



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ویژگی‌های فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر- آلژینات سدیم حاوی عصاره های شنگ (*Graminifolius*)

Tragopogon و نعنای فلفلی (*Mentha piperita*) با استفاده از طرح mixture

حامد حسن‌زاده^۱، الهام احمدی^{۲*}، حمیرا آسال^۳، محمدیار حسینی^{۴*}، زهرا کاویانی^۳

^۱ - استادیار علوم و صنایع غذایی، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۲ - دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۳ - دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۴ - دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم و فناوری‌های بین رشته‌ای، دانشگاه بناب، بناب، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۶

تاریخ داوری: ۱۴۰۴/۰۱/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۱۴

کلمات کلیدی:

فیلم،

آلژینات سدیم،

پروتئین آب پنیر،

نعناع،

شنگ

DOI: 10.48311/fsct.2026.84010.0

* مسئول مکاتبات:

ahmadielham674@gmail.com

m.hosseini@ubonab.ac.ir

فیلم‌های خوراکی به‌عنوان مواد جدید تجزیه‌پذیر در بسته‌بندی مواد غذایی، نقش مهمی در رفع نگرانی‌های مصرف‌کنندگان در مورد آلودگی محیط زیست و آلودگی مواد غذایی دارند. در این مطالعه، دو تیمار عصاره‌های شنگ و نعنای فلفلی بر پایه آب پنیر-آلژینات سدیم با غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳/۲۵ درصد) بر روی ویژگی‌های فیزیکی (حلالیت، نفوذپذیری به بخار، ضخامت و کدورت)، مکانیکی (ازدیاد طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ)، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی تهیه شدند. طراحی آزمایشات، آنالیز واریانس و همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Design Expert 13 انجام گرفت. تمامی آزمایشات در سه تکرار (n=3) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی انجام شد. بالاترین میزان کدورت مربوط به غلظت (۱٪) عصاره نعنای و کمترین کدورت در همین غلظت مربوط به عصاره شنگ بود. با افزایش غلظت نعنای تا (۰/۷۵٪) نفوذپذیری افزایش یافت و به مقدار ۹ گرم بر متر ثانیه پاسکال افزایش یافت. بالاترین میزان کشش پذیری و مدول یانگ مربوط به پروتئین آب پنیر با غلظت (۰/۷۵٪) و سدیم آلژینات با غلظت (۰/۲۵٪) به ترتیب ۱۷ و ۸۵ مگا پاسکال بود. خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم خوراکی با استفاده از رادیکال‌های DPPH معنی‌دار بود ($p < 0.05$) و با افزایش غلظت شنگ تا ۱٪ افزایش یافت. نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی فیلم با کمک روش دیسک‌های انتشاری نشان داد که بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت (۰/۵-۰/۵٪) پروتئین آب پنیر- سدیم آلژینات و نعنای فلفلی - شنگ مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* با متوسط قطر ۲۴mm بود. سپس در غلظت (۰/۷۵٪) و (۱٪) به ترتیب مربوط به عصاره نعنای و پروتئین آب پنیر مربوط به *شرشیاکلی* با متوسط قطر هاله ۲۰mm بود. نتایج کلی نشان داد که افزودن اسانس نعنای فلفلی - شنگ باعث تولید فیلم‌هایی گردید که علاوه بر مهار رشد و تکثیر باکتری‌ها، دارای استحکام همچنین قابلیت استفاده در مواد غذایی فساد پذیر را دارد.

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، دلیل اصلی تغییر در فناوری بسته‌بندی مواد غذایی، افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهایی است که کمترین فرآوری را پشت سر گذاشته‌اند [۱]. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی باید از ویژگی‌های لازم برای بسته‌بندی ماده غذایی، شامل اثر ممانعت‌کنندگی در برابر نفوذ رطوبت، بهبود رنگ، ظاهر، خصوصیات مکانیکی مطلوب و غیرسمی بودن، برخوردار باشند. این خصوصیات به نوع ماده غذایی مورد استفاده، نحوه شکل‌گیری و موارد کاربرد آن‌ها بستگی دارد [۲]. یکی از فناوری‌های مدرن بسته‌بندی، بسته‌بندی فعال مبتنی بر پلیمرهای زیستی است که راهی پایدار و سازگار با محیط زیست برای بهبود ماندگاری مواد غذایی ارائه می‌دهد [۳] و به‌عنوان یکی از راه‌های اساسی کنترل تغییرات فیزیولوژیکی، میکروبی و فیزیکوشیمیایی در مواد غذایی مطرح می‌شود [۴]. برای تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر، از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، چربی‌ها یا مخلوطی از آن‌ها استفاده می‌شود [۵]. آلژینات، یک پلی‌ساکارید خطی استخراج‌شده از جلبک قهوه‌ای است که از واحدهای α -L-گلوکونیک اسید (۱-۳) و β -D-مانورونیک اسید (۱-۴) تشکیل شده است. این بیوپلیمر به‌واسطه ویژگی‌های کلونیدی منحصربه‌فرد خود، شامل ضخامت، پایداری، تشکیل فیلم، تولید ژل و پایداری امولسیون، پتانسیل بالایی برای تشکیل فیلم و پوشش دارد [۶]. پژوهش‌های متعدد داخلی و خارجی بر نتایج مثبت اثرات نگهداری این ماده تأکید داشته‌اند [۷-۱۴]. در همین راستا، با توجه به اینکه فیلم‌های پلی‌ساکاریدی مانند سدیم آلژینات مقاومت کششی بهتری در مقایسه با فیلم‌های پروتئینی دارند، در حالی که فیلم‌های پروتئینی مانند پروتئین آب پنیر افزایش طول بیشتری نسبت به فیلم‌های پلی‌ساکاریدی دارند، می‌توان با ترکیب آلژینات سدیم با پروتئین آب پنیر، خواص این فیلم را تقویت کرد [۱۵]. چندین پلی‌ساکارید و مشتقات آن‌ها، شامل نشاسته، سلولز، آگار، آلژینات، کاراگینان، کیتوزان، پکتین، ژلان، پولولان و

صمغ‌ها مانند صمغ عربی، صمغ گوار و صمغ زانتان، معمولاً در فیلم‌های پروتئینی گنجانده می‌شوند [۱۶]. خواص مکانیکی و بازدارنده فیلم‌های پروتئین آب پنیر، نسبت به پلی‌ساکاریدها توجه بیشتری را جلب می‌کند، زیرا فیلم‌های مبتنی بر پروتئین بهتر عمل می‌کنند [۱۷]. کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) یکی از محصولات حاصل از آب پنیر است که به دلیل دارا بودن خصوصیات مانند قابلیت هضم، حلالیت بالا، ایجاد ویسکوزیته، قابلیت تشکیل ژل، امولسیون‌کنندگی، قابلیت زدن و تشکیل کف از ارزش بالایی برخوردار است و کاربردهای فراوانی در صنایع مختلف غذایی نظیر صنایع لبنی، نانویی، فرآورده‌های نانویی و قنادی، فرآورده‌های گوشتی و غیره دارد [۱۸]. ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) به‌عنوان ماده بسته‌بندی به شکل فیلم و همچنین در فیلم‌های چندلایه و پوشش‌ها به‌طور گسترده بررسی شده است [۱۹]. پروتئین‌های آب پنیر، علاوه بر ارزش غذایی، چندین ویژگی فیزیکی قابل توجه مانند حلالیت در آب و قابلیت امولسیون‌سازی در فیلم‌های خوراکی دارند [۱۷]. در دسترس بودن مازاد، علاقه قابل توجهی در صنایع بسته‌بندی ایجاد می‌کند و به آن‌ها اجازه می‌دهد تا به‌عنوان فیلم یا پوشش روی سطوح مواد غذایی، برای محافظت از مواد غذایی در برابر تخریب مواد شیمیایی یا میکروارگانیسم‌ها استفاده شوند و در نتیجه عمر مفید را افزایش دهند و کیفیت بالای محصول را حفظ کنند. شواهد در مورد فعالیت ضد میکروبی عوامل زیست فعال موجود در فیلم‌های پروتئین آب پنیر کمیاب است و عمدتاً در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش انتشار فیلم دیسک آگار در اسانس‌های پونه کوهی و رزماری ارزیابی شده است [۲۰، ۲۱]. تاکنون تعداد کمی از مطالعات بر تأثیر عصاره‌های گیاهی غنی از پلی‌فنل بر ویژگی‌های فیلم‌های ساخته‌شده از منابع مختلف پروتئین متمرکز شده‌اند. پروتئین آب پنیر-سدیم آلژینات اغلب به‌عنوان حامل‌های آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی برای ایجاد بسته‌بندی فعال (AP) در نظر گرفته می‌شوند. با این حال، مواد به‌دست‌آمده هنوز به‌طور سیستماتیک برای نشان دادن مزایا و معایب بالقوه‌شان مقایسه

نشده‌اند. پلی‌فنل‌ها می‌توانند با پروتئین‌های مختلف از طریق پیوندهای برگشت‌پذیر ضعیف، مانند پیوند هیدروژنی، پیوند آب‌گریز و نیروهای واندروالس، و برهم‌کنش‌های برگشت‌ناپذیر، از طریق تشکیل پیوندهای کووالانسی در نتیجه اکسیداسیون و فرایندهای افزودن هسته‌دوست، تعامل متفاوتی داشته باشند [۲۲].

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* متعلق به خانواده بازدانگان است و به‌عنوان گیاه سالم شناخته می‌شود. کل گیاه دارای خواص مفیدی است که به‌صورت گسترده در صنعت آرایشی-بهداشتی، داروسازی و صنایع غذایی کاربرد دارد. ترکیبات شیمیایی فعال نعناع فلفلی شامل منوترپن‌ها، کافنیک اسیدها، فالونوئیدها، تانن‌ها و روغن‌های فعال مانند منتول است. ترکیبات دیگر نعناع فلفلی شامل پلی‌فنل‌های پلیمریزه‌شده، کاروتن‌ها، توکوفرول‌ها، بتائین و کولین است [۲۳]. اختر و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای نشان دادند که عصاره طبیعی گیاهان، رزماری و نعناع، یک افزودنی مفید به فیلم‌های خوراکی، پکتین، کیتوزان و پلیمرهای نشاسته است که باعث افزایش خواص عملکردی آن‌ها می‌شود و بالاترین فعالیت بازدارندگی را در برابر همه سویه‌های بیماری‌زا، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیاکلی و لیستریا مونوسیتوژنز، نشان داد [۲۴]. در مطالعه‌ای موسویان و همکاران (۲۰۱۷) اسانس نعناع فلفلی را در فیلم نشاسته کاساوا استفاده کردند و اعلام کردند افزودن اسانس باعث کاهش ویژگی آبدوستی فیلم و افزایش مقاومت فیلم در برابر رطوبت و بخار شد [۲۵].

گیاه شنگ با نام علمی *Tragopogon graminifolius* از خانواده *Asteraceae*، کاسنی، است. ترکیبات شناسایی‌شده در این گیاهان مختلف در جنس، فلاونوئیدها، ترپن‌ها، ساپونین‌ها، بنزیل و هیدروایزوکومارین، ترکیبات فنلی و استرول‌ها هستند که بسیاری از آن‌ها در آن وجود داشته است [۲۶]. شهرکی و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خواص ضد میکروبی عصاره‌های متانولی زرشک وحشی (*Berberis integerrima*) و شنگ (*Tragopogon*)

graminifolius) پرداختند. یافته‌ها نشان داد عصاره زرشک وحشی و شنگ دارای اثرات ضدباکتریایی متفاوتی بودند؛ به‌طوری‌که باسیلوس سوبتیلیس حساس‌ترین باکتری و سالمونلا تیفی‌موریوم مقاوم‌ترین باکتری به عصاره‌ها تعیین شدند. همچنین عصاره زرشک وحشی اثر مهاری بیشتری روی میکروارگانیزم‌های مورد بررسی نشان داد. عصاره گیاه زرشک وحشی برتری قابل ملاحظه‌ای در میزان ترکیبات فنلی، خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی در مقایسه با عصاره گیاه شنگ داشت [۲۷].

کیتوزان، ژلاتین، پروتئین‌های آب‌کافتی، کازئینات سدیم، آلژینات سدیم، پروتئین آب پنیر، پروتئین سویا و غیره از جمله پوشش‌های طبیعی هستند که در ترکیب با اسانس‌های گیاهی، ویژگی‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تشدید شده و می‌توانند سرعت فساد را در تمامی فرآورده‌ها در شرایط نگهداری کاهش دهند. این فیلم‌های خوراکی، محلول در آب بوده و به حفظ ویژگی‌های کیفی محصول از جمله عطر، طعم، مزه، رنگ و ارزش غذایی، حفظ ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه ضروری بدن، کمک می‌کنند. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر عصاره شنگ-نعناع فلفلی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر-سدیم آلژینات است.

۲- مواد و روش‌ها

مواد

پروتئین آب پنیر، آلژینات سدیم و مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت مرک بود. گیاه شنگ (*Tragopogon graminifolius*) و نعناع از دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام تهیه شد.

استخراج عصاره آبی

استخراج عصاره‌ها به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس عصاره جمع‌آوری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در شیشه تیره نگهداری شد.

تهیه فیلم ترکیبی

محلول‌های پروتئین آب پنیر و سدیم آلزینات طبق جدول ۱ به صورت جداگانه تهیه شدند. ابتدا محلول پروتئین آب پنیر (w/v) در آب مقطر ۸۰ درجه سانتی‌گراد تهیه و هم‌زدن آن به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. به محلول حاصل، گلیسرول (۳۰ درصد وزنی/وزنی پایه فیلم) اضافه شد و با دور ۲۴۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه هم‌وزن شد، مدل IKA T25 digital Ultra Turrax آلمان. سپس محلول سدیم آلزینات (w/v) در آب مقطر تهیه گردید و ۰/۵ گرم گلیسرول اضافه و تا دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۴۰۰ rpm هم‌وزن شد. از دو محلول تهیه شده، پروتئین آب پنیر-سدیم آلزینات، مخلوط و pH تا ۵/۵-۵ تنظیم شد. به محلول حاصل ۰/۱ درصد توین ۸۰ اضافه و به مدت ۴ دقیقه هم‌وزن گردید. در مرحله بعد، محلول حاصل خنک شد و عصاره‌های شنگ-نعناع فلفلی طبق جدول ۱ به محلول اضافه و به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد. نهایتاً نمونه‌ها در پتری‌دیش پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتی‌متر ریخته و زیر هود تحت خلا به مدت یک ساعت نگهداری و به آون ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۰ ساعت نمونه‌ها خشک شدند و در دسیکاتور جهت انجام آزمایشات نگهداری شدند [۲۸].

آزمون‌ها

اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

تعیین ضخامت فیلم‌ها برای آزمایشات مکانیکی، نفوذپذیری به بخار آب و خواص نوری امری ضروری است. ضخامت فیلم‌های تولیدی توسط میکرومتر (ریزنسج) با دقت نزدیک به ۰/۰۰۱ میلی‌متر و در ۱۰ نقطه مختلف از هر نمونه اندازه‌گیری شد و در نهایت مقدار میانگین ضخامت محاسبه و در تعیین قدرت کششی، نفوذپذیری به بخار آب و کدورت استفاده گردید [۲۹].

حلالیت

نمونه‌های فیلم (۲ سانتی‌متر × ۲ سانتی‌متر) به مدت یک شب در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد توسط آون خشک و توزین

شدند (W1). سپس نمونه‌ها در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور شدند. نمونه‌های فیلم بازیابی شد، در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد برای محاسبه وزن نهایی ماده خشک (W2) خشک شدند. حلالیت در آب نمونه‌های فیلم با توجه به رابطه زیر تعیین شد:

$$\text{حلالیت} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100$$

که در آن W1 وزن خشک اولیه و W2 وزن خشک نهایی می‌باشند. [30]

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (تراوش‌پذیری)

نفوذپذیری نسبت به بخار آب به روش وزن‌سنجی انجام شد [۳۱]. در یک ظرف ۱۴ میلی‌لیتری، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم‌های مورد بررسی با مساحت ۱/۵ سانتی‌متر مربع درب‌بندی شد. بطری درب‌بندی‌شده ابتدا توزین گردید و در محفظه دارای سیلیکاژل با میزان رطوبت نسبی و دمای مشخص قرار گرفت. هر ۱۲ ساعت و به مدت ۳ روز توزین ظرف انجام شد. سپس نمودار تغییرات وزن ظرف در برابر زمان رسم شد. شیب آن محاسبه و میزان نفوذپذیری نسبت به رطوبت با فرمول زیر محاسبه شد [32]:

$$WVP (gm^{-1}pa^{-1}s^{-1}) = A \times t \times \Delta p \times W \times X$$

W میزان اختلاف وزن بطری، X ضخامت فیلم، A مساحت فیلم (m^2)، t زمان بر حسب ثانیه و Δp اختلاف فشار بخار اتمسفر دو سمت فیلم، ظرف حاوی آب خالص و محفظه دارای سیلیکاژل است.

اندازه‌گیری ویژگی‌های نوری

برای تعیین ویژگی‌های نوری فیلم‌ها از دستگاه فوتومتر full spectra استفاده شد. به این منظور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۴۰×۹ میلی‌متر بریده شده و داخل سلول اسپکتوفوتومتر قرار گرفتند. یک نمونه سلول خالی نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان عبور نور در طول موج‌های مختلف و همچنین جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد. از فرمول زیر برای اندازه‌گیری کدورت استفاده شد [۳۳]:

کدورت فیلم=ضخامت فیلم×میزان جذب در ۵۰۰ نانومتر
رکدورت فیلم=ضخامت فیلم×میزان جذب در ۵۰۰ نانومتر
اندازه‌گیری خواص مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم‌ها شامل قدرت کششی (مگاپاسکال)، افزایش طول تا نقطه شکست (درصد) و مدول یانگ (مگاپاسکال) می‌باشد. این ویژگی‌ها بر اساس استاندارد ASTM-D882 و با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (TA-Plus, England) محاسبه شد [۳۴]. ابتدا فیلم‌ها به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر بریده شدند و ضخامت در ۱۰ نقطه محاسبه گردید. فیلم‌ها به مدت ۳ روز در دسیکاتور حاوی محلول منیزیم نیتрат با رطوبت ۵۵ درصد و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشروط شدند. سپس بین دو فک دستگاه بافت‌سنج با فاصله اولیه ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه قرار داده شدند و ویژگی‌های مکانیکی شامل قدرت کششی، درصد افزایش طول تا نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) و همچنین مدول یانگ بر اساس آزمون انعطاف‌پذیری میله پایه‌دار محاسبه گردید که نشان‌دهنده سفتی محصول در محدوده الاستیک خطی است [۳۳].

خواص آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها توسط تغییر رنگ رادیکال DPPH از بنفش به هیدرازین‌های زردرنگ اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۳۰ میلی‌گرم از هر فیلم در نسبت‌های برابر آب مقطر و متانول (نسبت ۳ به ۳) حل شد. پس از حل شدن تمام فیلم‌ها، به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱ شب استراحت) و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از قسمت رویی محلول سانتریفوژ شده هر فیلم با

۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار متانولی DPPH مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب هر یک در ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (AS). به‌عنوان شاهد، ۱ میلی‌لیتر از محلول آب و متانول (۳ میلی‌لیتر آب مقطر + ۳ میلی‌لیتر متانول) با ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار متانولی DPPH به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور (Memmert آلمان) در دمای اتاق نگهداری شد و جذب آن در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) اندازه‌گیری شد (Ab). در نهایت فعالیت مهار رادیکال DPPH مطابق معادله زیر محاسبه شد: [33]

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100$$

خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های ترکیبی

از روش انتشار دیسک آگار برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها بر روی باکتری‌های مدل اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر (10^{-6} cfu/g) از هر یک از سوسپانسیون‌های باکتریایی به صفحات محیط کشت مولر هیتون آگار تلقیح شد. سپس دیسک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر از هر فیلم برش داده شد و بر روی سطح آن گذاشته شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای 35 ± 2 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت قطر مناطق مهار رشد (میلی‌متر) برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اندازه‌گیری شد [۳۵].

تجزیه و تحلیل آماری

در این طرح جهت بررسی اثرات اصلی و همچنین اثرات متقابل دو اسانس استفاده‌شده، از طرح آزمایشی مخلوط (سیمپلکس لاتیس) استفاده شد. طراحی آزمایشات، آنالیز واریانس و همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Design Expert 13 مطابق جدول ۱ انجام شد.

جدول ۱. آزمایش‌های طراحی شده به روش سطح پاسخ و پاسخ‌های محاسبه شده در بررسی اثر متغیرهای مستقل بر ویژگی‌های فیلم‌های تولیدی

Run	A: Whey	B: Sodium Alginate	C: <i>Tragopogon graminifolius</i>	D: <i>Mentha piperita</i>
1	0	1	0	1
2	1	0	0.25	0.75
3	0.5	0.5	1	0
4	1	0	1	0
5	0.5	0.5	1	0
6	1	0	0	1
7	0	1	0.5	0.5
8	0.5	0.5	0	1
9	0.5	0.5	0	1
10	1	0	0.75	0.25
11	0.5	0.5	0.5	0.5
12	1	0	0.5	0.5
13	0.25	0.75	0.25	0.75
14	0.5	0.5	0.5	0.5
15	0.25	0.75	0.75	0.25
16	0.75	0.25	0.25	0.75
17	0	1	0.5	0.5
18	0	1	1	0
19	0.5	0.5	0.5	0.5

۳- نتایج و بحث

آزمون مکانیکی (کشش‌پذیری، مقاومت به کشش، مدول یانگ)

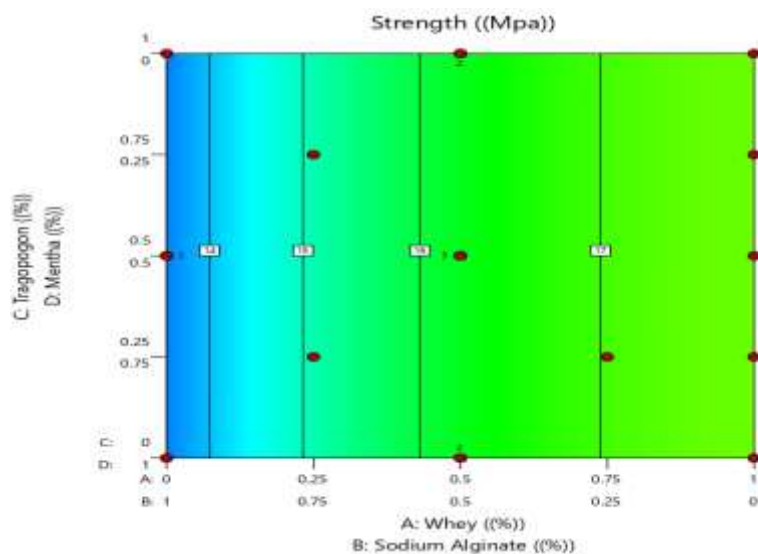
نتایج حاصل از اثرات متقابل غلظت‌های مختلف عصاره‌های شنگ-نعناع فلفلی با فیلم ترکیبی پروتئین آب پنیر-سدیم آلژینات در آزمون‌های مکانیکی در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری، اختلاف معنی‌داری در آزمون‌های افزایش طول در نقطه شکست، مقاومت کششی و مدول یانگ را در تیمارهای شکل ۱ نشان داد ($p < 0.05$). میزان افزایش طول تا نقطه شکست (کشش‌پذیری) (الف) در حضور حداکثر غلظت‌های شنگ و نعناع تأثیر معنی‌داری نداشت، ولی با افزایش غلظت پروتئین آب پنیر میزان کشش‌پذیری افزایش یافت و در غلظت ۷۵ درصد به بیشترین مقدار خود رسید. با افزایش غلظت سدیم آلژینات، کشش‌پذیری کاهش یافت و در غلظت ترکیبی ۷۵ درصد پروتئین آب پنیر و ۲۵ درصد سدیم آلژینات به بیشترین مقدار خود، یعنی ۱۷ مگاپاسکال، رسید. این می‌تواند به دلیل

افزایش پیوندهای ساختاری بهتر و هم‌جهت با ملکول پروتئین آب پنیر باشد.

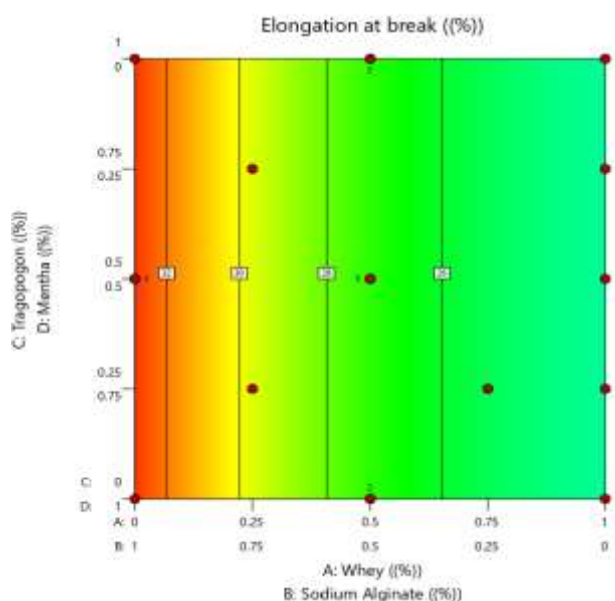
مقاومت به کشش (ب) با افزایش غلظت دو عصاره شنگ-نعناع فلفلی تأثیر معناداری در مقاومت به کشش نداشت. بیشترین مقدار آن در محیط با نسبت ترکیبی ۰/۵-۰/۵ نعناع فلفلی و عصاره شنگ مشاهده شد که به ۳۲ درصد رسید. با افزایش غلظت سدیم آلژینات تا ۱ درصد و کاهش غلظت پروتئین آب پنیر، مقاومت به کشش به بیشترین مقدار خود رسید. در شکل ۱ (ج)، رفتار مدول یانگ با افزایش غلظت پروتئین آب پنیر افزایش یافت و در غلظت ۷۵ درصد پروتئین آب پنیر و غلظت ۲۵ درصد سدیم آلژینات به بیشترین مقدار خود، ۸۵ مگاپاسکال، رسید. ولی در فیلم خوراکی سدیم آلژینات با افزایش غلظت، مدول یانگ کاهش یافت و در غلظت ۱ درصد به کمترین مقدار خود، ۶۵ درصد، رسید. پلی‌ساکاریدها به‌طور کلی با پروتئین‌ها ترکیب می‌شوند تا خواص مکانیکی و مانعی فیلم‌ها و پوشش‌ها را افزایش دهند. برهم‌کنش الکترواستاتیکی بین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها، آلژینات، کربوکسی‌متیل سلولز و پکتات، انسجام بین پلی‌پپتید پروتئین را با اتصال عرضی پروتئین‌ها

مکانیکی مؤثرند. پینروس و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی بر روی فیلم‌های بر پایه نشاسته، رفتار کاهشی مقاومت کششی و مدول ینگ را به تأثیر اسانس بر ساختار هتروژن فیلم و تعامل ضعیف بین گلیسرول و نشاسته نسبت دادند [۳۷]. ادغام نرم‌کننده‌ها امکان برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی کمتری را در بین زنجیره‌های پروتئینی فراهم می‌کند. عملکرد مکانیکی نه تنها تحت تأثیر نسبت، بلکه تحت تأثیر نوع نرم‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۸].

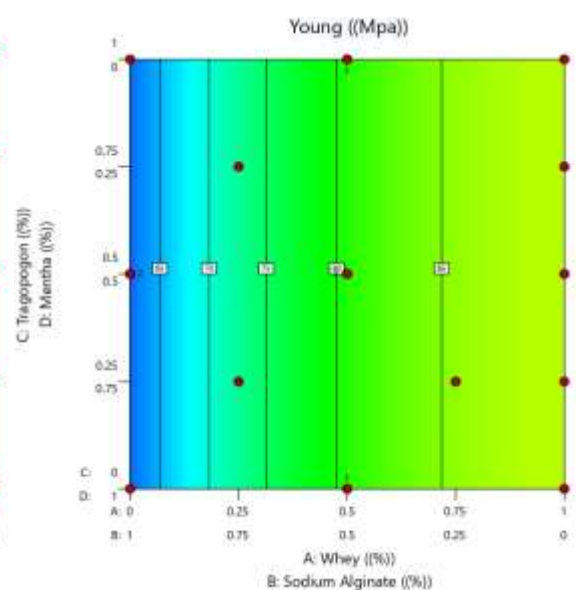
بهبود می‌بخشد [۱۷]. دو عامل به شدت بر خواص مکانیکی فیلم‌های مبتنی بر WP تأثیر می‌گذارد. اول، شبکه پروتئینی سه‌بعدی توسعه‌یافته در تهیه فیلم، یک شبکه فشرده متقابل، منجر به مواد مستحکم‌تر و محکم‌تر می‌شود که به مدول و استحکام بالاتر می‌انجامد. علاوه بر این، این ماده انعطاف‌پذیری کمتری دارد، زیرا معمولاً با کشیدگی‌های کمتر همراه است [۳۶] که با نتایج آزمایشات ما هم‌راستا بود. عوامل متعددی از جمله شکل ذرات و ساختار ملکول‌ها، توزیع ذرات و همچنین واکنش بین ذرات در خواص



(A)



(B)



(C)

Fig 1 - Interactive effects of *Graminifolius Tragopogon*, *Mentha piperita* extracts on: A) tensile strength B) elongation at break C) Young's modulus of whey protein-alginate edible films

خواص فیزیکی فیلم‌های تولیدی

کدورت و حلالیت

نتایج حاصل از کدورت و حلالیت در شکل ۲ الف و ب نشان داده شده است. کدورت معیاری جهت سنجش شفافیت فیلم‌ها است. کدورت پایین‌تر نشان‌دهنده شفافیت بیشتر می‌باشد [۳۹]. مقایسه میزان کدورت فیلم‌های تولیدی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین عصاره‌های شنگ-نعناع و پروتئین آب پنیر-سدیم آلزینات وجود نداشت ($p>0.05$). با افزایش غلظت عصاره نعناع (۱ درصد)، بیشترین کدورت به دلیل ساختار غیریکنواخت همراه با منافذ در فیلم ایجاد شد. ناهمگن بودن ذرات در اثر افزایش ضخامت، در نتیجه جذب نور توسط ترکیبات فنولی موجود در عصاره می‌باشد. ولی با افزایش غلظت عصاره شنگ (۱ درصد)، کدورت کاهش یافت. در این راستا، علیزاده ثانی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که افزودن عصاره زعفران و توت قرمز باعث کاهش قابل توجه شفافیت فیلم‌های بر پایه ژلاتین/کاپا کاراگینان شدند [۳۰]. افزودن عصاره‌ها به دلیل مهاجرت مقداری از عصاره‌ها به سطح فیلم حین خشک کردن، میزان پراکندگی نور افزایش و کدورت کمتر شد. این نتایج با نتایج داده‌ها در افزایش شفافیت در فیلم‌های ترکیبی و فیلم‌های حاوی اسانس با گزارش Ma و همکاران (۲۰۱۶)

در استفاده از امولسیون روغن سویا و اسانس دارچین در فیلم کیتوزان [۴۰] و اثر اسیدهای چرب و اسانس گیاهی برتن و همکاران (۲۰۰۵) روی فیلم‌های کامپوزیتی بر پایه ژلاتین مشابهت داشت [۴۱]. نوع فیلم خوراکی، پروتئین آب پنیر-سدیم آلزینات، نیز هیچ تأثیر معنی‌داری در کدورت نداشت. حسینی و همکاران به بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس‌های آویشن، پونه و مریم‌گلی بر ویژگی‌های فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین پرداختند که مقدار کدورت فیلم‌های حاصل معنی‌دار نبود. بیشترین کدورت به فیلم حاوی کمترین غلظت اسانس پونه اختصاص داشت [۳۳].

شکل ۲ ب اثرات متقابل غلظت‌های مختلف فیلم‌های خوراکی در مقدار حلالیت را نشان می‌دهد که مقدار آن در همه غلظت‌های عصاره‌های مورد استفاده معنی‌دار نبود ($p>0.05$). به‌طور کلی، غلظت ۲۵ درصد عصاره شنگ و غلظت ۷۵ درصد عصاره نعناع فلفلی بیشترین مقدار، ۸۰ درصد، را به خود اختصاص داد و با افزایش غلظت عصاره شنگ، حلالیت کاهش و در غلظت ۷۵ درصد به کمترین مقدار خود رسید.

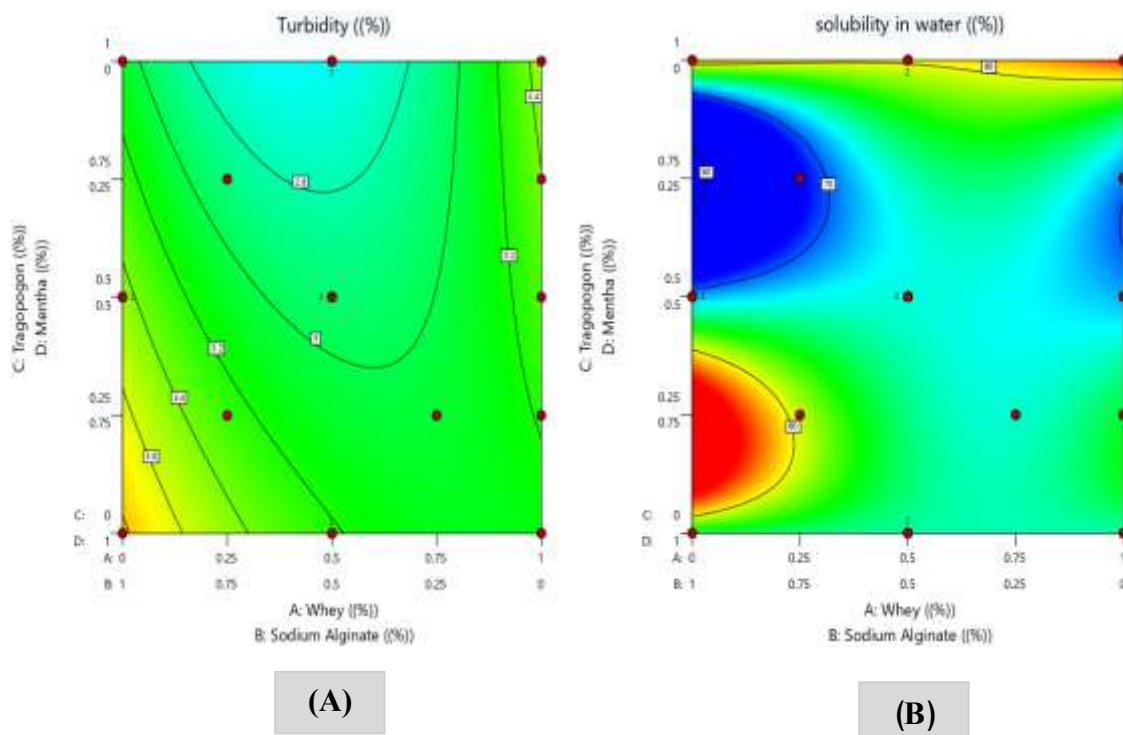


Fig 2 - Interactive effects of *Graminifolius Tragopogon*, *Mentha piperita* extracts on : A) turbidity and B) solubility " of whey protein-alginate edible films

تأثیر ماهیت پلیمر و ترکیب فیلم بر ضخامت‌های حاصل را می‌توان در نتایج حاصل از مطالعات سایر محققین نیز مشاهده کرد. فرناندز و همکاران (۲۰۰۴) از پلاستی‌سایزرهای مختلف همانند گلیسرول، اریتریتول و سوربیتول استفاده کردند و فیلم‌های ترکیبی حاصل هر کدام ضخامت متفاوتی داشتند، به‌صورتی که فیلم ترکیبی حاوی گلیسرول بیشترین ضخامت را داشت [۴۳]. بنابراین، مشاهده ضخامت‌های مختلف متأثر از ماهیت و ترکیب فیلم و نوع تعامل میان ترکیبات مختلف فیلم با منشأهای متفاوت است که ساختارهای متفاوتی را ایجاد می‌کنند.

نتایج نفوذپذیری با بخار آب نشان داد که در حضور غلظت زیاد عصاره شنگ، نفوذپذیری کاهش یافت، ولی با افزایش غلظت عصاره نعناع فلفلی تا غلظت ۷۵ درصد، نفوذپذیری به‌طور معنی‌داری به ۹ افزایش یافت ($p < 0.05$). دلیل این رفتار احتمالاً به علت وجود ترک و شکاف ایجادشده به علت تبخیر اسانس موجود در فرمولاسیون فیلم‌ها می‌باشد. این

ضخامت و نفوذپذیری به بخار آب

ضخامت فیلم از بعد ترکیبی همیشه تحت تأثیر افزودن ترکیبات مختلف نظیر امولسیفایرها، پلاستی‌سایزرها و مقدار ماده خشک و نیز افزودنی‌هایی مثل اسانس‌ها است [۴۲]. دلیل این رفتار را می‌توان به میزان ترکیبات مختلف مواد نسبت داد که سبب تغییرات قابل توجهی در خواص نوری فیلم‌ها می‌شود. نتایج حاصل از ضخامت فیلم‌ها در شکل ۳ الف نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اثرات متقابل ضخامت فیلم‌ها در غلظت‌های مختلف اسانس معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). با افزایش درصد غلظت پروتئین آب پنیر، ضخامت کاهش یافت. بیشترین مقدار ضخامت در غلظت ۰/۵-۰/۵ پروتئین آب پنیر و سدیم آلژینات با مقدار ۰/۳۵ بود. افزایش درصد عصاره شنگ و نعناع فلفلی هیچ تأثیری بر روی ضخامت فیلم‌های تولیدی نداشت.

در شکل ۳ ب، افزایش میزان نفوذپذیری در حضور غلظت زیاد اسانس نعناع فلفلی به بیشترین مقدار خود رسید؛ علت این افزایش را به پیوستگی بستر یا ماتریس پلیمرها در حضور اسانس نسبت دادند. احمد و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که اختلاط سطح بیشتر اسانس ترنج باعث افزایش نفوذپذیری می‌شود که با مشاهدات پژوهش منطبق داشت و همچنین غلظت بالاتر اسانس لیموترش منجر به کاهش نفوذپذیری فیلم‌های ژلاتین شده است که مطابق با مشاهدات بود. دلیل آن را تفاوت در ماهیت اسانس‌های مورد بررسی بیان کردند [۴۵].

نتایج با نتایج حسینی و همکاران (۲۰۲۳) هماهنگ می‌باشد که با افزایش اسانس پونه کوهی، نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بر پایه ژلاتین افزایش یافت [۳۳]. انتقال بخار آب توسط بخش هیدروفیلی فیلم انجام می‌شود و میزان نفوذپذیری به نسبت بخش هیدروفیلی-لیپوفیلی فیلم بستگی دارد [۳۷، ۴۴]. به طوری که برهم‌کنش بین اسانس روغنی با سایر ترکیبات موجود در فیلم، باعث کاهش خاصیت آب‌گریزی ماتریس فیلم شده و در نتیجه نفوذپذیری به بخار آب در غلظت‌های زیاد نعناع افزایش می‌یابد.

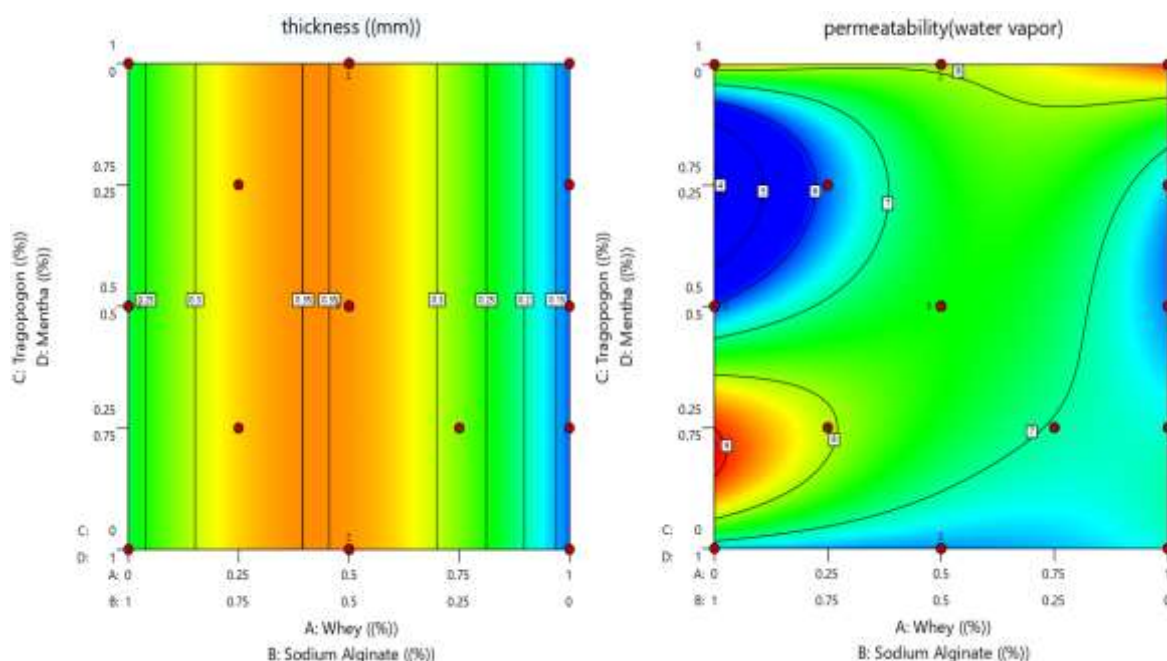


fig: The interactive effects of *Graminifolius Tragopogon*, *Mentha piperita* extracts: A) thickness and B) water vapor " permeability of whey protein-alginate edible films

می‌تواند رابطه مستقیم داشته باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها به دلیل مهار واکنش‌های اکسیداسیون و افزایش ماندگاری محصولات غذایی در فیلم‌های بسته‌بندی فعال استفاده می‌شوند [۲۶]. شکل ۴ نتایج حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب فیلم پروتئین آب پنیر-سديم آلژینات با اثرات متقابل غلظت‌های مختلف عصاره شنگ و نعناع فلفلی را نشان

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی، صرف‌نظر از خواص سلامت‌بخش آن، از اکسیداسیون محصول در طی مدت نگهداری جلوگیری می‌نماید. مقدار ترکیبات فنولی کل، شاخصی از توان آنتی‌اکسیدانی گیاه است. افزایش در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنولی موجود در اسانس

ترکیبات فنولیک آن نسبت دادند [۳۵]. تفاوت در قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با تنوع در نوع واریته گیاهان، همچنین شرایط محیطی، آب و هوا، خاک، زمان برداشت و بسیاری از عوامل دیگر می‌تواند در ارتباط باشد. افزایش غلظت فیلم پروتئین آب پنیر-سردیم آلزینات تأثیر معناداری در فعالیت آنتی اکسیدانی نداشت که نشان‌دهنده عدم وجود گروه‌های عاملی حذف‌کننده رادیکال آزاد در ساختار پروتئین آب پنیر-سردیم آلزینات می‌باشد. اختر و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که ماهیت فیلم و تفاوت در قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات افزوده‌شده بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها تأثیرگذار هستند [۲۴].

می‌دهد که معنی‌دار بود ($p < 0.05$). ترکیبات شناسایی‌شده در گیاه شنگ از جنس فلاونوئیدها، ترپن‌ها، ساپونین‌ها، بنزیل و هیدروایزوکومارین، ترکیبات فنلی و استرول‌ها هستند [۲۶]. عصاره شنگ و نعنای اثر متفاوتی بر روی ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های تولیدشده داشته‌اند؛ به‌طوری‌که عصاره نعنای فلفلی اثرات به‌مراتب قوی‌تری داشته است که احتمالاً به دلیل افزایش ترکیبات فنولی موجود در نعنای فلفلی می‌باشد. ترکیبات اساسی موجود در اسانس نعنای فلفلی شامل α -پینن، β -پینن، لیمونن، ایزومنتون، ترپینن و منتول بود [۴۶]. در این راستا، مومنی و همکاران (۲۰۲۴) ضعیف بودن فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گونه‌های باسولیا را برای کاهش رادیکال DPPH، به محتوای کم

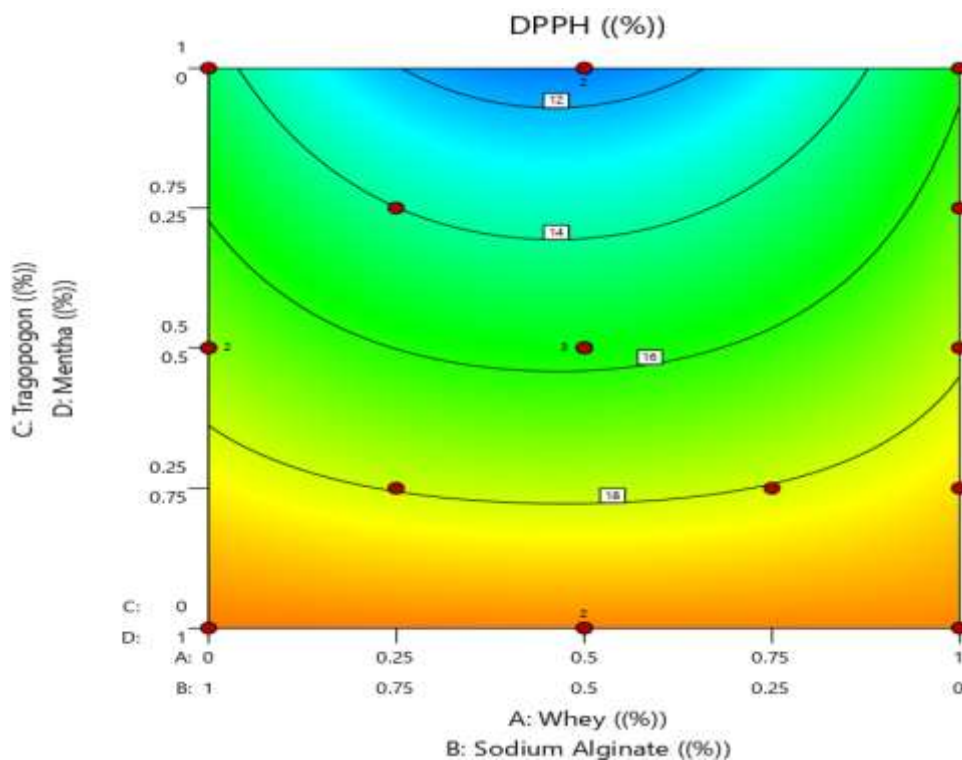


Fig4: Antioxidant properties of gelatin and whey protein films with different concentrations of *Graminifolius Tragopogon*, *Mentha piperita* extracts

فلفلی بر روی فیلم‌های خوراکی پروتئین آب پنیر و سردیم آلزینات در رشد هاله باکتری سودوموناس، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس را نشان می‌دهد که در اشرشیاکلی و سودوموناس معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در شکل ۵ (الف)، در غلظت ۰/۵-۰/۵ عصاره شنگ و نعنای فلفلی، بیشترین

فعالیت ضد میکروبی

توانایی مهار یا جلوگیری از فساد یا رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا روی مواد غذایی، یکی دیگر از ویژگی‌های مهم مواد بسته‌بندی فعال است [۲۶]. شکل ۵ (الف)، (ب) و (ج) اثر متقابل معنی‌دار غلظت‌های مختلف عصاره شنگ و نعنای

مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، ۲۴ میلی‌متر، را داشت و غلظت ۱ درصد پروتئین آب پنیر، کمترین میزان مهار رشد، ۱۸ میلی‌متر، را در مهار رشد داشت. اسانس‌های گیاهی و ترکیبات مؤثر آن‌ها در برابر انواع گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها، شامل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت، فعال شناخته شدند. هرچند در برخی بررسی‌ها باکتری‌های گرم مثبت مقاومتی مانند باکتری‌های گرم منفی نشان دادند. مومنی و همکاران (۲۰۲۳) به بررسی ویژگی‌های فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین غنی‌شده با غلظت‌های اسانس مریم‌گلی (۰، ۱/۲۵٪، ۲/۵٪ و ۳/۷۵٪) پرداختند. فعالیت ضد میکروبی فیلم با کمک روش دیسک انتشاری انجام گرفت. بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت اسانس ۳/۷۵ درصد مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس و سپس سودوموناس آئروژنز و اشیریشیاکلی گزارش شد [۳۵].

لوپز و همکاران (۲۰۲۳) در بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی پوشش‌های خوراکی آلژینات همراه با عصاره‌های گیاهان، نتایج نشان داد که پوشش‌ها به جز پوشش با عصاره مریم‌گلی، رشد همه باکتری‌ها، سودوموناس آئروژنز، اشیریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز، را به‌طور کامل مهار یا کاهش دادند. با این حال، تنها فیلم‌های ترکیب‌شده با شیرین‌بیان و اکالیپتوس می‌توانند رشد باکتری‌های گرم مثبت را مهار کنند و هیچ‌یک از فیلم‌ها قادر به مهار باکتری‌های گرم منفی نبودند [۵۲].

و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی فیلم‌های بیوکمپوزیت حاوی اسانس رزماری و نعناع، مهار رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را نتیجه وجود اجزای پلی‌فنولیک دانستند [۲۴]. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل مهار رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی توسط فیلم‌های ترکیبی پروتئین آب پنیر-سديم آلژینات، این فیلم‌ها می‌توانند برای نگهداری مواد غذایی مؤثر باشند و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و ایمنی محصول گردند.

شکل ۵. اثرات متقابل ضد میکروبی عصاره شنگ و نعناع در: (الف) پ سودوموناس، (ب) اشیریشیاکلی، (ج) استافیلوکوکوس

مهار رشد به میزان ۱۹/۵ میلی‌متر در باکتری سودوموناس مشاهده شد و با افزایش غلظت عصاره شنگ و نعناع، مهار رشد کاهش یافت. ولی افزایش غلظت پروتئین آب پنیر و نعناع فلفلی تأثیری بر روی مهار رشد این باکتری نداشت. در شکل ۵ (ب)، با افزایش غلظت عصاره شنگ، اثر بازدارندگی کاهش یافت. ولی با افزایش غلظت عصاره نعناع، اثر بازدارندگی رشد میکروارگانیسم اشیریشیاکلی افزایش یافت و در غلظت ۷۵ درصد، بیشترین میزان مهار رشد، ۲۰ میلی‌متر، را داشت. طالعی و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که عصاره شنگ در غلظت‌های پایین‌تر از ۱۹۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، علیه هیچ‌کدام از باکتری‌های انتروکوکوس فکاليس، استافیلوکوکوس اپیدرمیديس، سودوموناس آئروژینوزا، اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس خاصیت بازدارندگی ندارد [۴۸]. با افزایش غلظت فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر، میزان مهار رشد باکتری اشیریشیاکلی افزایش یافت و در غلظت ۱ درصد به بیشترین مقدار خود رسید. به‌طور کلی، اثربخشی فیلم خوراکی در برابر رشد میکروبی به ماهیت عصاره و نوع میکروارگانیسم بستگی دارد [۴۷]. ولی با افزایش غلظت فیلم خوراکی سديم آلژینات، میزان مهار رشد کاهش یافت. عصاره‌های شنگ و نعناع فلفلی هنگامی که با فیلم خوراکی آلژینات سديم و پروتئین آب پنیر ترکیب شدند، فعالیت ضدباکتریایی را علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان دادند. برهم‌کنش‌های شیمیایی احتمالی بین گروه‌های هیدروکسیل در فیلم و ترکیبات فنلی می‌تواند مکان‌های فعال عصاره‌های استخراج‌شده را مسدود کنند [۴۹] و در نتیجه میزان مهار رشد را کاهش یا متوقف کنند. مطالعات انجام‌شده نشان داده است که مواد تشکیل‌دهنده جزئی، با غلظت کم، در ترکیبات فیلم‌ها می‌توانند نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها داشته باشند [۵۰، ۵۱].

در شکل ۵ (ج)، اثر متقابل غلظت‌های مختلف عصاره شنگ و نعناع فلفلی بر روی فیلم‌های خوراکی پروتئین آب پنیر و سديم آلژینات در استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده شده است که معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) ولی غلظت ۰/۵-۰/۵ پروتئین آب پنیر و سديم آلژینات، بیشترین میزان تأثیر بر

شد. اثر نوع عصاره بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی و خواص ضد میکروبی معنی دار بود؛ به طوری که با افزایش غلظت نعناع، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت و میزان مهار رشد میکروبی تا ۰/۷۵ درصد افزایش یافت. به طور کلی می توان نتیجه گرفت فیلم های فعال پروتئین آب پنیر (۰/۷۵ درصد) و سدیم آلزینات (۰/۲۵ درصد) و غلظت ترکیبی ۰/۵-۰/۵ عصاره نعناع و شنگ، بالاترین کارایی و ویژگی های مطلوب را دارند و می توانند با تأخیر در اکسیداسیون لیپیدها، خواص مکانیکی و فیزیکی شیمیایی مطلوب، به عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

مشارکت نویسندگان

تمام فعالیت ها توسط نویسندگان انجام شده است.

دسترسی به داده ها

تمام داده هایی که از یافته های این مطالعه پشتیبانی می کنند، در داخل مقاله موجود است.

تضاد منافع

نویسنده تأیید می کند که هیچ تضاد منافع مالی یا منافع رقابتی در این مطالعه وجود ندارد.

بودجه

نویسنده اعلام می کند که هیچ بودجه ای دریافت نشده است.

۵-منابع

- [1] Taghizadeh, E., Alizadeh Khaled abad, M., Hassanzadeh, H. (2024). Production of Whey Protein Concentrate Smart Film Containing Pomegranate and Red Grape Anthocyanin and Zinc Oxide Nanoparticles: Physicochemical and Structural Characteristics. *Iranian Food Science & Technology Research Journal*, 20(4). (in Persian)
- [2] Taghizadeh, E., Alizadeh, M., & Hassanzadeh, H. (2023). Investigation of antimicrobial, antioxidant and physicochemical properties of active film based on whey protein containing pomegranate and red grape anthocyanins and zinc oxide nanoparticles. *Innovative Food Technologies*, 10(4), 397-410. (in Persian)
- [3] Roy, S., & Rhim, J. W. (2021). Gelatin/agar-based functional film integrated with Pickering emulsion of clove essential oil stabilized with

اورئوس در فیلم های خوراکی پروتئین آب پنیر-سدیم آلزینات.

۴-نتیجه گیری

در سال های اخیر مطالعات زیادی بر روی فیلم های خوراکی بر پایه طبیعی و غنی شده با انواع عصاره و اسانس گیاهی انجام گرفته است و در تحقیق حاضر سعی شده است که اثرات متقابل پایه فیلم، به ویژه بر روی خصوصیات مکانیکی، و اثرات متقابل عصاره شنگ و نعناع فلفلی بر روی خواص ضد میکروبی و ظرفیت آنتی اکسیدانی بررسی شود. نتایج حاصله نشان داد که اثرات تیمارهای مطالعه شده بر روی مقادیر نفوذپذیری، ضخامت و فیلم های پروتئین آب پنیر-سدیم آلزینات معنی دار بود ($p < 0.05$) با افزایش غلظت نعناع تا ۰/۷۵ درصد، نفوذپذیری افزایش یافت و کمترین حلالیت و ضخامت در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین کدورت در تیمار ۱ درصد عصاره نعناع فلفلی و کمترین آن در تیمار ۱ درصد عصاره شنگ مشاهده شد. نسبت ترکیبی فیلم های خوراکی و عصاره های شنگ و نعناع هیچ تأثیر معناداری بر میزان حلالیت نداشت و نسبت ترکیبی فیلم های خوراکی تأثیری بر میزان رطوبت نداشت. با افزایش غلظت عصاره شنگ تا ۱ درصد کاهش، ولی با افزایش غلظت عصاره نعناع تا ۱ درصد نفوذپذیری افزایش یافت. افزایش طول تا نقطه شکست و مدول یانگ از لحاظ آماری معنی دار بود ($p < 0.05$). بیشترین ضخامت مربوط به نسبت ۰/۵-۰/۵ پروتئین آب پنیر-سدیم آلزینات-شنگ و نعناع مشاهده

nanocellulose for active packaging applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 627, 127220.

[4] Miri, P., Hosseini, M., Saifi, T. (2023). Characterization of physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of gelatin edible films containing oregano essence. *Food Processing and Preservation Journal*, 15(1), 57-74. (in Persian)

[5] Ghanbarzadeh, B., & Almasi, H. (2013). Biodegradable polymers. In R. Chamy & F. Rosenkranz (Eds.), *Biodegradation - Life of Science* (pp. 141-186). InTech Publications.

[6] Rhim, J.-W. (2004). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *LWT - Food Science and Technology*, 37(3), 323-330.

- [7] Hamzeh, A., & Rezaei, M. (2016). Sodium alginate with added thyme essential oil as a new method coating for rainbow trout fillet. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 46(12), 229-241. (in Persian)
- [8] Fujiki, K., Matsuyama, H., & Yano, T. (1994). Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 17(4), 349-355.
- [9] Motomura, H., & Nozaki, Y. (2001). Effect of sodium alginate on change in the state of water and protein denaturation accompanied with dehydration of fish myofibrils. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*.
- [10] Paktarmani, M., Ehsani, A., & Qajarbeygi, P. (2017). Investigating increase the shelf life of fish with edible alginate sodium-based film containing α -tocopherol. *Journal of Food Science and Technology*, 61(13), 17-24. (in Persian)
- [11] Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., & Luo, Y. (2011). Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22(3-4), 608-615.
- [12] Zeng, Q. Z., & Qingling, X. (1997). Study on preservation techniques of fish, scallop of edible coating. *Journal of Dalian Fisheries*, 2(2), 37-42.
- [13] Seifzadeh, M., & Motallebi, A. (2012). Effect of sodium alginate edible coat on bacterial, chemical and sensory quality of freezing Kilka coated. *Journal of Food Science and Technology*, 35(9), 1-15. (in Persian)
- [14] Rockower, R. K., Deng, J. C., Otwell, W. S., & Cornell, J. A. (1983). Effect of soy flour, soy protein concentrate and sodium alginate on the textural attributes of minced fish patties. *Journal of Food Science*, 48(4), 1048-1052.
- [15] Wang, L. Z., Liu, L., Holmes, J., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2007). Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(9), 1128-1138.
- [16] Henriques, M., Gomes, D., & Pereira, C. (2016). Whey protein edible coatings: Recent developments and applications. In *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food* (pp. 177-196). Springer.
- [17] Kandasamy, S., Yoo, J., Yun, J., Kang, H.-B., Seol, K. H., Kim, H. W., & Ham, J. S. (2021). Application of whey protein-based edible films and coatings in food industries: An updated overview. *Coatings*, 11, 1056.
- [18] Aryana, K. J., Haque, Z. Z., & Gerard, P. D. (2002). Influence of whey protein concentrate on the functionality of egg white and bovine serum albumin. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 643-652.
- [19] Tang, M. C., & Jiang, S. T. (2007). Physical properties and dissolved characteristics of whey protein isolate edible films. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1393-1400.
- [20] Seydim, A. C., & Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 39(5), 639-644.
- [21] Ko, S., Janes, M. E., Hettiarachchy, N. S., & Johnson, M. G. (2001). Physical and chemical properties of edible films containing nisin and their action against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Science*, 66, 1006-1011.
- [22] Bandyopadhyay, P., Ghosh, A. K., & Ghosh, C. (2012). Recent developments on polyphenol-protein interactions: Effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. *Food and Function*, 3(6), 592-605.
- [23] Gardiner, P. (2004). Peppermint (*Mentha piperita*). *The Longwood Herbal Task Force*, 1-22.
- [24] Akhter, R., Masoodi, F., Wani, T. A., & Rather, S. A. (2019). Functional characterization of biopolymer based composite film: Incorporation of natural essential oils and antimicrobial agents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 1245-1255.
- [25] Moosavian, V., Marvizadeh, M., & Nafchi, A. (2017). Biodegradable films based on cassava starch/*Mentha piperita* essence: Fabrication, characterization and properties. (in Persian)
- [26] Farzaei, M. H., Rahimi, R., Atta, F., Siavoshi, F., Saniee, P., Hajimahmoodi, M., Mirnezami, T., & Khanavi, M. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Tragopogon graminifolius*, a medicinal herb from Iran. *Natural Product Communications*, 9(1), 121-124.
- [27] Khodabandeh Shahraki, F., Ranjbar, M., Govahi, M., & Tafrihi, M. (2023). Investigation of antioxidant and antimicrobial effects of methanolic extracts of *Berberis integerrima* and *Graminifolius tragopogon*. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 24(4), 118-125. (in Persian)
- [28] Azarifar, M., Ghanbarzadeh, B., Sowti, M., Akhondzadeh Basti, A., Abdulkhani, A., Noshirvani, N., & Hosseini, M. (2019). The optimization of gelatin-CMC based active films containing chitin nanofiber and *Trachyspermum ammi* essential oil by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 208, 457-468.
- [29] Langroodi, A. M., & Tajik, H. (2017). Antimicrobial effects of hydroalcoholic sumac extract with chitosan containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil on beef meat in

normal and modified atmosphere packaging. *The Journal of Urmia University of Medical Sciences*, 28(3), 192-203.

[30] Alizadeh Sani, M., Tavassoli, M., Salim, S. A., Azizi-lalabadi, M., & McClements, D. J. (2022). Development of green halochromic smart and active packaging materials: TiO₂ nanoparticle- and anthocyanin-loaded gelatin/κ-carrageenan films. *Food Hydrocolloids*, 124, 107324.

[31] ASTM-E96-95. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials.

[32] Fallah, M., Rouhi, M., Sadeghi, E., Sarlak, Z., Moghadam, A., & Mohammadi, R. (2021). Effects of olibanum essential oil on physicochemical, structural, antioxidant and microbial characteristics of gelatin edible films. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology*, 15(4), 93-102.

[33] Hosseini, M., Hassanzadeh, H., & Miri, P. (2023). Investigating the physicochemical and mechanical properties of edible active films based on gelatin containing essential oils of thyme, oregano and sage. *Food Processing and Preservation Journal*, 15(2), 17-34. (in Persian)

[34] ASTM D882-01. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. ASTM International.

[35] Momeni, R., Hosseini, M. Y., Saifi, T., & Hassanzadeh, H. (2024). Production of antimicrobial active edible film based on gelatin containing *Salvia officinalis* essential oil: Physical, mechanical, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Research Journal*, 33(4), 29-43. (in Persian)

[36] Schmid, M., & Müller, K. (2019). Whey protein-based packaging films and coatings. In *Whey Proteins* (pp. 407-437). Elsevier.

[37] Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., López-Córdoba, A., & Goyanes, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 63, 488-495.

[38] Shaw, N. B., Monahan, F. J., O'Riordan, E. D., & O'Sullivan, M. (2002). Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. *Journal of Food Science*, 67, 164-167.

[39] Khanzadi, M., Jafari, S. M., Mirzaei, H., Chegini, F. K., Maghsoudlou, M. Y., & Dehnad, D. (2015). Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate-pullulan by application of beeswax. *Carbohydrate Polymers*, 118, 24-29.

[40] Ma, Q., Zhang, Y., Critzer, F., Davidson, P., Zivanovic, S., & Zhong, Q. (2016). Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. *Food Hydrocolloids*, 52, 533-542.

[41] Bertan, L., Tanada-Palmu, P., Siani, A., & Grosso, C. (2005). Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. *Food Hydrocolloids*, 19(1), 73-82.

[42] Ghadermarzi, R., Keramat, J., & Goli, S. A. (2013). The effect of oregano essential oil on the properties of hydroxypropyl methyl cellulose edible film. *Quarterly Journal of New Food Technologies*, 2(7), 61-74.

[43] Fernández-Cervera, M., Heinämäki, J., Krogars, K., Jörgensen, A. C., Karjalainen, M., & Iraizoz-Colarte, A. (2004). Solid-state and mechanical properties of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 5, 1-6.

[44] Hernandez, R. J. (1994). Effect of water vapor on the transport properties of oxygen through polyamide packaging materials. *Journal of Food Engineering*, 22, 495-507.

[45] Ahmed, J., Mulla, M., Arfat, Y. A., Bher, A., Jacob, H., & Auras, R. (2018). Compression molded LLDPE films loaded with bimetallic (Ag-Cu) nanoparticles and cinnamon essential oil for chicken meat packaging applications. *LWT*, 93, 329-338.

[46] Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22, 1707-1714.

[47] Hosseini, M., Nemati, B., & Hajizadeh, M. (2024). Preparation of active edible film based on gelatin-carboxymethylcellulose (CMC)

containing *Portulaca oleracea* extract: Investigation of physicochemical and antimicrobial properties. *Food Processing and Preservation Journal*, 16(3), 115-130. (in Persian)

[48] Talei, et al. (2008). (اطلاعات کتاب‌شناختی این منبع (در متن اصلی مقاله کامل نبود)

[49] Saberi, B., Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Scarlett, C. J., & