهداری مواد غذایی را افزایش دهد. استفاده از اسانس‌های طبیعی به جای مواد ضدمیکروبیِ شیمیایی نگرانی‌های ناشی از مصرف این گونه مواد را کاهش می‌دهد(۳). اسانس‌های طبیعی گیاهی از گذشته‌های دور به عنوان مواد طعم‌دهنده به کار رفته‌اند و هم اکنون ثابت شده است که این مواد دارای طیف وسیعی از فعالیت ضدمیکروبی هستند(۴). البته، لازم به ذکر است که ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی اسانس‌ها نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها دارند (۳).

معمولاً ترکیبات ترپنیِ حاوی گروه‌های فنلی مانند انواع اسانس‌ها از جمله آویشن بر مهار میکروارگانیسم‌های

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

بیماری‌زا مؤثرتر هستند (۵). در این میان، اسانس‌های میخک (Clove)، آویشن (Thyme)، رزماری (Rosemary)، پونه‌ی کوهی (Oregano)، مریم گلی (Sage) و مرزه (Summer savoury) از مؤثرترین ترکیبات علیه میکروارگانیسم‌ها هستند(۶). گیاهان تیره‌ی نعناع از دهه‌های گذشته در طب سنتی مورد استفاده بوده اند و به طور معمول برای درمان عفونت‌های گوارش یا دل درد تجویز شده‌اند (۷).

در سال‌های اخیر، تحقیقات فراوانی برای ارزیابی آثار ضدمیکروبی انواع عصاره‌ها و ادویه‌ها صورت گرفته است. به تازگی، تحقیقاتی روی اسانس‌های گیاهی صورت گرفته که قدرت و توانایی این ترکیبات را در جلوگیری از رشد دامنه‌ی وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد ماده غذایی نشان می‌دهد. از آن جا که این ترکیبات کاملاً طبیعی هستند، زیان آن‌ها برای سلامت انسان و محیط زیست بسیار کمتر از مواد نگهدارنده‌ی شیمیایی می‌باشد (۸).

برخی ویژگی‌های فیلم‌های خوراکی جلوگیری از نفوذ رطوبت، محدود کردن انتقال گاز (مثل اکسیژن و دی‌اکسیدکربن)، جلوگیری از مهاجرت روغن‌ها و استفاده از ترکیبات معطر فرار در فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی روی موادغذایی است (۹). یکی دیگر از خواص فیلم‌های خوراکی قابلیت افزودن ترکیبات ضدمیکروبی به آن می‌باشد چرا که رشد میکروبی روی سطح مواد غذایی عامل اصلی ایجاد فساد در آن‌ها بوده که می‌توان با استفاده از فیلم‌های خوراکی حاوی مواد ضد میکروبی آن را کنترل نمود (۱۰).

هدف از انجام این تحقیق، تولید فیلم خوراکی بر پایه ایزوله‌ی پروتئین نخود حاوی اسانس آویشن بود. ویژگی‌های فیزیکی فیلم خوراکی اعم از نفوذپذیری نسبت به بخار آب و حلالیت و ارزیابی خصوصیات ضدمیکروبی فیلم حاوی اسانس روی دو باکتری بیماری‌زا (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی*) با استفاده از روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی به صورت Face Centered پرداخته شد.

• مواد و روش‌ها

مواد: نخود واریته فیلیپ با میزان پروتئین حدود ۲۴٪ جهت تهیه‌ی ایزوله‌ی پروتئین از *شرکت خدمات حمایتی و کشاورزی* و اسانس آویشن از *شرکت تک عصاره شرق مشهد* تهیه شد. سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1431) و *اشرشیاکلی* (PTCC 1330) به صورت لیوفیلیزه از *مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران* خریداری شد. محیط کشت‌ها و همه‌ی مواد شیمیایی مصرفی از شرکت *Merck* خریداری شدند.

تجهیزات: اتوکلاو (HV-110، Amerex، آمریکا)، انکوباتور (VELP FOC 225i، Usmate Velate ، ایتالیا)، سانتریفوژ (Sigma، Osterode am Harz، آلمان)، همزن مغناطیسی گرم‌کن‌دار (Heidolph، Schwabach، آلمان)، pH متر (Jenway، Staffordshir، انگلستان)، خشک‌کن انجمادی (Martin Christ، Osterode am Harz، آلمان)، رطوبت‌سنج عقربه‌ای (آلمان)، دسیکاتور، ویال شیشه‌ای، ترازوی ۰/۰۰۰۱ (KERN، Balingen، آلمان)، میکرومتر دیجیتالی IP54 با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر (QLR، Daxin، چین)، کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر (NSK، Osaka، ژاپن).

روش تهیه‌ی ایزوله‌ی پروتئین نخود: به جهت تهیه ایزوله‌ی پروتئین از آرد نخود با مش ۶۰ و چربی‌گیری شده با هگزان نرمال استفاده شد. به این منظور آرد به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر مخلوط و به کمک محلول سود یک نرمال در pH=۹/۵ تنظیم شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه توسط همزن مخلوط شد و مخلوط حاصل توسط سانتریفوژ با ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰دقیقه سانتریفوژ شد. محلول شفاف رویی جدا شد و pH آن با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال به pH=۴/۵ که نقطه‌ی ایزوالکتریک پروتئین نخود است، رسانده شد. سوسپانسیون حاصل دوباره برای جداسازی به سانتریفوژ با ۷۰۰۰ دور در دقیقه منتقل شد. محلول رویی جدا و دور ریخته شد. در ادامه رسوبات پروتئینی حاصل با استفاده از آب مقطر شسته شد تا pH آن به محدوده‌ی خنثی برسد. ایزوله‌ی مرطوب نخود به وسیله‌ی خشک کن انجمادی به صورت پودری خشک و متخلخل درآمد و در ظروف در دار در فریزر با دمای ۱۸°C- نگهداری شد(۱۱).

تهیه فیلم خوراکی از ایزوله‌ی پروتئین نخود: جهت تهیه فیلم خوراکی ۴ تا ۱۰ گرم پروتئین نخود در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. گلیسرول در محدوده‌ی ۴۰ تا ۶۰ درصد به محلول فیلم پروتئینی افزوده شد. مخلوط حاصل توسط همزن مغناطیسی با دور بالا به مدت ۵ دقیقه هم زده شد و در طی فرایند هم زدن pH محلول با سود ۰/۱ نرمال به محدوده‌ی ۹/۵ رسانده شد. محلول فیلم خوراکی به حمام آب داغ ۸۵°C منتقل و توسط همزن مغناطیسی به طور مداوم هم زده شد. پس از این عملیات به محلول استراحت داده شد تا دمای آن کاهش یابد. سپس اسانس آویشن به میزان صفر تا ۱ درصد به آن افزوده و هم زده شد. سپس

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

حدود ۱۵ میلی‌لیتر از محلول فیلم به پلیت‌های آلومینیومی با قطر ۱۰ سانتی‌متر منتقل شد. فیلم‌ها در دمای آزمایشگاه بارطوبت نسبی ۳۰ تا ۳۵ درصد به مدت زمان ۴۸ ساعت خشک شدند و جهت آزمون ویژگی‌های ضدمیکروبی از کف پلیت‌ها به آهستگی جداسازی شدند (۱۳-۱۰).

اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها: ضخامت فیلم‌های تولید شده با استفاده از یک میکرومتر دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌های تولید شده برای آزمایش نفوذپذیری در برابر بخار آب روی فیلم تولیدی در ۱۰ نقطه‌ی مختلف انجام شد و از مجموع، میانگین گرفته شد.

بررسی اثر ضدمیکروبی فیلم ایزوله‌ی پروتئین نخود حاوی اسانس آویشن

تهیه محلول استاندارد مک فارلند: استاندارد مک فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسید سولفوریک ۱٪ و کلرید باریم ۱/۱۷۵ درصد برای به دست آوردن یک محلول سولفات باریم با دانسیته نوری خاص تهیه شد. کدورت محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر بررسی شد. جذبی در حدود ۰/۱۳۰ تا ۰/۱۴۰ مشاهده شد که معادل جمعیت میکروبی حدود cfu/ml $۱/۵\times۱۰^{۸}$ است (۱۴).

فعال سازی سویه‌ها: جهت فعال سازی سویه‌ها به کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری نیاز بود. بنابراین به سرنگ‌های حاوی سویه‌های خالص سازی شده‌ی لیوفلیزه با کمک سمپلر در کنار شعله مقداری از محیط کشت Brain Heart Infusion Broth تزریق شد و دوباره از سرنگ به لوله‌های حاوی محیط کشت مایع منتقل شد. لوله‌ها برای فعال‌سازی سویه‌ها ۲۴ ساعت در گرمخانه با دمای ۳۷°C نگهداری شد (۱۵).

تهیه‌ی سوسپانسیون میکروبی: برای تهیه‌ی سوسپانسیون میکروبی کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری مورد نیاز است. بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش ، از کشت ذخیره به محیط کشت شیب‌دار Nutrient Agar تلقیح صورت گرفت. پس از ۲۴ ساعت، کشت مربوط توسط محلول رینگر شسته شد و سوسپانسیون غلیظ میکروبی تهیه شد. مقداری از سوسپانسیون میکروبی در لوله‌ی آزمایش حاوی محلول رینگر استریل ریخته شد و کدورت آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد؛ و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول استاندارد مک فارلند، توسط محلول رینگر رقیق شد(۱۰).

آزمون ضدمیکروبی فیلم خوراکی: به منظور بررسی اثر ضدمیکروبی فیلم ایزوله‌ی پروتئین نخود حاوی اسانس آویشن بر دو سویه‌ی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* از روش کشت سطحی استفاده شد. کشت سطحی به کمک سوآپ استریل به صورت عمود بر هم انجام شد. به این ترتیب که از سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند به سطح محیط کشت Brain Heart Infusion Agar در کنار شعله منتقل شد. سپس از فیلم‌های تولیدی با فرمولاسیون‌های متفاوت به کمک قالب دیسک‌هایی با قطر ۱۰ میلی‌متر تهیه شد و به وسیله‌ی پنس استریل روی محیط کشت در سه تکرار قرار داده شد. محیط کشت‌های همراه دیسک‌ها به صورت وارونه به انکوباتور با دمای ۳۷°C منتقل شد. پس از ۲۴ ساعت پلیت‌ها را از گرمخانه خارج کرده و قطر هاله‌ی ایجاد شده توسط کولیس ۰/۰۲ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۱۰).

اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب (Water Vapor Permeability): اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب بر اساس استاندارد ASTM E96 توسط دسیکاتور حاوی محلول فوق اشباع نیترات منیزیم انجام شد (۱۶). روش آزمون به این ترتیب بود که ویال‌های شیشه‌ای کوچکی انتخاب شد و درون هر ویال مقدار ۳ گرم کلرید کلسیم بدون آب ریخته شد. دهانه‌ی ویال‌های شیشه‌ای توسط فیلم و به کمک‌گیره مسدود شد. به علت جاذب‌الرطوبه بودن کلرید کلسیمِ بدون آب، رطوبت نسبی فضای خالی داخل ویال‌های شیشه ای و زیر فیلم به صفر رسید. پس از توزین اولیه‌ی همه‌ی نمونه‌ها به طور همزمان به دسیکاتور حاوی نمک نیترات منیزیم فوق اشباع منتقل شد که در دمای آزمایشگاه رطوبتی معادل ۵۵٪ ایجاد می‌کند. جهت اطمینان و کنترل رطوبت نسبی محیط از یک دستگاه رطوبت‌سنج استفاده شد. تغییرات وزن ظروف شیشه‌ای طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال بادقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. نمودار تغییرات وزن بر حسب زمان رسم شد و شیب خط حاصل جهت محاسبات مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه آهنگ انتقال بخار آب از طریق فرمول۱ محاسبه شد و سپس میزان تراوایی نسبت به بخار آب از طریق فرمول۲ به دست آمد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

فرمول ۱)

$$WVT= \frac{G}{T.A}$$

در ایـــن فرمـــول WVT آهنـــگ انتقـــال بخـــار آب ($g/m^2.s$)، A سطح مقطع ویال‌هـای شیشـه ای (m^2) و G/t شیب خط میانگین تغییرات وزن در مدت زمان آزمـون(g/s) است.

فرمول ۲)

$$WVP= \frac{WVT}{P(R1-R2)} .X$$

در این فرمولWVP میزان نفوذپـذیری نسـبت بـه بخـار آب(g/m.Pa.s)، P فشـار بخـار آب خـالص در دمـای ۲۵°C (Pa)، X ضـخامت فـیلم (m)، R_1 میـزان رطوبـت داخـل دسیکاتور(۵۵٪) و R_2 میزان رطوبت فضای داخـل ویـال(۰٪) است.

اندازه‌گیری حلالیت فیلم در آب: میزان حلالیت فیلم‌های خـوراکی در آب طبـق روش Dehghan Shoaar و همکـاران اندازه‌گیری شد. نمونه‌های فیلم به صورت نوارهایی بـه ابعـاد ۲×۱ سانتی‌متر برش داده شد، به مـدت ۳ روز در دسـیکاتور حاوی کلرید کلسیمِ بدون آب خشـک و سـپس تـوزین شـد (W_1). ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه‌هـای خشـک و تـوزین شده‌ی درون لوله‌هـای آزمـایش افـزوده شـد و مقـدار ۰/۰۲ درصد سدیم آزید جهت جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌هـا به محتویات لوله افزوده و سر لوله‌ها بسته شد. این لوله‌ها بـه مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. در طول این مدت چندین بار به طور ملایـم هـم زده شـد. سـرعت و زمان هم زدن برای همه‌ی لوله‌ها یکسـان بـود. پـس از ایـن مدت، نمونه‌ی فیلم‌های تحت آزمون از محتویات داخل لولـه جدا و به پلیت‌های خشک توزین شده منتقل شد. پلیت‌ها در آون خلأ با دمای ۷۰°C به مدت ۲۴ ساعت نگهـداری شـد و پس از سرد کردن در دسیکاتور توزین شـد(W_2). آزمـون در چهار تکرار انجام شد و میانگین آن‌هـا گـزارش شـد. میـزان حلالیت فیلم‌های خوراکی با اسـتفاده از فرمـول ۳ محاسـبه شد (۱۷).

فرمول ۳)

$$SM=[(W_1- W_2)/W_1].100$$

تجزیه و تحلیل آماری: هدف اصلی ایـن پـژوهش بررسـی آثار اصـلی و متقابـل فاکتورهـای غلظـت ایزولـه‌ی پـروتئین نخود، درصد گلیسرول و درصد اسانس آویشن بر ویژگی‌های ضدمیکروبی و فیزیکی فیلم خوراکی بود. بـه ایـن منظـور از طرح آماری سطح پاسخ با پنج نقطـه‌ی مرکـزی بـه صـورت face centered استفاده شد. در این طرح با توجه به جدول ۱ غلظت ایزوله‌ی پروتئین نخود با نماد x_1 ، گلیسرول بـا نمـاد x_2 و اسانس آویشن با نماد x_3 ؛ به عنوان سه فـاکتور مـؤثر و میزان هاله‌ی مهاری تشکیل شده در اطـراف فـیلم خـوراکی روی محیط کشت، نفوذپذیری نسبت به بخار آب و حلالیـت فیلم خوراکی متغیرهای وابسته بودند. در روش سطح پاسـخ (RSM) برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثـار اصلی و متقابـل فاکتورهـا را روی هـر متغیـر جداگانـه بیـان می‌کند. که در فرمول ۴، قابل مشاهده می‌باشد.

فرمول ۴)

$$Y=b_0+\Sigma b_i x_i+\Sigma b_{ii} x_i^2+\Sigma b_{ij} x_i x_j$$

در این فرمـول، Y پاسـخ پـیش‌بینـی شـده، b_0 ضـریب ثابت، b_i اثرات خطی، b_{ii} اثر مربعات و b_{ij} اثرات متقابـل، x_i ، x_j متغیرهای مستقل کدبندی شده هستند.

جدول ۱. نمایش متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آن‌ها

متغیرهای مستقل	نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه		
		-۱	۰	+۱
ایزوله‌ی پروتئین نخود(g)	X_1	۴	۷	۱۰
گلیسرول (٪)	X_2	۴۰	۵۰	۶۰
اسانس آویشن (٪)	X_3	۰	۰/۵	۱

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهـای مربـوط بـه روش سـطح پاسـخ از نـرم افـزار Design Expert 6.0.2 استفاده شد (۱۸).

• یافته‌ها

نتایج تشکیل فیلم: فیلم‌ها به راحتی از ظروف آلومینیومی جدا شدند. فیلم‌ها شفاف، انعطـاف‌پـذیر و از اسـتحکام قابـل قبولی برخوردار بودند. ضخامت فیلم‌ها در محدوده‌ی آزمایش کمتـر از ۲۵۰ میکرومتـر بـود. نتـایج ضـخامت فـیلم‌هـا در محاسبات نفوذپذیری نسبت به بخار آب مورد اسـتفاده قـرار گرفت.

نتایج آنالیز آمـاری: پـس از انجـام آزمـون‌هـای مختلـف فیزیکی و میکروبی بر روی فیلم خوراکی بر پایـه‌ی ایزولـه‌ی پروتئین نخود حاوی اسانس آویشن اطلاعات و داده‌های خام

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

توسط نرم افزار Design Expert 6.0.2 و به کمک طرح سطح پاسخ با ۵ نقطه‌ی مرکزی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج آنالیز واریانس مدل‌های بررسی شده خطی، درجه دوم و اثر متقابل در جدول ۲ قابل مشاهده است. همچنین، سطح پذیرش معنی‌داری آزمون در این تحقیق ۹۹٪ انتخاب شد ($p<۰/۰۱$).

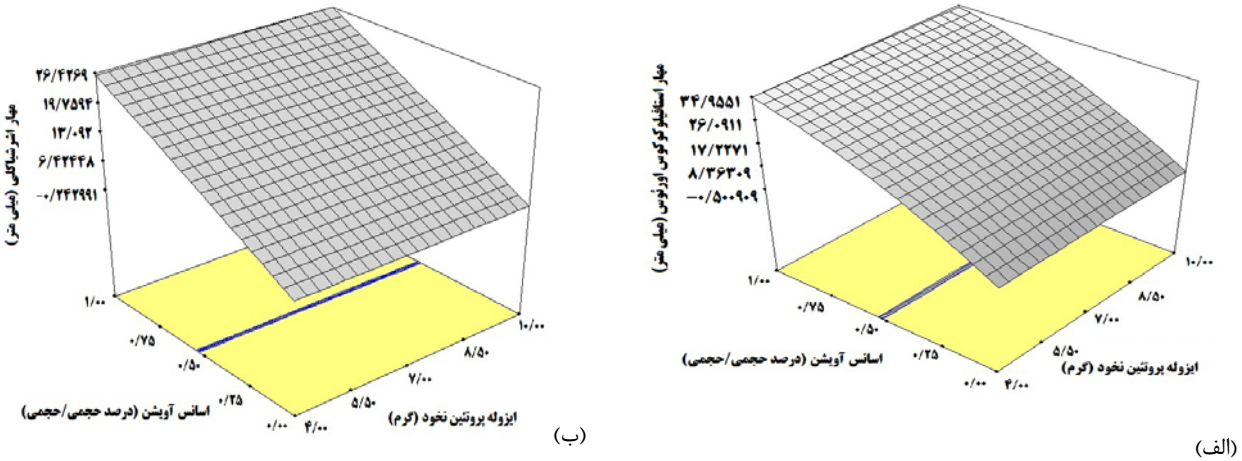
نتایج خواص ضدمیکروبی فیلم خوراکی: همان طور که در جدول۲ و نمایش سه‌بعدی (شکل ۱) مربوط به مهارکنندگی باکتری‌های بیماری‌زا مشاهده می‌شود، عبارت‌های مدل که برای مهار *استافیلوکوکوس اورئوس* معنی‌دار شد؛ خطی درصد اسانس آویشن و درجه‌ی دوم درصد اسانس آویشن بود. عبارت‌های مدل که برای مهار *اشرشیا کلی* معنی‌دار شد، فقط شامل خطی درصد اسانس آویشن بود. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که متغیر مستقل درصد اسانس آویشن در سطح $p<۰/۰۱$ معنی‌دار شد. فاکتورهایی که کفایت مدل را نشان دادند، مدل ریاضی و بهینه شده‌ی فیلم خوراکی بر اساس آزمون خواص ضدمیکروبی در جدول۳ آورده شده است.

