

مجله علوم و صنایع غذایی ایران



سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مکانیکی فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا حاوی اسانس گیاه کاکوتی

ساناز رزم^۱، اسماعیل عطای صالحی^{۲*}، اکرم آریان فر^۲، وحید حکیم زاده^۲

^۱ - دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

^۲ - گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۹	امروزه تولید فیلمهای خوراکی و زیست تخریب پذیر یکی از تکنولوژیهای رو به رشد در جوامع پیشرفته است. کاربرد این پوششها به دلیل جایگزینی با مواد پلیمری و افزایش مدت زمان انبار مانی ماده غذایی می باشد. هدف اصلی این پژوهش تولید یک فیلم خوراکی از ایزوله پروتئین سویا (۳ تا ۷ درصد)، گلیسرول (۱ تا ۳ درصد) و اسانس کاکوتی (۰ تا ۱ درصد) به منظور ایجاد طعم بهتر و نیز خصوصیات ضد میکروبی بود. پس از تهیه فیلم ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و مکانیکی این فیلم (ضخامت، دانسیته، حلالیت در آب و اسید، نفوذپذیری به بخار آب، شفافیت، تغییرات رنگ، درصد ازدیاد طول و مقاومت کششی) مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از انجام آزمونهای فوق و بررسی تاثیرات متغیرهای مستقل بر روی متغیرهای وابسته، فرمولاسیون فیلم خوراکی بهینه سازی شد. نتایج نشان داد با استفاده از ۳/۵۴ درصد ایزوله پروتئین سویا، ۱ درصد گلیسرول و ۱ درصد اسانس کاکوتی در سطح مطلوبیت ۰/۶۲۴ می توان به فرمول بهینه دست یافت.
کلمات کلیدی: ایزوله پروتئین، فیلم خوراکی، پوشش، سویا	
DOI:10.22034/FSCT.21.153.43. * مسئول مکاتبات:	

۱-مقدمه

پروتئین سویا مخلوطی از پروتئینهای کروی شکل است. تقریباً ۹۰ درصد پروتئینهای سویا در چهار دسته ۲S، ۷S، ۱۱S و ۱۵S تقسیم می شوند که این تقسیم بندی براساس وزن مولکولی و ضریب رسوب^۱ است. دو پروتئین عمده کروی شامل بتاگونگلاپنین (گلوبولین ۷S) و گلاپسینین (گلوبولین ۱۱S) است که به ترتیب ۳۷ و ۳۱ درصد پروتئینهای سویا هستند [۶].

پوششهای بسته بندی با منشا طبیعی به تنهایی در نگهداری طولانی مدت قادر به کنترل تغییرات نام برده شده نیستند. بنابراین در صنعت مواد غذایی از یکسری افزودنیهای ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی استفاده می شود ولی اکثر این افزودنیهای شیمیایی اثرات سمی و سرطانزایی به همراه دارند. بنابراین امروزه سعی شده است افزودنیهای طبیعی جایگزین افزودنیهای شیمیایی شود [۷].

کاکوتی *Ziziphora clinopodioides*، یک گیاه خوشبو است که در خاورمیانه رشد می کند، به طور سنتی برای نگهداری انواع مختلف غذاها در طول نگهداری استفاده می شود. مخصوصاً ماست، گوشت چرخ کرده، روغن کره و ترشی. این ماده دارای فعالیت های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی گسترده ای است بدون اینکه تأثیر منفی بر خواص ارگانولپتیک فیله های قزل آلائی رنگین کمان، گوشت چرخ کرده گاو و سوسیس های تازه داشته باشد [۸].

محققین در سالهای اخیر تحسقات جدیدی بر روی پوششهای خوراکی انجام داده اند از جمله بسته های خوراکی ساخته شده از پروتئین ژلاتین حاوی عصاره چای سبز پوشش سوسیس تازه فیلم های حاوی عصاره چای سبز اکسیداسیون لیپیدی سوسیس تازه پوشیده شده با این فیلم را به تاخیر انداختند [۹].

محققین دیگری طی پژوهشی بر روی نشاسته سیب زمینی شیرین اصلاح شده و اسانس زیره سبز بر روی گلابی تازه

بسته بندی خوراکی به عنوان جایگزینی امیدوارکننده برای بسته بندی های معمولی در نظر گرفته می شود، زیرا دو برابر محیط زیست تلقی می شود؛ هنگامی که به عنوان بسته بندی مواد غذایی استفاده می شود، ضایعات تولید نمی کند و هنگامی که دور ریخته می شود، به سرعت تجزیه می شود [۱]. بسته بندی خوراکی را می توان فعال و یا هوشمند نامید. که این بسته بندی می تواند با غذاها تعامل داشته باشد و عملکردهای فناورانه ای مانند انتشار ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی برای افزایش ماندگاری محصول و حذف گازها و بخار آب که می تواند کیفیت، ارزش غذایی و حفظ مواد غذایی را کاهش دهد، ارائه دهد [۲]. یکی از امکانات این فناوری افزودن ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، جلوگیری از ایجاد طعم های ناخواسته توسط میکروارگانیسم ها و حتی چسبیدن آنها به سیستم است [۳]. پوشش های زیست تخریب پذیر را می توان از انواع مواد طبیعی مانند لیپیدها، پلی ساکاریدها و پروتئین ها تهیه نمود. این پوشش ها علاوه بر اینکه می توانند ارزش غذایی ماده غذایی را بالا ببرند، به واسطه طبیعی بودنشان به راحتی در طبیعت تجزیه و سازگار با محیط زیست نیز می باشند و می توان آنها را از منابع مختلف تجدیدپذیر و نیز ضایعات کشاورزی و جانوری تهیه کرد. فیلمهای پروتئینی خصوصیات ممانعتی بهتری در مقابل چربی و اکسیژن در رطوبت نسبی پایین دارند، به طور گسترده تری برای تهیه فیلم های خوراکی استفاده می شوند [۴].

اصولاً تولید فیلم خوراکی تنها با استفاده از یک نوع پلیمر، ویژگی های مطلوبی را در برخی زمینه ها از خود نشان می دهد ولی در بعضی زمینه ها نیز دچار ضعف خواهد بود. یکی از راه های بهبود ویژگی های فیلم خوراکی، ترکیب بیوپلیمرها و تولید بیوفیلم های مرکب است [۵].

نشان دادند که استفاده از پوشش خوراکی تغییرات رنگ، سفتی و تخریب کلروفیل و کاهش ضایعات پوسیدگی ناشی از باکتری آلترناریا را نشان داد، علاوه بر آن باعث تاخیر در تنفس، کاهش افت وزن میوه و بهبود کیفیت حسی شد [۱۰].

۲- مواد و روش‌ها

دانه سویا از شرکت تک سویای نیشابور تهیه شده سپس توسط آسیاب صنعتی آسیاب گردید و توسط الک با مش ۵۰ غربال شد تا پودر آرد یکنواختی جهت استخراج بهتر پروتئین حاصل شود. برای حذف چربی حلالان - هگزان به میزان ۵ به ۱ آرد مورد نیاز بود. مخلوط به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه مخلوط شد تا چربی درون آرد توسط هگزان شستشو شود. پس از این مرحله مخلوط سانتریفیوژ شده و رسوبات برای مرحله بعد استفاده شد. به میزان ۱ به ۱۰ آرد بدست آمده از مرحله قبل با آب مقطر مخلوط شده و همزمان سیرکوله شده و توسط سود یک نرمال، pH مخلوط را به ۱۰/۵ رساندیم. سپس مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده و مایع روی فالدکون ها را درون بشر ریخته و محلول قلیایی حاصل از مرحله قبل توسط اسیدکلریدریک ۱ نرمال به pH ۴/۸ (نقطه ایزوالکتریک پروتئین دانه سویا) رساندیم. سپس محلول شیری رنگ در ۷۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع شفاف رویی فالدکونها دور ریخته شد. رسوبات حاصل از مرحله قبل توسط آب مقطر و سود ۰/۱ نرمال به pH خنثی رسانیده و در هر مرحله آنرا در ۷۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده و مایع رویی در هر دو مرحله دور ریخته شد. جهت به دست آوردن ایزوله با کیفیت بالا نمونه ها توسط فریز درایر ساخت شرکت مارتین کریست آلمان خشک گردید و تا زمان استفاده در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتیگراد قرار داده شد. برای تعیین خلوص پروتئین از دستگاه کجلدال استفاده شد، خلوص ایزوله پروتئینی در این مرحله ۹۲/۸ درصد اندازه گیری شد. برای تهیه فیلم خوراکی، درصدهای مختلف پروتئین (۳ تا ۷ درصد)، گلیسرول (۱ تا ۳ درصد) و اسانس کاکوتی (۱ تا ۱ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. جهت انحلال کامل ترکیبات به مدت ۱ دقیقه مخلوط را هم زده و سپس توسط

سود ۰/۱ نرمال، pH محلول را به ۱۰/۵ رسانده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد بر روی حمام آبی که بر روی استیرر قرار دارد آنرا همزمان حرارت داده و مخلوط گشت. برای تهیه فیلم حاوی اسانس پس از پایان این مرحله اسانس را بلافاصله به محلول داغ اضافه هموژن شد. قالبهای حاوی محلول فیلم به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا فیلمها تشکیل شوند [۱۱].

۳-۳- آزمونها

۳-۳-۱- اندازه گیری ضخامت فیلم

ضخامت فیلمهای تولید شده در پنج نقطه مختلف هر فیلم توسط یک میکرومتر با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه گیری شد و از آنها میانگین گیری شد [۱۲].

۳-۳-۲- اندازه گیری دانسیته فیلم

برای اندازه گیری دانسیته قطعات فیلم در ابعاد ۴×۱ سانتی متر توسط کولیس با دقت ۰/۱ میلیمتر اندازه گیری و بریده شد و پس از اندازه گیری ضخامت میانگین توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه گیری شد. از تقسیم جرم بر حجم قطعه فیلم بریده شده می توان دانسیته فیلم را اندازه گیری کرد [۱۳].

$$\rho = \frac{m}{V}$$

۳-۳-۳- درصد مواد محلول در آب و اسید

در این آزمون از هر نمونه دو قطعه دایره ای شکل به قطر ۴ سانتیمتر جدا شد و پس از توزین به مدت ۲۴ ساعت در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر، اسید کلریدریک ۱ نرمال نرمال قرار گرفت و در این مدت بر روی دستگاه شیکر با سرعت پایین قرار داده شد و بعد از این مدت فیلم را از آب خارج کرده و پس از خشک شدن در آون ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت دوباره توزین شدند و با محاسبه اختلاف وزن درصد حلالیت فیلم در آب و اسید به دست آمد [۱۴].

۳-۳-۴- نفوذپذیری به بخار آب

که قطعاتی از فیلم در ابعاد 0.9×4 سانتی متر از فیلم بریده شد و داخل سل اسپکتروفتومتر و در یکی از دو دیواره شفاف سل ثابت گشت و بر طبق بررسی منابع جهت مقایسه، سل دیگر اسپکتروفتومتر خالی درون اسپکتروفتومتر قرار گرفت تا مقایسه بین شفاف ترین ماده (سل خالی هیچ جذب نوری ندارد و جذب آن تقریباً برابر با صفر است) و فیلمهای تولید شده انجام گیرد [۱۵].

۳-۳-۶- اندازه گیری رنگ

برای اندازه گیری رنگ، از دستگاه هانتر لب استفاده شد. قطر داخلی سل دستگاه هانتر لب توسط کوئیس اندازه گیری شده (4.52 میلی متر) و نمونه های فیلم به صورت دایره هایی به همان قطر بریده شد. ابتدا دستگاه با کاشی سفید و سپس با کاشی سیاه کالیبر شد و نمونه های فیلم به طوریکه کف سل هانتر کاملاً توسط آن پوشانده شود، روی آن قرار داده شد. آزمون در ۶ تکرار انجام شد و نتایج آن به صورت میانگین بیان گردید. شاخصهای L^* شاخص استاندارد شفافیت، a^* شاخص استاندارد سبزی و قرمزی، b^* شاخص استاندارد زردی و آبی بودن و فاکتورهای L ، a و b مربوط به نمونه های آزمون بود [۱۶].

۳-۳-۷- آزمون مکانیکی

برای انجام آزمون مکانیکی از دستگاه تکستچر استفاده شد. بدین منظور قطعاتی از فیلم در ابعاد 2×9 سانتی متر از فیلم تهیه شده و جهت مشروط شدن به مدت ۲۴ ساعت در دسیکاتور حاوی کلرید سدیم اشباع با رطوبت نسبی ۷۵ درصد قرار گرفت. سپس قطعات فیلم در داخل فک های دستگاه بسته شد. فاصله بین دوفک قبل از آزمون ۴ سانتی متر بود. فک بالا با سرعت ۴۰ میلی متر بر دقیقه شروع به فاصله گرفتن کرد. در لحظه پاره شدن فیلم آزمون پایان یافت. مقاومت کششی از طریق فرمول ۳-۴-۱ محاسبه شد [۱۷].

اندازه گیری نفوذپذیری به بخار آب بر اساس استاندارد ASTM E96 (ASTM 2002) انجام گرفت. بدین صورت که محلول فوق اشباع کلرید سدیم درون دسیکاتور ریخته شد و شیشه های کوچکی با قطر $1/35$ سنتی متر انتخاب و درون آنها مقدار ۳ گرم کلرید کلسیم بدون آب ریخته شد و سطح شیشه ها توسط نمونه های فیلم و بوسیله گیره و کش بسته شد. کلرید کلسیم رطوبت نسبی داخل شیشه را که توسط فیلم بسته شده است را صفر درصد می نماید. پس از وزن کردن تمامی نمونه ها آنها را داخل دسیکاتور حاوی نمک کلرید سدیم فوق اشباع قرار می دهیم که در دمای آزمایشگاه رطوبتی معادل ۷۵ درصد ایجاد می نماید [ای اس تی ام].

تغییرات وزن نمونه ها با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت 0.0001 گرم اندازه گیری شده و نمودار تغییرات وزن بر حسب زمان رسم می شود تا شیب خط حاصل جهت انجام محاسبات مورد استفاده قرار گیرد.

آهنگ انتقال بخار از طریق فرمول ۳-۱ محاسبه شد.

فرمول ۱- آهنگ انتقال بخار آب

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

WVT : آهنگ انتقال بخار آب ($g/m^2.s$)

A : سطح مقطع شیشه ها (m^2)

G/t : شیب خط میانگین تغییرات وزن در مدت زمان آزمون

برای اندازه گیری میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب از فرمول ۳-۲ استفاده شد.

فرمول ۲- نفوذپذیری به بخار آب

$$WVP = \frac{WVT}{P(R_1 - R_2)} \cdot X$$

WVP : میزان نفوذپذیری به بخار آب ($g/m.pa.s$)

P : فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد

(Pa

X : ضخامت فیلم (m

R₁ : میزان رطوبت داخل دسیکاتور (۷۵ درصد)

R₂ : میزان رطوبت فضای داخل شیشه ها (۰ درصد)

۳-۳-۵- شفافیت

برای اندازه گیری شفافیت فیلمهای تهیه شده از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. روش آزمون بدین صورت بود

افزایش و با افزایش از یک حد بحرانی منجر به کاهش ضخامت نمونه های فیلم گردید ($P < 0.05$).

فرمول کششی

$$TS = \frac{\text{Maximum load}}{\text{Original minimum section area}} = \frac{F}{A}$$

TS : مقاومت کششی بر حسب مگا پاسکال (MPa)

F : حداکثر نیروی لازم برای پاره شدن فیلم (N)

A : مساحت فیلم درگیر شده در فک دستگاه (m^2)

درصد ازدیاد طول تا پارگی نیز از فرمول ۳-۵ محاسبه گردید.

فرمول ۴- درصد ازدیاد طول تا پارگی

$$\%E = \frac{\text{Extension at moment of rupture}}{\text{Initial gage length}} = \frac{\Delta L}{L}$$

L: مقدار ازدیاد طول تا لحظه پارگی

L: مقدار طول اولیه فیلم (فاصله بین دو فک دستگاه)

۳-۴- بهینه سازی و تجزیه و تحلیل آماری

۳-۴-۳- روند انجام بهینه سازی توسط روش RSM

برای انجام طرح آماری و آنالیز نتایج حاصل از آزمون از نرم افزار Design Expert ورژن 7.0.0 استفاده شد. در این تحقیق از طرح مرکب مرکزی با سه متغیر مستقل در سه سطح و شش تکرار (حول نقطه مرکزی) به منظور بهینه سازی فزاینده مذکور استفاده شد. پس از وارد کردن نتایج حاصل از پاسخها در داخل نرم افزار، برازش داده ها به کمک مدل وابسته به درجه دوم انجام گرفت و نتایج حاصل از آنالیز واریانس و نمودارهای اثرات همزمان دو متغیر مربوطه به صورت سه بعدی ترسیم گشت. پس از مشخص کردن اهداف فرایند، بهینه سازی با استفاده از تکنیک بهینه سازی عددی انجام گرفت [۱۸].

۳- نتایج و بحث

۳-۱-۱- آزمون ضخامت

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، افزایش غلظت پروتئین منجر به افزایش ضخامت نمونه های فیلم گردید. از سوی دیگر تاثیر افزایش غلظت گلیسرول و اسانس کاکوتی تا غلظتهای متوسط (در دامنه بکار رفته) به طور مشابهی سبب

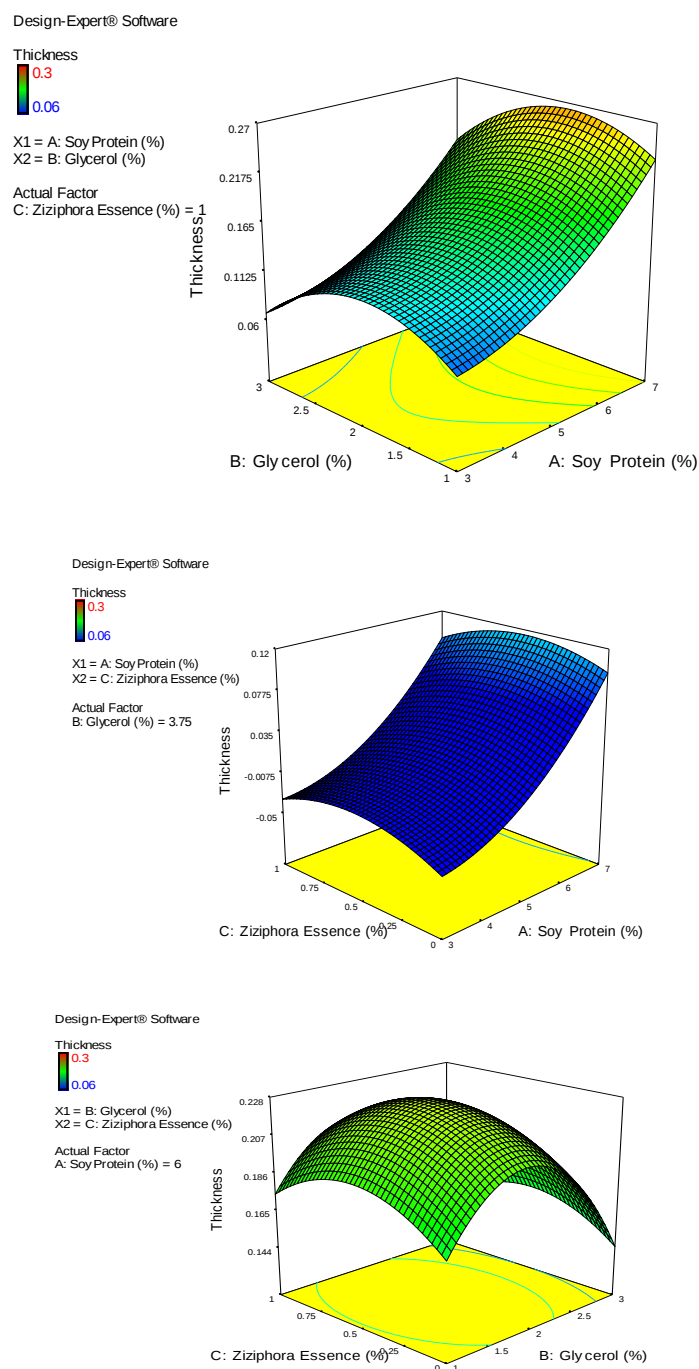


Figure 1- Showing a three-dimensional diagram of the simultaneous effect of independent variables on the density of films

درصد، ضخامت فیلم از ۰/۰۵۲۶ میلی متر به ۰/۸۳۶ میلی متر رسید که مشابه ضخامتهای اندازه گیری شده در تحقیقات ما بود و نتایج نیز مشابه نتایج ما اعلام شد که افزایش درصد ایزوله پروتئین سویا در غلظت ثابت گلیسرول اثر معنی داری ($P < 0.05$) بر روی افزایش ضخامت فیلم تولیدی داشت.

کوکوسزاکا و همکاران (۲۰۰۹) طی بررسی تاثیر درصد ایزوله پروتئین سویا بر روی ضخامت فیلم تولید به این نتیجه رسیدند که با افزایش درصد ایزوله پروتئین از ۶ درصد به ۹

همچنین در غلظت ثابت پروتئین با افزایش درصد گلیسرول کاهش کمی در ضخامت فیلمها مشاهده کردند ولی تاثیر آن بر ضخامت معنی دار نبود ($P < 0.05$) که نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج پژوهش حاضر تشابه داشت [۱۹].

همچنین نتایج ما مشابه نتایج او و همکاران (۲۰۰۵) بود که بر روی افزایش اسید فرولیک بر خصوصیات فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا پرداختند. در این تحقیق ضخامت فیلمهای تولیدی در رنج بین ۶۵ تا ۸۰ میکرومتر بود [۲۰].

گونگا و همکاران (۲۰۰۷) طی مطالعه ای بر روی فیلمهای خوراکی تهیه شده از ایزوله وی پروتئین ها به این نتیجه دست یافتند که افزایش درصد ایزوله پروتئین بر روی

ضخامت فیلم تهیه شده اثر معنی دار ($P < 0.05$) دارد. اما ضخامت فیلمهای تولیدی مشابه نتایج ما نبود که به خاطر تفاوت فرایند تولید فیلم خوراکی و نوع قالبهای مورد استفاده بود [۲۱].

کائو و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تاثیر افزودن اسید فرولیک و اسید تانین بر روی فیلمهای خوراکی ژلاتینی به نتایج مشابهی دست یافتند و بیان کردند با افزایش میزان اسید فرولیک و اسید تانین ضخامت فیلم خوراکی افزایش می یابد [۲۲].

۲-۴- آزمون شاخص رنگ L

Table 1- Analysis of variance of data obtained from color test (L, a, b)

Model	9	<0.0001	<0.0001	<0.0001
A- Soy Protein (%)	1	<0.0001	0.3842	0.0020
B- Glycerol (%)	1	<0.0001	0.0188	0.0019
C- Ziziphoria Essence (%)	1	<0.0001	0.0418	0.3419
AB	1	<0.0001	0.0002	<0.0001
AC	1	0.0303	0.1222	0.0462
BC	1	0.3174	1.0000	0.0054
A ²	1	0.0021	0.9800	<0.0001
B ²	1	0.0002	0.0038	0.0003
C ²	1	<0.0001	0.0171	0.3035

جریان تولید ایزوله پروتئین در ایزوله باقی مانده است ایجاد می کند رنگ با افزایش پروتئین تیره تر می شود.

سیواروبان و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی فیلمهای خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا پرداختند و بیان کردند مقادیر عدد L, a و b برای نمونه های آنها به ترتیب برابر با ۹۵/۴، ۰/۲- و ۴/۷ بود؛ که در مقایسه با فیلمهای خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئینی سویا دارای سفیدی بسیار بیشتری نسبت به نتایج ما می باشد اما زردی و قرمزی فیلمها تقریباً یکسان می باشد [۲۳].

یکی از واکنشهایی که در جریان تولید فیلم رخ می دهد آزاد شدن رنگدانه های ناشی از دناتوره شدن پروتئینها و قهوه ای شدن میلارد است. دناتوراسیون پروتئینها منجر به آزاد شدن بیشتر رنگدانه های باقی مانده در ایزوله پروتئین گشت. در طی این واکنش میزان زیادی از اسیدهای آمینه مثل لیزین که

افزایش غلظت پروتئین و گلیسرول منجر به کاهش شاخص رنگ L در نمونه های فیلم گردید (جدول ۱). اسانس کاکوتی تا غلظتهای متوسط (در دامنه بکار رفته) سبب افزایش و با افزایش از یک حد بحرانی منجر به کاهش شاخص رنگ L در نمونه های فیلم گردیده است. اما به طور کلی می توان دریافت که تاثیر اسانس کاکوتی منجر به کاهش میزان این شاخص شد.

با افزایش دما حین فرایند تولید فیلم، در فیلمهای پروتئینی حاوی لیزین، گلیسرول با اسید آمینه لیزین وارد واکنش شده و رنگ آنرا تیره می سازد. احتمالاً چون شرایط اسیدی و pH بالا سبب از بین رفتن ساختار پروتئینی و تشکیل اسیدهای آمینه آزاد شده و در نتیجه شرایط را برای ایجاد واکنش قهوه ای شدن بین اسیدهای آمینه و کربوهیدراتهای کمی که در

اسید آمینه غالب بقولات و سویا می باشد، در نتیجه واکنش با بخش کربوهیدراتی به جا مانده در ایزوله پروتئین است واکنش داده و رنگ قهوه ای تولید می نماید.

از سوی دیگر تاثیر افزایش غلظت گلیسرول و اسانس کاکوتی منجر به افزایش این شاخص گردید.

۳-۴- آزمون شاخص رنگ a

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود، افزایش غلظت پروتئین منجر به افزایش شاخص رنگ a در نمونه های فیلم گردید. از سوی دیگر تاثیر افزایش غلظت گلیسرول منجر به کاهش این شاخص گردید ($P < 0.05$). اسانس کاکوتی تا غلظتهای متوسط (در دامنه بکار رفته) سبب افزایش و با افزایش از یک حد بحرانی منجر به کاهش شاخص رنگ a در نمونه های فیلم گردیده است.

۴-۴- آزمون شاخص رنگ b

تاثیر خطی و درجه دوم غلظت پروتئین سویا و گلیسرول بر میزان شاخص b نمونه ها معنی دار ($P < 0.01$) شده است؛ اما تاثیر خطی و درجه دوم غلظت اسانس کاکوتی بر روی این شاخص معنی دار نبود (جدول ۱). افزایش غلظت پروتئین منجر به کاهش شاخص رنگ b در نمونه های فیلم گردید.

۵-۴- آزمون دانسیته

افزایش غلظت پروتئین منجر به افزایش دانسیته نمونه های فیلم گردید. از سوی دیگر تاثیر افزایش غلظت گلیسرول منجر به کاهش این شاخص گردید؛ اسانس کاکوتی تا غلظتهای متوسط (در دامنه بکار رفته) سبب افزایش و با افزایش از یک حد بحرانی منجر به کاهش دانسیته در نمونه های فیلم گردیده است که با توجه به جدول آنالیز واریانس این تغییرات معنی دار نبود. افزایش دانسیته رابطه مستقیمی با ضخامت فیلم تولیدی دارد؛ چون قطعات در اندازه های یکسانی برای انجام این آزمون بریده شد و اندازه گیری شد، ضخامت فیلم بیشترین تاثیر را در دانسیته نمونه داشت، در مواردی که مقدار دانسیته با ضخامت آن همخوانی ندارد، احتمالاً به دلیل جایگزینی گروههای هیدروفوبیک گلیسرول و اسانس کاکوتی در لابلای ساختمان فیلم است که سبب کاهش دانسیته و ساختمانی متخلخل در ساختار فیلم شده است [۱۱].

Table 2- Analysis of variance of data obtained from density test

Model	2.145×10^5	9	<0.0001
A- Soy Protein (%)	24632.03	1	<0.0001
B- Glycerol (%)	22681.660	1	<0.0001
C- Ziziphoria Essence (%)	1819.10	1	0.0.642
AB	186.89	1	0.5200
AC	489.11	1	0.3061
BC	57.79	1	0.7185
A ²	4391.66	1	0.0090
B ²	20221.99	1	<0.0001
C ²	2438.80	1	0.0368
Lack of fit	0.3028	Mean	1113.92
R – Sqared	0.9808	Adj – R – sqared	0.9635

غلظت اسانس کاکوتی در دامنه بکار رفته منجر به کاهش نفوذپذیری به بخار آب در نمونه های فیلم گردیده است. مدل ارائه شده عبارت از معادله درجه دو چند جمله ای (رگرسیون) است که پس از حذف ضرایب بی معنی و در

۶-۴- آزمون نفوذپذیری به بخار آب

افزایش غلظت پروتئین و گلیسرول منجر به افزایش نفوذپذیری به بخار آب نمونه های فیلم گردید؛ افزایش

تحقیقات آنها نیز با افزایش درصد گلیسرول نفوذپذیری افزایش یافت [۲۶].

مک هوگ و همکاران (۱۹۹۴) نیز در گزارشات خود بیان کردند که با افزایش درصد گلیسرول نفوذپذیری به بخار آب افزایش می یابد که مشابه نتایج حاضر بود [۲۷]. تاوین بورتوم (۲۰۰۸) به بررسی فیلمهای خوراکی تهیه شده از نشاسته برنج و کیتوزان پرداخت و به نتایج مشابهی دست یافت وی بیان کرد با افزایش درصد نرم کننده نفوذپذیری به بخار آب افزایش می یابد [۲۸]. اوزدمیر و فلوروس (۲۰۰۷) با بررسی فیلمهای وی پروتئینی، به این نتیجه رسیدند که پروتئین و موم سبب کاهش نفوذپذیری به بخار آب شده که مخالف بسیاری از مطالعات و نتایج ما بود. اما با افزایش غلظت نرم کننده افزایش نفوذپذیری را در فیلمها گزارش کردند که مشابه نتایج این پژوهش بود [۲۹]. چوی و هان (۲۰۰۱) طی بررسی فیلمهای خوراکی تهیه شده از پروتئین نخود به این نتیجه رسیدند که درصد گلیسرول به طور معنی داری بر روی نفوذپذیری به بخار آب تاثیر گذار نیست [۳۰]. اما در تحقیقات مشکانی و همکاران (۱۳۸۹) بر روی ایزوله پروتئین نخود افزایش درصد گلیسرول سبب افزایش نفوذپذیری به بخار آب شد [۱۸].

کائو و همکاران (۲۰۰۷) با ارزیابی نفوذپذیری فیلمهای حاوی فرولیک اسید و اسید تانن روی فیلمهای ژلاتینی بیان کردند که با افزایش این عوامل تاثیر کمی بر کاهش نفوذپذیری به بخار آب وجود داشت که مشابه نتایج تحقیقات حاضر بود [۲۴].

تاناکا و همکاران (۲۰۰۰) طی پژوهش خود طی بررسی تاثیر اسید اولئیک، لینولئیک و لینولنیک بر روی نفوذپذیری فیلمهای خوراکی تهیه شده از پروتئینهای محلول ماهی به این نتیجه رسیدند که با افزایش طول زنجیره اسید چرب غیر اشباع نفوذپذیری به بخار آب افزایش می یابد [۳۱].

همانطور که مشاهده می شود، فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا دارای نفوذپذیری زیادی نسبت به بخار آب است که به دلیل وجود گروههای هیدروکسیل ($-OH$) زیاد در ساختار این فیلمهاست که خواص هیدروفیلیک را در فیلم

سطح اطمینان ۹۵ درصد ارائه شده است. بزرگی ضرایب متغیرها در این چند جمله ای صرف نظر از مثبت یا منفی بودن نشان دهنده اهمیت ضرایب مربوطه در تغییرات پاسخ (نفوذپذیری به بخار آب) می باشد.

$$\begin{aligned} \text{Water vapour permeability (g/m.pa.s)} = & \\ -4.35655 & \\ +2.07816 * \text{Soy Protein (\%)} & \\ -0.15230 * \text{Glycerol (\%)} & \\ +0.93595 * \text{Ziziphora Essence (\%)} & \\ -0.21250 * \text{Soy Protein (\%)} * \text{Ziziphora Essence (\%)} & \\ -0.14000 * \text{Glycerol (\%)} * \text{Ziziphora Essence (\%)} & \\ -0.11534 * \text{Soy Protein (\%)}^2 & \\ +0.17864 * \text{Glycerol (\%)}^2 & \end{aligned}$$

کوکوسزاکا و همکاران (۲۰۰۹)، با بررسی فیلم خاکی تولید شده از ایزوله پروتئین سویا به این نتیجه رسیدند که با افزایش ضخامت فیلم تولیدی سرعت انتقال بخار آب به صورت خطی افزایش می یابد و در رطوبتهای نسبی پایین فیلمهای خوراکی تاثیر ناچیزی در کنترل نفوذپذیری به اکسیژن دارد که مشایح تحقیقات ما بود؛ همچنین در غلظت ثابت پروتئین با افزایش درصد گلیسرول، نفوذپذیری به اکسیژن افزایش یافت، اما تاثیر پروتئین بر روی نفوذپذیری بیشتر از تاثیر گلیسرول است [۱۹].

هاماگوچی و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی خود بر روی تاثیر pH بر روی خصوصیات فیلم خوراکی تهیه شده از پروتئین ماهیچه نیزه ماهی به نتایج مشابهی دست یافتند و بیان کردند بر خلاف ترکیبات هیدروفیلیک که در برابر نفوذپذیری به بخار آب خصوصیات خوبی از خود نشان می دهد، پروتئین ها ترکیبات ضعیفی برای مهار انتقال بخار آب هستند. فیلمهای تهیه شده از نیزه ماهی نسبت به فیلمهای ما دارای نفوذپذیری نسبتاً کمتری به بخار آب داشتند [۲۴].

یانگ و پاولسون (۲۰۰۰) طی بررسی فیلمهای خوراکی تهیه شده از ژلان بیان کردند با افزایش درصد گلیسرول نفوذپذیری به بخار آب افزایش می یابد و با افزایش طول زنجیر و درجه اشباعیت نفوذپذیری به بخار آب کم می شود [۲۵].

گونتارد و همکاران (۱۹۹۳) با بررسی فیلمهای خوراکی تهیه شده از گلوتن گندم نیز به نتایجی مشابه دست یافتند در

پرز - گگو و همکاران (۱۹۹۰) نیز مقدار مواد کل محلول فیلمهای خوراکی تهیه شده از وی پروتئینها را حدود ۲۰ درصد اعلام کرده اند. این نتایج در مقایسه با نتایج ما مقادیر کمتری را نشان می دهد [۳۲].

کونته و همکاران (۱۹۹۷) نیز در بررسی فیلمهای تهیه شده از پروتئین سویا ضمن اینکه به نتایجی مشابه تحقیقات ما دست یافتند، درصد مواد محلول را بین ۴۰ تا ۳۰ درصد اعلام کرده اند [۳۳]. تاوین (۲۰۰۸) در طی تحقیقات خود بر روی فیلم خوراکی تهیه شده از نشاسته برنج و کیتوزان بیان کرد با افزایش درصد نرم کننده انحلال پذیری فیلم افزایش می یابد. احتمالاً کاهش انحلال پذیری فیلم خوراکی با افزایش درصد پروتئین به دلیل دنا توره شدن پروتئین حین فرایند تولید فیلم و تغییر ماهیت دادن ساختار پروتئینهاست که سبب ایجاد شبکه ای مستحکم با پیوندهای دی سولفیدی قوی در ساختار شبکه پروتئینی شده و مانع از فروپاشی شبکه و انحلال پذیری آن می شود؛ و این ساختمان قادر به نگهداری برخی مولکولهای اسید چرب در بین خود می باشد که با قرار گرفتن در آب سبب باز شدن بیشتر ساختمان و کمک به حل شدن بیشتر آن کرده است [۲۸].

۸-۴- آزمون انحلال پذیری در اسید

تنها تاثیر خطی غلظت پروتئین بر میزان انحلال پذیری در اسید نمونه ها معنی دار ($P < 0.01$) شده است؛ عبارات درجه دوم غلظت پروتئین و گلیسرول نیز معنی دار شده اند ($P < 0.01$). سایر عبارات خطی و درجه دوم معنی دار نبود ($P > 0.05$). از سوی دیگر تنها عبارت اثر متقابل بین غلظت پروتئین سویا و گلیسرول (AB) بر روی میزان انحلال پذیری در اسید نمونه ها نیز معنی دار شده است ($P < 0.05$). اما عبارت اثر متقابل بین غلظت گلیسرول و اسانس کاکوتی (BC) و نیز عبارت اثر متقابل بین غلظت پروتئین سویا و اسانس کاکوتی (AC) معنی دار نشده است ($P > 0.05$) و نشان دهنده عدم وجود تاثیرات سینرژیستی یا آنتاگونیستی بر روی میزان انحلال پذیری در اسید بودند.

افزایش داده و سبب کاهش خصوصیات ممانعت کنندگی در برابر انتقال بخار آب شد. پروتئین سویا یک پروتئین آبدوست است، زیرا پروتئینهای اصلی بقولات گلوبولین ها و آلبومین ها هستند که ماهیتی هیدروفیل دارند.

۷-۴- آزمون انحلال پذیری در آب

تنها تاثیر خطی غلظت گلیسرول بر میزان انحلال پذیری در آب نمونه ها معنی دار ($P < 0.01$) شده است؛ اما عبارات درجه دوم غلظت پروتئین و گلیسرول نیز معنی دار شده اند ($P < 0.01$). از سوی دیگر عبارت اثر متقابل بین غلظت پروتئین سویا و گلیسرول (AB) و عبارت اثر متقابل بین غلظت گلیسرول و اسانس کاکوتی (BC) نیز بر روی میزان انحلال پذیری نمونه ها نیز معنی دار شده است ($P < 0.05$). اما عبارت اثر متقابل بین غلظت پروتئین سویا و اسانس کاکوتی (AC) معنی دار نشده است ($P > 0.05$) و نشان دهنده عدم وجود تاثیرات سینرژیستی یا آنتاگونیستی بر روی میزان انحلال پذیری در آب بودند. افزایش غلظت پروتئین، گلیسرول و اسانس کاکوتی در دامنه بکار رفته منجر به افزایش انحلال پذیری در آب نمونه های فیلم گردید.

اوزدمیر و فلوروس (۲۰۰۷) با بررسی فیلمهای خوراکی با منشا وی پروتئین به نتایجی مشابه ما دست یافتند و بیان کردند که افزایش درصد پروتئین و موم زنبور عسل سبب کاهش مواد محلول در آب شد ولی سوربیتول به عنوان نرم کننده سبب افزایش مواد محلول در آب فیلمهای خوراکی شد. این بدین معنیست که با افزایش پروتئین و موم مقدار آب بیشتری در ساختار فیلم سبب حفظ آب بیشتر در ساختار فیلم و افزایش میزان سوربیتول سبب بجا ماندن میزان آب کمتری در ساختار فیلم می شود [۲۹].

چوی و هان (۲۰۰۱) در بررسی میزان مواد کل محلول فیلمهای خوراکی تهیه شده از پروتئین تغلیظ شده نخود بیان کردند میزان مواد کل محلول این فیلمها حدود ۴۰ درصد است [۳۰].

کردند اسیدهای چرب اشباع نسبت به اسیدهای چرب غیر اشباع شفافیت را بیشتر کاهش می دهند و افزودن اسید اولئیک سبب افزایش کدورت فیلمها می شود ولی این تاثیر معنی دار نیست [۳۵]. لیپمان (۲۰۰۹) طی تحقیق بر روی فیلمهای خوراکی تهیه شده از پروتئین میوفیبریل ماهی به این نتیجه رسیدند که میزان شفافیت فیلمهای تولیدی در محدوده بین pH ۳ تا ۱۱ شفافیت فیلم خوراکی افزایش یافت. فیلمهای اسیدی دارای شفافیتی مشابه نتایج ما بود ولی فیلمهای قلیایی دارای شفافیت بیشتری نسبت به نتایج ما داشت [۳۶]. رنج شفافیت فیلمهای تولیدی نشان میدهد نتایج تحقیقات ما مشابه تحقیقات شیکو و همکاران (۲۰۰۳) بود [۳۷]. احتمالاً کاهش شفافیت بر اثر افزایش درصد پروتئین به دلیل افزایش مواد جامد موجود در ساختمان فیلم است که با افزایش pH، پروتئینها در محلول بیشتر حل شده و رنگدانه های بیشتری نیز وارد محلول می شود. تاثیر گلیسرول در افزایش شفافیت احتمالاً به دلیل خاصیت رقیق کنندگی آن است ولی این افزایش شفافیت تاثیر کمتری نسبت به افزایش درصد پروتئین دارد و در درصدهای پروتئین بالاتر و آزاد شدن رنگدانه ها و ایجاد کدورت در فیلم نمی تواند اثر خود را به خوبی نشان دهد. همچنین افزایش شفافیت بر اثر افزایش فاصله مولکولی پروتئینها بوده که مانع از ایجاد یک ساختمان بسته شبکه ای گردیده و شفافیت را افزایش می دهد [۱۱].

۱۰-۴- آزمون درصد ازدیاد طول

افزایش غلظت پروتئین و غلظت گلیسرول، در دامنه بکار رفته منجر به افزایش درصد ازدیاد طول نمونه های فیلم گردید. اما افزایش غلظت اسانس کاکوتی در دامنه بکار رفته منجر به کاهش درصد ازدیاد طول در نمونه های فیلم گردید. نتایج تحقیق حاضر با تحقیقات فرناندز و همکاران (۲۰۰۷) تشابه داشت که بیان کردند در غلظت بین ۰ تا ۴۰ درصد وزنی اسید اولئیک نسبت به ایزوله وی پروتئین، اسید اولئیک سبب افزایش درصد ازدیاد طول شد ولی این اثر معنی دار نبود؛ که احتمالاً معنی دار نشدن تاثیر اسید اولئیک در

افزایش غلظت پروتئین، در دامنه بکار رفته منجر به کاهش انحلال پذیری در اسید نمونه های فیلم گردید. اما افزایش غلظت گلیسرول و اسانس کاکوتی در دامنه بکار رفته منجر به افزایش انحلال پذیری در اسید نمونه های فیلم گردید. اعرابی و همکاران (۱۳۸۵)، طی پژوهش خود بر روی تاثیر درصد گلیسرول بر روی میزان حلالیت فیلمهای خوراکی تهیه شده از گلوتن گندم به نتایج مشابه ما دست یافتند و بیان کردند با افزایش درصد گلیسرول، فیلم خوراکی در اسید بیشتر حل می گردد.

چون اسانس کاکوتی در ترکیب فیلم خوراکی تا حدودی مشابه نرم کننده عمل می کند در نتیجه با افزایش میزان این دو از میزان پیوندهای دی سولفیدی و هیدروژنی بین و داخل زنجیره ای پروتئین کاسته شده و در نتیجه ساختمان فیلم بازتر گشته و فیلم محلول تر گشت [۳۴]. اما افزایش پروتئین سبب افزایش پیوندهای هیدروژنی بین مولکولهای پروتئین و آب شده و به حفظ ساختار فیلم در اسید کمک کرده است. همچنین با کاهش pH از انحلال پذیری پروتئین کاسته شده و در نتیجه حلالیت در اسید نسبت به حلالیت در آب و قلیا دارای میزان حلالیت کمتری بود [۱۱].

۹-۴- آزمون شفافیت

افزایش غلظت پروتئین، در دامنه بکار رفته منجر به کاهش شفافیت نمونه های فیلم گردید. اما افزایش غلظت گلیسرول و اسانس کاکوتی در دامنه بکار رفته منجر به افزایش شفافیت در نمونه های فیلم گردید.

هاماگوچی و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی فیلم خوراکی تهیه شده از نیزه ماهی بیان کردند میزان شفافیت میانگین برای فیلمهای تهیه شده $1 \pm 6/6$ است و برای بسته بندی هایی که نیاز است ماده داخل بسته بندی قابل رویت باشد مناسب هستند که نسبت به نتایج حاضر در این پژوهش فیلمهای شفاف تری را تولید کردند [۲۴]. فرناندز و همکاران (۲۰۰۶) طی مطالعه ای بر روی تاثیر اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع بر روی فیلم تهیه شده از ایزوله وی پروتئین ها بیان

پروتئین سویا و درصدهای مختلف اسید اولئیک و موم زنبور عسل به نتایج مشابه دست یافتند. آنها بیان کردند با افزایش میزان موم در غلظتهای پایین (۰/۲۵ و ۰/۵ و ۰/۷۵)، ازدیاد طول تغییرات کمی دارد ولی در غلظتهای بالای موم به دلیل باز شدن شبکه پروتئینی و جایگزینی گروههای هیدروفوب به جای مولکولهای پروتئین ساختار از هم باز شده و درصد ازدیاد طول کاهش یافت [۴۰].

تحقیقات آنها به دلیل رنج کم درصد اسید اولئیک مورد استفاده بوده است. در تحقیقات کلین و همکاران (۲۰۰۲) و راکورتوریرایی (۲۰۰۱) روی خواص فیلمهای خوراکی زئینی حاوی اسید اولئیک، به این نتیجه رسیدند که اسید اولئیک علاوه بر تاثیرگذاری بر روی خواص ممانعت کنندگی، نقش نرم کننده را نیز ایفا می کند [۳۹ و ۳۸]. مونداری و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی فیلمهای تهیه شده از ایزوله

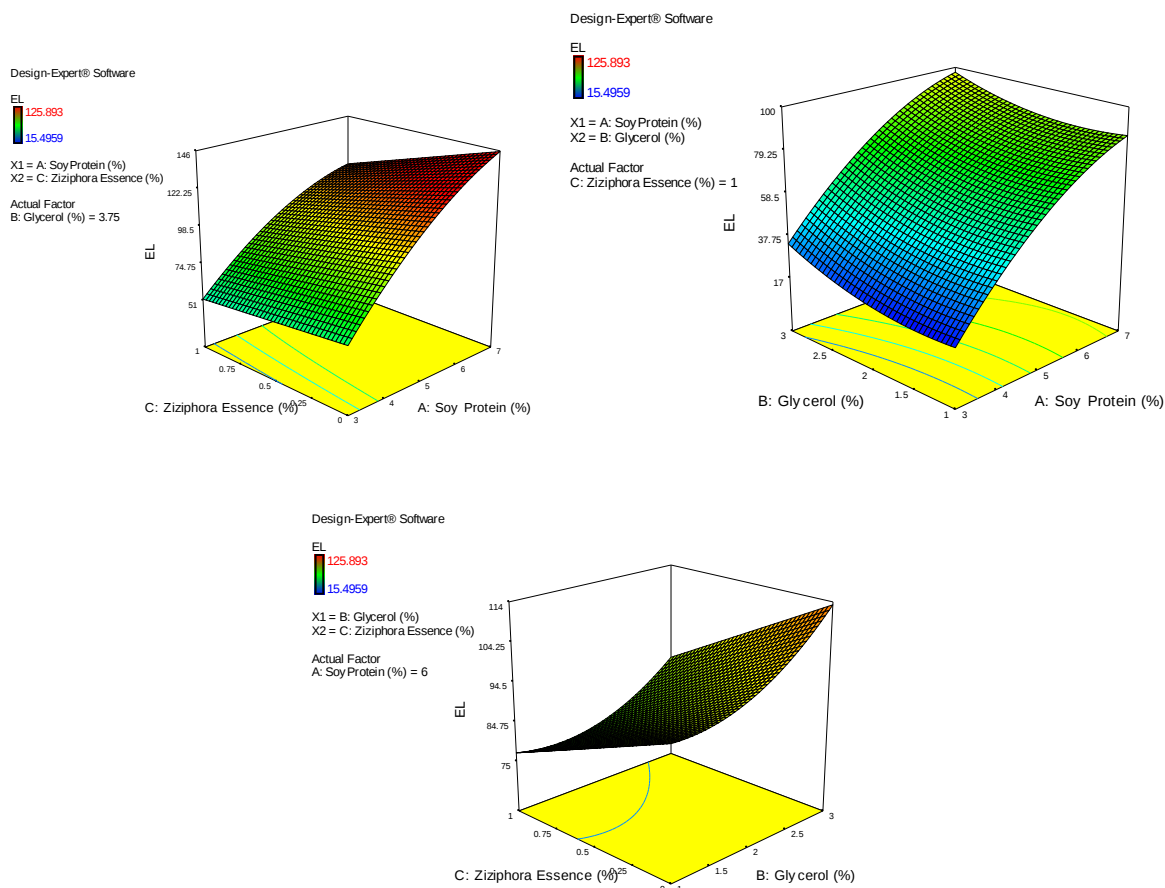


Figure 2- Showing a three-dimensional diagram of the simultaneous effect of independent variables on the percentage of elongation of the oral film

ها معنی دار ($P < 0.05$) شده است؛ اما هیچ یک از عبارات اثر متقابل معنی دار نشده است و این امر نشان دهنده عدم وجود تاثیرات سینرژیستی یا آنتاگونیستی این دو متغیر بر میزان استحکام کششی بودند.

۱۱-۴- استحکام کششی

تاثیر خطی غلظت ایزوله پروتئین سویا و نیز تاثیر خطی و درجه دوم غلظت گلیسرول بر میزان استحکام کششی نمونه

Table 3- Analysis of variance of data obtained from tensile strength test

Model	72.93	9	<0.0001
-------	-------	---	---------

A- Soy Protein (%)	5.19	1	<0.0001
B- Glycerol (%)	0.89	1	0.0092
C- Ziziphoria Essence (%)	0.12	1	0.2551
AB	0.060	1	0.4208
AC	0.24	1	0.1228
BC	0.035	1	0.5360
A²	0.010	1	0.7336
B²	0.48	1	0.0387
C²	0.17	1	0.1883
Lack of fit	0.0600	Mean	7.33
R – Sqauared	0.9884	Adj – R –sqauared	0.9779

اگرایی و همکاران (۱۳۸۵) در مطالعه ای بر روی فیلمهای خوراکی تهیه شده از گلو تن گندم بیان کردند افزایش میزان گلیسرول در غلظت (۱/۵ تا ۳/۵ درصد) سبب کاهش میزان تنش کششی فیلم شد. مونوز و همکاران (۲۰۰۳) نیز طی پژوهشی به بررسی فیلمهای خوراکی تهیه شده از گلو تنین و گلیادین پرداختند و بیان کردند افزایش درصد گلیسرول سبب کاهش مقاومت کششی شده و این تاثیر در مورد فیلمهای تهیه شده از گلو تنین موثرتر بود [۳۴].

چوی و هان (۲۰۰۱) و کروچتا (۲۰۰۲) با بررسی فیلمهای تهیه شده از پروتئینها مختلف (سویا ، آب پنیر ، نخود و گلو تن گندم) بر روی مقاومت کششی فیلمهای خوراکی مقادیر مقاومت کششی را اندازه گیری کردند که فیلمهای تهیه شده از ایزوله پروتئین خلر دارای مقاومت کششی مشابه نخود، ۷/۳ مگا پاسکال (بیشترین میزان مقاومت کششی) و مقاومت کششی آن بیش از فیلمهای تهیه شده از ایزوله وی پروتئین ، سویا و گلو تن بود [۴۱ و ۳۰].

افزایش غلظت پروتئین، در دامنه بکار رفته منجر به افزایش استحکام کششی نمونه های فیلم گردید. اما افزایش غلظت گلیسرول و اسانس کاکوتی در دامنه بکار رفته منجر به کاهش استحکام کششی در نمونه های فیلم گردید.

مشکانی و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین نخود به نتایج مشابهی دست یافتند و بیان کردند با افزایش در صد گلیسرول مقاومت کششی فیلمها به طور معنی داری کاهش پیدا کرد ($P < 0.01$) که دلیل این پدیده را به نقش گلیسرول در کاهش پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره های پروتئینی و افزایش فضاها بین مولکولی نسبت داده است. همچنین در نتایج دیگر آمده است با افزایش میزان پروتئین مقاومت کششی افزایش یافت که ناشی از بر هم کنش بین مولکولهای پروتئین در شرایط قلیایی ناشی از شرایط قلیایی فیلم و یا دنا توره شدن پروتئین در دمای بالا باشد [۱۸].

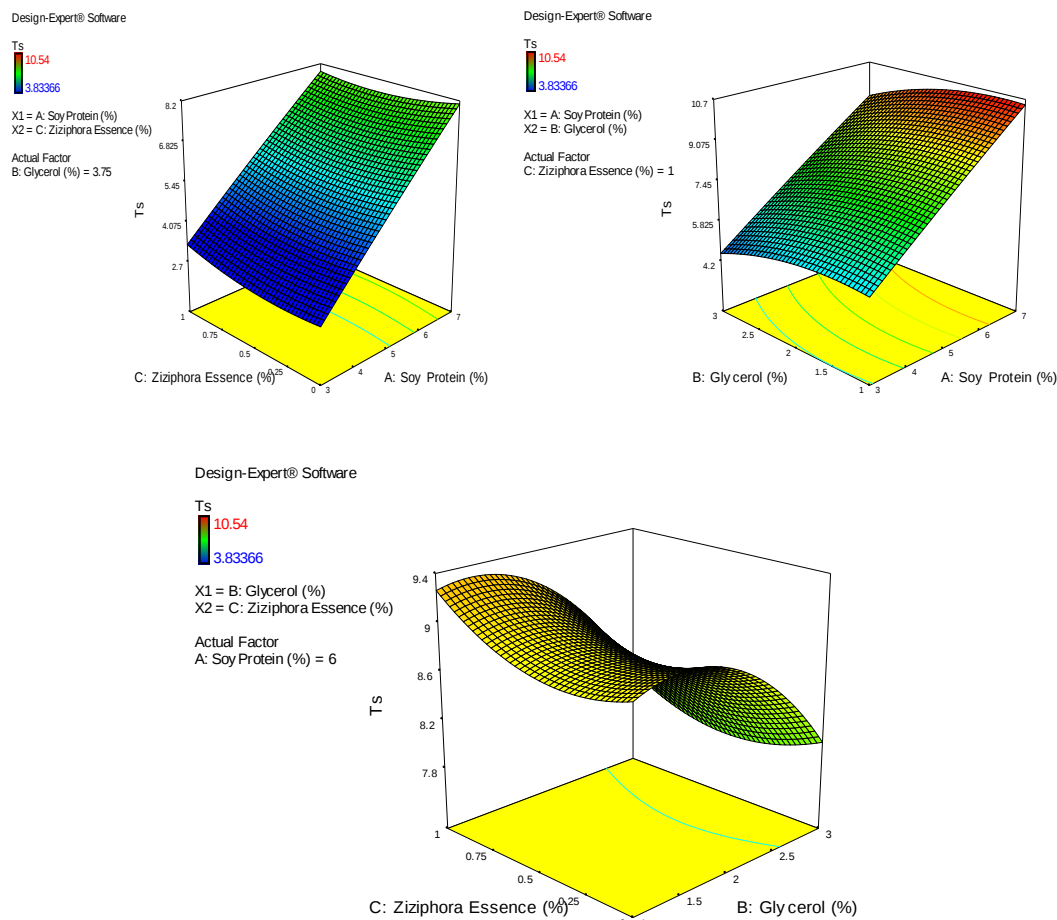


Figure 3- Showing a three-dimensional diagram of the simultaneous effect of independent variables on the tensile strength of an oral film

اشاره شد یک فیلم خوراکی مطلوب دارای کمترین ضخامت، دانسیته و نفوذپذیری به بخار آب، شاخص رنگ L حداکثری، شاخص رنگ a نزدیک به صفر و شاخص رنگ b نزدیک به صفر، بیشترین میزان مواد محلول در آب، اسید، شفافیت، مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول بود. در جدول ۲ این مشخصات و ورودیهای نرم افزار قابل مشاهده است.

۱۲-۴- بهینه سازی عددی با استفاده از روش سطح

پاسخ

با توجه به آزمونها و آنالیزهای صورت گرفته به منظور یافتن یک فیلم بهینه و انجام آزمونهای بعدی روی آن بر آن شدیم تا فیلم بهینه تولیدی بر اساس تمامی آزمونهای فیزیکوشیمیایی و مکانیکی را فرموله نماییم. همانطور که

Table 4 - The domain used to optimize the process and the optimization response by the software

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Soy Protein (%)	is in range	3	7	1	1	3
Glycerol (%)	is in range	1	3	1	1	3
Ziziphora Essen	is in range	0	1	1	1	3
Thickness	minimize	0.06	0.3	1	1	3
I	maximize	6.3	13.57	1	1	3
a	minimize	0.02	1.32	1	1	3
b	minimize	0.47	2.74	1	1	3
Density (Kg/m3)	minimize	920.564	1344.92	1	1	3
Water vapour p _e	minimize	0.68	5	1	1	3
Solubility in water	maximize	39.78	80.17	1	1	3
Solubility in HCl	maximize	17.16	74.74	1	1	3
Transparency	maximize	0.57	6.9	1	1	3
EL	maximize	15.4959	125.893	1	1	3
Ts	maximize	3.83366	10.54	1	1	3

آب برابر با ۷۴/۰۵ درصد، مواد محلول در اسید برابر با ۶۰/۶۰، مواد محلول در قلیا ۱۰۰ درصد، نفوذپذیری نسبت به بخار آب $10^{-10} \times 1/35$ گرم بر متر پاسکال ثانیه، شفافیت ۴/۸۴۷۳۳، شاخص L برابر با ۱۰/۹۴، شاخص a برابر با ۰/۲۷، شاخص b برابر با ۱/۱۱، مقاومت کششی ۶/۱۲ مگاپاسکال و ازدیاد طول ۳۲/۱۳ درصد خواهد بود (جدول ۳).

لذا با در نظر گرفتن این موارد به یافتن نقطه بهینه پرداختیم که با در شرایطی که غلظت ایزوله پروتئین سویا ۳/۵۴ درصد، گلیسرول ۱ درصد و درصد اسانس کاکوتی حدود ۱ درصد باشد، در سطح مطلوبیت ۰/۶۲۴ شاخصهای فوق بهینه گشته اند. در این حالت میزان ضخامت ۰/۰۹۳ میلی متر، دانسیته ۹۹۶/۸۲۷ کیلوگرم بر متر مکعب، مواد محلول در

Table 5 - Design Expert software output for optimizing the composite film production process

Solutions															
Number	Soy Protein (%)	Glycerol (%)	Ziziphora Esse	Thickness	I	a	b	Density (Kg/m3)	Water vapour p	Solubility in water	Solubility in HCl	Transparency	EL	Ts	Desirability
1	3.54441	1.00002	0.999981	0.0931102	10.9471	0.276442	1.11734	996.827	1.35319	74.0588	60.6035	5.47148	32.1314	6.12185	0.624
2	3.55201	1	0.963349	0.0957335	11.0867	0.294166	1.08995	1000.07	1.3713	73.2873	60.5949	5.48098	32.4333	6.06788	0.623
3	3.5327	1.00003	0.90042	0.0991953	11.3591	0.311579	1.05727	1003.76	1.36806	72.3965	61.0816	5.56187	32.1457	5.93842	0.620
4	3.46754	1	0.890612	0.0987128	11.5076	0.295993	1.07658	1002.08	1.3021	73.0213	62.2326	5.70748	30.5189	5.83572	0.619
5	3.56932	1.00001	0.836279	0.102933	11.5078	0.34063	1.00493	1008.57	1.42205	70.8592	60.538	5.51998	33.275	5.88995	0.617
6	3.56407	1.00002	0.818561	0.103592	11.5699	0.343334	0.996719	1009.17	1.42072	70.629	60.6399	5.54009	33.199	5.85743	0.617
7	3.56671	1	8.94453E-005	0.0795944	11.3961	0.125542	0.72569	964.376	1.50323	61.3745	55.2338	5.54022	36.0182	5.36738	0.612
8	3.49592	1	4.79554E-006	0.0782252	11.5092	0.101815	0.747149	961.356	1.41599	62.1244	56.5558	5.70267	33.8772	5.26172	0.611
9	3.53731	1	0.0668381	0.0852765	11.6494	0.164023	0.741988	972.769	1.46936	62.1238	56.6454	5.63658	34.9126	5.3141	0.610
10	3.55469	1.00002	0.543329	0.108117	12.1015	0.357459	0.865319	1011.52	1.4617	66.6914	60.288	5.65205	33.8485	5.52916	0.608

آزمونهای روی فیلم نهایی انجام گرفت تا فیلم نهایی بیشتر و با دقت بهتری مورد ارزیابی قرار گیرد.

۱۳-۴- آزمون میکروسکوپ الکترونی

پس از بهینه سازی فرمول فیلم مرکب تولید شده از ایزوله پروتئین سویا، گلیسرول و اسانس کاکوتی، این فرمول در عمل ساخته شده و فیلم مرکب بهینه ساخته شد. سپس

همانطور که پیش تر بحث شد، بدلیل پیوندهای هیدروژنی بین مولکولهای گلیسرول و ایزوله پروتئین سویا در ترکیب با اسانس کاکوتی می باشد، که رشته های آن قادرند در جهات مختلف با هم پیوند تشکیل دهند. نقاط سفید بسیار ریز در این عکسها احتمالا مولکولهای اسانس می باشند که به صورت تصادفی در ساختار فیلم گسترده شده اند [۴۲].

تصاویر میکروسکوپ الکترونی اتمی (SEM) به منظور بررسی خصوصیات سطحی فیلم مورد استفاده قرار می گیرد. در شکل ۳ تصاویر با بزرگنمایی های متفاوت از سطح فیلم خوراکی بهینه تهیه شده از فرمول بدست آمده طی مرحله قبل مورد بررسی قرار گرفت. فیلم بهینه دارای سطح نسبتاً صاف و پیوسته همراه با پستی و بلندهای کمی بود، که یکنواختی تقریبی ساختار ماتریس آن را نشان می دهد. وجود این فراز و نشیب ها ناشی از ساختار انشعابی ایزوله پروتئین سویا و

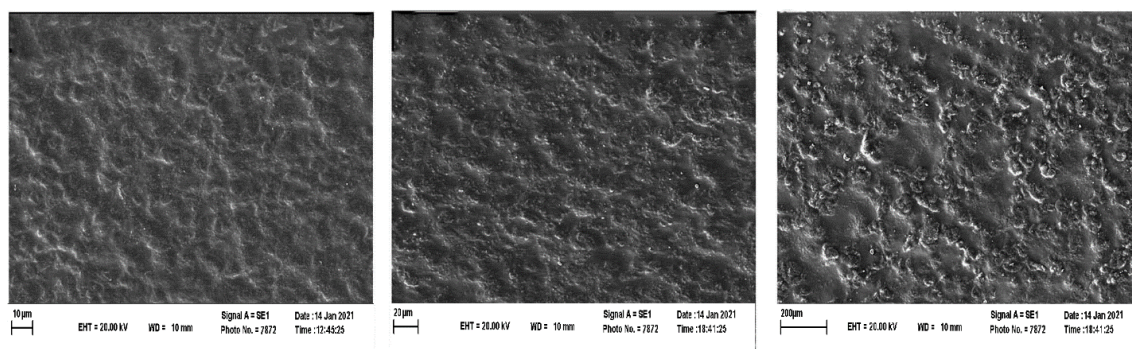


Figure 4 - Electron microscope images at 10, 20 and 200 micrometers magnification of the optimal film produced

است. از سوی دیگر بر طبق نظریات پیچریلی و همکاران (۲۰۱۹) در محدوده ۳۰۰۰-۳۶۰۰ سانتی متر، پیک جذب اصلی به گروه های آزاد و محدود O-H و N-H پروتئین و آب نسبت داده می شود. این منطقه با یک نوار جذب گسترده تقریباً برای همه پروتئین ها مشخص می شود [۳۷].

۱۴-۴- آزمون FTIR

نتایج آزمون FTIR فیلم بهینه در شکل ۴ نشان داده شده است، دو پیک بزرگ در این نمودار قابل مشاهده است؛ در منطقه ۸۰۰-۱۱۵۰ سانتی متر، می توانیم مشاهده کنیم که باندهای اصلی جذب گلیسرول در اینجا نشان داده شده

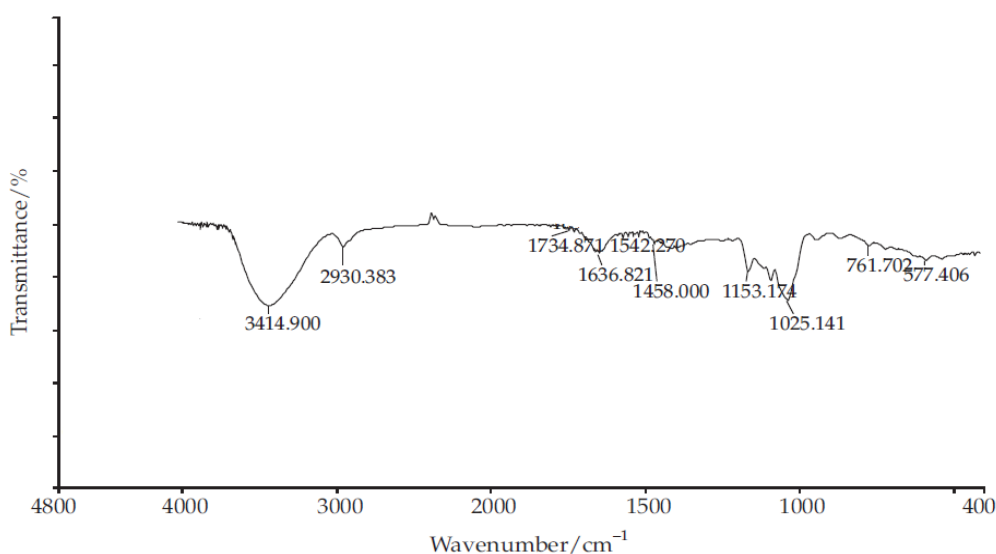


Figure 5- FTIR test performed on the optimal oral film

۵- نتیجه گیری

و مقاومت کششی فیلم گردید، اما سبب کاهش شاخص رنگ b، حلالیت در اسید و شفافیت فیلمها گردید. برای بهینه سازی فرمول فیلم استفاده از غلظت ۳/۵۴ درصد ایزوله پروتئین سویا، ۱ درصد گلیسرول و ۱ درصد اسانس کاکوتی توصیه می گردد.

۶- منابع

- [1] Teixeira-Costa B., Andrade C. 2021. Natural Polymers Used in Edible Food Packaging—History, Function and Application Trends as a Sustainable Alternative to Synthetic Plastic. *Polysaccharides*. 3, 32-58.
- [2] Petkoska AT, Daniloski D, D'Cunha NM, Naumovski N, Broach AT. 2021. Edible packaging: Sustainable solutions and novel trends in food packaging. *Food Research International*, 140, 109981
- [3] Kumar, M. V., Sharma, N., & Ranjith, S. (2022). *Trends in edible packaging of bakery products: A*, 11(12), 182–193.
- [4] Arabestani, A., Kadivar, M., Shahedi, M. Vogli, S.A. 2015. Preparation and determination of some physicochemical properties of biodegradable proteinous film from bitter vetch (*Vicia ervilia*) seed. *Journal of Food Science and Technology*, 48 (12), 129-138.
- [5] Pirnia M., Tabatabai Yazdi F., Mortazavi SA, Mohebbi M. 1399. Investigation of antimicrobial properties of bilayer edible film of gelatin-frankincense gum containing ascorbic acid and hyssop essential oil (*Hyssopus officinalis*) on the shelf life of ostrich fillets at refrigerator temperature. *Food Science and Technology*, No. 100, Volume 17.
- [6] Cho SY, Rhee C (2004) Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. *Lebenem Wiss u Technol* 37: 833 – 839
- [7] Shen, Z. & Kamdem D. P. 2015. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 289-296.
- [8] Mohebi, E. Abbasvali, M. Shahbazi Y. 2023. Development of biomaterials based on chitosan-gelatin nanofibers encapsulated with *Ziziphora clinopodioides* essential oil and *Heracleum persicum* extract for extending the shelf-life of vacuum-cooked beef sausages, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 253, Part 6.
- [9] Hamann, D., Puton, B. M. S., Comin, T., Colet, R., Valduga, E., Zeni, J., et al. (2022). Active edible films based on green tea extract and gelatin for coating of fresh sausage. *Meat Science*, 194, Article 108966.
- [10] Oyom, W., Xu, H., Liu, Z., Long, H., Li, Y., Zhang, Z., et al. (2022). Effects of modified sweet potato starch edible coating incorporated with cumin essential oil on storage quality of 'early crisp'. *LWT*, 153, Article 112475.
- [11] Hosseinzadeh A., Elhami Rad A. H., Haddad Khodaparast M. A., Milani A. 2012. Investigation of antimicrobial, physical and mechanical properties of oral film prepared from kelp seed protein isolate. Master Thesis, Islamic Azad University, Sabzevar Branch.
- [12] Taghizadeh M., Iqbal A. 1398. Investigation of physical and mechanical properties of edible film based on emulsion of starch and oleic acid and green tomato fruit coating. *Iranian Journal of Food Science and Technology Research*, Volume 15, Number 4.

- [13] Sothornvit, R., Rodsamran, P. Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest biology and Technology*. 2008; 47(3):407-15.
- [14] Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L. (1993). Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat film. *Journal of Food Science*, 58, 206±211
- [15] ASTM, Standard test methods for water vapor transmission of materials. *Annual Book of ASTM Standards*, 08.01 (E96-95). American Society for Testing and Materials: Philadelphia, PA., 1994: p. 65-70.
- [16] Safarzaei A., Lashkarzadeh Bami Sh., Sarhadi H. 2021. Preparation and study of the effect of whey extract on physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of sago starch food film, *Food Science and Technology*, No. 102, Volume 17.
- [17] Taqi, A., 2011. Effect of different concentrations of olive oil and oleic acid on the mechanical properties of albumen (egg white) edible films, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(60), pp. 12963-12972.
- [18] Meshkani, S., M. Mortazavi, S., A. Milani, A. Mokhtarian, M. Sadeghian, L., P. 2010. Evaluation of mechanical properties and optical properties of food film based on protein isolate (*Cicer arietinum* L.), containing thyme essential oil using pea response surface method, *Journal of Food Science and Technology*, Second year, Issue 3.
- [19] Kokoszka, S., Debeaufort, F., Hambleton, A., Lenart, A., Voilley, Andree., Protein and glycerol contents affect physicochemical properties of soy protein isolate-based edible films., *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11 503–510
- [20] Ou, S., Y., Wang, S., Tang, C., Huang, and M.G., Jackson. 2005. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 70: 205-210.
- [21] Gounga, M.E. Et al. 2007. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and Pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering* 83, 521–530
- [22] Cao, Na., Yuhua Fu., Junhui He. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. *Food Hydrocolloids* 21 (2007) 575–584
- [23] Sivarooban, T., Hettiarachchy, N.S., Johnson, M.G., Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Research International* 41 (2008) 781–785
- [24] Hamaguchi Patricia Yuca, WuYin Weng, Tanaka Munehiko., Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of Blue marlin (*Makaira mazara*) , *Food Chemistry* 100 (2007) 914–920
- [25] Yang, L., Paulson, A.T. 2000. Mechanical and water vapor barrier properties of edible gellan films. *Food Research International* 33 563±570
- [26] Gontard, Nathalie, Guilbert, STBPHANE. 1994. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin *Food packaging and preservation* (pp. 159-181): Springer.
- [27] McHugh TH, Krochta JM (1994) Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *J Agric Food Chem* 59 (2): 416 – 419
- [28] Thawien Bourtoom., Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan., *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30 (Suppl.1), 149-165, April 2008
- [29] Ozdemir, M., Floros John D., 2008. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics *Journal of Food Engineering* 86. 215–224
- [30] CHOI, w.s., HAN, J.H., Physical and Mechanical Properties of Pea-Protein-based Edible Films., *JOURNAL OF FOOD SCIENCE* ., Vol. 66, No. 2, 2001
- [31] Tanaka Munehiko, Ishizaki Shoichiro, Suzuki Toru, Takai Rikuo., Water Vapor Permeability of Edible Films Prepared

- from Fish Water Soluble Proteins as Affected by Lipid Type ., Journal of Tokyo University of Fisheries, Vol. 87, pp. 31–37, 2001
- [32] Perez-Gago MB, Nadaud P, Krochta JM. 1999. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. *J. Food Sci.*, 64(6): 1034-1037.
- [33] Kunte LA , Gennadios A , Cuppett SL , Hanna MA , Weller CL (1997) Cast films from soy protein isolates and fractions . *Cereal Chem* 74 (2): 115 – 118
- [34] Arabi, A. Azizi, M, H. Bahrami, B. 2006 . Production of edible film of wheat gluten, 16th National Congress of Iranian Food Industry, Gorgan.
- [35] Fernández Laura., de Apodaca Elena D'íaz., Cebri'an Marta., Villar'an Ma. Carmen. Mat'e Juan I., Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. *Eur Food Res Technol* (2007) 224: 415–420
- [36] Limpan N., Properties of Biodegradable Film Based on Fish Myofibrillar Protein and Poly (vinyl alcohol) Blend. *Journal of Food Engineering*. 100(1):85-92
- [37] Shiku, Y., Hamaguchi, P. Y., & Tanaka, M. (2003). Effect of pH on the preparation of edible films based on fish myofibrillar proteins. *Fisheries Science*, 69, 1026–1032.
- [38] Kleen D, Padua G, Engeseth N (2002) Stabilization of lipids in abiodegradable zein-oleate film by incorporation of antioxidants. *Cereal Chem* 79(5):687–694
- [39] Rakotonirainy AM, Padua GW (2001) Effects of lamination and coating with drying oils on tensile and barrier properties of zein films. *J Agric Food Chem* 49:2860–2863
- [40] Monedero F. María., Fabra Maria José, Talens Pau, Chiralt Amparo ., Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films., *Journal of Food Engineering* 91 (2009) 509–515
- [41] Krochta, J.M. (2002). Protein as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: Gennadios A, editor. *Protein-based films and coatings*. Boca Raton, Fla.: CRC Press. 1-41.
- [42] Ozer, Bahar Basak Peksen, Uz, Metin, Oymaci, Pelin, Altinkaya, Sacide Alsoy., 2016. Development of a novel strategy for controlled release of lysozyme from whey protein isolate based active food packaging films. *Food Hydrocolloids*, 61, 877-886.
- [43] Piccirilli, G.N.; Soazo, M.; Perez, L.M.; Delorenzi, N.J.; Verdini, R.A. Effect of storage conditions on the physicochemical characteristics of edible films based on whey protein concentrate and liquid smoke—ScienceDirect. *Food Hydrocoll.* 2019, 87, 221–228.



Scientific Research

Evaluation of the physicochemical, and mechanical properties of the edible film prepared from soy protein isolate containing the essential oil of the *Ziziphora capitata*

Sanaz Razm¹, Esmail Ataye Salehi^{2*}, Akram Arianfar², Vahid Hakimzadeh²

1- PhD student in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

2- Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2022/7/17 Accepted: 2023/9/10 Keywords: Protein isolates, edible films, coatings, soy DOI: 10.22034/FSCT.21.153.43. *Corresponding Author E-	Today, the production of edible and biodegradable films is one of the growing technologies in advanced societies. The use of these coatings is due to the replacement with polymeric materials and increasing the storage time of food. The main purpose of this study was to produce an edible film of soybeans protein isolate (3 to 7%), glycerol (1 to 3%) and <i>Ziziphora capitata</i> essential oil (0 to 1%) in order to create better taste and antimicrobial properties. After preparing the film, the physicochemical and mechanical properties of the film (thickness, density, solubility in water and acid, water vapor permeability, transparency, color changes, elongation percentage and tensile strength) were evaluated. After performing the above tests and investigating the effects of independent variables on the dependent variables, the oral film formulation was optimized. The results showed that the optimal formula can be achieved by using 3.54% soy protein isolate, 1% glycerol and 1% cactus essential oil at the level of desirability of 0.624.