

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد قارچی فیلم‌های خوراکی ایزوله پروتئین سویا تانن آکالیپتوس

مجید عرب عامری^۱، یحیی مقصدلو^۲، مهران اعلمی^۳، نبی شریعتی فر^۴، مجتبی رئیس^۵

۱- دانش آموخته دکترای علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- نویسنده مسئول: استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
پست الکترونیکی: y.maghsoudlou@gau.ac.ir

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۴- استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- دانشیار مرکز تحقیقات سلامت غذا، دارو و فرآورده‌های طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۰

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از ترکیبات فعال طبیعی در فیلم‌های خوراکی رویکرد مناسبی در تولید بسته بندی فعال است. هدف از این تحقیق، بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، و ضد قارچی فیلم‌های خوراکی ایزوله پروتئین سویا حاوی عصاره تانن آکالیپتوس می باشد.

مواد و روش‌ها: عصاره حاوی تانن از برگ درخت آکالیپتوس استخراج و سپس در سه غلظت ۱، ۲/۵ و ۵ درصد به فیلم ایزوله پروتئین سویا اضافه شد. فعالیت ضد قارچی در مقابل کپک آسپرژیلوس، ایزوترم جذب رطوبت تعادلی توسط مدل گب (Guggenheim-Anderson-de Boer) GAB، میزان نفوذپذیری به بخار آب و فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا با استفاده از مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مورد آزمون قرار گرفتند.

یافته‌ها: برازش داده‌های تجربی نشان داد که ایزوترم‌های جذب رطوبت به خوبی توسط مدل گب ($R^2 > 0.92$) توصیف شده است و ایزوترم جذب رطوبت تعادلی با افزایش غلظت تانن به سمت محتوای رطوبت پایین‌تر تغییر کرد. بر اساس نتایج تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA)، سه مؤلفه اصلی ۹۶ درصد واریانس از پارامترهای فیزیکوشیمیایی را به خود اختصاص دادند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH به طور قابل توجهی از ۶/۴۳ درصد (در نمونه شاهد) به ۵۶/۹۲ درصد (در نمونه حاوی ۵ درصد تانن) افزایش یافت. نمونه‌های حاوی تانن آکالیپتوس فعالیت ضد قارچی مناسبی در مقابل کپک آسپرژیلوس نایجر داشت و افزایش میزان تانن به ۵٪ در نمونه‌ها منجر به افزایش معنی‌دار مهار فعالیت قارچی گردید ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: استفاده از افزودنی‌های طبیعی مانند عصاره حاوی تانن آکالیپتوس در فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر را می‌توان برای بهبود عملکرد فیلم ایزوله پروتئین سویا و کمک به افزایش ماندگاری محصولات غذایی به دلیل خواص ضد قارچی و یا آنتی‌اکسیدانی آنها در نظر گرفت.

واژگان کلیدی: فیلم خوراکی، خواص فیزیکوشیمیایی، ضد قارچی، ایزوله پروتئین سویا، تانن

• مقدمه

اکسیژن، فیلم ایزوله پروتئین سویا را قادر می‌سازد تا به طور گسترده در بسته بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد اما به دلیل ماهیت آبدوستی شان، نفوذپذیری بخار آب بالایی دارند (۲). تلاش‌های زیادی برای کاهش این معایب، از طریق

نگرانی‌های زیست‌محیطی ناشی از افزایش آلودگی پلاستیک‌ها و ضایعات، استفاده مجدد از محصولات جانبی مواد غذایی و تمایل مصرف‌کننده برای مصرف مواد غذایی سالم و مغذی، باعث افزایش استفاده از فیلم‌های خوراکی شده است (۱). خواص مکانیکی متوسط و خواص بازدارنده در برابر

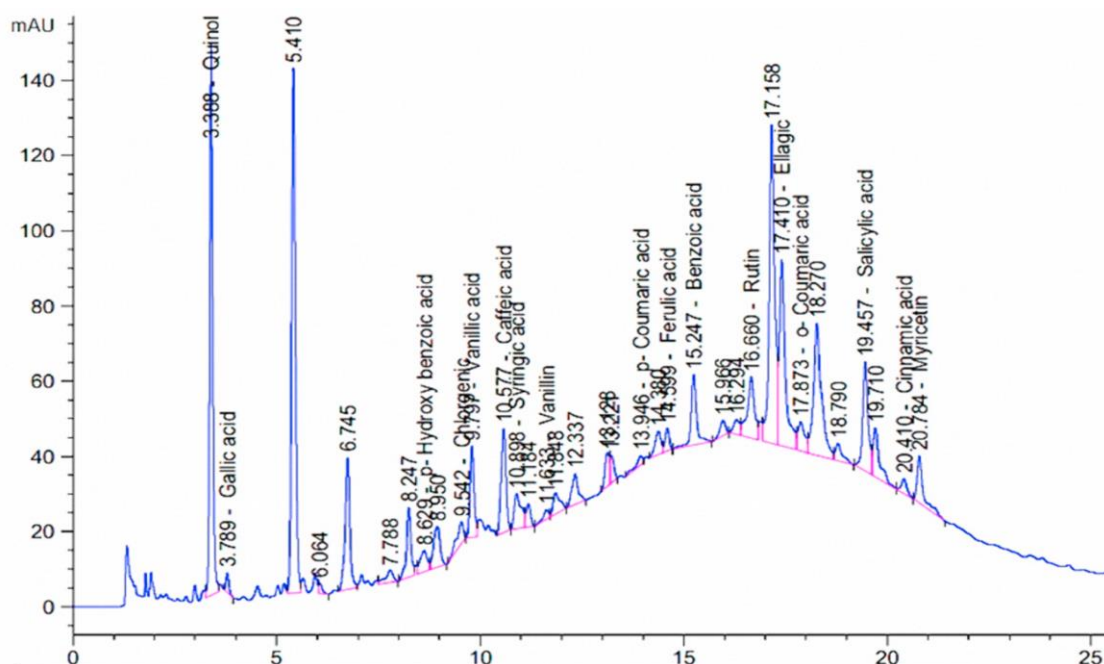
(Quercetin) و مشتقات اسید کوینیک (Quinic acid) (شکل ۱) است (۵).

نکته مهم این است که آکالیپتوس حاوی انواع مختلفی از تانن‌های قابل هیدرولیز شدن و تانن‌های متراکم و سایر پلی فنل‌ها هستند که ممکن است تغییرات قابل توجهی را در فیلم های خوراکی ایجاد کنند. تانن‌های متراکم یا پروآنتوسیانیدین ها پلیمرهای بدون شاخه از واحدهای فلاونوئید هستند که با پیوندهای کربنی به هم وصل شده اند و معمولا وزن مولکولی بیشتری از تانن‌های قابل هیدرولیز شدن دارند.