فرایند بهینه‌سازی و براساس خواص میکروبی مطلوب به جهت داشتن میزان هاله‌ی مهاری حداکثر برای *استافیلوکوکوس اورئوس* معادل ۳۵/۴ میلی‌متر؛ میزان بهینه‌ی غلظت ایزوله‌ی پروتئین نخود ۵/۸ گرم و برای گلیسرول ۶۰٪ و برای درصد اسانس آویشن ۱٪ بود به جهت داشتن میزان هاله‌ی مهاری حداکثر برای *اشرشیاکلی* معادل ۲۶/۸ میلی‌متر؛ ۴ گرم ایزوله‌ی پروتئین نخود، ۶۰٪ گلیسرول و ۱٪ اسانس تعیین شد.

جدول ۲. آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ درجه دوم برای آزمون‌های نفوذپذیری نسبت به بخار آب (g/m.Pa.s)، حلالیت (٪) و آزمون خاصیت ضدمیکروبی در مقابل دو میکروارگانیسم *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی*(mm) (P<0.01)

منبع	درجه آزادی	نفوذ پذیری نسبت به بخار آب(g/m.Pa.s)		حلالیت(%)		*استافیلوکوکوس اورئوس*(mm)		*اشرشیاکلی*(mm)	
		مجموع مربعات	احتمال P	مجموع مربعات	احتمال P	مجموع مربعات	احتمال P	مجموع مربعات	احتمال P
مدل	۹	$۲/۶۵\times۱۰^{-۱۸}$	<۰/۰۰۰۱	۳۶۲/۲۲	۰/۰۰۰۱	۳۱۵۶/۰۲	<۰/۰۰۰۱	۱۷۴۳/۳۴	<۰/۰۰۰۱
خطی									
X_1	۱	$۲/۱۷\times۱۰^{-۱۸}$	<۰/۰۰۰۱	۲۱۹/۷۴	<۰/۰۰۰۱	۰/۲۳	۰/۴۰۳۹ ns	۰/۰۵۲	۰/۴۵۲۵ ns
X_2	۱	$۲/۹۲\times۱۰^{-۱۹}$	<۰/۰۰۰۱	۸۵/۲۱	۰/۰۰۰۳	۰/۰۲۱	۰/۷۹۷۳ ns	۰/۱۶	۰/۱۹۴۸ ns
X_3	۱	$۵/۵۴\times۱۰^{-۲۰}$	۰/۰۰۱۱	۴۸/۶۸	۰/۰۰۱۹	۳۰۷۲/۳۱	<۰/۰۰۰۱	۱۷۴۲/۴	<۰/۰۰۰۱
درجه دوم									
X_{11}	۱	$۲/۲۴\times۱۰^{-۲۰}$	۰/۰۱۶۰ ns	۰/۰۵۷	۰/۸۸۹۶ ns	۰/۰۳۴	۰/۷۴۳۷ ns	۰/۲۳	۰/۱۲۷۶ ns
X_{22}	۱	$۵/۸۸\times۱۰^{-۲۲}$	۰/۶۴۹۱ ns	۵/۸۲	۰/۱۸۱۰ ns	۰/۸۰	۰/۱۳۶۷ ns	۰/۰۰۰۴	۰/۹۴۷۷ ns
X_{33}	۱	$۸/۵۶\times۱۰^{-۲۲}$	۰/۵۸۳۷ ns	۴/۶۴	۰/۲۲۸۱ ns	۵۰/۶۵	<۰/۰۰۰۱	۰/۳	۰/۰۹۱۳ ns
اثر متقابل									
X_{12}	۱	$۷/۹۹\times۱۰^{-۲۰}$	۰/۰۰۰۳	۰/۴۸	۰/۶۸۶۸ ns	۰/۵۸	۰/۱۲۶۶ ns	۰/۲	۰/۱۵۱۳ ns
X_{13}	۱	$۱/۱۶\times۱۰^{-۲۰}$	۰/۰۶۳۹ ns	۰/۰۲۱	۰/۹۳۳۳ ns	۰/۳۲	۰/۳۲۹۲ ns	۰/۰۰۰۲	۰/۹۶۲۲ ns
X_{23}	۱	$۸/۹۵\times۱۰^{-۲۳}$	۰/۸۵۸۵ ns	۰/۱۷	۰/۸۰۹۳ ns	۰/۰۲۹	۰/۷۶۴۶ ns	۰/۱۴	۰/۲۳۵۵ ns
باقیمانده	۱۰	$۲/۶۷\times۱۰^{-۲۰}$		۲۸/۱۳		۳/۰۴		۰/۸۵	
عدم برازش	۵	$۱/۷۰\times۱۰^{-۲۰}$	۰/۲۷۷۳ ns	۲۲/۶۳	۰/۰۷۳۴ ns	۱/۳۴	۰/۵۹۹۵ ns	۰/۵۳	۰/۲۹۳۹ ns
خطای خالص	۵	$۹/۷۱\times۱۰^{-۲۱}$		۵/۵۰		۱/۷۰		۰/۳۲	
کل	۱۹	$۲/۶۵\times۱۰^{-۱۸}$		۳۹۰/۳۶		۳۱۵۹/۰۶		۱۷۴۴/۱۹	

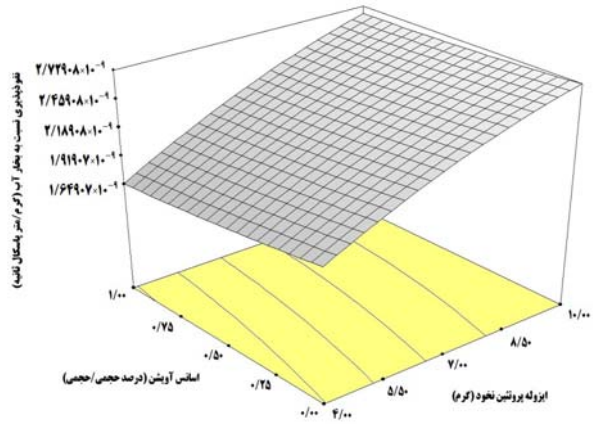
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]



(الف) (ب)

شکل ۱. نمودار سه‌بعدی، اثر همزمان متغیرها بر مهار الف) *استافیلوکوکوس اورئوس* و ب) *اشرشیاکلی* توسط فیلم خوراکی (p<۰/۰۱)

نتایج آزمون نفوذپذیری نسبت به بخـار آب: همـان طور که در جدول۲ و نمایش سه‌بعدی (شکل ۲) نفوذپذیری نسبت به بخار آب مشاهده می‌شود، عبارت‌های مدل که برای نفوذپذیری نسبت به بخار آب معنی‌دار شـد؛ خطـی غلظـت ایزوله‌ی پروتئین نخود، خطی درصد گلیسرول، خطی درصـد اسانس آویشن و اثر متقابل غلظت ایزوله‌ی پـروتئین نخـود- درصد گلیسرول بود (p<۰/۰۱). نتایج آنـالیز واریـانس نشـان داد که هر سه متغیر مستقل میزان غلظت ایزوله‌ی پروتئین، درصد گلیسرول و درصد اسانس آویشـن در سـطح p<۰/۰۱ معنی‌دار بود. هم‌چنین، اثر متقابل غلظت پـروتئین و درصـد گلیسرول معنی‌دار شد. فاکتورهایی که کفایت مدل را نشـان داد، مدل ریاضی و بهینه شـده‌ی فـیلم خـوراکی بـر اسـاس آزمون نفوذپذیری نسبت به بخار آب در جدول ۳ آورده شده است.



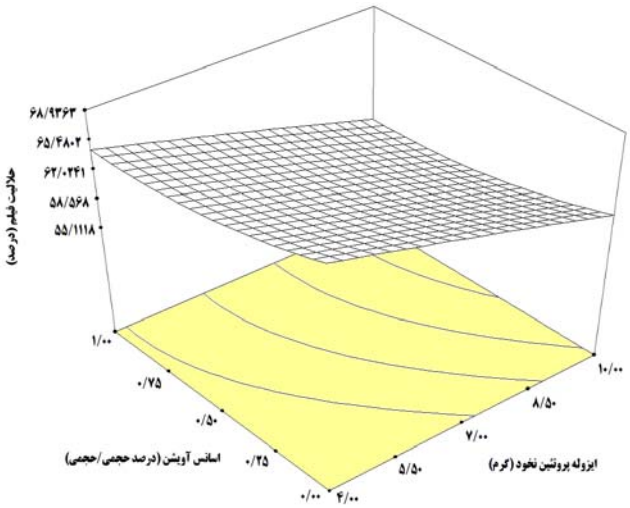
شکل۲. نمودار سه‌بعدی اثر همزمان متغیرها بر نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم خوراکی (p<۰/۰۱)

فرایند بهینه سازی بر اساس نفوذ پذیری نسبت به بخـار آب برای داشتن نفوذی حداقل و معادل $۱/۴\times۱۰^{-۹}$گـرم بـر متـر پاسکال ثانیه؛ میزان بهینه غلظت ایزوله‌ی پـروتئین نخـود ۴ گرم و برای گلیسرول ۴۰/۳٪ و ۰/۹۹ درصد اسانس بود.

نتایج حلالیت فیلم خوراکی: همان طور که در جـدول۲ و نمودار سه‌بعدی (شکل ۳) حلالیت فـیلم خـوراکی مشـاهده می‌شود، عبارت‌های مدل که بـرای حلالیـت فـیلم خـوراکی معنی‌دار شد خطی غلظت ایزولـه‌ی پـروتئین نخـود، خطـی درصـد گلیسـرول و خطـی درصـد اسـانس آویشـن بـود (p<۰/۰۱). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که هر سـه متغیـر مستقل (میزان غلظت ایزوله‌ی پروتئین، درصـد گلیسـرول و درصد اسانس آویشن) در سطح p<۰/۰۱ معنی‌دار بودنـد. در راستای فرایند بهینه سازی فرمولاسیون تولید فیلم خوراکی، فاکتورهایی که کفایت مدل را نشان داد، مدل ریاضی و بهینه شده بر اساس آزمـون حلالیـت فـیلم خـوراکی در جـدول ۳ آورده شده است.

در ادامه فرایند بهینـه سـازی بـر اسـاس حلالیـت فـیلم خوراکی، بـرای داشـتن حلالیـت حـداکثر و معـادل۶۹/۶۵۸ درصد؛ میزان بهینه‌ی غلظت ایزوله‌ی پروتئین نخود ۴/۱ گرم و برای گلیسرول ۵۸٪ و اسانس آویشن ۰/۰۵ درصد بود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]



شکل ۳. نمودار سه‌بعدی، اثر همزمان متغیرها بر روی میزان حلالیت فیلم خوراکی (p<۰/۰۱)

نتایج بهینه‌سازی نهایی: پس از بهینه‌سازی نهایی تولید فیلم خوراکی بر پایه‌ی ایزوله‌ی پروتئین نخود (جدول۴) به منظور داشتن خاصیت ضدمیکروبی جهت ایجاد هاله‌ی مهاری حداکثر برای *استافیلوکوکوس اورئوس* معادل ۳۵/۰۰۱ میلی‌متر و برای *اشرشیاکلی* معادل ۲۶/۱۴۲ میلی‌متر، برای داشتن نفوذ حداقل و معادل $۱/۴۹۱۱\times۱۰^{-۹}$گرم بر متر پاسکال ثانیه و برای حلالیت حداکثر معادل۶۲/۵۵۳۱ درصد؛ ۴ گرم ایزوله‌ی پروتئین نخود، ۴۴/۴ درصد گلیسرول و ۱ درصد اسانس تعیین شد. برای رسیدن به شرایط مذکور متغیرهای مستقل (غلظت ایزوله‌ی پروتئین نخود، اسانس آویشن و گلیسرول) در حالت in range در نظر گرفته شدند.

جدول ۳. نتایج آنالیز واریانس و بهینه سازی فیلم خوراکی در آزمون‌های ضدمیکروبی و فیزیکی فیلم خوراکی بر پایه‌ی ایزوله‌ی پروتئین نخود (P<0.01)

آزمون		مدل	R^2	R^2-Adj	R^2-Pre	CV
نفوذ پذیری نسبت به بخار آب(g/m.Pa.s)		$Y=-۱/۵\times۱۰^{-۹}+۴/۵\times۱۰^{-۱۰}X_۱+۵/۵\times۱۰^{-۱۱}X_۲-۴/۳۰۵\times۱۰^{-۱۱}X_۳-۳/۳۳\times۱۰^{-۱۲}X_۱X_۲$	۰/۹۹	۰/۹۸	۰/۹۵	۲/۳۰
حلالیت(%)		$Y=۲۵/۸-۱/۷۷X_۱+۱/۷X_۲-۴/۳\times۱۰^{-۱۰}X_۳$	۰/۹۲۷۹	۰/۸۶۳۱	۰/۵۲۸۴	۲/۷۶
ضدمیکروبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*(mm)	$Y=۸/۵+۵۳/۸X_۳-۱۷/۲X_۳^۲$	۰/۹۹۹۰	۰/۹۹۸۲	۰/۹۹۱۹	۲/۸۲
	اشرشیاکلی(mm)	$Y=-۰/۳۷۲+۲۶/۴X_۳$	۰/۹۹۹۵	۰/۹۹۹۱	۰/۹۹۵۸	۲/۱۹

جدول ۴. بهینه سازی نهایی تهیه‌ی فیلم خوراکی بر پایه‌ی ایزوله‌ی پروتئین نخود

شماره	ایزوله‌ی پروتئین نخود (g)	گلیسرول (%)	اسانس آویشن (%)	نفوذپذیری نسبت به بخار آب (g/m.Pa.s)	حلالیت (%)	*استافیلو کوکوس اورئوس* (mm)	*اشرشیا کلی* (mm)	درجه مطلوبیت
۱	۴/۰۰	۴۴/۴۰	۱/۰۰	$۱/۴۹۱۱\times۱۰^{-۹}$	۶۲/۵۵۳۱	۳۵/۰۰۱	۲۶/۱۴۲	۰/۸۶۱
۲	۴/۰۰	۴۴/۴۸	۱/۰۰	$۱/۴۹۳۷\times۱۰^{-۹}$	۶۲/۵۸۳۷	۳۴/۹۹۸	۲۶/۱۴۵	۰/۸۶۱
۳	۴/۰۰	۴۳/۷۸	۱/۰۰	$۱/۴۷۲۸\times۱۰^{-۹}$	۶۲/۲۸۶۸	۳۵/۰۲۷	۲۶/۱۱۶	۰/۸۶۱
۴	۴/۰۰	۴۵/۴۷	۱/۰۰	$۱/۵۲۱۷\times۱۰^{-۹}$	۶۲/۹۷۷۵	۳۴/۹۶۶	۲۶/۱۸۵	۰/۸۶۰
۵	۴/۰۰	۴۰/۸۰	۱/۰۰	$۱/۳۸۴۳\times۱۰^{-۹}$	۶۰/۸۶۵۳	۳۵/۲۰۹	۲۶/۹۹۷	۰/۸۵۵

• بحث

در ادامه بررسی‌ها روی خواص ضدمیکروبی فیلم خوراکی اثر همزمان درصد اسانس آویشن با غلظت ایزوله‌ی پروتئین نخود و درصد گلیسرول، بر میزان هاله مهاری اطراف فیلم‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. با افزایش میزان غلظت ایزوله‌ی پروتئین نخود هیچ تأثیر معنی‌داری بر مهار باکتری‌ها مشاهده نشد (شکل ۱. الف، ب)، در صورتی که میزان درصد اسانس آویشن به طور معنی‌داری (p<۰/۰۱) هاله‌ی مهاری اطراف فیلم‌ها را افزایش داد (شکل ۱. الف،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

ب). هم‌چنین مشاهده شد که افزایش گلیسرول هیچ تأثیر معنی‌داری بر افزایش هاله‌ی مهاری نداشت. زمانی که مواد ضدمیکروبی به محلول فیلم افزوده شد، این ترکیبات به درون آگار نفوذ کرده و از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کردند. بر اساس تحقیقات صورت گرفته اسانس آویشن از خاصیت ضدمیکروبی بالایی برخوردار است. خاصیت ضدمیکروبی آن به دلیل حضور دو ترکیب فنلی قوی تیمول(Thymol) و کارواکرول (Carvacrol) است. این دو ترکیب می‌توانند اثر هم‌افزایی داشته باشند. تیمول و کارواکرول غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب می‌کنند و سبب خروج لیپو پلی ساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشا نسبت به ATP می‌شود. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره‌ی انرژی و مرگ سلول می‌شود (۱۵، ۱۰).

در ادامه‌ی تحقیق با بررسی میزان نفوذپذیری فیلم خوراکی نسبت به بخار آب اثر همزمان ایزوله‌ی پروتئین نخود – درصد اسانس آویشن (شکل۲) مشخص شد که ایزوله‌ی پروتئین نخود ماهیت آبدوستی دارد و در مقابل نفوذ بخار آب ضعیف عمل می‌کند. این نفوذپذیری وابستگی زیادی به ترکیبات موجود به ویژه پروتئین‌ها در فیلم دارد. پروتئین‌های اصلی در نخود و اکثر بقولات گلوبولین‌ها و آلبومین‌ها هستند و تقریبا ۷۰٪ پروتئین دانه (شامل پروتئین‌های 7S,11S,15S) از گلوبولین‌ها تشکیل شده است. *Kokoszka* و همکاران با بررسی فیلم خوراکی بر پایه‌ی ایزوله پروتئین سویا مشاهده کردند که با افزایش میزان ایزوله‌ی پروتئین سویا در غلظت ثابت گلیسرول، میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب افزایش یافت (۱۹).

همچنین با توجه به معنی‌دار بودن اثر خطی غلظت گلیسرول (جدول۲) تأثیر غلظت گلیسرول بر میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب بدون لحاظ کردن تغییرات سایر متغیرها به گونه ای است که با افزایش میزان گلیسرول به تدریج نفوذپذیری فیلم نسبت به بخار آب افزایش می‌یابد. بر اساس مطالعات *Park* و همکاران و *Donhowe* و همکاران پلاستی‌سایزرها ملکول‌های کوچکی هستند و زمانی که به مواد پلیمری اضافه می‌شوند، ساختار سه‌بعدی آن‌ها را تغییر می‌دهند و با کاهش نیروهای جاذبه‌ی بین ملکولی و افزایش سیالیت شاخه‌های پلیمری باعث افزایش انعطاف پذیری فیلم می‌شوند. هم‌چنین با افزایش گلیسرول به محلول فیلم خوراکی؛ نفوذپذیری نسبت به بخار آب افزایش می‌یابد (۲۱، ۲۰). در واقع این قبیل ترکیبات، آب‌دوست هستند و با ایجاد فضاهای خالی در فیلم باعث افزایش سرعت انتقال بخار آب در آن می‌شوند. *Tapia* و همکاران در بیان علت این پدیده چنین تفسیر نمودند که نرم‌کننده‌ها تحرک زنجیره‌های پلیمر را با پرکردن فضاهای خالی بین شبکه‌ی پلیمر افزایش می‌دهند. به دنبال این عمل، نیروهای پیوندی درون ملکولی کاهش یافته، شکنندگی کم، آب‌دوستی و قابلیت انتقال گاز و بخارآب زیاد می‌شود(۲۲).

با توجه به شکل ۲ نباید نقش اسانس آویشن در کاهش کم اما محسوسِ نفوذپذیری نسبت به بخار آب را نادیده گرفت. طبق مطالعات انجام شده وجود مواد آب‌گریز (هیدروفوب) در فرمولاسیون فیلم‌های خوراکی سبب بهبود ویژگی‌های ممانعت‌کنندگی در مقابل نفوذ بخار آب می‌شوند. در تأیید این نتایج *Hettiarachchy* و همکاران نشان دادند که افزودن منوگلیسرید به محلول سازنده‌ی فیلم خوراکی اثر معنی‌داری بر روی نفوذ پذیری نسبت به بخار آب دارد (۲۳). به طور کلی علت کاهش رطوبت و جلوگیری از نفوذ آن را می‌توان اثر دفع کننده ترکیبات غیر قطبی موجود در اسانس‌ها دانست که موجب ایجاد تغییراتی در ساختار ملکولی می‌شود. این نتایج مشابه یافته‌های *Pranoto* و همکاران بود (۲۴).

در ادامه‌ی بررسی فیلم خوراکی آزمون حلالیت انجام شد. اثر همزمان ایزوله‌ی پروتئین نخود- درصد اسانس آویشن بر میزان حلالیت فیلم خوراکی بر پایه‌ی پروتئین نخود نشان داده شده است (شکل ۳). بر این اساس افزایش غلظت پروتئین، میزان حلالیت فیلم خوراکی را کاهش داد. دلیل این پدیده را احتمالاً می‌توان به ایجاد یک شبکه‌ی قوی پروتئینی در غلظت‌های بالا مرتبط دانست. البته، دلیل دیگری هم ممکن است وجود داشته باشد؛ در فرایند تهیه‌ی محلول فیلم از دمای بالا (در حدود ۸۵°C) استفاده شد. این دما به مدت ۳۰ دقیقه طی هم زدن مداوم برای همه‌ی تیمارها مورد استفاده قرار گرفت و باعث دناتوره شدن پروتئین‌ها و تغییر ویژگی‌های آن به ویژه حلالیت شد (۲۷-۲۵). اما از طرف دیگر با افزایش میزان گلیسرول، حلالیت فیلم خوراکی به مقدار زیادی افزایش یافت که به علت کوچک بودن اندازه‌ی ملکولی پلاستی‌سایزرها و نفوذ مناسب آن‌ها به ساختار ملکولی پروتئین، تحرک ملکولی داخل بافت فیلم افزایش یافت. درنتیجه، میزان حلالیت افزایش یافت (۲۸). در واقع به علت ورود ملکول‌های پلاستی‌سایزر در

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

ساختار ملکولی فیلم پروتئینی، پیوستگی و جاذبه‌ی بین ملکولی بسپار پروتئینی کاهش یافت این پدیده همراه با افزایش حلالیت در نمونه‌های دارای بیشترین مقدار گلیسرول قابل مشاهده بود. *Dehghan Shoaar* و همکاران اثر غلظت گلیسرول را بر درصد حلالیت فیلم بررسی و مشاهده کردند که با افزایش درصد گلیسرول به محلول تهیه‌ی فیلم خوراکی بر پایه‌ی پروتئین سویا، میزان افزایش حلالیت آن در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است (۱۷). هم‌چنین *Sahbas* و *Turhan* و همکاران نیز با بررسی میزان حلالیت فیلم خوراکی بر پایه‌ی متیل سلولز به نتایجی مشابه پژوهش حاضر رسیدند و بیان کردند که ملکول‌های ترکیبات انعطاف‌دهنده جاذبه و پیوستگی بین ملکولی را کاهش می‌دهد و باعث افزایش حلالیت می‌شوند (۲۹). در ادامه نتایج *Adebiyi* و همکاران با بررسی میزان حلالیت فیلم خوراکی بر پایه‌ی پروتئین سبوس برنج ضمن اینکه به نتایجی مشابه رسیدند، بیان کردند فیلم هایی که برای مصرف خوراکی همراه با غذا به کار می‌روند، باید حلالیت بالایی داشته باشند (۳۰). همان طورکه در شکل ۳ مشاهده می‌شود، افزایش درصد اسانس آویشن نیز باعث کاهش میزان حلالیت فیلم شد. دلیل آن هم غیرقطبی بودن و داشتن خاصیت آبگریزی اسانس است که باعث کاهش میزان حلالیت شد. به طور کلی و بر اساس مطالعات انجام شده توسط محققان دیگر ثابت شده که افزودن ترکیبات غیر قطبی یا آب‌گریز به محلول تهیه‌ی فیلم میزان حلالیت آن را کاهش می‌دهد که از نتایج مشابه ما *Maizura* و همکاران با بررسی خصوصیت حلالیت فیلم ترکیبی نشاسته ساگوآلژینات حاوی ماده ضدمیکروبی اسانس گور گیاه گزارش کردند که استفاده از اسانس گورگیاه موجب کاهش حلالیت فیلم خوراکی شد (۳۱). در تحقیقی مشابه *Laohakonjit* و *Noomhorn* بیان کردند که فیلم خوراکی مطلوب باید در دوره‌ی نگهداری در یخچال یا سردخانه دارای حلالیت کم باشد، ولی در هنگام طبخ دارای حلالیت بالا بوده و به گونه‌ای باشد که نیاز به خارج کردن ماده غذایی از بسته نبوده و ماده غذایی همراه بسته خوراکی مورد فرایند قرار گیرد (۳۲).

در این تحقیق نشان داده شد که ایزوله‌ی پروتئین نخود از قابلیت تشکیل فیلم خوراکی با ترکیب ضدمیکروبی برخوردار است. در آزمون خواص ضدمیکروبی اثر پارامتر اسانس آویشن روی قطر هاله‌ی مهاری در سطح $p<۰/۰۱$ معنی‌دار شد. به طوری که با افزایش درصد اسانس آویشن به صورت خطی رشد میکروارگانیسم‌ها را مهار کرد. غلظت ایزوله‌ی پروتئین نخود و درصد گلیسرول هیچ تأثیری بر مهار باکتری‌ها نگذاشت ($p<۰/۰۵$) پس می‌توان بیان کرد که فیلم خوراکی بر پایه‌ی ایزوله‌ی پروتئین نخود به تنهایی و بدون افزودن مواد ضدمیکروبی، خاصیت ضدمیکروبی ندارد.

هم‌چنین، آزمون نفوذپذیری نسبت به بخار آب نشان داد که میزان نفوذ با افزایش غلظت ایزوله‌ی پروتئین و درصد گلیسرول و کاهش درصد اسانس آویشن افزایش می‌یابد. آزمون حلالیت فیلم خوراکی نیز نشان داد که با کاهش میزان پروتئین و درصد اسانس آویشن و افزایش میزان گلیسرول، میزان حلالیت افزایش می‌یابد.

• References

1. Burt SA. Essential oil : Their antibacterial propeties and potentional applications in: Int J Food Microbiol 2004; 94:223-53.
2. Hwang CA, Mark T, Tamplin L. The influence of mayonnaise pH and storage temperature on the growth of Listeria monocytogenese in egg salad and pasta salad formulated with mayonnaise of varios pH and stored at refrigerated and abuse temperatures. Food Microbiol 2005; 24,211-18.
3. Holley RA, Patel D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials: A Review. Food Microbiol 2005; 22, 273–92.
4. Alzoreky NS, Nakahara K. Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. Int J Food Microbiol 2002;80, 223–30.
5. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Applied Microbiol 2000; 88, 308–16.
6. Marino M, Bersani C, Comi G. Impedance measurement to study antimicrobial activity of

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

essential oils from Lamiaceae and Compositae. Int J Food Microbiol 2001; 67, 187–95.

7. Mehrabian S, Mollabashi Z, Majd A. Antimicrobial effects of plant species, spearmint family, 15 strains of pathogenic intestinal bacteria and cause food poisoning. Nashre Olom 1996; 8(1):1-11 [in Persian].
8. Rad S. Increase the storage life of horticultural products using vegetable essentials oil antifungal effects. [dissertation]. Mashhad: Ferdowsi University. M.Sc. Faculty of Food Science and Technology 1999[in Persian].
9. Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A. Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. Critical Reviews in Food Sci & Nutr 1998; 38, 299−313.
10. Hosseini MH, Razavi SH, Mousavi MA. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. J Food Process & Preserv 2009; 33:727–43.
11. Cho SY, Rhee C. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. LWT Food Sci & Tech 2002; 35(2):151–7.
12. Ou S, Kwok KC, Kang Y. Changes in invitro digestibility and available lysine of soy protein isolate after formation of film. J Food Eng 2004; 64: 301-305.
13. Cho SY, Park JW, Batt HP, Thomas RL. Edible films made from membrane processed soy protein concentrates. LWT Food Sci & Tech 2007; 40: 418–23.
14. Salari A, Habibi Najafi MB, Farhoosh R, Marashi SH. Effect of different solvent systems on the extraction of grape seed extract and its antimicrobial properties. J Food Sci & Tech Iran 2008;71-79[in Persian].
15. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Res Int 2006; 39: 639–44.
16. ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. Annual book of ASTM Standards. Philadelphia, PA: American Society for Testing & Materials; 2002.
17. Dehghan Shoaar Z, Badiei F, Behmadi H. The role of glycerol on some physical and mechanical properties of isolated soy protein films. J Food Sci & Tech 2009; 6(1): 1-10 [in Persian].
18. Myers RH, Montgomery DC. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. 2nd Ed. New York; Wiley: 2002.
19. Kokoszka S, Debeaufort F, Hambleton A, Lenart A, Voilley A. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. Innov Food Sci & Emer Tech 2010; 11, 503–10.
20. Park HJ, Weller CL, Verrgano PJ, Testin RF .Permeability and mechanical properties of cellulosebased edible films. J Food Sci 1993; 58(6): 1361-70.
21. Donhowe G, Fennema O. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of Methylcellulose films. J Food Process Preserv 1993; 17(4): 247-57.
22. Tapia MS, Rojas-Grau MA, Carmona A, Rodriguez FJ, Soliva-Fortuny R, Martin-Belloso, O. Use of alginate and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. Food Hydrocoll 2007; 10:1-11.
23. Hettiarachchy NS, Satchithanandam E. Organic Acid Incorporated Edible Antimicrobial Films, United States patent, Us 2007; 7,16,580,B2.
24. Pranoto Y, Rakshit SK, Salokhe VM. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT Food Sci & Tech 2005;38: 859–65.
25. Saremnejad S, Azizi MH, Barzegar M, Abbasi S. Effect of pH and Plasticizer concentration on the properties of films prepared from bean protein isolates.Tarbiat Modarre University. J Food Sci 2009;6(2): 93-103[in Persian].
26. Coma V, Sebti I, Pardon P, Deschamps A, Pichavant FH. Antimicrobial edible packaging based on cellulosic ethers, fatty acids, and nisin incorporation to inhibit Listeria innocua and Staphylococcus aureus. J Food Protec 2001; 64(4): 470–5.
27. Miller KS, Krochta JM. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. Trends in Food Sci & Tech 1997; 8(7): 228–37.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

28. Daraei F, Badiei F, Mizani M, Gerami A. The effect of plasticizer addition on the mechanical properties and physical chemistry methylcellulose edible film. Iranian J Nut Sci & Food Tech 2009; 4(3): 47-54.

29. Turhan KN, Sahbas F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. J Food Eng 2004; 61: 459-66.

30. Adebiyi AP, Adebiyi AO, Jin DH, Ogawa T, Muramoto K. Rice bran protein-based edible films. Int Food Sci & Tech 2007;1-8.

31. Maizura M, Fazilah A, Norziah MH, Karim AA. Antibacterial activity and mechanical of partially hydrolyzed properties of sago starch-alginate edible film containing lemon grass essential oil. J Food Sci 2007; 72: 324-30.

32. Laohakonjit N, Noomhorn A. Effect of plasticizer on mechanical and barrier properties of rice starch film. Starch/Starke 2004; 56: 348-56.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]

Antimicrobial and physical properties of a chickpea protein isolate-based film containing essential oil of thyme using response surface methodology

*Meshkani M[*1], Mortazavi A[2], Pourfallah Z[3]*

1- Department of Food Science & Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
Email: s.m.meshkani@gmail.com

2- Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Food Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

3- Department of Food Science & Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

Received 13 Oct, 2012 **Accepted 15 Jan, 2012**

Background and Objective: The use of bio-polymers, especially proteins and herbal essences, has received attention for years in the production of edible films. The aim of this study was to prepare edible films based on isolated chickpea protein and determine the effects of concentrations of chickpea protein, glycerol and essence on antimicrobial properties, as well as water vapor permeability and solubility, of the edible film.

Materials and Methods: Protein was extracted from Filip variety chickpea powder by the isoelecteric point sequestration method. Then, samples of edible films were prepared using protein (4-10g), glycerol as a plasticizer (40-60%), and thyme essence (0-1%). The antimicrobial effect of the film samples on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, theirwater-vapor permeability and surface-solubility, by the response-surface method, were determined.

Results: Thyme essence brought about statistically significant reductions ($P<0.01$) in the growth of the two microorganisms, as well as solubility and water vapor permeability of the films; the higher the protein concentration, the higher the permeability and the lower the solubility ($P<0.01$). Also, higher glycerol concentrations led to increased permeability and solubility ($P<0.01$).

Conclusion: Based on the findings, it can be concluded that isolated protein of chickpea can form films. The optimum levels of isolated chickpea protein, glycerol and thyme essence for maximum anti-microbial effects, minimum water-vapor permeability and maximum solubility are4g , 44.4% and 1%, respectively.

Keywords: Antimicrobial films, Chickpea protein, Thyme essence oil, Physicochemical properties

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-11]