

تولید و بررسی ویژگی های فیلم های بر پایه ی پروتئین ارزن حاوی اسانس دارچین

مریم نجفی^۱، سعیده شجاعی علی آبادی^۲، لیلا میرمقتدایی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و علوم صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: saeedeh.shojaee@gmail.com

۳- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: le_mirmoghtadaie@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۷/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۶/۱۲

چکیده

سابقه و هدف: در سال های اخیر استفاده از فیلم‌های خوراکی در صنایع بسته‌بندی به علت زیست تخریب پذیر بودن و سازگاری با محیط زیست، رشد چشمگیری داشته است. در این مطالعه فیلم بر پایه‌ی پروتئین ارزن حاوی غلظت های متفاوت از اسانس دارچین تهیه و ویژگی‌های مختلف آن اندازه‌گیری می شود.

مواد و روش‌ها: فیلم‌های پروتئین ارزن حاوی غلظت های ۷/۷٪، ۱/۵، ۲، ۱، به روش پخش مرطوب محلول فیلم ساز، تهیه و ویژگی‌های فیزیکی و سدکنندگی فیلم‌های بدست آمده مورد اندازه‌گیری قرار می گیرد. علاوه بر این ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها شامل قدرت کشش و افزایش طول تا نقطه شکست نمونه های فیلم توسط دستگاه دستگاه بافت سنج تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که افزودن اسانس به محلول فیلم ساز منجر به کاهش حلالیت از ۶۲/۳۹ درصد به ۵۵/۲۸ درصد و کاهش رطوبت از ۱۰/۶۶ به ۷/۲۵٪ و اصلاح ویژگی نفوذپذیری به بخار آب گردد. مقاومت کششی فیلم با افزودن اسانس دارچین تا غلظت ۱/۵٪ افزایش، اما در غلظت ۲٪ کاهش یافت. بررسی فعالیت ضد کپکی فیلم‌های حاوی اسانس علیه کپک *Aspergillus niger* توسط روش دیسک دیفوزیون (تماس مستقیم و فاز گازی) نشان‌دهنده افزایش اثر بازدارندگی فیلم حاوی اسانس در تماس مستقیم با افزایش غلظت اسانس بود.

نتیجه‌گیری: فیلم بر پایه‌ی پروتئین ارزن حاوی ۲٪ اسانس دارچین، می‌تواند پتانسیل خوبی برای استفاده در کاربردهایی مانند پوشش کیک داشته باشد که در مطالعات بعدی مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

واژگان کلیدی: پروتئین ارزن، اسانس دارچین، فیلم، ویژگی‌های ضد قارچی، ویژگی‌های مکانیکی

پیام‌های اصلی

- امکان تشکیل فیلم با استفاده از محلول ۵٪ پروتئین ارزن وجود دارد.
- افزودن اسانس دارچین به محلول فیلم ساز پروتئین ارزن، منجر به کاهش حلالیت و رطوبت و اصلاح ویژگی نفوذپذیری به بخار آب می‌گردد.
- فیلم بر پایه ی پروتئین ارزن حاوی اسانس دارچین، اثر بازدارندگی روی رشد کپک *Aspergillus niger* نشان داد که این اثر با افزایش غلظت اسانس افزایش می یابد.

● مقدمه

در سال های اخیر توجه به بسته بندی فعال در تولید مواد غذایی افزایش یافته است (۱). یکی از موادی که در تشکیل فیلم های خوراکی به کار می رود پروتئین ها می باشد. پتانسیل فیلم سازی پروتئین ها ناشی از ویژگی های ذاتی آنها است که به مقادیر ترکیبات آمینواسیدها و جایگزینی آنها در میان زنجیره های پروتئینی، سایز مولکول ها، توزیع بار، نقطه ی ایزوالکتریک و شکل شبکه ی سه بعدی وابسته است (۲،۳). نتایج تحقیقات نشان می دهد که به طور کلی فیلم های بر پایه ی پروتئین خصوصیات ممانعتی بهتری در مقابل چربی، اکسیژن و عطر و طعم در رطوبت نسبی پائین دارند (۴). جهت تشکیل فیلم، ساختار درهم رفته ی پروتئین می بایست توسط گرما یا حلال ها و بازها، باز شود. بعد از باز شدن، زنجیره ها توسط پیوندهای هیدروژنی، یونی، هیدروژنی و کوالانت به هم می پیوندند که باعث تشکیل فیلم پایدار می شود که میزان چسبندگی آن به درجه ی کشش و گسترش زنجیره ها، ماهیت و توالی آمینواسیدهای ترسیب شده، توزیع گروه های آبگریز، قطبی، پیوندهای دی سولفیدی بستگی داشته و همچنین بر انعطاف پذیری فیلم و نفوذ پذیری به آب و گازها و محلول ها تاثیر می گذارد. این پلیمر که توسط پیوندهای یونی و هیدروژنی به هم می پیوندند به عنوان سدکننده های عالی اکسیژن استفاده می شود اما نقطه ضعف آنها حساسیت به رطوبت است (۵). به دلیل مقاومت ضعیف به بخار آب و قدرت مکانیکی ضعیف تر فیلم های پروتئینی، کاربردشان در بسته بندی غذا محدود شده است و اصلاح این فیلم ها باعث می تواند باعث افزایش کاربرد آنها در صنعت شود (۶). در این راستا Meshkan و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی امکان تولید فیلم خوراکی از ایزوله پروتئین نخود و تعیین اثر غلظت ایزوله پروتئین نخود و غلظت پلاستیسایزر روی برخی ویژگی های فیلم خوراکی پرداختند. نتایج نشان داد که درصد پلاستیسایزر در محدوده مورد مطالعه اثر معنی داری روی نفوذ پذیری به بخار آب دارد. همچنین افزایش غلظت پروتئین باعث افزایش میزان نفوذ پذیری نسبت به بخار آب شد (۷). در مطالعه دیگری Ameri Shahrabi و همکاران در سال ۲۰۱۳ به تهیه ی ایزوله پروتئین از آرد چربی گرفته نخود بوسیله استخراج قلیایی و ترسیب اسیدی استخراج پرداختند. نتایج نشان داد که افزایش غلظت گلیسرول موجب افزایش میزان انتقال بخار آب، میزان کشش، میزان اختلاف رنگ، ضخامت و کدورت و کاهش قدرت کششی فیلم های

پروتئینی می شود. افزایش غلظت پروتئین باعث افزایش مقاومت کششی، کدورت و میزان اختلاف رنگ فیلم ها گردید ولی میزان انتقال بخار آب و میزان کشش فیلم ها را کاهش داد (۸).

برای افزایش ویژگی های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی فیلم ها می توان از ترکیبات حاوی مواد موثره مانند اسانس ها استفاده کرد. با توجه به تعداد ترکیبات شیمیایی در اسانس گیاهان، نمی توان مکانیسم واحدی برای اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی آنها در نظر گرفت. ویژگی آب گریزی اسانس ها موجب نفوذ این مواد به لپیدهای غشائی سلول میکروبی و میتوکندری ها می شود و سبب اختلال در ساختمان آنها و ایجاد نفوذ پذیری بیشتر سلول می شود. این مسئله موجب خروج و نشت یون ها و دیگر محتویات سلولی و مرگ سلول می شود (۹). در این راستا، Hoque و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی ویژگی های فیلم های ژلاتینی حاوی اسانس دارچین، میخک و عصاره ی بادیان رومی پرداختند که به دوصورت هیدرولیز جزئی ۱/۲ درصد و بدون هیدرولیز بدست آمد. فیلم های حاوی اسانس در مقایسه با نمونه ی شاهد دارای خواص ضد میکروبی و ضد قارچی بیشتری بودند (۱۰).

هدف از مطالعه ی حاضر، بررسی اثر افزودن اسانس دارچین بر ویژگی های و ویژگی های فیلم های به دست آمده از پروتئین ارزن است که در ۳ غلظت ۱، ۱/۵، ۲٪ به فیلم افزوده می گردند.

● مواد و روش ها

مواد

دانه ی ارزن از موسسه ی اصلاح بذر و نهال جهاد کشاورزی کرج تهیه شد و سدیم هیدروکسید، کلریدریک اسید، گلیسرول، توئین ۸۰، نیترات منیزوم، سدیم کلرید، کلسیم کلرید از شرکت مرک آلمان و اسانس دارچین خالص از شرکت زردبند استخراج و فرآوری کننده مواد موثره گیاهان دارویی تهیه شد. سوش کپک *Aspergillus niger* (PTCC5011) از موسسه ی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. محیط کشت های پپتون واتر، سابورود دکستروز آگار Sabourraud Dextrose Agar ۴% و Potato Dextrose Agar از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

روش ها

استخراج پروتئین ارزن

استخراج پروتئین ارزن مطابق با روش استخراج قلیایی با کمی اصلاحات توسط سود و اسید ۱ نرمال و در pH ایزوالکتریک ۴/۸ توسط صورت گرفت. نمونه های پروتئین تهیه شده در ظرف درب دار درون زیپ کیپ در یخچال نگهداری شدند (۱۱).

تهیه فیلم های بر پایه ی پروتئین ارزن حاوی اسانس دارچین

تهیه ی فیلم بر پایه ی پروتئین ارزن به روش پخش مرطوب محلول فیلم ساز مطابق با روش سرمدی زاده و همکاران در سال ۲۰۱۰ و Park و همکاران در سال ۲۰۰۷ با انجام کمی اصلاحات صورت گرفت (۱۲، ۱۳). به طور خلاصه ۵ گرم از پروتئین ارزن به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و جهت حل شدن کامل پروتئین PH محلول توسط سود ۱ نرمال به ۹٫۵ رسانده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط هم زده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه دمای محلول در دمای ۸۵ درجه ی سلسیوس نگهداری تا پروتئین جهت تشکیل فیلم دناتوره شود. در ۱۵ دقیقه ی آخر گلیسرول به عنوان پلاستیسایزر به میزان ۴۰٪ اضافه شد. برای تهیه فیلم های دارای اسانس بعد از گلیسرول از امولسیفایر تونین ۸۰ استفاده شد. سپس برای تهیه فیلم های حاوی به ترتیب ۱، ۱/۵ و ۲ درصد حجمی -حجمی اسانس، اسانس دارچین اضافه و به مدت ۳ دقیقه محلول در mixer مخلوط و سپس به همزنایزر منتقل و به مدت ۳٫۵ دقیقه هم در این قسمت همزده شد.

ضخامت فیلم ها

ضخامت فیلم ها با میکرومتر (ریزنسج) تعیین گردید. اندازه گیری ها در ۱۰ نقطه مختلف در هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین قدرت کششی، نفوذپذیری به بخار آب و کدورت استفاده گردید (۱۳).

اندازه گیری حلالیت فیلم ها در آب

نمونه های فیلم در ابعاد ۳×۱cm بریده شده و پس از تعیین وزن اولیه، نمونه ها درون ۵۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفته و تحت شرایط ثابت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تحت همزدن ملایم به مدت ۶ ساعت قرار گرفت. محلول حاصله توسط کاغذ صافی که قبلا به وزن ثابت رسیده و توزین شده بود صاف گردید. درصد حلالیت فیلم در آب از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۴).

$$100 \times \frac{\text{وزن ماده خشک پس از غوطه وری} - \text{وزن ماده خشک}}{\text{وزن ماده خشک اولیه موجود در فیلم}} = \text{درصد حلالیت}$$

اندازه گیری میزان نفوذپذیری فیلم ها در برابر بخار آب

میزان نفوذپذیری فیلم ها به بخار آب با استفاده از روش شماره E96 مصوب به ASTM تعیین گردید (ASTM، ۱۹۹۵) (۱۵). نمونه فیلم روی ظروف شیشه ای با مساحت دهانه ۰/۰۰۲۸۷ متر مربع حاوی کلرید کلسیم بدون آب قرار داده شد و با کمک پارافین مایع دربندی شد و در درون دسیکاتور حاوی آب نمک اشباع (رطوبت نسبی ۷۵٪) و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. تغییرات وزن ظروف طی زمان ثبت شده نمودار تغییرات وزن ظروف نسبت به زمان رسم می گردد. با تقسیم شیب خط حاصله بر سطح فیلم مورد بررسی، نرخ انتقال بخار آب بدست می آید. سپس ضخامت فیلم ها اندازه گیری و میزان نفوذپذیری بخار آب توسط معادله زیر محاسبه گردید:

$$\text{ضخامت فیلم} \times \text{نرخ انتقال بخار آب} = \text{نرخ انتقال بخار آب} / (\text{اختلاف فشار موجود در دو سمت فیلم} / \text{تفاضل مساحت دیسک دیفیوژن (تماس مستقیم)})$$

بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم ها (روش دیسک دیفیوژن (تماس مستقیم))

فعالیت ضد میکروبی فیلم های خوراکی در حالت تماس مستقیم بصورت کمی با استفاده از روش آگار دیسک دیفیوژن (Solid Disc Diffusion Method) تعیین شد. هر آزمون با سه تکرار انجام شد (۱۶).

روش تبخیر از روی دیسک (فاز گازی)

روش تبخیر از روی دیسک (Vapor Disc Diffusion Method) مطابق روش Lopez و همکاران (۲۰۲۵) برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم ها در فاز گازی استفاده شد (۱۷). بطور خلاصه، کشت سطحی با استفاده از ۵۰ میکرولیتر کشت مایع محتوی تقریباً ۱۰^۶ CFU/ml از کپک مورد آزمایش بر محیط کشت سابورود دکستروز آگار انجام شد. دیسکهایی با قطر ۱۰ میلیمتر از فیلم تهیه، تحت شرایط اسپتیک روی سطح داخلی در پلیت قرار داده شد (بدون تماس مستقیم با سطح محیط کشت). پس از دربندی پلیت ها با پارافیلیم برای جلوگیری از نشت بخارات اسانسها، در در دمای ۲۵ C° به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. کل قطر هاله ایجاد شده به عنوان منطقه بازداری در نظر گرفته شد.

اندازه گیری ویژگی های مکانیکی فیلم

ویژگی های مکانیکی فیلم ها شامل قدرت کشش (مگاپاسکال) و افزایش طول تا نقطه شکست (٪) نمونه های فیلم توسط دستگاه دستگاه بافت سنج (M350-10CT ساخت کشور انگلیس) طبق روش شماره D882 مصوب ASTM

معنی دار نفوذپذیری به بخار آب نسبت به فیلم شاهد گردید ($p < 0/05$).

ویژگی های مکانیکی فیلم های امولسیونه

همچنان که از جدول ۲ بر می آید افزودن اسانس دارچین تا سطح ۱,۵٪ باعث افزایش مقاومت کششی فیلم گردید، این افزایش نسبت به فیلم شاهد معنی دار نبود اما نسبت به سایر تیمارها معنی دار بود. سطح ۲٪ فیلم حاوی اسانس دارچین منجر به کاهش معنی دار مقاومت فیلم نسبت به فیلم شاهد شد. فیلم دارچین ۱,۵٪ با مقاومت کششی ۰,۳۲۳۲ مگا پاسگال دارای بالاترین مقاومت کششی بود. مقادیر افزایش طول تا نقطه ی شکست با مقادیر مقاومت کششی رابطه ی عکس داشت به طوری که هر جا که مقاومت بالاترین بود، افزایش طول تا نقطه ی شکست آن کمترین بود. میزان کش آمدگی فیلم حاوی دارچین ۱٪ و ۱/۵ (۲۴/۸۵٪ و ۲۶/۶۴٪) دارای مقادیر کمتری نسبت به سایر تیمارها بود و این کاهش در سطح اطمینان ۰/۰۵ معنی دار بود.

ویژگی های ضد میکروبی فیلم های امولسیونه

همچنان که از جدول ۳ مشخص است بررسی فعالیت ضد کپکی فیلم های امولسیونه حاصله به دو روش تماس مستقیم و فاز گازی بر کپک *آسپرژیلوس نایجر* نشان داد که فیلم برپایه ی پروتئین ارزن فاقد اسانس (شاهد) فاقد فعالیت ضد کپکی بود، اما رشد کپک *آسپرژیلوس نایجر* در حضور اسانس دارچین (۱,۵٪، ۱٪ و ۰,۲٪) بازدارنده شد ($p < 0/05$). افزایش درصد اسانس دارچین میزان بازدارنده را افزایش داد به طوری که اسانس دارچین ۲٪ بیشترین میزان بازدارندگی را داشت و این افزایش بازدارنده رشد به طور معنی داری با سایر تیمارها تفاوت داشت. بازدارنده از رشد کپک توسط هاله ایجاد شده اطراف برش دیسک مشخص گردید. بطور کلی اثر بازدارنده اسانسها در تماس مستقیم بیشتر از فاز گازی بود. اسانس دارچین ۲٪ در فاز گازی نیز بالاترین قدرت بازدارندگی را داشت و این افزایش با سایر تیمارها اختلاف معنی دار داشت.

تعیین گردید (ASTM, ۲۰۰۱) (۱۵). تمام برش های (۱۰ × ۱/۵ سانتیمتر مربع) نمونه های مورد آزمایش قبلاً در دمای ۲۵°C و رطوبت نسبی ۵۳٪ به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شده بودند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵ سانتی متر و سرعت حرکت فک ها ۵۰ میلیمتر بر دقیقه انتخاب شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصله با نرم افزار SPSS انجام پذیرفت. به منظور مقایسه میانگین ها به دست آمده از آزمایش های شیمیایی و میکروبی از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده گردید.

• یافته ها

ویژگی های فیزیکی (مقدار رطوبت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب) فیلم ها

ویژگی های فیزیکی فیلم شاهد و فیلم های دارای اسانس دارچین شامل ضخامت، مقدار رطوبت، درصد حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب در جدول ۱ آمده است. با افزودن اسانس دارچین و افزایش درصد اسانس به فیلم شاهد ضخامت فیلم افزایش داشت، اما این اختلاف معنی دار نبود. افزودن اسانس دارچین به فیلم شاهد منجر به کاهش رطوبت فیلم شد و رطوبت فیلم شاهد در حضور اسانس دارچین بصورت معنی داری کاهش نشان داد ($p < 0/05$). اختلاف معنی داری در درصد حلالیت در آب فیلم های امولسیونه دارای اسانس دارچین نسبت به فیلم شاهد مشاهده شد ($p < 0/05$). با افزودن اسانس و افزایش درصد اسانس میزان حلالیت فیلم در آب کاهش داشت ($p < 0/05$). در فیلم های حاوی اسانس دارچین در هر غلظت در کاهش حلالیت تفاوت معنی دار نبود ($p < 0/05$). وجود اسانس در همه غلظت ها نفوذپذیری فیلم ها نسبت به بخار آب را در مقایسه با فیلم شاهد تحت تاثیر قرار داده اند. افزودن اسانس دارچین ۱٪ منجر به افزایش معنی دار نفوذپذیری به بخار آب شد اما افزایش غلظت اسانس تا ۲٪ منجر به کاهش

جدول ۱. ویژگی های فیزیکی فیلم شاهد و فیلم های دارای اسانس دارچین

نوع فیلم	ضخامت (میلیمتر)	مقدار رطوبت (%)	حلالیت در آب (%)	نفوذپذیری به بخار آب گرم بر ثانیه متر پاسکال $\times 10^{-10}$
شاهد	۰/۱۶ ± ۰/۰۰۶ ^a	۱۰/۶۶ ± ۲/۵۳ ^d	۶۲/۳۹ ± ۱/۰۳ ^c	۳/۵۹ ± ۰/۱۳ ^{ab}
دارچین ۱٪	۰/۲۰ ± ۰/۰۰۱ ^b	۸/۲۷۷ ± ۱/۰۶ ^c	۵۷/۲۳ ± ۱/۳۸ ^a	۵/۴۴ ± ۰/۱۳ ^c
دارچین ۱,۵٪	۰/۲۰ ± ۰/۰۰۳ ^b	۷/۲۷۸ ± ۱/۳۷ ^{ab}	۵۶/۰۵ ± ۰/۷۱ ^{bc}	۴/۱۶ ± ۰/۰۷ ^b
دارچین ۲٪	۰/۲۱ ± ۰/۰۰۴ ^{bc}	۷/۲۵۹ ± ۱/۴ ^{ab}	۵۵/۲۸ ± ۱/۲۸ ^b	۲/۹۸ ± ۰/۱۲ ^a

انحراف استاندارد ± میانگین^a

مقادیر با حروف متفاوت بر اساس آزمون دانکن در سطح ($P < 0/05$) در هر ستون بایکدیگر اختلاف معنی دارند.

جدول ۲. ویژگی‌های مکانیکی فیلم شاهد و فیلم‌های دارای اسانس دارچین

نوع فیلم	افزایش طول (%)	مقاومت کششی (مگاپاسکال)
شاهد	۴۰/۷۳±۵/۱۰۷ ^b	۰/۲۸۸۵±۰/۰۲۹ ^c
دارچین ۱٪	۲۶/۶۴±۶/۶۰۵ ^a	۰/۳۰۳۳±۰/۰۵۴ ^c
دارچین ۱.۵٪	۲۴/۸۵±۴/۸۸۲ ^a	۰/۳۲۳۲±۰/۱۹ ^c
دارچین ۲٪	۵۶/۰۱۲±۵/۴۹ ^c	۰/۱۵۴۸±۰/۰۲۹ ^a

انحراف استاندارد ± میانگین

مقادیر با حروف متفاوت بر اساس آزمون دانکن در سطح (p < ۰/۰۵) در هر ستون بایکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند

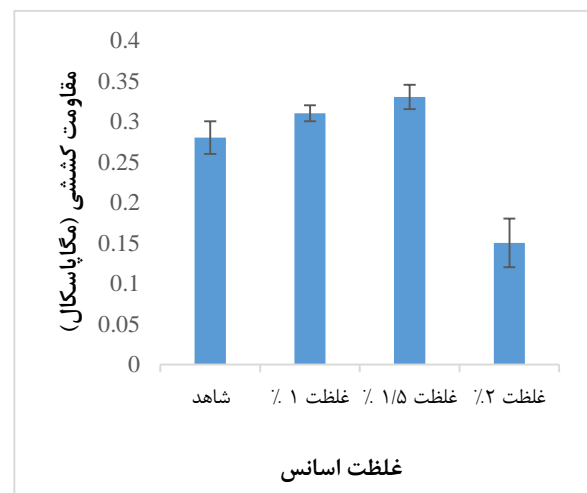
جدول ۳. فعالیت ضد کپکی فیلم‌های بر پایه‌ی پروتئین ارزن حاوی اسانس دارچین با دو روش تماس مستقیم و فاز گازی

<i>Aspergillus Niger</i>		فیلم
تماس مستقیم	تماس غیر مستقیم	
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	شاهد
۴۶۷/۶۵±۶۴/۱۰ ^b	۱۳۷/۹۶±۵/۵۳ ^b	دارچین ۱٪
۶۰۱/۵۸±۷/۳۰ ^c	۳۸۳/۴۲±۸/۳۳ ^c	دارچین ۱.۵٪
۸۷۹/۰۴±۲/۸۲ ^d	۴۶۵/۴۷±۰/۶۹ ^d	دارچین ۲٪

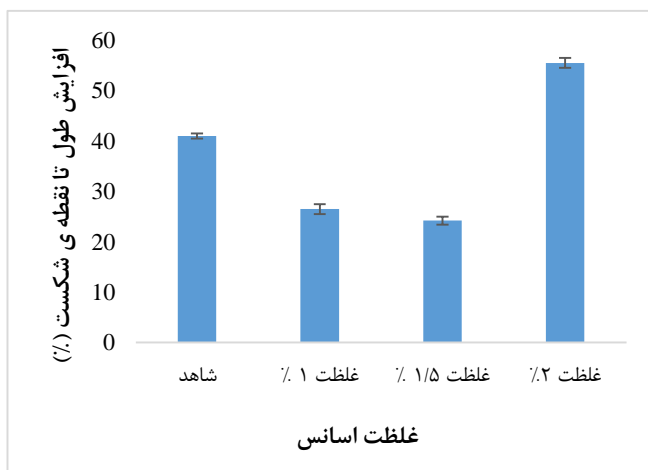
انحراف استاندارد ± میانگین

مقادیر با حروف متفاوت بر اساس آزمون دانکن در سطح (p < ۰/۰۵) در هر ستون بایکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند

الف



ب



نمودار ۱. مقایسه‌ی مقاومت کششی (الف) و افزایش طول فیلم (ب) تهیه شده از پروتئین ارزن حاوی اسانس دارچین

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعاقبی دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪

می باشد)

• بحث

آزمایشهای اولیه به منظور دستیابی به فیلم مناسب

بر پایه پروتئین ارزن

ابتدا مطالعات اولیه به منظور تعیین مقادیر مناسب پروتئین و نرم کننده در ساخت فیلمها انجام شد. برای این منظور فیلمهای خوراکی با غلظت های ۳٪ و ۵٪ پروتئین (مقادیر مورد استفاده در مقالات) با مقادیر گلیسرول ۲۵٪، ۴۰٪ و ۵۰٪ وزن پروتئین تهیه شدند. غلظت ۵٪ به عنوان غلظت مناسب پروتئین در تهیه سایر فیلمهای مورد بررسی در این پژوهش انتخاب گردید. در مورد فیلمهای دارای اسانس نیز لازم بود غلظت مناسب اسانس تعیین گردد. بر پایه بررسی های میکروبی (روش دیسک دیفیوژیون) و ارگانولپتیکی سه غلظت مختلف ۱، ۲ و ۳٪ حجمی/حجمی از اسانس های دارچین انتخاب گردید. تعیین ویژگی های فیزیکی و شیمیایی فیلم های

تولید شده

ضخامت فیلم های تولید شده

فیلم های خشک شده به راحتی از پایه جدا شدند، سطح آنها صاف بوده و هیچگونه ترک یا حباب هوا در آنها مشاهده نگردید. ضخامت فیلم شاهد (فاقد اسانس) ۰/۱۶ میلی متر بود (جدول ۱) که با افزودن اسانس و متناسب با غلظت آنها ضخامت افزایش یافت، بگونه ای که در مورد بیشترین ضخامت مربوط به فیلم های دارای ۲٪ اسانس بود. افزایش ضخامت فیلم ها در حضور اسانس احتمالاً بعلافت افزایش میزان مواد جامد موجود در آنها است. البته نحوه قرارگیری مولکول های اسانس و توئین ۸۰ در فیلم نیز در افزایش ضخامت مؤثر است. سالاریاشی در سال ۲۰۱۳ نیز به این نتیجه رسید که افزودن غلظت ۲ و ۳٪ اسانس آویشن به فیلم پروتئینی تهیه شده از پروتئین سویا باعث افزایش ضخامت فیلم می شود (۱۸).

میزان رطوبت و حلالیت در آب فیلم های امولسیونه

جدول ۱ میزان رطوبت فیلم ها را که پس از به تعادل رسیدن آنها در رطوبت نسبی ۵۳٪ (دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم اشباع) تعیین گردید، نشان می دهد. افزودن ۲٪ اسانس دارچین سبب کاهش معنی داری در میزان رطوبت فیلم ها گردید ($p < 0/05$). ماهیت هیدروفوب اسانس ها منجر به کاهش پیوند بین مولکولی آب و گروه های آب دوست شده و منجر به کاهش جذب رطوبت فیلم می گردد. حسینی و همکاران در سال ۲۰۰۹ در زمینه ی فیلم کیتوزان حاوی اسانس دارچین، میخک و آویشن به نتایج مشابه دست یافتند (۱۹).

قابلیت انحلال در آب، یکی از ویژگی های مهم مورد مطالعه در فیلم های خوراکی است. هرچه حلالیت بیشتر باشد، مقاومت

به آب کمتر است (۲۰). جدول ۱ درصد حلالیت فیلم شاهد و فیلم های امولسیونه را در آب نشان می دهد. فیلم های پروتئینی بعد از ۲۴ ساعت غوطه وری در آب ساختار کلی خود را حفظ کرده بودند. با افزودن اسانس و افزایش درصد اسانس میزان حلالیت فیلم در آب کاهش داشت. علت کاهش میزان حلالیت فیلم های امولسیونه را می توان به ماهیت آب گریز اسانسهای مورد استفاده نسبت داد که سبب کاهش نسبت بخش آب دوست به آب گریز فیلم می شود. همچنین برهمکنش میان ترکیبات اسانسه ها و گروه های هیدروکسیل پلیمر را نیز باید در نظر داشت زیرا وجود این برهمکنش ها خود منجر به کاهش دسترسی مولکول های آب به گروه های هیدروکسیل شده و لذا تولید فیلم های مقاوم تر به آب را سبب می شود. نتایج مشابهی توسط S Pries C و همکاران در سال ۲۰۱۳ (۲۱) و Galus و همکاران در سال ۲۰۱۶ (۲۲) گزارش شده است.

میزان نفوذپذیری فیلم های امولسیونه نسبت به بخار آب

بایوپلیمرها به مقدار زیادی مستعد جذب آب هستند. به همین دلیل اندازه گیری میزان نفوذپذیری به بخار آب یکی از خصوصیات محصول محسوب می شود. در رابطه با مواد غذایی هرچقدر این شاخص کمتر باشد بهتر است زیرا میان رطوبت محصول در طی دوره ی نگهداری تغییر نیافته، فساد میکروبی و شیمیایی در آن ایجاد نمی شود (۲۳).

جدول ۱ مقادیر نفوذپذیری به بخار آب فیلم های شاهد و امولسیونه بر پایه ی پروتئین ارزن را نشان میدهد. میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم شاهد $10^{-10} \times 3/59$ گرم بر ثانیه متر پاسکال بود. افزودن اسانس دارچین ۱٪ منجر به افزایش معنی دار نفوذپذیری به بخار آب شد اما افزایش غلظت اسانس تا ۲٪ منجر به کاهش معنی دار نفوذپذیری به بخار آب نسبت به فیلم شاهد شد ($p < 0/05$). همانگونه که از جدول مشخص است افزودن ۲٪ اسانس دارچین، میزان نفوذپذیری به بخار آب را به $10^{-10} \times 2/98$ گرم بر ثانیه متر پاسکال رساند که بیانگر کارایی بالای افزودن اسانس در بازدارندگی نفوذ بخار آب می باشد (۱۲). با افزایش غلظت اسانس، میزان مقاومت به نفوذ رطوبت نیز افزایش نشان داد. علت این پدیده را می توان به ماهیت آبگریزی اسانس دارچین نسبت داد که سبب کاهش تمایل مولکولهای آب به فیلم می شود. علت آن میتواند این باشد که وجود اسانس در ماتریکس فیلم منجر به کاهش نیروی پیوستگی مولکولی (Cohesion forces) شبکه پلیمر و کاهش انسجام ساختار فیلم و لذا افزایش نفوذپذیری به بخار آب می شود (۲۴، ۲۵). در مطالعه ای که Atares و همکاران انجام دادند دیدند که افزودن اسانس دارچین در مقدار کم نفوذ پذیری به بخار آب را کاهش می دهد (۲۶).

تعیین ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های امولسیونه

یکی از ویژگی‌های مهم فیلم‌های خوراکی خواص مکانیکی آنها است که دانستن اطلاعات کمی در مورد پارامترهای مکانیکی (مقاومت کششی و درصد افزایش طول) فیلم‌های خوراکی جهت طراحی فرایند بسته‌بندی و پیش بینی توانایی آنها در حفظ یکپارچگی خود در طول استفاده بعنوان بسته‌بندی بسیار مهم است (۲۷). مقاومت کششی، مقاومت فیلم به تنش و درصد افزایش طول، کشش پذیری فیلم و انعطاف پذیری فیلم را نشان می‌دهند (۲۰). فیلم‌های خوراکی نسبت به پلیمرهای سنتزی دارای مقاومت کمتری هستند.

اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های دارچین بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های بر پایه پروتئین ارزن در جدول ۲ آمده است. فیلم بدون اسانس دارای مقاومت کششی برابر ۰/۲۸۸ مگاپاسکال بود.

حضور قطرات اسانس در ماتریکس فیلم بر مقاومت کششی و درصد افزایش طول اثر داشت. افزودن اسانس دارچین تا سطح ۱/۵٪ باعث افزایش مقاومت کششی فیلم گردید، این افزایش نسبت به فیلم شاهد معنی‌دار نبود اما نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار بود. سطح ۲٪ فیلم حاوی اسانس دارچین منجر به کاهش معنی‌دار مقاومت فیلم نسبت به فیلم شاهد شد (۲۸). فیلم دارچین ۱/۵٪ با مقاومت کششی ۰/۳۲۳۲ مگا پاسکال دارای بالاترین مقاومت کششی بود.

کاهش مقاومت کششی فیلم پروتئینی ارزن در حضور اسانس احتمالاً ناشی از برهمکنش فیلم با ترکیبات اسانس‌ها است که خود بعلاوه ویژگی‌های الکترولیت آن است (۲۹). رخ دادن برهمکنش‌های ضعیف میان پلیمر قطبی و اسانس غیر قطبی سبب کاهش تعداد برهمکنش‌های قوی تر میان زنجیره‌های پلیمر می‌شود (۳۰). البته در این مطالعه تلقیح دارچین در سطح ۱/۵٪ منجر به افزایش مقاومت کششی فیلم گردید که وابسته به ویژگی اسانس دارچین و ظرفیت آن برای واکنش با ماتریکس پروتئین است. روغن دارچین منجر به یک با آرایش جدید در ساختار فیلم شده با تشکیل پیوندهای قطبی با پروتئین بویژه گروه‌های آمینی آن انسجام شبکه را بیشتر کرده

باشد، ولی در غلظت ۲٪ دارچین به دلیل اثر پلاستیسایزری که روی فیلم داشت منجر به کاهش مقاومت کششی شد. نتایج مشابهی توسط Fabra و همکاران در سال ۲۰۰۹ به دست آمد (۲۵).

مقادیر افزایش طول تا نقطه شکست با مقادیر مقاومت کششی رابطه‌ی عکس نشان داد به طوری که هر جا که مقاومت بالاترین بود، افزایش طول تا نقطه شکست آن کمترین بود. میزان کش آمدگی فیلم حاوی دارچین ۱ و ۱/۵٪ دارای مقادیر کمتری نسبت به سایر تیمارها بود و این کاهش در سطح اطمینان ۰/۰۵ معنی‌دار بود. در مطالعه‌ی دیگری دیده شد که فیلم تهیه شده از پروتئین آب پنیر همراه اسانس میخک نسبت به فیلم شاهد دارای مقاومت کمتری هستند. آنها به این نتیجه رسیدند افزودن اسانس بیشتر باعث نرم شدن بیشتر فیلم و افزایش طول تا نقطه شکست می‌شود (۳۱).

ویژگی‌های ضد کپکی فیلم‌های امولسیونه

فعالیت ضد کپکی فیلم‌های پروتئینی ارزن دارای اسانسهای دارچین در تماس مستقیم و فاز گازی بر کپک اسپرژیلوس نایجر به روش دیسک دیفوزیون بررسی شد (جدول ۱). فیلم برپایه‌ی پروتئین ارزن بدون اسانس بعنوان شاهد بکار رفت تا هر گونه فعالیت ضد میکروبی فیلم بدون اسانس تعیین شود. فیلم شاهد هیچگونه اثر بازداری بر کپک مورد مطالعه نشان نداد. نتایج نشان داد که در روش تماس مستقیم تمام فیلم‌های دارای اسانس دارچین توانستند از رشد کپک مورد مطالعه بازداری کنند. همچنانکه انتظار می‌رفت فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها در غلظت‌های بالاتر اسانس تقویت شد بگونه‌ای که بزرگترین هاله‌ی بازداری در غلظتهای ۲٪ هر دو نوع اسانس دیده شد ($p < 0/05$). بطور کلی اثر بازداری اسانسها در تماس مستقیم بیشتر از فازگازی بود. اسانس دارچین ۲٪ در فاز گازی نیز بالاترین قدرت بازداری را داشت و این افزایش با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت. نتایج این مطالعه با داده‌های به دست آمده از تحقیق Avila-Sosa و همکاران در سال ۲۰۱۲ همخوانی دارد (۳۲).

References

- Shen, XL, Wu JM, Chen Y, et al. Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloid* 2010; 24: 285–290.
- Embuscado, ME and Huber, KC. *Edible films and coatings for food applications*. Springer, New York. 2009.
- Rhim, JW and Ng, PKW. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Rev Food Sci Nutr* 2007; 47: 411-33.
- Bamdad, F, Goli, AH, Kadivar, M. Preparation and characterization of proteinous film from lentil (*Lens culinaris*) edible film from lentil. *Food Res Int* 2006; 39: 106–111.

5. Mihalca V, Kerezsi AD, Weber A, Gruber-Traub C, Schmucker J, Vodnar DC, Dulf FV, Socaci SA, Fărcaș A, Mureșan CI, Suharoschi R. Protein-based films and coatings for food industry applications. *Polym* 2021; 13: 769 [Internet].
6. Wittaya, T. Protein based edible films: Characteristics and improvement of properties. Springer, Thailand. 2012.
7. Meshkani, SM, Mortazavi, SA, Milani, E, Bakhshi Moghadam, F. Effect of physical properties and optimized formulation of edible film with using from chickpea protein isolated (*Cicerarietinum L.*). *JFST* 2012; 36 (9):109-117.
8. Ameri Shahrabi, A , Badii, F, Maftoonazad, N, Ehsani, MR. Evaluating the properties of edible pea protein-based films using response surface methodology *JFST* 2013; 38:89-101 .
9. BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 223-253.
10. Sazedul Hoque, MD, Benjakul, S, Prodpran, T. Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. *Food Hydrocolloid* 2010; 25(5): 1-13.
11. Kamara Mohamed, T, Zhu, K, Issoufou, A, Fatmat , T, Zhou, H. Functionality, in vitro digestibility and physicochemical properties of two varieties of defatted foxtail millet protein concentrates. *Int J Mol Sci* 2009; 10: 5224-5238.
12. Sarmadizadeh D, Badii F, Ehsani MR, Maftoonazad N, Goodarzi F. Effects of soy-protein isolate coating on the properties of French fries using response surface methodology *JFST*. 2010; 6: 75-86.
13. Cho, Y S, Park, J W, Batt, H T, Thomas, R L. Edible films made from processed soy protein concentrates. *LWT* 2007; 40:418- 423.
14. Sothornvit R, Hong S, DJ, Rhim JW. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films *LWT* 2010; 43: 279–284.
15. ASTM D882. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Annual Book of ASTM, American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA. 2001.
16. Kamaliroosta L, Ghavami M, Gharachorloo M, Azizinezhad., R. Isolation of cinnamon extract and assessing its effect on the stability of sunflower oil. *Iran J Nutr Sci Food Tech* 2010; 6 (1):13-22.
17. Lopes AI, Melo A, Afonso TB, Silva S, Barros L, Tavarira FK, Pintado M. Alginate edible films containing essential oils: characterization and bioactive potential *Polym* 2025;17(9):1188.
18. Salarbashi D, Tajik S, Ghasemlou M, Shojaee-Aliabadi S, Shahidi Noghahi M, Khaksar R. Characterization of soluble soybean polysaccharide film incorporated essential oil intended for food packaging. *Carbohydr Polym* 2013; 98 (1):1127-36.
19. Hosseini M, Razavi S, Mousavi M. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *J Food Process Preserv* 2009; 33 (6):727-43.
20. Chana-Thaworn, J, Chanthachum, S, and Wittaya, T. Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract *LWT* 2011; 44: 284-92
21. Pires C, Ramos C, Teixeira B, Batista I, Nunes ML, Marques A. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloid* 2013; 30 (1):224-31.
22. Galus S, Kadzińska J. Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. *Food Hydrocolloid* 2016; 52:78-86.
23. Pereda M, Amica G, Marcovich NE. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polym* 2012; 87(2):1318-25.
24. Ghamari MA, Amiri S, Rezazadeh-Bari M, Rezazad-Bari L. Physical, mechanical, and antimicrobial properties of active edible film based on milk proteins incorporated with *Nigella sativa* essential oil *Polym Bull* 2022; 79(2):1097-117.
25. Fabra, M J, Jimenez, A, Atarés, L, Talens, P, Chiralt, A. Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. *Biomacromol* 2009; 10: 1500–1507.
26. Atarés, L, Bonilla, J, Chiralt A. Characterization of sodium caseinate based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils *J Food Eng* 2010; 100:678–687.
27. Shah YA, Bhatia S, Al-Harrasi A, Afzaal M, Saeed F, Anwer MK, Khan MR, Jawad M, Akram N, Faisal Z. Mechanical properties of protein-based food packaging materials. *Polymers*. 2023 Mar 30;15(7):1724.
28. Cheng J, Velez FJ, Singh P, Cui L. Fabrication, characterization, and application of pea protein-based edible film enhanced by oregano essential oil (OEO) micro- or nano-emulsion. *Cur Res Food Sci* 2024;1(8):100705.
29. Bourtoom, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. *Int Food Res J*. 2008; 15: 1-12.
30. Tao R, Sedman J, Ismail A. Characterization and in vitro antimicrobial study of soy protein isolate films incorporating carvacrol *Food Hydrocolloid* 2022;122:107091.
31. Ervandi M, Indrianti MA, Suparwata DO, Yasin IA, Gobel YA, Mokoolang S, Mokoginta MM. Mechanical properties of whey composite edible film with the addition of clove essential oil and different types of plasticizer. In *IOP conference series: Earth and environmental science* 2021; 755(1): 012004.
32. Avila-Sosa, R, Palou, E, Munguía, MT, Nevárez-Moorillón, GV, Cruz, AR, López-Malo A. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Int J Food Microbiol* 2012; 1;153: 66-72.

Production and Investigation of Millet Protein-Based Edible Film Containing Cinnamon Essential Oil

Najafi M¹, Shojaee- Aliabadi S^{2*}, Mirmoghtadaie L^{3*}

1- *MSC student, Dept. of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

2- **Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: S_Shojaee@sbmu.ac.ir*

3- **Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: le_mirmoghtadaie@yahoo.com*

Received 2 Sep, 2025

Accepted 12 Oct, 2025

Background and Objectives: In recent years, the use of edible films in the packaging industry has grown significantly due to their biodegradability and environmental compatibility. In this study, millet protein based films containing different concentrations of cinnamon essential oil were prepared and their various properties were measured.

Materials & Methods: Millet protein films containing concentrations of 1, 1.5, and 2% v/v were prepared by wet dispersion of the film-forming solution, and the physical and barrier properties of the obtained films were measured. In addition, the mechanical properties of the films, including tensile strength and elongation to break were determined by a texture analyzer.

Results: The results showed that adding essential oil to the film-forming solution led to a decrease in solubility from 62.39% to 55.28% and a decrease in moisture content from 10.66 to 7.25%, and improved water vapor permeability. The tensile strength of the film increased with the addition of cinnamon essential oil up to 1.5%, but decreased at 2% concentration. The investigation of the anti-mold activity of the films containing essential oil against *Aspergillus niger* by the disk diffusion method (direct contact and gas phase) showed an increase in the inhibitory effect of the film containing essential oil in direct contact with increasing essential oil concentration.

Conclusion: The film based on millet protein containing 2% cinnamon essential oil can have good potential for use in applications such as cake coating, which will be investigated in future studies.

Keywords: Millet protein, Film, Antifungal properties, Cinnamon essential oil, Mechanical properties