نتایج مطالعات اخیر نشان داده است که تانن با ایجاد اتصالات عرضی در فیلم‌های ژلاتین و کازئین (۶، ۷) پروتئین سویا (۸) منجر به بهبود برخی از ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و مکانیکی می‌شود. دو برهمکنش متفاوت بین پروتئین و تانن وجود دارد که شامل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل تانن و آمید کربونیل پپتید پروتئین و برهمکنش‌های هیدروفوبیک است که برای تثبیت کمپلکس- های تانن-پروتئین مهم هستند. تانن‌های غیر قابل هیدرولیز شدن دارای وزن مولکولی بالا هستند و در ترکیب با پروتئین‌ها، ماکروپلیمرهای بزرگ‌تر با انعطاف پذیری بیشتر تولید می‌کند. اما تانن‌های قابل هیدرولیز شدن، عمدتاً این قابلیت را ندارند و از طریق پیوند هیدروژنی با پروتئین‌ها تعامل دارد.

تیمارهای فیزیکی، شیمیایی یا آنزیمی، ترکیب با افزودنی‌های و استفاده از پیوندهای متقابل انجام شده است (۳).

در سال‌های اخیر، علاقه زیادی به کاربرد تانن در بسته‌بندی خوراکی به دلیل توانایی واکنش فعال با پروتئین‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا، مقاومت در برابر اشعه ماوراء بنفش و خواص ضد قارچی و ضد میکروبی، بوجود آمده است. تانن‌های گیاهی، یا پلی فنل‌های گیاهی محلول در آب و از متابولیت‌های ثانویه اصلی در گیاهان هستند. بر اساس خواص هیدرولیتیک، تانن‌ها معمولاً به تانن‌های قابل هیدرولیز شدن و تانن‌های غیرقابل هیدرولیز شدن طبقه بندی می‌شوند (۴). فعالیت‌های بیولوژیکی تانن‌های قابل هیدرولیز در بدن و تأثیر مفید آن بر سلامت انسان تأیید شده است. آنها به عنوان ترکیبات ضد سرطان، ضد دیابت، ضد التهاب، ضد میکروبی و ضد فشار خون و آنتی‌اکسیدان استفاده می‌شود. علاوه بر این، تانن‌های قابل هیدرولیز به کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم کمک می‌کنند و لیپوژن را با کاهش انسولین کنترل می‌کند (۵-۶). تانن-های اصلی شناسایی شده در برگ‌های آکالیپتوس، شامل مشتقات هگزاهیدروکسی دی‌فنیل (Hexahydroxydiphenoyl) زیر واحدهای پروسیانیدین (procyanidin)، پرودلفینیدین (prodelphinidin)، پروآنتوسیانیدین‌ها (proanthocyanidin)، گالایول (galloyl)، مشتقات کامفرول (Kaempferol)، مشتقات کوئرستین



شکل ۱. نتایج کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شناسایی شده موجود در آکالیپتوس (۹)

اتانول (هر بار ۲۰ میلی لیتر) شستشو داده شد، سپس در دمای ۴۰ درجه سلسیوس در آون، خشک شد و برای اطمینان از حذف کامل حلال فرآیند آون گذاری دوبار تکرار شد (۱۲).

آماده سازی فیلم

محلول ایزوله پروتئین سویا با حل کردن ۶ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر تحت هم زدن مغناطیسی تهیه شد. از محلول هیدروکسید سدیم (NaOH) با غلظت ۱ مول در لیتر برای تنظیم pH استفاده شد. تانن با غلظت‌های مختلف (۱، ۲/۵، ۵ درصد) بر اساس محتوای جامد ایزوله پروتئین سویا و ۳ گرم گلیسرول با محلول ایزوله پروتئین سویا مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد. پس از آن، برای اطمینان از توزیع یکنواخت مواد و بوی مخلوط به یک فلاسک ته گرد منتقل شد و در یک حمام آب در دمای ۸۵ درجه سلسیوس تحت هم زدن مغناطیسی قرار گرفت. برای اطمینان از توزیع یکنواخت مواد و بویژه تانن، مخلوط به حمام اولتراسونیک با دمای ۸۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه منتقل شد. به منظور تهیه فیلم، حدود ۴۰ میلی لیتر از محلول حاصل، درون ظرف تفلون ریخته شده و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس خشک شد. در نهایت، فیلم‌ها با دقت جدا شده و قبل از استفاده، به مدت بیش از ۲۴ ساعت به خشک‌کن منتقل شدند (۲۱). برای اطمینان از یکنواختی فیلم‌ها، ضخامت آنها در پنج مکان تصادفی مختلف از طریق یک میکرومتر دیجیتال (شرکت Shang Chong، چین) با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. همه فیلم‌ها دارای میانگین ضخامت $0/15 \pm 0/01$ میلی‌متر بودند. برای اطمینان از یکنواختی ضخامت فیلم، وزن فیلم‌ها با گرفتن پنج نمونه تصادفی (۱×۱) سانتی متر مربع ارزیابی شد و وزن هر نمونه به صورت جداگانه از طریق ترازوی توزین الکترونیکی محاسبه شد.

اندازه‌گیری کمی میزان تانن توسط معرف فولین-سیکالتو (Folin-Ciocalteu)

محتوای تانن (ترکیبات پلی فنلی) فیلم‌های با روش Folin-Ciocalteu با اندکی تغییر، تعیین شد (۸). ۱ میلی لیتر محلول فیلم با میلی لیتر فولین و ۴ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. پس از ۳ دقیقه، ۵ میلی لیتر از محلول سدیم کربنات ۰/۷ گرم در لیتر اضافه شد و مخلوط به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. میزان جذب محلول و شاهد در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس از روی منحنی استاندارد (محلول اسید گالیک) غلظت مجهول‌ها را براساس میزان ۱۰۰ معادل میلی گرم اسید گالیک در لیتر محاسبه کرده که پس از ضرب نمودن در میزان رقت، مقدار تانن (حجمی/حجمی) فیلم بدست آمد.

ویژگی‌های آب دوستی یا آب‌گریزی فیلم‌های مورد استفاده در بسته بندی، برای پیش بینی پایداری بسته بندی در شرایط نگهداری رطوبت نسبی بالا و در سیستم‌های غذایی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. از این رو، تخمین ایزوترم‌های جذب رطوبت فیلم‌ها برای تعریف رابطه فعالیت آب و رطوبت تعادل فیلم‌های و ارزیابی حلالیت آب در شبکه فیلم سودمند خواهد بود (۹، ۱۰).

مدل‌سازی ایزوترم‌های جذب آب با بررسی کم‌آبی در سیستم‌های غذایی برای کنترل و حفظ کیفیت از اهمیت زیادی برخوردار است. بسیاری از روابط ریاضی در مطالعات برای مدل‌سازی داده‌های تعادل رطوبتی مربوط به سیستم‌های غذایی و فیلم‌های پلیمری زیستی پیشنهاد شده‌اند. معادلات ایزوترم جذب رطوبت برای پیش‌بینی ویژگی‌های جذب آب فیلم‌های آبدوست مفید هستند (۱۰). مدل گب (GAB) (Guggenheim-Anderson-de Boer) یکی از رایج‌ترین معادلاتی است که برای بیان جذب آب در محصولات غذایی به‌ویژه فیلم‌های خوراکی استفاده می‌شود (۱۱).

هدف از مطالعه حاضر، تجزیه و تحلیل اثر عصاره حاوی تانن آکالیپتوس در فیلم‌های مبتنی بر ایزوله سویا است. به این منظور، فیلم‌های پروتئینی حاوی عصاره تانن آکالیپتوس تهیه و ایزوترم‌های جذب آب، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و خواص ضد قارچی آنها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

مواد

ایزوله پروتئین سویا، با محتوای پروتئین بیش از ۹۰ درصد، از شرکت فناوری بیولوژیکی (چین، Ruikang Yueyang) خریداری شد. معرف‌های با گرید آزمایشگاهی مانند گلیسرول، هیدروکسید سدیم و کلرید کلسیم بی‌آب، ۱، ۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH، ۹۶٪)، معرف اندازه‌گیری مهار رادیکال از شرکت زیگما آلدریج، Sigma-Aldrich (Bangalore, India) خریداری شد.

استخراج تانن از برگ آکالیپتوس

۱۱۰ گرم برگ آکالیپتوس را با آسیاب پودر و سپس با ۲۰۰ میلی لیتر اتانول در یک بالن ته گرد دو دهانه مجهز به ستون تقطیر، در دمای استخراج ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه از زمان استخراج، مخلوط صاف کرده و حلال آن تحت فشار کاهش یافته خارج شد. برای استخراج تانن از محلول حاصل، مقدار ۳۰ میلی لیتر دی اتیل اتر اضافه نموده تا پودر زرد کم‌رنگ رسوب نماید. محلول روی آن صاف، سپس برای اطمینان از حذف کامل حلال پودر زرد کم‌رنگ حاصل چند بار با

بررسی ایزوترم جذب تعادلی رطوبت فیلم‌ها

ایزوترم جذب رطوبت برای فیلم‌های ایزوله پروتئین سوپا با استفاده از روش ارائه شده توسط Bertuzzi و همکاران در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بررسی شد (۱۳) و برای هر یک از رطوبت‌های نسبی، محتوای رطوبت فیلم‌ها بر اساس وزن خشک در حالت تعادل اندازه‌گیری گردید، سپس نتایج در معادله (۱) که معادله گب نام دارد، قرار داده شد.

$$v(A_w) = \frac{v_m * C_B * K * A_w}{(1 - A_w)(1 + (C_G - 1) * A_w)} \quad \text{معادله ۱}$$

که در آن v_m , K , C_B , A_w پارامترهای معادله گب هستند $v(A_w)$ مقدار رطوبت تک لایه (گرم آب در گرم ماده خشک) است و A_w فعالیت آبی است. برای ارزیابی دقت و صحت معادله گب داده‌های تجربی برای ایزوترم جذب به صورت درصد متوسط ضریب انحراف نسبی (E) برای فیلم‌ها محاسبه شد. انحراف نسبی توسط معادله (۲) تعیین گردید:

$$E = \frac{N}{100} \sum_{i=1}^N \frac{|m_i - m_{pi}|}{m_i} \quad \text{معادله ۲}$$

که در آن، N مقدار داده‌های تجربی، m_i ، m_{pi} به ترتیب محتوای رطوبت تجربی و پیش‌بینی شده می‌باشد. در این مدل اگر مقدار انحراف نسبی کمتر از ۱۰ درصد باشد، نشان دهنده برازش قابل قبول است.

Blahovoc گزارش داد که در صورتی که برای ماده ای $0 \leq K \leq 1$ و $C \leq 2$ باشد، آنگاه در طبقه بندی برونوئر-امت-تالر (BET) نوع مدل جذب تعادلی آن ماده از تیپ نوع II است و در صورتی که $0 \leq C \leq 1$ و $0 \leq K \leq 1$ نوع مدل جذب تعادلی ماده از تیپ نوع III خواهد بود (۱۰).

اندازه گیری میزان نفوذپذیری به بخار آب (wvp):

برای انجام این آزمایش از روش استاندارد ASTM E96 (2001) به روش دسیکانت استفاده شد. در این روش از یکسری ویال‌های آزمایشگاهی با ارتفاع ۴/۵ و قطر داخلی ۲ سانتی متر استفاده شد سپس داخل ویال‌ها ۳ گرم سولفات کلسیم برای ایجاد رطوبت نسبی صفر درصد ($RH=0\%$) قرار داده شد و درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت به مدت ۷ روز هر ۶ ساعت یک بار وزن گردید. کاهش وزن ویال‌های طی زمان اندازه‌گیری خواهد شد تا ویال‌های به وزن ثابتی برسند و با رسم منحنی تغییرات وزن ویال‌های نسبت به زمان، یک خط راست حاصل خواهد شد و شیب آن محاسبه خواهد گردید.

در نهایت نفوذ پذیری به بخار آب (WVP)، ($g \text{ m/m}^2 \text{ s. Pa}$) از معادله زیر محاسبه می‌شود:

$$WVP = \frac{WVTP \times L}{\Delta P}$$

در اینجا L ، ضخامت فیلم‌ها، ΔP اختلاف جزئی فشار بخار آب در دو طرف فیلم، $WVTR$ سرعت انتقال بخار آب از هوای با رطوبت نسبی بالاتر در خارج ظرف از طریق فیلم به داخل ظرف بود.

$$WVTR = \frac{\text{شیب منحنی نفوذ رطوبت}}{\text{مساحت سطح فیلم}}$$

اندازه گیری خواص ضد کپکی

کپک‌های مورد استفاده در آزمون یعنی اسپرژیلوس نایجر (PTCC 5298) به صورت کشت خالص لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون گونه‌های میکروبی وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شد.

روش دیسک انتشاری (Disc diffusion test) برای بررسی فعالیت ضد کپکی فیلم‌ها بر روی کپک اسپرژیلوس نایجر استفاده شد. $100 \mu\text{L}$ میکرو لیتر سوسپانسیون کپک با غلظت 5×10^4 تعداد سلول در میلی لیتر (شمارش شده توسط لام نتوبار) بر روی محیط کشت پوتیتودکستروز آگار (PDA) توسط آنس استریل پخش شد. سپس دیسک‌های فیلم‌ها با پانچ استریل با قطر ۱۰ میلی لیتر بر روی سطح محیط کشت قرار گرفت. سپس پلیت‌ها حاوی فیلم داخل انکوباتور ۲۶ درجه سلسیوس به مدت ۶ روز قرار داده شد. قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری فعالیت ضد اکسایشی

فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های فیلم با استفاده از مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بر اساس روش وانگ با یک تغییر جزئی ارزیابی شد (۸). روش DPPH روش ساده و آسانی برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است که بر اساس ساز و کار روش انتقال الکترون بوده و در میوه‌ها و سبزیجات و یا عصاره استخراجی آنها استفاده می‌شود. برای این منظور، ۱ میلی لیتر از محلول فیلم به ۴ میلی لیتر محلول DPPH اضافه و به شدت مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی در دمای اتاق، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-ماوراء بنفش اندازه‌گیری شد. هر آزمایش سه بار تکرار شد و درصد فعالیت مهار DPPH به شرح زیر محاسبه گردید:

$$\% \text{ فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH} = \frac{\text{جذب کنترل} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

آنالیز آماری

در این تحقیق تأثیر سه سطح تانن (۱، ۲/۵ و ۵ درصد) بر ویژگی های فیزیکیوشیمیایی و ضد قارچی فیلم های خوراکی ایزوله پروتئین سویا مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج حاصله با نمونه شاهد مقایسه گردیدند. میانگین داده ها، توسط آنالیز تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. تفاوت های بین تیمارها، در آزمون دانکن و در سطح احتمال ۹۵ درصد بیان گردید.

• یافته ها و بحث

بررسی اثر تانن آکالیپتوس بر ایزوترم جذب رطوبت

تعادلی فیلم های ایزوله پروتئین سویا

نتایج ایزوترم جذب رطوبت در دمای 25°C درجه سلسیوس بررسی شد و نتایج حاکی از آن است که افزایش غلظت عصاره حاوی تانن آکالیپتوس باعث کاهش جذب رطوبت فیلم ها شده است (جدول ۱).

حضور عصاره حاوی تانن آکالیپتوس در فیلم سبب کاهش گروه های هیدروکسیل آزاد در پروتئین سویا شده و سبب برهم زدن پیوندهای هیدروژنی می شود و زنجیره های پروتئینی با ایجاد فعل و انفعالات هیدروژنی جدید بین گروه های هیدروکسیل مولکول تانن و گروه های قطبی پروتئین و برهمکنش های آبریز ایجاد می کند (۶، ۷) و این امر سبب کاهش جذب مولکول های آب در ساختار فیلم شد. کاهش جذب آب فیلم ها، به احتمال زیاد ناشی از تشکیل پیوندهای متقاطع است که در نتیجه شبکه ای با وزن مولکولی بالاتر ایجاد می شود و در نتیجه جذب آب کاهش می یابد.

در فیلم های ایزوله پروتئین سویا، با افزایش عصاره حاوی تانن از ۰ به ۵ درصد وزنی میزان رطوبت تعادلی فیلم در فعالیت های آبی مختلف به تدریج کاهش یافت. نتایج مشابهی نیز توسط Girard و Cano گزارش شد که تانن ها باعث کاهش حلالیت فیلم های مبتنی بر ژلاتین و کازئین در آب گردید (۷، ۶). لازم به ذکر است غلظت های بالاتر تفاوت معنی داری در کاهش فعالیت آبی تیمارها نسبت به نمونه شاهد نشان داد ($p < 0.05$).

منحنی های ایزوترم جذب معادله گب بر اساس داده های تجربی برای فیلم های ایزوله پروتئین سویا در دمای 25°C درجه سانتی گراد در شکل ۲ و پارامترهای معادله گب در جدول ۲

ارائه شده است. رطوبت تعادلی فیلم ها به صورت خطی تا $aw < 0.53$ افزایش یافت و سپس روند صعودی تندتری در سطح aw بالاتر مشاهده شد. روند مشابهی در مطالعه قبلی در منحنی های ایزوترم جذب فیلم های ایزوله پروتئین سویا حاوی عصاره شیرین بیان مشاهده شده است (۱۴). همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، در تمام نمونه ها مدل دارای معیارهای برازش بالایی $R^2 > 0.92$ ، $E < 10\%$ ، پایین را نشان می دهند.

همان طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، تمام مدل ها کارایی بالایی $R^2 > 0.92$ و $E < 10\%$ در پیش بینی تغییرات جذب رطوبت تک لایه و اندازه گیری تعداد نقاط فعال در جذب آب در فیلم ها دارند.

نتایج نمودارهای جذب تعادلی نشان داد که افزایش غلظت عصاره حاوی تانن آکالیپتوس باعث کاهش جذب رطوبت فیلم های ایزوله پروتئین سویا شد. Blahovoc گزارش کرد در صورتی که پارامترهای ثابت معادله گب $K \geq 1$ و $C > 2$ باشد، آنگاه فیلم در طبقه بندی برونوئر-امت-تلر (BET) نوع مدل جذب تعادلی آن ماده از تیپ نوع II است. بنابراین این فیلم ایزوله پروتئین سویا حاوی تانن، طبق نوع دوم طبقه بندی برونوئر است. به دلیل وجود گروه های هیدروکسیل بیشتر در مولکول، ایزوله پروتئین سویا با پیوند هیدروژنی با آب برهمکنش داد. نتایج نشان می دهد که افزودن و تغییر غلظت تانن در کاهش جذب رطوبت تعادلی موثر است. این نتیجه با نتایج سایر محققین مطابقت داشت که با افزودن تانن به فیلم های بر پایه پروتئین، جذب رطوبت فیلم کاهش یافت (۱۵، ۷، ۶).

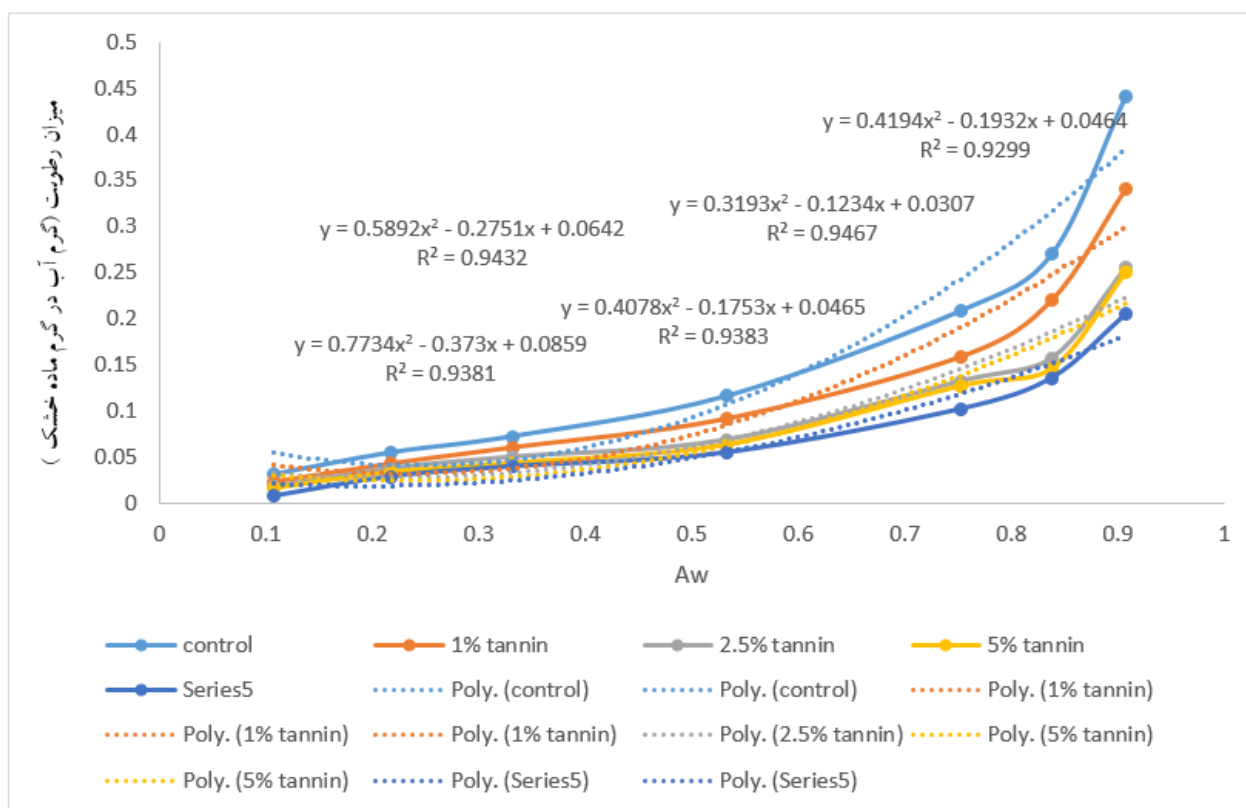
در فیلم های ایزوله پروتئین سویا، با افزایش عصاره حاوی تانن از ۰ به ۵ درصد وزنی، مقادیر vm از 0.066 گرم آب در گرم فیلم به 0.041 خشک گرم آب در گرم فیلم کاهش یافت. vm نشان دهنده مقدار آب تک لایه برای فیلم ها است در یک بایو کامپوزیت، مقادیر vm بیشتر به معنای وجود محل آب دوستی بالا و در نتیجه خاصیت آب دوستی بالا است. همانگونه که از نمودار ۲ نیز پیداست، افزودن عصاره حاوی تانن در فیلم های ایزوله پروتئین سویا منجر به جابجایی نمودار ایزوترم جذب به محتوای رطوبت پایین تر گردیده است که نشان دهنده انتقال به ساختاری با خاصیت آب دوستی کمتری می باشد این نتایج با مطالعات قبلی تطابق داشت (۱۶).

جدول ۱. ایزوترم جذب رطوبت فیلم ایزوله پروتئین سویا حاوی تانن در فعالیت‌های آبی مختلف

میزان رطوبت تعادلی فیلم (گرم آب در گرم ماده خشک)					
فعالیت آبی	کنترل	۱ درصد تانن	۲/۵ درصد تانن	۵ درصد تانن	
۰/۱۰۶	۰/۰۳۱	۰/۰۲۲	۰/۰۱۷	۰/۰۱۶	
۰/۲۱۷	۰/۰۵۵	۰/۰۴۲	۰/۰۳۷	۰/۰۳۴	
۰/۳۳۱	۰/۰۷۲	۰/۰۶۰	۰/۰۵۰	۰/۰۴۴	
۰/۵۳۲	۰/۱۱۶	۰/۰۹۱	۰/۰۶۸	۰/۰۶۳	
۰/۷۳	۰/۲۰۹	۰/۱۵۹	۰/۱۳۲	۰/۱۲۷	

جدول ۲. ثابت تعادل ایزوترم جذب رطوبت مدل (گب) فیلم ایزوله پروتئین سویا با تانن

درصد تانن	k	c1	(v _m) m0	R ²	E(%)
۰	۰/۹۳۳	۶/۸۲۸	۰/۰۶۷	۰/۹۹۳	۰/۰۱۹
۱	۰/۹۰۸	۵/۵۳۰	۰/۰۵۸	۰/۹۶۳	۰/۰۴۳
۲/۵	۰/۹۳۲	۵/۸۱۲	۰/۰۴۴	۰/۸۹۰	۰/۰۶۳
۵	۰/۹۲۰	۵/۷۹۰	۰/۰۴۱	۰/۹۲۱	۰/۰۵۴



شکل ۲. ایزوترم جذب رطوبت چند جمله‌ای مرتبه سوم ترکیبی در فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا با غلظت‌های مختلف تانن

نتیجه تجزیه و تحلیل PCA نشان دهنده آن است که فیلم‌هایی که کمترین ظرفیت جذب آب را دارند، دارای مقادیر بالاتری از عصاره حاوی تانن هستند، بنابراین استفاده از پارامترهای معادلات ایزوترم جذب آب انجام شده در فرمولاسیون فیلم، می‌تواند به تولید فیلم موفق و امکان کاربرد آن در بسته بندی فعال کمک کند. همبستگی قوی بین متغیرها نشان می‌دهد که تلاش برای کاهش ابعاد معنادار بوده و جداسازی یا دسته‌بندی الگو بین تیمارهای گوناگون به خوبی صورت پذیرفته است.

برهمکنش بین تانن‌ها و پروتئین‌ها شامل تشکیل پیوند هیدروژنی گسترده بین گروه‌های هیدروکسیل از تانن‌ها و گروه‌های آمیدی از پروتئین‌ها، همراه با برهم‌کنش‌های آبرگریز بین حلقه‌های معطر تانن‌ها با مناطق آبرگریز و سایر اسیدهای آمینه آبرگریز است. تعاملات مداوم بین سویا و تانن در طرح ۳B ساده شده است.

اثرات ضد کپکی فیلم‌ها

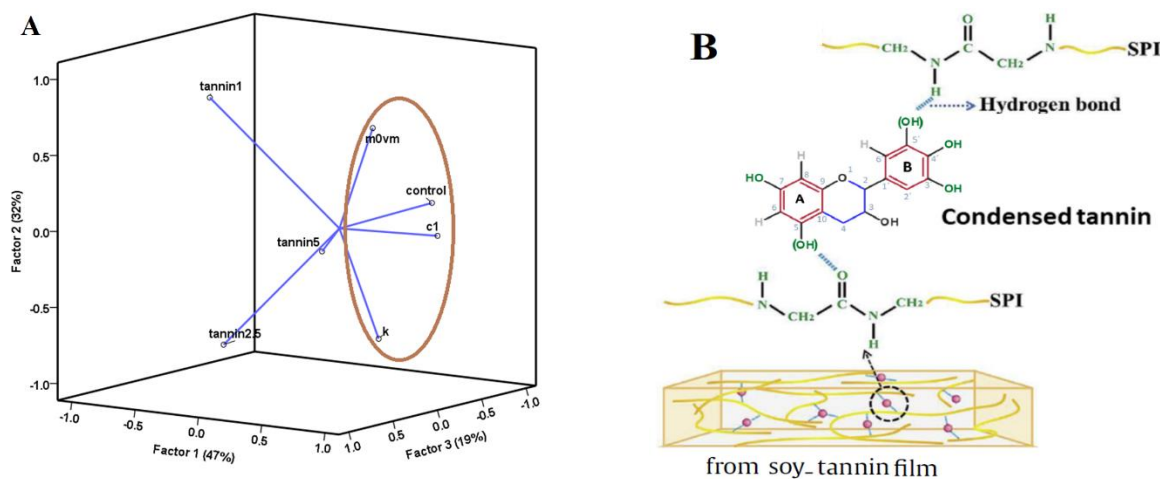
یک فیلم با خواص ضد میکروبی خوب می‌تواند غذا را از فساد میکروارگانیسم‌ها محافظت کند و نقش مهمی در افزایش ماندگاری مواد غذایی داشته باشد. تانن‌ها به عنوان ترکیبات مغذی گیاهی طبیعی شناخته شده دارای طیف وسیعی از خواص ضد میکروبی هستند (۱۹). نتایج فعالیت ضد کپکی فیلم‌های حاوی درصد‌های مختلف عصاره حاوی تانن در نمودار ۴A آورده شده است. اکثر فیلم‌های توانایی مهار رشد آسپریژیلوس نایجر را داشتند.

پارامتر C با گرمای جذب آب در ارتباط است. هر چه مقادیر C کمتر باشد، برهمکنش‌های جاذب-جاذب قوی‌تر است (۱۷). مقادیر C روند واضحی را با تغییرات در محتوای عصاره حاوی تانن نشان داد، کمترین مقدار C مربوط به فیلم کنترل بود. این نتایج نشان داد که برهمکنش رطوبت تک لایه بین آب و نقاط آبدوست پروتئین در فیلم شاهد بیشتر از فیلم‌های حاوی عصاره حاوی تانن بود.

در معادله گب پارامتر K یک پارامتر تأییدکننده ویژگی‌های مولکول‌های آب چند لایه است. C، K ثابت‌های جذب می‌باشند که به انرژی برهم‌کنش در جایگاه‌های جذب مولکول‌های مختلف می‌باشد.

افزایش مقدار K در فیلم‌ها در مقایسه با C نشان دهنده کاهش در انرژی جذب برای مقدار خالص از آب چند لایه است. علاوه بر این، K در همه فیلم‌ها کمتر از ۱ بود، که نشان می‌دهد که مقدار لایه آب چند لایه نسبت به آب خالص کمتر بود که مطابق با مقادیر گزارش شده در مطالعات دیگر بود (۱۶).

تجزیه و تحلیل اجزای اصلی (PCA) به منظور روشن کردن الگوهای تغییر پارامترهای معادله گب با تیمارهای مختلف فیلم‌های تولید شده انجام شد. PCA دارای مجموع واریانس قابل قبولی از متغیرها با مؤلفه‌های اصلی اول، دوم و سوم به ترتیب ۴۷، ۳۲ و ۱۷ درصد بود. نمودار پارامتر (شکل A ۳). مؤلفه‌های اصلی اول، دوم و سوم به خوبی ارتباط بین پارامترهای m_0 ، k ، c_1 (vm) و فرمولاسیون‌های مختلف را در فیلم‌ها مشخص کرد (شکل ۴). نتیجه با مطالعات قبلی مطابقت داشت، که در آن اثر متغیرها بر ایزوترم جذب رطوبت فیلم‌های امولسیون پروتئین آب پنیر با استفاده از مدل گب و تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی به خوبی پیش بینی گردید (۱۸).



شکل ۳. تجزیه و تحلیل اجزای اصلی (PCA) پارامترهای معادله گب با تیمارهای مختلف فیلم‌های خوراکی ایزوله پروتئین سویا حاوی تانن (A) و مدل مفهومی پیوند شیمیایی احتمالی بین SPI و تانن در فیلم‌های حاصل (B)

با فیلم‌های شاهد داشت ($p < 0.05$) (جدول ۴C). افزودن عصاره حاوی تانن به طور قابل توجهی قدرت DPPH رادیکال زدایی فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا را افزایش داد. تفاوت‌های موجود در قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها به دلیل غلظت‌های مختلف تانن است. فیلم مبتنی بر ایزوله پروتئین سویا بدون تانن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۶/۴۳ درصد) بود این مربوط به حضور بخش پپتیدی در پروتئین‌های سویا است که در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (۸). محتوای تانن بر حسب معادل میلی گرم اسید گالیک در لیتر در فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا حاوی درصد‌های مختلف ۱، ۲/۵ و ۵ درصد تعیین و نشان داد که افزایش غلظت عصاره حاوی تانن آکالیپتوس باعث کاهش جذب رطوبت فیلم‌ها می‌شود.

فیلم ایزوله پروتئین سویا، با افزودن ۱، ۲/۵ و ۵ درصد عصاره به ترتیب دارای ۲/۵۶، ۳/۹۳ و ۶/۳۶ معادل میلی گرم اسید گالیک در کیلوگرم تانن (پلی فنل) بودند. تانن می‌تواند رادیکال‌های آزاد را با یک یا چند مکانیسم کاهش دهد، بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان می‌دهد (۲۱). فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به ساختار پلی فنلی تانن‌ها است و می‌تواند از طریق مهاجرت (انتشار و تعادل) آنتی‌اکسیدان‌ها به محصولات غذایی، حذف رادیکال‌های آزاد و سایر گونه‌های واکنش پذیر توسط آنتی‌اکسیدان‌های غیر مهاجر با پیوند کووالانسی موجود در فیلم به دست آید و آزاد شدن آنتی‌اکسیدان‌های ناشی از انتقال بین هیدروژن و برهمکنش‌های الکترواستاتیکی به علت تغییرات محیطی است (۳-۱).

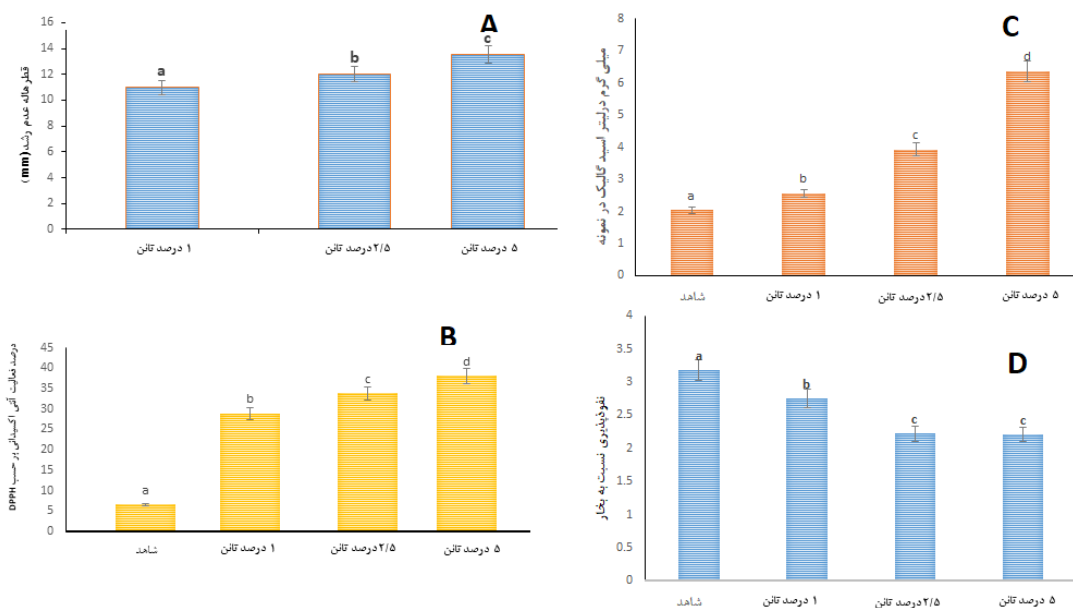
با افزودن عصاره حاوی تانن آکالیپتوس و غلظت آن فعالیت ضد کپک افزایش یافت به طوری که فیلم حاوی بالاترین غلظت عصاره حاوی تانن بیشترین توانایی را در مهار رشد کپک با قطر هاله عدم رشد ۱۳/۵ میلی متر نشان داد.

تانن‌ها با اختلال در عملکرد دیواره سلولی و غشای پلاسمایی، میتوکندری و سایر ترکیبات درون سلولی فعل و انفعال انجام داده و باعث نشت محتویات داخل سلولی به بیرون می‌شوند و می‌توان از آنها به منظور کنترل برخی از کپک‌ها استفاده کرد (۱۹).

Aguirre-Joya و همکاران فعالیت ضد کپکی فیلم‌های بر پایه پکتین حاوی درصد‌های مختلف عصاره حاوی پلی فنل‌های بوته قطران (*Larrea tridentata*) های را گزارش کرده است که در آن افزایش قابل توجهی در توانایی مهار رشد بوتریتیس، فوزاریوم و آلترناریا را از خود نشان دادند (۲۰).

بررسی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا

از بسته بندی فعال حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی برای اطمینان از پایداری و افزایش ماندگاری محصولات غذایی می‌توان استفاده کرد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا با استفاده از فعالیت مهار DPPH اندازه‌گیری شد (شکل ۴B). فعالیت مهار DPPH به طور قابل توجهی از ۶/۴۳ درصد در نمونه شاهد به ۵۶/۹۲ درصد در فیلم حاوی ۵ درصد عصاره حاوی تانن افزایش یافت ($p < 0.05$). فیلم حاوی ۵ درصد عصاره حاوی تانن بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه



شکل ۴. فعالیت ضد کپکی (A) فعالیت آنتی‌اکسیدانی (B)، محتوای تانن بر حسب معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم (C)، نفوذپذیری نسبت به بخار (D) فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا با غلظت‌های مختلف تانن. حروف مختلف نشانگر تفاوت معنی ($p < 0.05$) باشد.

بود، نفوذپذیری نسبت به بخار شروع به افزایش کرد. نتایج مشابهی درباره اثر تانن روی نفوذپذیری فیلم‌های خوراکی توسط تانن پوست بلوط (۲۲)، تانن والونا (۸) گزارش شده است. برهمکنش بین تانن‌های آکالیپتوس و ایزوله پروتئین سویا ممکن است بر مسیر انتشار تأثیر منفی بگذارد و تحرک پلیمرها را کاهش داده باشد، در نتیجه انتشار بخار آب از طریق فیلم را محدود کرده است (۸).

این مطالعه تأثیر عصاره حاوی تانن آکالیپتوس را بر ویژگی‌های فیلم ایزوله پروتئین سویا نشان داد. افزودن عصاره به فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا باعث بهبود خواص ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی فیلم شد. با افزایش غلظت عصاره ایزوترم جذب رطوبت فیلم ایزوله پروتئین سویا به سمت محتوای رطوبت پایین تر کاهش یافت که این به نوبه خود سبب کاهش جذب رطوبت توسط فیلم و توسعه و بهبود فیلم ایزوله پروتئین سویا برای افزایش دوره ماندگاری محصولات غذایی می‌شود. فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا حاوی عصاره تانن‌های آکالیپتوس دارای خواص آنتی‌اکسیدانی عالی بودند که تحت تأثیر مقدار تانن فیلم قرار گرفتند. هنگامی که فیلم ایزوله پروتئین سویا حاوی بیش از ۵ درصد عصاره بود، تأثیر قابل توجهی مثبتی در تغییر ایزوترم جذب رطوبت فیلم و سایر ویژگی‌های کاربردی نداشتند. زیرا غلظت بالای تانن‌ها ی آکالیپتوس می‌تواند تعاملات بین مولکولی را مختل کند. کارهای بیشتری باید در مورد سینتیک رهاسازی تانن آکالیپتوس از فیلم و برهمکنش بین تانن آکالیپتوس و محصولات بسته‌بندی شده با سایر فیلم‌های پروتئینی انجام شود.

همچنین بهبود قدرت کاهشی فیلم غنی از تانن را می‌توان به آهسته آزاد شدن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به دلیل ایجاد پیوندهای عرضی درون شبکه فیلم نسبت داد (۸). فعالیت آنتی‌اکسیدانی تانن‌های موجود در فیلم‌های در افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت محصولات غذایی مفید است. Wang و همکاران اثر تانن پوست بلوط بر خواص آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های پروتئینی سویا را گزارش کرده است که در آن افزایش قابل توجهی در مهار رادیکال به میزان ۵۵ درصد در ۱۰۰ گرم در کیلو گرم تانن پوست بلوط فیلم مخلوط نشان دادند. بهبود رهایش کنترل شده ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در فیلم را به برهمکنش پیوند هیدورژنی بین تانن پوست بلوط و سویا نسبت داده شد (۲۲). در مطالعه ای دیگر تأثیر تانن valonea بر فیلم پروتئینی سویا را بررسی کردند. تانن‌های والونا خواص آنتی‌اکسیدانی فیلم را بهبود بخشید. نتایج نشان داد که فیلم‌های ایزوله پروتئینی سویا پتانسیل بالایی در تولید بسته بندی فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسب دارند (۸).

