



مطالعه تاثیر پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه ترکمنی بر برخی ویژگی های فیلم نانوکامپوزیت پلی اتیلن / نانورس

گلاره ایزدی آملی^۱، پیمان آریایی^{۱*}، مهرو اسماعیلی^۱، رویا باقری^۱

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰	امروزه، به دلیل نگرانی های فزاینده درباره ی تأثیرات منفی مواد بسته بندی غیر قابل تجزیه، استفاده از مواد بسته بندی تجزیه پذیر به طور فزاینده ای مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش به بررسی اثر پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه ترکمنی با استفاده از آنزیم پروتامکس (۰/۵ و ۱ درصد وزنی/ حجمی) بر خواص مکانیکی، فیزیکی، آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی فیلم نانوکامپوزیت بر پایه پلی اتیلن و نانورس می باشد. نتایج نشان می دهد که پروتئین هیدرولیز شده دارای میزان پروتئین بالا و درجه هیدرولیز قابل توجهی است. این پروتئین غنی از اسیدهای آمینه هیدروفوب (۳۵/۲۶٪) و اسیدهای آمینه آروماتیک (۱۹/۶۷٪) می باشد. افزودن نانو رس به فیلم پلی اتیلن منجر به کاهش رطوبت و WVP و افزایش ضخامت و کدورت گردید. با این حال، افزودن پروتئین هیدرولیز شده باعث افزایش ضخامت، رطوبت و WVP فیلم ها و کاهش کدورت شد ($P < 0/05$). همچنین، مشاهده گردید با افزودن پروتئین هیدرولیز شده، مقاومت کششی فیلم ها کاهش یافته و ازدیاد طول نمونه ها به طور معناداری افزایش یافته است ($P < 0/05$). پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه فعالیت قابل توجهی در مهار رادیکال های آزاد DPPH نشان داد، و افزایش غلظت آن تأثیر مثبتی بر این خصوصیت داشت ($P < 0/05$). این فیلم ها همچنین خاصیت ضد میکروبی قوی در برابر باکتری های پاتوژن داشتند، اثر آن ها بر باکتری گرم مثبت / استافیلوکوکوس / اورئوس بیشتر از باکتری گرم منفی / شریسیا کلی بود. فیلم نانوکامپوزیت حاوی ۱٪ پروتئین هیدرولیز شده بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی را نشان داد ($P < 0/05$). به طور کلی، استفاده از پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه در تهیه فیلم نانوکامپوزیت می تواند به تولید فیلم های مناسب برای بسته بندی مواد غذایی منجر شود. این فیلم ها ویژگی های فیزیکی و مکانیکی مطلوبی دارند و دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی مطلوبی نیز می باشند.
کلمات کلیدی: باکتری پاتوژن، پپتیدهای زیست فعال، خواص مکانیکی، فیلم خوراکی، هیدرولیز آنزیمی	
DOI: 10.22034/FSCT.22.165.118.	
* مسئول مکاتبات: p.aryaye@yahoo.com	

۱-مقدمه

ساده‌ترین و اقتصادی‌ترین پلاستیک ساخته شده توسط پلیمریزاسیون اتیلن، پلی‌اتیلن است. این ماده به دلیل هزینه پایین و ویژگی‌های کاربردی‌اش، به‌طور گسترده‌ای به عنوان فیلم و پوشش خوراکی استفاده می‌شود. پلی‌اتیلن دارای موانع مناسبی در برابر بخار آب است، اما در برابر نفوذ اکسیژن و دی‌اکسید کربن چندان مؤثر نیست [۱]. نانو کامپوزیت های پلیمری سیستم-های دو فازي هستند که یک ماتریس پلیمری و نانو ذرات معدنی را شامل میشوند. نانو ذرات رس از جمله نانو ذراتی هستند که بسیار مورد مطالعه قرار گرفته اند. دلیل این توجه ارزانی دسترسی آسان و عملکرد و فرایند پذیری خوب آنها است [۲]. در تحقیقی Hamzeh-kalkenari و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند فیلمهای نانوکامپوزیتی حاوی نانورس خواص بازدارندگی بیشتری نسبت به فیلم‌های پلی اتیلن معمولی دارند. همچنین این محققان اعلام کردند زمانی که نانوذرات رس به فیلم‌های نانو کامپوزیت اضافه می‌شود، سبب افزایش استحکام فیلم شده کاهش میزان و نفوذپذیری فیلم نانو کامپوزیت را به دنبال داشته است [۱].

امروزه، انواع مختلف ترکیبات ضد میکروبی در طراحی بسته‌بندی‌ها و پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و پتیدهای زیست فعال یک دسته‌ی مهم از آنها محسوب می‌شوند. پتیدهای زیست فعال به عنوان بخش‌هایی از پروتئین‌ها شناخته می‌شوند که در ساختار پروتئین‌های اولیه به صورت غیرفعال وجود دارند و شامل ۲۰ تا ۳۰ اسید آمینه بوده و وزن مولکولی آنها کمتر از ۶ هزار دالتون است [۳]. این پتیدها از طریق روش‌های آنزیمی، شیمیایی یا تخمیری تولید می‌شوند. در این میان، روش هیدرولیز آنزیمی منابع پروتئینی به

دلیل مزایایی مانند شرایط مطلوب، تولید بهینه، تولید کمتر فراورده‌های جانبی و حفظ اسید آمینه‌ها بیشتر مورد توجه محققان قرار گرفته است [۴]. هیدرولیز پروتئین‌ها شامل شکستن آنها به پتیدهای کوچکتر و آمینواسیدهای آزاد است. آنزیم‌های مورد استفاده برای هیدرولیز پروتئین‌ها ممکن است منشأ گیاهی، حیوانی و میکروبی داشته باشند [۵]. آنزیم پروتامکس یک پروتئاز تولید شده از باکتری *Bacillus subtilis* است که به واسطه قابلیت تولید پروتئین با درجه هیدرولیز بالا در زمان کوتاه و با تلخی کمتر نسبت به سایر آنزیم‌ها، به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی و بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶، ۷].

خریزه ترکمنی (*Cucumis melo var. reticulata*) از خانواده کدویان است که دارای خواص دارویی و تغذیه‌ای بالایی می‌باشد. این میوه غنی از پروتئین، چربی، کربوهیدرات و عناصر معدنی، به‌ویژه آهن، سدیم و پتاسیم است [۸]. دانه‌های این محصول حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و می‌توانند به عنوان منبع مواد مغذی و ترکیبات سلامتی‌زا مورد استفاده قرار گیرند [۹]. در حال حاضر، دانه‌های خربزه معمولاً تنها در مصارف محدود آجیلی و خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرند و بخش عمده‌ای از آنها به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شوند. بنابراین، اعمال فرآیندهای تکمیلی بر روی این ضایعات و تولید محصولات مختلف با ارزش افزوده می‌تواند راهکار مؤثری برای کاهش دورریز و افزایش بازده اقتصادی باشد [۸، ۱۰].

مطابق بررسی‌های انجام شده تاکنون تحقیقی در مورد اثر پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه ترکمنی در فیلم نانوکامپوزیت نانوکامپوزیت پلی‌اتیلن/ نانورس صورت نگرفته است. از این رو، هدف این پژوهش تحلیل

ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این نوع نانوکامپوزیت با اضافه کردن پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه ترکمنی می‌باشد.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد اولیه

در این تحقیق از پلیمر پلی اتیلن دانسیته پایین پتروشیمی بندر امام استفاده شد. نانو ذرات نقره در اندازه ۳۵ نانومتر، از شرکت نوترینو چین خریداری شدند. معرف فولین سیوکالتیو و رادیکال‌های آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدריך آمریکا تهیه گردید. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده با خلوص آزمایشگاهی و تولیدی شرکت‌های مرک آلمان و سیگما آلدריך آمریکا بودند.

۲-۲- چربی‌گیری از دانه

۲۰۰ گرم دانه خربزه ترکمنی خشک شد، آسیاب و سپس با حلال هگزان به نسبت ۱:۱۰ (حجمی- وزنی) مخلوط و به مدت ۴ ساعت توسط شیکر با سرعت ۴۴۰ دور در دقیقه هم‌زده شد. در ادامه حلال باقی مانده به وسیله آون تحت خلا و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت از آن جدا گردید. سپس پودر حاصل از الک با مش ۴۰ عبور داده شد [۱۱].

۲-۳- تولید پروتئین هیدرولیز شده

بررسی محتوای پروتئینی نمونه‌های دانه خربزه از طریق روش کلدال انجام شد. در این روش، ابتدا نمونه‌ها تحت هضم قرار گرفتند و سپس با استفاده از تیتراسیون، مقدار ازت کل در نمونه‌ها تعیین شد. در نهایت، با استفاده از ضریب تبدیل ۶/۲۵ مقدار کل پروتئین موجود در فاز آبی نمونه‌ها محاسبه گردید [۱۲]. برای هیدرولیز پروتئین دانه خربزه، پروتئین با غلظت ۴٪ (وزنی/حجمی) در بافر فسفات ۷ (pH بهینه) برای آنزیم پروتامکس تهیه شد. هیدرولیز در دمای بهینه ۵۰ درجه سانتی‌گراد، با غلظت

آنزیم ۱٪ و محدوده زمانی ۱۰ دقیقه تا ۱ ساعت در انکوباتور شیکردار (V-8480، کره جنوبی) با ۲۰۰ دور بر دقیقه انجام شد. برای غیرفعال کردن فعالیت آنزیم‌ها، محلول پروتئین در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس، محلول با نیروی گریز از مرکز ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای تولید پودر پروتئین هیدرولیز شده، سوپرناتانت حاصل در دستگاه خشک‌کن انجمادی (۵۵۰۹ FDB Operon، کره جنوبی) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، فشار ۴۰ میلی‌بار و زمان ۴۸ ساعت خشک شد. پودر پروتئین هیدرولیز شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۳].

۲-۵- درجه هیدرولیز

درجه هیدرولیز براساس میزان α آمینو اسید در میزان پروتئین نمونه محاسبه شد [۴].

۲-۶- ترکیب اسیدآمین

به منظور ترکیب اسیدآمین پودر پروتئین هیدرولیز شده، نمونه پروتئینی ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از اسید هیدروکلریک ۶ مولار کاملاً هیدرولیز شد. سپس اسیدهای آمینه موجود با افزودن فنیل ایزوتیوسیانات (PITC) مشتق‌سازی شدند. میزان اسیدهای آمینه کل با استفاده از دستگاه HPLC مدل Smart line (ساخت آلمان) مجهز به ستون C18 و آشکارساز فلورسنت (RF-530) اندازه‌گیری گردید [۵].

۲-۷- تهیه فیلم نانوکامپوزیت

در ابتدا پودر ذرات نانو رس (چگالی ۱/۹۸ گرم بر میلی‌لیتر و متوسط اندازه ذرات ۳۵ نانومتر) و گرانول پلی اتیلن (با دانسیته پایین به همراه غلظت‌های ۰/۵ و ۱٪ پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه بصورت فیزیکی مخلوط شد. سپس مخلوط‌های تهیه شده از داخل دستگاه اکسترودر همسو دو مارپیچه (با قطر ماردون ۱۹ میلی‌متر و نسبت طول به قطر

سانتی گراد اختلاف فشار بخاری معادل $2/337 \times 10^3$ پاسکال ایجاد می‌نماید. سنجش تغییرات وزن سلول‌ها در طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با دقت $0/0001$ گرم صورت گرفت. نرخ انتقال بخار آب بر حسب (گرم) - متر - ثانیه معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول بود و از رابطه ۲ حاصل شد [۱۹]. سطح سلول‌ها $0/00287$ متر مربع بود. از ضرب نمودن نرخ انتقال بخار آب (WVTR) در ضخامت فیلم‌ها (L) و تقسیم آن در اختلاف فشار موجود در دو سمت فیلم (AP) میزان نفوذپذیری بخار آب (WVP) بدست آمد [۱۵].

رابطه ۲

سطح سلول (متر) / شیب خط (گرم / ثانیه) = نرخ انتقال بخار آب (گرم $^{-1}$ ثانیه $^{-2}$ متر)

۲-۸-۵- کدورت

برای تعیین کدورت، فیلم‌های تهیه شده به صورت قطعاتی با ابعاد $1 \times 4 \text{ cm}^2$ بریده شد. سپس این قطعات درون سل دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و جذب آنها در طول موج 600 نانومتر خوانده شد از رابطه ۳ برای تعیین کدورت استفاده شد [۱۵].

رابطه ۳

$$100 \times \text{مقدار جذب} = \text{کدورت}$$

۲-۹- خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمون‌های مکانیکی فیلم‌ها بر اساس روش اصلاح شده ASTM D0882-۰۲ صورت می‌گیرد. فیلم‌ها در قطعات 761 سانتی‌متر بریده و تحت شرایط رطوبت نسبی 50 درصد و دمای 25 درجه سلسیوس مشروط می‌شوند. ضخامت آن‌ها در 5 نقطه اندازه‌گیری و ضخامت متوسط آنها تعیین می‌شود. ویژگی‌های مکانیکی فیلم (میزان کشش پذیری (درصد)، مقاومت به کشش (مگاپاسکال) با استفاده از اینستران اندازه‌گیری شد. در دستگاه اینستران فاصله بین دو فک 50 میلی‌متر، سرعت حرکت فک بالایی 50 میلی‌متر بر دقیقه و فک پایینی ثابت می‌باشد [۱۵].

۴۰) جهت اختلاط در حالت مذاب عبور کرد. در حین اختلاط در حالت مذاب دمای دستگاه اکسترودر از 180 تا 200 درجه سانتی‌گراد و سرعت مارپیچ 100 تا 160 دور بر دقیقه تنظیم گردید. در مرحله بعد، جهت تهیه فیلم‌های بسته بندی از گرانول‌های تولید شده از دستگاه تولید فیلم با برند برابندرآلمان در پژوهشگاه پلیمر ایران استفاده شد. در این دستگاه نیز گرم‌کن‌ها از 180 تا 200 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. خروجی دستگاه، فیلم‌هایی با عرض 250 سانتی‌متر و ضخامت 20 میکرون تهیه شد [۱].

۲-۸-۱- اندازه‌گیری خواص فیزیکی فیلم‌ها

۲-۸-۱-۱- اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

برای اندازه‌گیری ضخامت از میکرومتر با دقت $0/01$ میلی‌متر استفاده شد. میزان ضخامت در 5 نقطه از فیلم اندازه‌گیری و میزان میانگین آن گزارش شد [۱۴].

۲-۸-۲- اندازه‌گیری میزان رطوبت فیلم‌ها

نمونه‌های فیلم با وزن مشخص درون پلیت‌های شیشه‌ای که از قبل به وزن ثابت رسیده و توزین شده بودند ($W1$) قرار داده شد. سپس به مدت 24 ساعت در دمای 105 درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردید. نمونه همراه با پلیت پس از این مدت خارج شده و پس از سرد شدن در دسیکاتور مجدداً توزین گردید ($W2$). محتوای رطوبت فیلم‌ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه ۱ محاسبه گردید [۱۵].

رابطه ۱

$$100 \times (W1 - W2) / W1 = \text{درصد رطوبت}$$

۲-۸-۳- نفوذپذیری در برابر بخار آب

به منظور سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب (ASTM E 96-02) ابتدا 10 میلی‌لیتر آب مقطر درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری ریخته شد و سپس سلول‌های شیشه‌ای که سطح آنها توسط فیلم و به کمک گریس درزبندی شده بود، درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند. آب در دمای 25 درجه سانتی‌گراد رطوبت 100 درصد ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای 25 درجه

۲-۱۰- فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها

فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم با استفاده از روش بررسی توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد [۱۶]. به این منظور، ابتدا ۲۵ میلی گرم از فیلم در ۳ میلی لیتر آب مقطر به آرامی مخلوط شد. سپس، ۸/۲ میلی لیتر از این محلول به لوله‌های آزمایش حاوی ۰/۲ میلی لیتر محلول ۱ میلی مولار DPPH در متانول اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. میزان جذب نوری نمونه‌ها و نمونه شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. کاهش جذب نوری در مقایسه با شاهد نشان‌دهنده توانایی ترکیبات موجود در فیلم در مهار رادیکال آزاد DPPH بود. در نهایت، درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از معادله ۴ محاسبه گردید.

رابطه ۴:

$$100 \times \left[\frac{\text{میزان جذب کنترل}}{\text{میزان جذب نمونه}} - 1 \right] = \text{درصد پاک کنندگی رادیکال آزاد DPPH}$$

۲-۱۱- تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

کشت های باکتریایی / استافیلوکوکوس / اورئوس (PTCC 1189) و / شریشیا کلی (PTCC 1399) از مجموعه میکروبی دانشگاه تهران تهیه شد. با استفاده از یک لوپ استریل، مقداری از هر باکتری از آمپول های استریل برداشته شد و به ۱۰ میلی لیتر محیط کشت BHI Broth اضافه شد. محیط کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. پس از گرمخانه گذاری، باکتری ها با استفاده از یک لوپ استریل بر روی پلیت های آگار مغذی کشت داده شدند. پلیت های کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. ۳ تا ۵ کلنی جدا شده و همگن با استفاده از یک سواب استریل به لوله های حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی منتقل شدند. کدورت (جذب نوری) سوسپانسیون های باکتریایی در طول موج ۶۲۵ نانومتر با

استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. سوسپانسیون ها به غلظت برابر با نیم هک فارلند که معادل حدود 10^8 کلنی در هر میلی لیتر است، رقیق شدند. با استفاده از یک سواب استریل، سوسپانسیون های باکتریایی به طور یکنواخت بر روی سطح محیط های کشت گسترش داده شدند. دیسک های گرد فیلم با قطر ۶ میلی متر با استفاده از یک چاقوی گرد بریده شدند. دیسک های فیلم در فواصل مناسب بر روی پلیت های آغشته به باکتری قرار داده شدند و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، قطر هاله های شفاف اطراف دیسک های فیلم به میلی متر اندازه گیری و گزارش شد. این روش برای بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم های خوراکی با استفاده از روش انتشار در آگار به کار گرفته شد [۱۷].

۲-۱۲- ارزیابی آماری

آزمایش‌ها در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 18 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن (One way Anova) با سطح احتمال خطای ۰/۵ انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2013 انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- درجه هیدرولیز

نتایج مطالعه حاضر نشان داد (جدول ۱) که با افزایش زمان فرایند هیدرولیزاسیون، درجه هیدرولیزاسیون که بیانگر میزان شکسته شدن پیوندهای پپتیدی است، افزایش می‌یابد ($P < 0/05$). به عبارت دیگر، طی زمان بیشتر هیدرولیز، پروتئین ها بیشتر به پپتیدهای کوچکتر تجزیه می شوند. با این حال، با افزایش زمان و درجه هیدرولیزاسیون، شدت و نرخ جداسازی پروتئین های محلول از اجزای غیر محلول کاهش می یابد. این امر نشان می‌دهد که هرچه پیوندهای پپتیدی بیشتر شکسته شوند و پروتئین ها به پپتیدهای کوچکتر تبدیل شوند، آنها قابلیت انحلال بیشتری پیدا می - کنند و از حالت نامحلول خارج می‌شوند [۵، ۱۸]. با افزایش

زمان هیدرولیز از ۹۰ به ۱۲۰ دقیقه، احتمالاً مهار انتشار سوپسترا منجر به اشباع سرعت واکنش شده، به طوری که تفاوت معنی داری در درجه هیدرولیز مشاهده نشده است ($P > 0.05$). در این شرایط، با گذشت زمان و کاهش مقادیر سوپسترا، درجه هیدرولیزاسیون تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۱۹]. Islam و همکاران (۲۰۲۲) نتایج مشابهی در مورد درجه هیدرولیزاسیون پروتئین هیدرولیز شده سویا توسط آنزیم پروتامکس گزارش کردند. آنها دریافتند که با افزایش زمان نگهداری، درجه هیدرولیزاسیون افزایش می‌یابد اما پس از مدتی به مقدار ثابتی می‌رسد [۱۹].

۲-۳- میزان پروتئین

میزان پروتئین اولیه دانه خربزه 26.86 ± 0.54 درصد بوده است، پس از چربی‌گیری با هگزان، میزان پروتئین به

41.61 ± 1.20 درصد افزایش یافته است. هیدرولیز آنزیمی با استفاده از آنزیم پروتامکس، باعث افزایش چشمگیر میزان پروتئین تا بین $76.12 - 92.71$ درصد (جدول ۱) شده است. این بهبود در میزان پروتئین توسط هیدرولیز آنزیمی، به دلیل کاهش چربی، رطوبت و حذف ناخالصی‌ها طی فرایند استخراج پروتئین با سانتریفیوژ بوده است [۱۹، ۳]. بنابراین هیدرولیز آنزیمی می‌تواند یک روش مؤثر برای بهبود کیفیت و افزایش میزان پروتئین دانه خربزه باشد و بر اساس نتایج دانه خربزه یک منبع ارزشمند پروتئینی محسوب می‌شود که با استفاده از فرایند هیدرولیز می‌توان پتانسیل آن را افزایش داد. در مقایسه با سایر تحقیقات انجام شده بر روی دانه خربزه، میزان پروتئین در این مطالعه بیشتر یا معادل بوده است [۸، ۱۰].

Table 1: Degree of hydrolysis and protein content of turkmen melon seed protein hydrolysates at different hydrolysis time

Hydrolysis time (min)	Degree of hydrolysis (%)	Protein content (%)
20	12.41 ± 0.51^e	76.12 ± 1.49^e
40	28.95 ± 0.95^d	85.55 ± 0.86^d
60	35.31 ± 0.40^c	88.24 ± 0.52^c
80	43.41 ± 0.80^b	90.73 ± 0.62^b
100	47.03 ± 0.50^a	92.94 ± 0.34^a
120	47.01 ± 1.52^a	92.71 ± 0.38^a

^a Values represent means $\pm$ SE ($n = 3$).

^b Values in same columns with different lower letter are significantly different at $P < 0.05$.

۱۰/۲۲٪ (بیشترین اسید آمینه ضروری) و گلوتامیک اسید با ۲۰/۴۵٪ (بیشترین اسید آمینه غیر ضروری) به عنوان غلظت های بالاتر گزارش گردیده است. این یافته ها همسو با نتایج مطالعه Mallek-Ayadi و همکاران (۲۰۱۹) در زمینه پروفایل اسیدهای آمینه در دانه خربزه *Cucumis melo* می باشد. در آن پژوهش نیز تریپتوفان و گلوتامیک اسید به عنوان اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری غالب شناسایی شده بودند [۲۱]. بررسی نشان داد که غلظت تمامی اسیدهای آمینه ضروری به جز فنیل آلانین، فراتر از مقادیر پیشنهادی (FAO/WHO, 1990) برای نیازهای بزرگسالان قرار داشت [۲۲]. این الگوی

۳-۳- ترکیب اسید آمینه

آمینو اسیدها به عنوان ترکیبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، نقش مهمی در حفظ کیفیت و ماندگاری مواد غذایی ایفا می‌کنند. این ترکیبات با خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و سایر مولکول‌های حساس در مواد غذایی، از فساد و تغییرات نامطلوب در طعم، بو و رنگ محصولات غذایی پیشگیری می‌نمایند [۲۰]. در بررسی حاضر (جدول ۲)، مقادیر بالای اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری شناسایی شده، به ویژه تریپتوفان با

غنی از اسیدهای آمینه ضروری، نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای بالای دانه خربزه باشد که می‌تواند در تامین نیازهای اساسی اسیدهای آمینه در رژیم‌های غذایی بزرگسالان نقش مؤثری ایفا نماید. مجموع اسیدهای آمینه آبگریز و آروماتیک در پروتئین‌های هیدرولیز شده به ترتیب ۳۵/۲۶ و ۱۹/۶۷٪ بوده است. حضور این اسیدهای آمینه در سطوح مطلوب، نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای بالای آن‌ها است. همچنین این اسیدهای آمینه مسئول خواص کاربردی و زیستی پروتئین‌ها از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدسرطان و کاهش قند و فشار خون می‌باشند [۲۳].

Table 2: The amino acid composition tomato seed protein hydrolysates (g 100 g⁻¹) (30 min)

Amino acid(g 100 g ⁻¹)	Protamex	FAO/ WHO, 1990
Histidine ^a	1.67	1.9
Isoleucine ^a	4.98	2.8
Leucine ^a	8.55	6.6
Lysine ^a	3.11	5.8
Methionine ^a	1.58	
Phenyl alanine ^a	5.87	6.3
Threonine ^a	4.01	1.1
Valine ^a	2.99	3.5
Tryptophan	10.22	
Arginine	3.15	
Aspartic acid	8.44	
Glycine	3.44	
Proline	3.56	
Serine	3.11	
Alanine	4.15	
Cystein	5.11	
Glutamic acid	20.45	
Tyrosine	3.58	
Asparagine	1.05	
Total amino acid	95.01	
HAA ^b	35.26	
AAA ^c	19.67	

- a Essential amino acids
 b Total hydrophobic amino acids (alanine, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, proline, methionine and cysteine)
 c Total amount of aromatic amino acids (phenylalanine, histidine, tryptophan and tyrosine)

واقع مرتبط با پدیده فشرده شدن شبکه ساختاری فیلم در اثر حضور نانورس است [۲]. اما افزودن پروتئین هیدرولیز شده سبب افزایش معنی داری بر مقادیر رطوبت شد. است $(P < 0.05)$. این افزایش رطوبت می تواند به علت خواص آبدوست و بافر کننده پروتئین هیدرولیز شده باشد. پروتئین های هیدرولیز شده قادر به نگهداری آب بیشتری در ساختار خود هستند و همچنین می توانند نوسانات رطوبتی را تعدیل کنند. در نتیجه، افزودن این ترکیبات به محصول، رطوبت نهایی را افزایش داده است [۳].

۳-۴- بررسی خاصیت فیزیکی فیلم ها

شاخص رطوبت نمایانگر کل حجم اشغال شده ریز ساختار شبکه ای فیلم توسط مولکول های آب است در حالی که شاخص حلالیت با میزان آب دوستی فیلم ها مرتبط است [۲۴]. با توجه به نتایج (نمودار ۱) بیشترین مقادیر رطوبت در تیمار پلی اتیلن مشاهده شد. افزودن نانورس سبب کاهش میزان رطوبت فیلم شد $(P < 0.05)$. کاهش رطوبت در فیلم های نانوکامپوزیت در قیاس با فیلم شاهد احتمالا ناشی از کاهش گنجایش و فضاهای خالی موجود در بستر پلیمر و در

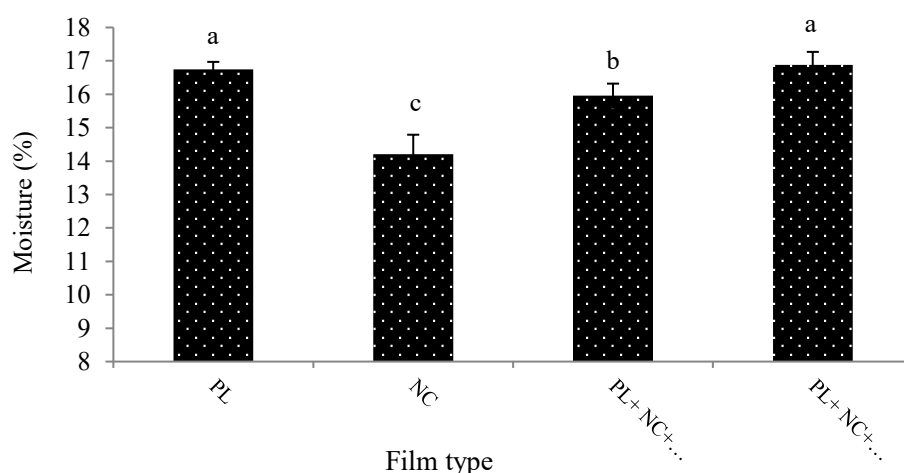


Fig 1. Moisture content of nano-composite film along with hydrolyzed melon seed protein

آب و خصوصیات مکانیکی فیلم ها ایفا می کنند [۲۵]. با توجه به نتایج (نمودار ۲) کمترین مقادیر ضخامت در فیلم پلی اتیلن بوده است. با افزودن نانورس و پروتئین هیدرولیز شده به فیلم میزان ضخامت افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان ضخامت در فیلم پلی اتیلن + نانورس + پروتئین هیدرولیز شده ۱٪ مشاهده شد $(P < 0.05)$. افزایش ضخامت فیلم های خوراکی به دلیل افزودن نانورس و پروتئین هیدرولیز شده است. ضخامت فیلم به طبیعت و ترکیب آن بستگی دارد. این تأثیر طبیعت و ترکیب فیلم بر ضخامت را

ضخامت فیلم های خوراکی به غلظت مواد تشکیل دهنده آن - ها، مقدار محلول اولیه فیلم در واحد سطح و همچنین سرعت ریختن این محلول روی سطح بستگی دارد. این ویژگی تأثیر بسیار زیادی بر فاکتورهای مهم در ارزیابی فیلم ها مانند نفوذپذیری به بخار آب و رفتارهای مکانیکی آنها دارد. به عبارت دیگر، ضخامت فیلم های خوراکی تحت تأثیر غلظت مواد تشکیل دهنده، مقدار محلول اولیه فیلم در واحد سطح و سرعت ریختن این محلول روی سطح قرار دارد که این عوامل نقش بسیار مهمی در تعیین میزان نفوذپذیری به بخار

ویژگی-های فیلم مانند ضخامت به طور قابل توجهی تحت تأثیر ترکیب و ماهیت مواد تشکیل دهنده آن قرار دارد [۲۶، ۲۷].

می توان در نتایج سایر مطالعات نیز مشاهده کرد. به عنوان مثال، de Oliveira و همکاران (۲۰۱۹) و Ghasemi و همکاران (۲۰۲۱) نتایج مشابهی را در مورد فیلم های حاوی پروتئین هیدرولیز شده گزارش کردند. به طور کلی،

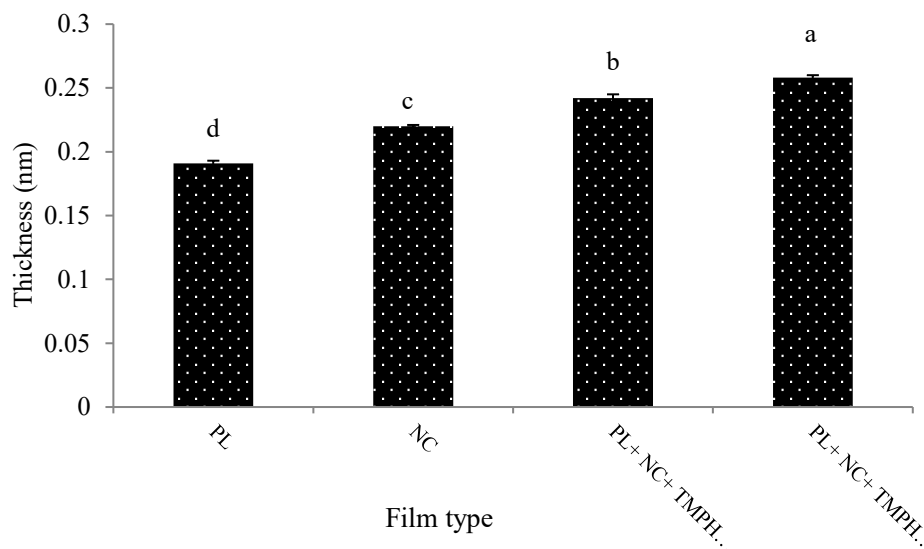


Fig 2. Thickness of nano-composite film along with hydrolyzed melon seed protein

دی اکسید تیتانیوم را بررسی کرده است. با افزودن پروتئین هیدرولیز شده به فیلم میزان نفوذپذیری افزایش یافت [۲۹]. این افزایش WVP به دلیل اثر پلاستی سایزری پروتئین هیدرولیز شده با وزن مولکولی کم است. وجود این پروتئین منجر به افزایش گروه های آبدوست در ساختار فیلم شده و به دنبال آن، حضور مولکول های آب بیشتر در ساختار فیلم، سبب افزایش نفوذپذیری به بخار آب شده است. همچنین افزایش ضخامت لایه های پروتئین هیدرولیز شده نیز بر مقادیر WVP تأثیرگذار بوده است. نتایج مشابهی در مطالعات de Oliveira و همکاران (۲۰۱۹) بر روی فیلم آلژینات حاوی پروتئین هیدرولیز شده پنبه دانه، Ghasemi و همکاران (۲۰۲۱) بر روی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی پروتئین هیدرولیز شده اسکلت کپور نقره ای ماهی مشاهده شده است [۲۶، ۲۷].

نتایج حاکی از آن است (نمودار ۳) که افزودن نانو رس در فیلم پلی اتیلن باعث کاهش معنی داری در مقدار WVP گردید ($P < 0.05$). در تحقیق حاضر، کاهش مقدار WVP در فیلم های خوراکی می تواند به دلیل ایجاد فضای پرپیچ و خم توسط نانوذرات رس و به دنبال آن بسته شدن مسیرهای ریز موجود در ساختار فیلم باشد. به عبارت دیگر، حضور نانوذرات رس در ترکیب فیلم، سبب ایجاد ساختار پیچیده تری در فیلم می شود که مانع از عبور راحت مولکول های بخار آب از آن می گردد. این ساختار پیچیده تر و بسته شدن مسیرهای ریز موجود در فیلم، در نهایت به کاهش WVP فیلم منجر می شود [۲۸]. این نتیجه گیری مطابق با مطالعه انجام شده توسط Ojagh و همکاران (۲۰۱۸) است که نقش نانوذرات رس در کاهش نفوذپذیری به بخار آب فیلم های خوراکی دولایه آگار/ژلاتین ماهی حاوی نانو ذرات

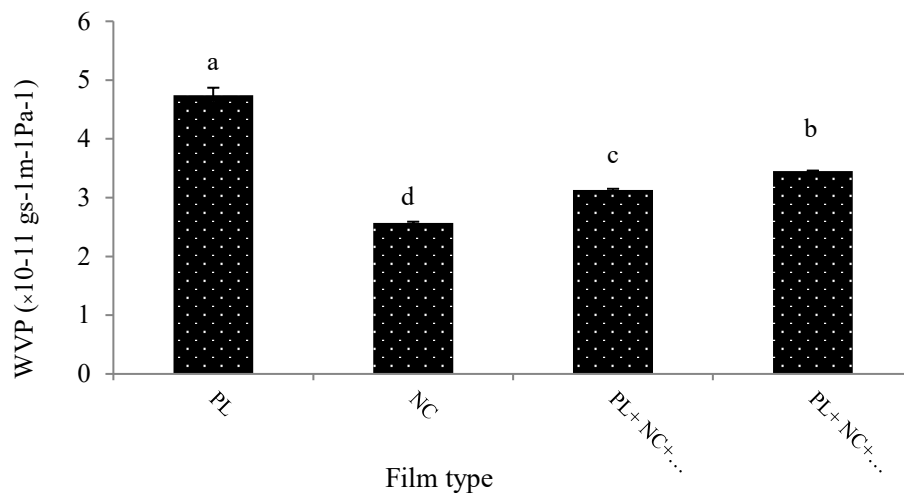


Fig 3. WVP of nano-composite film along with hydrolyzed melon seed protein

افزایش ضخامت فیلم و در نتیجه کاهش شفافیت و افزایش کدورت آن شود [۲۷]. این پدیده به دلیل پراکندگی بیشتر نور در فیلم، به واسطه تجمع پروتئین هیدرولیز شده، رخ می‌دهد [۲۶]. هرچند کاهش شفافیت می‌تواند منجر به کاهش تقاضای مصرف‌کنندگان شود، اما کاهش سرعت انتقال نور مرئی می‌تواند برای بسته‌بندی مواد غذایی مفید باشد. زیرا وجود نور می‌تواند باعث تغییرات رنگی و طعمی، از دست رفتن مواد مغذی و در نهایت فساد اکسیداتیو مواد غذایی شود. بنابراین، تعادل بین ویژگی‌های نوری، از جمله شفافیت و کدورت، باید در طراحی فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی مورد توجه قرار گیرد.

ویژگی‌های نوری فیلم‌ها، مانند رنگ، شفافیت و عبور نور، از جمله ویژگی‌های مهمی هستند که بر کدورت و تاریکی فیلم تأثیر می‌گذارند. این ویژگی‌های نوری می‌توانند بر ظاهر، پذیرش، بازاریابی و مناسب بودن فیلم‌ها برای کاربردهای مختلف تأثیر بگذارند. بر اساس نتایج با اضافه کردن نانورس به پلی اتیلن باعث کاهش معنی دار کدورت (نمودار ۴) فیلم شد ($P < 0.05$). این نتایج با نتایج Rhim و Wang (۲۰۱۴) پیرامون اضافه کردن نانوذرات رس به فیلم کارگینان مطابقت دارد. همچنین افزودن پروتئین هیدرولیز شده نیز سبب افزایش کدورت فیلم شد [۳۰]. افزودن پروتئین هیدرولیز شده به فیلم‌های خوارکی، می‌تواند باعث

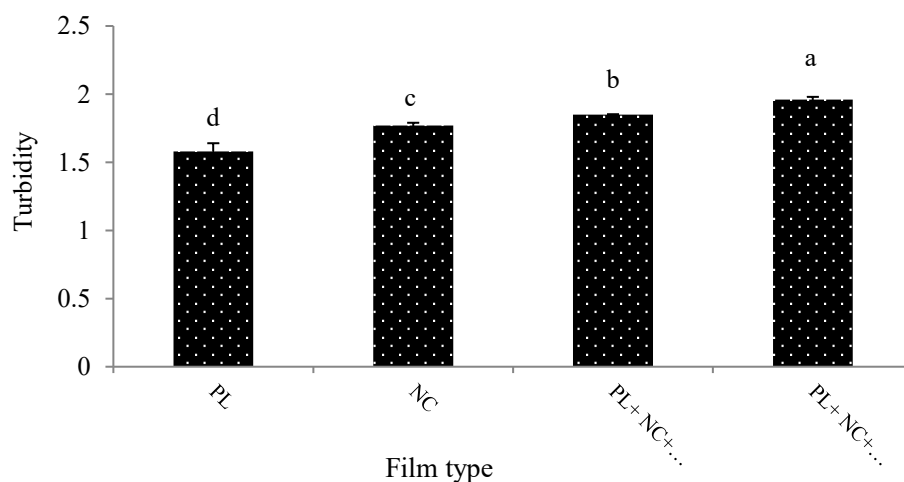


Fig 4. Turbidity of nano-composite film along with hydrolyzed melon seed protein

۳-۵- بررسی خاصیت مکانیکی فیلم‌ها

استحکام کششی فیلم‌ها به عنوان حداکثر تنش لازم برای پاره شدن فیلم طی آزمون کششی تعریف می‌شود. قدرت کششی یکی از معیارهای مهم مکانیکی فیلم است که با تقسیم نتایج مربوط به مقاومت کششی با نتایج میزان طول فیلم در لحظه پاره شدن به طول فیلم در اثر اعمال فشار کششی است که با واحد مگا پاسکال بیان شده است این ویژگیهای مهم در کاربردهای بسته‌بندی مواد غذایی و دیگر مصارف صنعتی فیلم‌ها اهمیت دارد [۲۹]. با افزودن نانورس مقاومت کششی فیلم‌ها افزایش (نمودار ۵) و حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی (نمودار ۶) کاهش یافت ($P < 0.05$). ممکن است به دلیل توزیع همگن نانوذرات رس در پلی اتیلن باشد به طوری که نانورس در این غلظت‌ها به عنوان یک پرکننده موجب تقویت خواص پلیمر می‌شود [۲۹]. اما افزودن

پروتئین هیدرولیز شده سبب کاهش استحکام کششی و افزایش حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی شد ($P < 0.05$). کاهش در استحکام کششی برای فیلم‌های پلی اتیلن-نانورس حاوی پروتئین هیدرولیز شده نشان‌دهنده شکنندگی این فیلم‌ها است. این بدان معنی است که این فیلم‌ها نسبت به فیلم بدون پروتئین، از نظر مکانیکی ضعیف‌تر و کم‌تر قابل تغییر شکل هستند. این رفتار را می‌توان به نحوه تعامل بین زنجیرهای پلی اتیلن و پپتیدهای کوچک حاصل از هیدرولیز پروتئین نسبت داد. احتمالاً این پپتیدها به راحتی در شبکه پروتئینی گنجانده شده و پیوندهای هیدروژنی با زنجیرهای نانوفیلم برقرار می‌کنند. این امر برای تعامل بین زنجیرها مضر است و منجر به کاهش چگالی تعامل‌های بین‌مولکولی و افزایش حجم آزاد بین زنجیرهای نانو فیلم می‌شود. در نتیجه، مقاومت کششی فیلم‌های پلی اتیلن-نانورس حاوی پروتئین کاهش می‌یابد [۳۱].

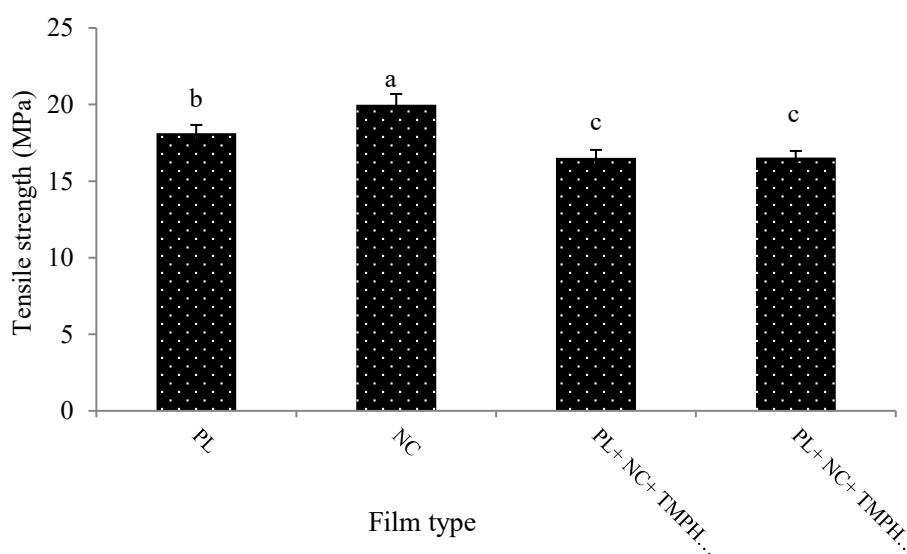


Fig 5. Tensile strength of nano-composite film along with hydrolyzed melon seed protein

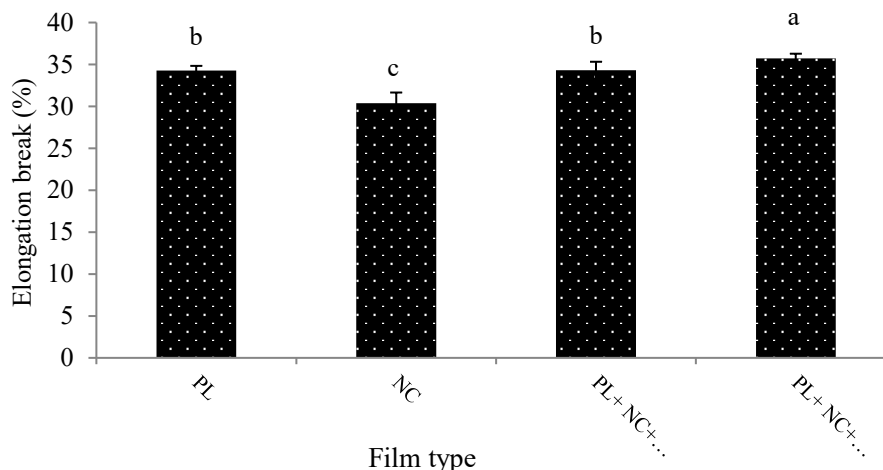


Fig 6. Elongation breaks of nano-composite film along with hydrolyzed melon seed protein

افزایش غلظت این پروتئین‌ها، تاثیر مثبتی بر مهار رادیکال های آزاد DPPH دارد ($P < 0.05$). فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده به دلایل متعددی نظیر توانایی آن‌ها در حذف رادیکال های آزاد، عمل به عنوان شلاته کننده فلزات، خاموش کننده اکسیژن و دهنده هیدروژن، و همچنین امکان جلوگیری از نفوذ آغازگرهای اکسیداسیون چربی از طریق تشکیل لایه‌ای در اطراف قطرات روغن است. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که پروتئین های هیدرولیز شده و پپتیدهای زیست فعال گیاهی در شرایط آزمایشگاهی، دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند [۱۳، ۳۳، ۳۴]. همچنین بر اساس مطالعه Pirveisi و همکاران (۲۰۲۳) فیلم نانو سلولز حاوی پروتئین هیدرولیز شده دانه کاج، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH را دارد که با افزایش غلظت پروتئین، این توانایی نیز افزایش می یابد [۳۵].

۳-۶- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی معمولاً از طریق تکنیک‌های مختلفی انجام می‌شود که به طور مستقیم یا غیرمستقیم، سرعت و میزان تشکیل یا تخریب رادیکال‌های آزاد را اندازه‌گیری می‌کنند. به طور دقیق‌تر، آزمایش‌های مختلفی که برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده می‌شوند، بر این واقعیت استوارند که اکسیداسیون به طور گسترده توسط کنترل رادیکال‌های آزاد آغازگر یا پیشرونده در فرآیند اکسیداسیون خودبه‌خودی مهار می‌شود. بنابراین، این آزمایش‌ها بر پایش توانایی افزودنی‌ها برای جذب رادیکال یا جلوگیری از تشکیل رادیکال متمرکز هستند، نه پایش خود فرآیند اکسیداسیون [۳۲]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد (نمودار ۷) که افزودن پروتئین هیدرولیز شده به فیلم‌ها، خاصیت آنتی اکسیدانی آن‌ها را بهبود می‌بخشد.

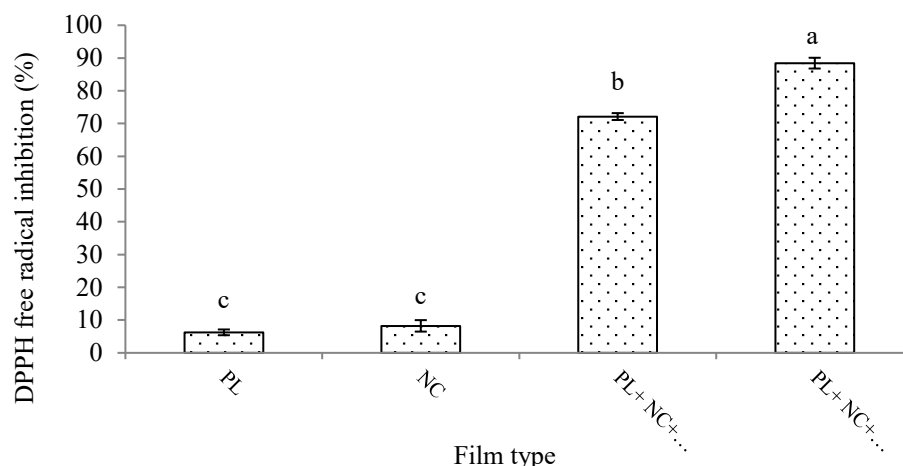


Fig 7. Antioxidant activity of nano-composite film along with hydrolyzed melon seed protein

شیرشیاکلی بود. گزارش های مختلف نشان داده اند که باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی در برابر ترکیبات ضد باکتریایی، حساسیت بیشتری دارند. این حساسیت بالای باکتری های گرم مثبت به دلیل عدم وجود دیواره سلولی لیپوپلی ساکاریدی است که در باکتری های گرم منفی ممکن است از نفوذ ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری کند. مقاومت باکتری های گرم منفی در برابر مواد ضد باکتریایی با سطح هیدروفیلی غشای خارجی باکتری ها که غنی از مولکول های لیپوپلی ساکارید است و یک حائل در برابر نفوذ مولکول های آنتی بیوتیکی مختلف ایجاد می کند، در ارتباط است. همچنین آنزیم های فضای پری پلاسمی در این باکتری ها قادر به شکستن مولکول های وارد شده از خارج هستند. باکتری های گرم مثبت چنین غشای خارجی در ساختار دیواره سلولی ندارند [۳۷].

۳-۷- بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم ها

بر اساس نتایج فیلم پلی اتیلن و پلی اتیلن-نانورس خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی نداشت (نمودار ۸). اما با افزودن پروتئین هیدرولیز شده خاصیت ضد میکروبی فیلم به میزان قابل توجهی افزایش یافت. به طوری که بیشترین میزان خاصیت ضد میکروبی فیلم ها علیه هر دو باکتری در فیلم پلی اتیلن + نانورس + پروتئین هیدرولیز شده ۱٪ مشاهده شد ($P < 0.05$). پپتیدهای ضد میکروبی موجود در این فرمول می توانند با نفوذ به غشای سلولی باکتری، باعث اختلال در محتویات سلولی شده و فرآیندهای مهمی مانند همانندسازی، رونویسی و ترجمه را مختل کنند. این مکانیسم موجب کاهش رشد و در نهایت مرگ باکتری ها می شود [۲۶، ۳۶، ۳۷]. همچنین خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری گرم مثبت / استافیلوکوکوس / اروئوس بالاتر از باکتری گرم منفی

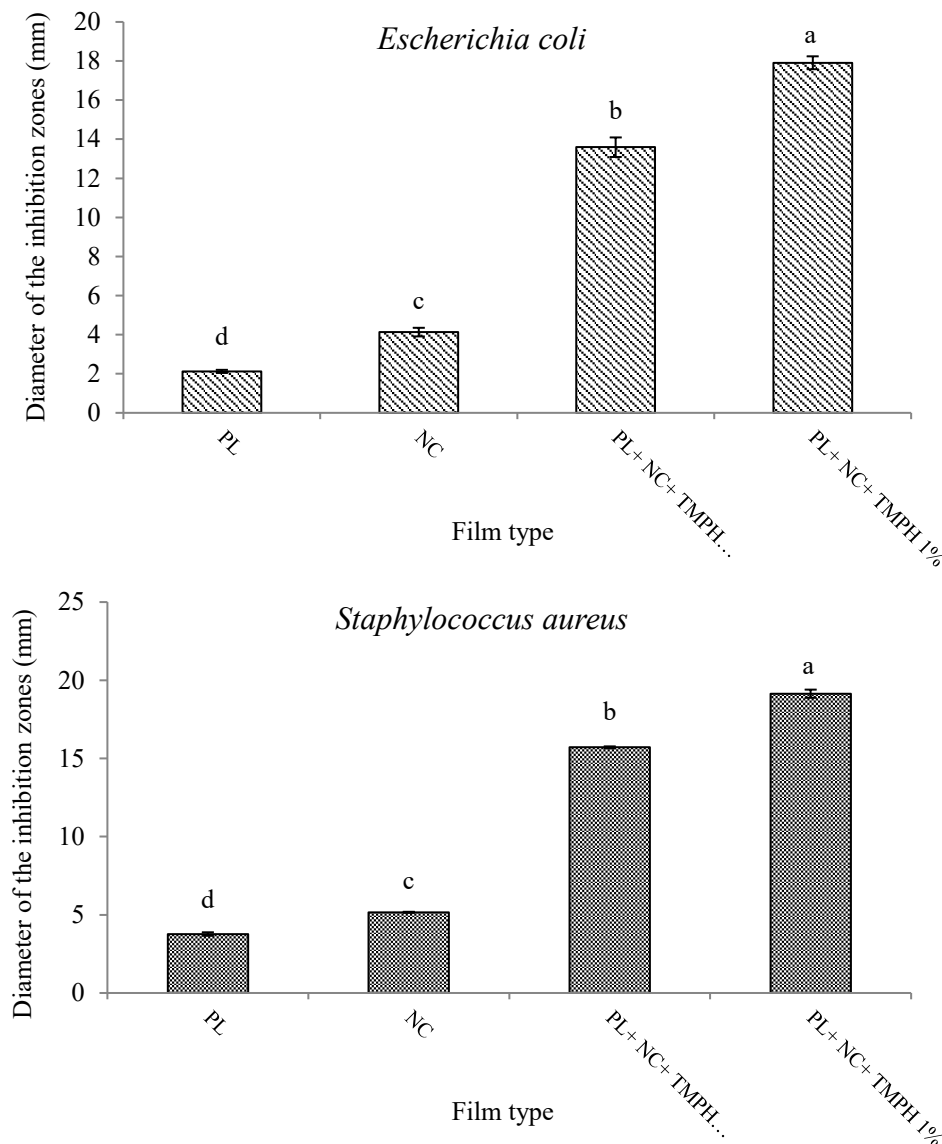


Fig 8: Influence of hydrolyzed melon seed protein on the antimicrobial activity of nano-composite film

دادند. این نوآوری می‌تواند به تولید فیلم‌های مناسب برای بسته‌بندی مواد غذایی منجر شود که دارای ویژگی‌های مطلوب و سازگار با محیط زیست هستند. در مجموع، پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه می‌تواند به عنوان یک افزودنی مؤثر در فیلم‌های پلی‌اتیلن نانورس مورد استفاده قرار گیرد.

۴- نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که افزودن پروتئین هیدرولیز شده دانه خربزه ترکمنی به فیلم‌های نانوکامپوزیتی بر پایه پلی‌اتیلن و نانورس، تأثیر مثبتی بر خواص مکانیکی، فیزیکی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این فیلم‌ها دارد. با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده ۱ تا درصد، فیلم‌ها عملکرد بهتری در زمینه خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی نشان

۵- منابع

[1] Hamzeh-Kalkenari, S., Bodaghi, H. & Ghasimi Hagh, Z. (2021). Improving postharvest quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*)

using polyethylene-clay nanocomposite packing and *Echinophora cinerea* essential oil coating.

- Iranian Food Science and Technology Research Journal, 17(2): 315-328.
- [2] Abdollahi, M., Rezaei, M. & Farzi, G. (2012). Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 847-853.
- [3] Nemati, M., Shahosseini, S. R., & Ariaii, P. (2024). Review of fish protein hydrolysates: production methods, antioxidant and antimicrobial activity and nanoencapsulation. *Food Science and Biotechnology*, 33, 1789-1803.
- [4] Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S. G., Modanlow, M., Gholami, S., & Nemati, M. (2013). Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1718-1726.
- [5] Shahosseini, S. R., Javadian, S. R., & Safari, R. (2022). Effects of molecular weights-assisted enzymatic hydrolysis on antioxidant and anticancer activities of Liza abu muscle protein hydrolysates. *International Journal for Peptide Research & Therapeutics*, 28, 72.
- [6] Nemati, M., Javadian, S. R., Ovissipour, M., & Keshavarz, M. (2012). A study on the properties of alosa (*Alosa caspia*) by-products protein hydrolysates using commercial enzymes. *World Applied Sciences Journal*, 18(7), 950-956.
- [7] Nemati, M., Javadian, S. R., & Keshavarz, M. (2019). Production of protein hydrolysates from Caspian shad (*Alosa caspia*) by-products using Alcalase enzyme. *Journal of Marine Biology*, 11(43), 87-95.
- [8] Alvand, M., sadeghi mahoonak, A., ghorbani, M., shahiri tabarestani, H., & kaveh, S. (2022). Comparison of the Antioxidant Properties of Hydrolyzed Turkmen Melon Seed Protein by Pancreatin and Alcalase. *Food Engineering Research*, 21(2): 75-90.
- [9] Zeb, A. (2016). Phenolic profile and antioxidant activity of Melon (*Cucumis melo* L.) seeds from Pakistan. *Foods*. 5: 67-74.
- [10] Shahidi, F., Kochaki, A., & Baghaei, H. (2006). Investigation of some chemical compounds and physical properties of watermelon, squash, cantaloupe and melon seeds native to Iran and determination of chemical properties of their oil. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 20(5): 421-411.
- [11] Feyzi, S., Varidi, M., Zareb, F. & Varidi, M.J. (2015). Extraction Optimization of Fenugreek Seed Protein. *Science of Food and Agriculture*. 15: 3165-3176.
- [12] AOAC. (2005). Official Method of Analysis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.
- [13] Mirzapour, Z., Ariaii, P., Safari, R., et al. (2022). Evaluation the effect hydrolyzed canola meal protein with composite coating on physicochemical and sensory properties of chicken nugget. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 28, 97.
- [14] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161-166.
- [15] ASTM. (1996). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-91. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material.
- [16] Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- [17] Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K., & Candoğan, K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*, 86(2), 283-288.
- [18] Liaset, B., Nortvedt, R., Lied, E., & Espe, M. (2002). Studies on the nitrogen recovery in enzymatic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex™ protease. *Process Biochemistry*, 37(11), 1263-1269.
- [19] Islam M, Huang Y, Islam S, Fan B, Tong L, & Wang F. (2022) Influence of the Degree of Hydrolysis on Functional Properties and Antioxidant Activity of Enzymatic Soybean Protein Hydrolysates. *Molecules*. 19;27(18):6110.
- [20] López-García G, Dublan-García O, Arizmendi-Cotero D, & Gómez Oliván LM. (2022). Antioxidant and Antimicrobial Peptides Derived from Food Proteins. *Molecules*. 16;27(4):1343.
- [21] Mallek-Ayadi S, Bahloul N, & Kechaou N. (2019). Phytochemical profile, nutraceutical potential and functional properties of *Cucumis melo* L. seeds. *J Sci Food Agric*. 99:1294-1301.

- [22] Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization; United Nations University. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation; FAO: Rome, Italy; WHO: Geneva, Switzerland, 2007.
- [23] Gao, Y., Wang, Y., Yan, Z., & Li, J. (2021). Ultrasonic-alkali method for synergistic breakdown of excess sludge for protein extraction, *Cleaner Prod.*, 295, 126288.
- [24] Jiang, Y. F., Li, Y. X., Chai, Z., & Leng, X. J. (2010). Study of the physical properties of whey protein isolate and gelatin composite films. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 5100-5108.
- [25] Hosseini, A., & Moradinezhad, F. (2018). Effect of short-term high CO₂ treatment on quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*) at refrigerated storage. *Postharvest Biology a Technology*, 1, 37-48.
- [26] de Oliveira Filho, J.M., Rodrigues, J.M., Valadares, A.C.F., de Almeida, F.D.L., & Dyszy, F.H. (2019). Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocolloids*, 92, 267-275.
- [27] Ghasemi, Z., Alizadeh Khaled-Abad, M., Almasi, H., & Nikoo, M. (2022). Carboxymethyl cellulose based bioactive edible films with *Lactobacillus casei* and fish protein hydrolysates. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(6), 85-102.
- [28] Rhim, J.W., Wang, L.F., & Hong, S.I. (2013). Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 33(16): 327-335.
- [29] Ojagh, S. M., Vejdani Taleshmikaeil, A., Abdollahi, M. (2018) Effect of nanoclay addition on the properties of agar/fish gelatin bilayer film containing TiO₂ nanoparticles. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 14(1): 27-38.
- [30] Rhim, J. W., and Ng, P. K. 2014. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. Critical reviews in food science and nutrition, 47(4): 411-433.
- [31] Kchaou, H., Jridi, M., Benbettaieb, N., Debeaufort, F., & Nasri, M. (2020). Bioactive films based on cuttlefish (*Sepia officinalis*) skin gelatin incorporated with cuttlefish protein hydrolysates: Physicochemical characterization and antioxidant properties. *Food Packaging and Shelf Life*, 24, 100477.
- [32] Benbettaieb N, Debeaufort F, & Karbowiak T. (2019). Bioactive edible films for food applications: mechanisms of antimicrobial and antioxidant activity. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 59(21):3431-3455.
- [33] Ghanbarinia, S. H., Ariaii, P., Safari, R., & Najafian, L. (2022). The effect of hydrolyzed sesame meal protein on the quality and shelf life of hamburgers during refrigerated storage. *Animal Science Journal*, 93(1), e13729.
- [34] Mirsadeghi Darabi, D., Ariaii, P., Safari, R., & Ahmadi, M. (2022). Effect of clover sprouts protein hydrolysates as an egg substitute on physicochemical and sensory properties of mayonnaise. *Food Science & Nutrition*, 10, 253–263.
- [35] Pirveisi, N., Ariaii, P., Esmaceli, M., Lotfi, L., Kaboosi, H., & Afshar Sedigh, R. (2023). Investigating active packaging based on cellulose nanofibers oxidized by TEMPO method containing hydrolyzed protein obtained from pine tree fruit on the quality of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during the storage period. *Food Measurement*, 17, 3323-3337.
- [36] Tkaczewska, J. (2020). Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings - A review. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 298-311.
- [37] Ghafari, E., Ariaii, P., & Bagheri, R. (2024). Investigating the effect of nanochitosan-Iranian tragacanth gum composite film along with *Eryngium campestre* essential oil on the shelf life of goat meat. *Food Measurement*, 18, 1543-1558.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Study of the Effect of Hydrolyzed Protein from Turkmen Melon Seeds on Some Properties of Polyethylene/Nanoclay Nanocomposite Films

Gelareh Izadi Amoli¹, Peiman Ariaii^{1*}, Mahro Esmacili¹, Roya Bagheri¹

¹-Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2024/9/16 Accepted: 2024/11/10	Due to increasing concerns regarding the negative impacts of non-biodegradable packaging materials, the use of biodegradable packaging solutions is gaining significant attention. This study aims to evaluate the effects of hydrolyzed protein from Turkmen melon seeds utilizing the enzyme Protamax at concentrations of 0.5% and 1% (w/v) on the mechanical properties as well as the physicochemical, antioxidant, and antimicrobial characteristics of polyethylene/nanoclay-based nanocomposite films. The results demonstrate that the hydrolyzed protein has a high protein content and a notable degree of hydrolysis. Furthermore, this protein is rich in hydrophobic amino acids (35.26%) and aromatic amino acids (19.67%). The incorporation of nanoclay into polyethylene films resulted in reduced moisture content and water vapor permeability (WVP), along with increased thickness and opacity. In contrast, the addition of hydrolyzed protein led to increases in the thickness, moisture, and WVP of the films while decreasing opacity ($p < 0.05$). It was also observed that the tensile strength of the films decreased, while the elongation at break significantly increased with the addition of hydrolyzed protein. The hydrolyzed protein from melon seeds exhibited considerable DPPH free radical scavenging activity, with higher concentrations positively influencing this property ($p < 0.05$). Additionally, these films displayed stronger antimicrobial properties against pathogenic bacteria, notably showing greater efficacy against the gram-positive bacterium <i>Staphylococcus aureus</i> compared to the gram-negative bacterium <i>Escherichia coli</i>. The nanocomposite film containing 1% hydrolyzed protein demonstrated the highest antioxidant and antimicrobial activity ($p < 0.05$). Overall, the use of hydrolyzed protein from melon seeds in the preparation of nanocomposite films can lead to the development of suitable packaging materials for food applications. These films exhibit desirable physicochemical and mechanical properties, alongside effective antioxidant and antimicrobial characteristics.
Keywords: Pathogenic bacteria, Bioactive peptides, Mechanical properties, Edible films, Enzymatic hydrolysis.	
DOI: 10.22034/FSCT.22.165.118. *Corresponding Author E- p.aryaye@yahoo.com	