نفوذپذیری نسبت به بخار

میزان نفوذپذیری نسبت به بخار فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا عصاره حاوی تانن‌های آکالیپتوس در مقادیر مختلف در شکل ۴D نشان داده شده است. از شکل می‌توان مشاهده کرد که مقادیر نفوذپذیری بخار آب فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا حاوی عصاره تانن‌های آکالیپتوس همگی کمتر از نمونه شاهد بودند. این نشان می‌دهد که افزودن عصاره حاوی تانن آکالیپتوس می‌تواند باعث بهبود ممانعت از نفوذ بخار آب شود. با افزودن بیشتر عصاره، زمانی که سطح آن بیش از ۵ درصد

References

- Mostafavi FS, Zaeim D. Agar-based edible films for food packaging applications-A review. *International journal of biological macromolecules*. 2020;159:1165-76.
- Erdem BG, Kaya S. Characterization and application of novel composite films based on soy protein isolate and sunflower oil produced using freeze drying method. *Food Chemistry*. 2022;366:130709.
- Chen H, Wang J, Cheng Y, Wang C, Liu H, Bian H, et al. Application of protein-based films and coatings for food packaging: A review. *Polymers*. 2019;11(12):2039.
- Koopmann A-K, Schuster C, Torres-Rodríguez J, Kain S, Pertl-Obermeyer H, Petutschnigg A, et al. Tannin-based hybrid materials and their applications: a review. *Molecules*. 2020;25(21):4910.
- Marsh KJ, Wallis IR, Kulheim C, Clark R, Nicolle D, Foley WJ, et al. New approaches to tannin analysis of leaves can be used to explain in vitro biological activities associated with herbivore defence. *New Phytologist*. 2020;225(1):488-98.
- Girard AL, Teferra T, Awika JM. Effects of condensed vs hydrolysable tannins on gluten film strength and stability. *Food Hydrocolloids*. 2019;89:36-43.
- Cano A, Andres M, Chiralt A, González-Martinez C. Use of tannins to enhance the functional properties of protein based films. *Food Hydrocolloids*. 2020;100:105443.
- Wang H, Wang L. Developing a bio-based packaging film from soya by-products incorporated with valonea tannin. *Journal of cleaner production*. 2017;143:624-33.
- Abdelkhalek A, Salem MZ, Kordy AM, Salem AZ, Behiry SI. Antiviral, antifungal, and insecticidal activities of Eucalyptus bark extract: HPLC analysis of polyphenolic compounds. *Microbial Pathogenesis*. 2020;147:104383.
- Nazreen AZ, Jai J, Ali SA, Mohamed Manshor N. Moisture adsorption isotherm model for edible food film packaging—a review. *Scientific Research Journal*. 2020;17(2):222-45.

11. Gökkaya Erdem B, Dıblan S, Kaya S. A comprehensive study on sorption, water barrier, and physicochemical properties of some protein-and carbohydrate-based edible films. *Food and Bioprocess Technology*. 2021;14(11):2161-79.
12. Asghari J, Mazaheritehrani M. Extraction of tannin from *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. and trimyrustin from *Myristica fragrans* Houtt. by using microwave irradiation. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2010;26(2):185-95.
13. Bertuzzi MA, Vidaurre EC, Armada M, Gottifredi J. Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of food engineering*. 2007;80(3):972-78.
14. Han Y, Yu M, Wang L. Preparation and characterization of antioxidant soy protein isolate films incorporating licorice residue extract. *Food Hydrocolloids*. 2018;75:13-21.
15. Picchio ML, Linck YG, Monti GA, Gugliotta LM, Minari RJ, Igarzabal CIA. Casein films crosslinked by tannic acid for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*. 2018;84:424-34.
16. Han Y, Yu M, Wang L. Soy protein isolate nanocomposites reinforced with nanocellulose isolated from licorice residue: Water sensitivity and mechanical strength. *Industrial Crops and Products*. 2018;117:252-59.
17. Hoque M, McDonagh C, Tiwari BK, Kerry JP, Pathania S. Effect of Cold Plasma Treatment on the Packaging Properties of Biopolymer-Based Films: A Review. *Applied Sciences*. 2022;12(3):1346.
18. Soazo M, Pérez LM, Rubiolo AC, Verdini RA. Effect of freezing on physical properties of whey protein emulsion films. *Food hydrocolloids*. 2013;31(2):256-63.
19. Zhu C, Lei M, Andargie M, Zeng J, Li J. Antifungal activity and mechanism of action of tannic acid against *Penicillium digitatum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2019;107:46-50.
20. Aguirre-Joya JA, Pastrana-Castro L, Nieto-Oropeza D, Ventura-Sobrevilla J, Rojas-Molina R, Aguilar CN. The physicochemical, antifungal and antioxidant properties of a mixed polyphenol based bioactive film. *Heliyon*. 2018;4(12):e00942.
21. Homayounpour P, Alizadeh Sani M, Shariatifar N. Application of nano-encapsulated *Allium sativum* L. essential oil to increase the shelf life of hamburger at refrigerated temperature with analysis of microbial and physical properties. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021;45(11):e15907.
22. Wang H, Hu D, Ma Q, Wang L. Physical and antioxidant properties of flexible soy protein isolate films by incorporating chestnut (*Castanea mollissima*) bur extracts. *LWT-Food Science and Technology*. 2016;71:33-39.

Investigating Physicochemical and Antifungal Characteristics of Soy Protein Isolate Edible Films with Eucalyptus Tannin

Arabameri M¹, Maghsoudlou Y^{2*}, Aalami M³, Shariatifar N⁴, Raeisi M⁵

1- Department Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- *Corresponding author: Prof, Department Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: y.maghsoudlou@gau.ac.ir

3- Associate Prof, Department Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

4- Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Food, Drug and Natural Products Health Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Received 10 Jun, 2023

Accepted 22 Aug, 2023

Background and Objective: The use of natural active compounds in edible films is a suitable approach for active packaging production. The objective of this study was to investigate physicochemical and antifungal characteristics of soy protein isolate edible films containing eucalyptus tannin extract.

Materials & Methods: Tannin extract was prepared from eucalyptus leaves and then added to soy protein isolate films in three concentrations of 1, 2.5 and 5%. The antifungal activity against *Aspergillus niger* was evaluated, along with the assessment of moisture sorption isotherms using Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB), model permeability to water vapor and antioxidant activity of the films by inhibiting DPPH free radicals.

Results: The fitted moisture absorption experimental data demonstrated that the GAB provided accurate predictions of moisture absorption isotherms with a good fit to the water activity ($R^2 > 0.92$). Based on the results of principal component analysis (PCA), three major components accounted for 96% of the variance of the physicochemical parameters. Antioxidant activity using the DPPH method increased significantly from 6.43 (in the control sample) to 56.92% (in the sample containing 5% tannin), while the vapor permeability decreased particularly at high loading contents of tannin, compared to the control films. Samples containing eucalyptus tannin included good antifungal activities against *Aspergillus niger* and increasing quantities of tannin in the samples led to significant increases in the inhibition of fungal activity ($p < 0.05$).

Conclusion: The use of natural additives such as eucalyptus tannin extract in biodegradable films can improve the functional performance of soy protein isolate film and help to increase the shelf life of food products due to their antifungal and antioxidant characteristics.

Keywords: Edible film, Physicochemical characteristics, Antifungal; Soy protein, Tannin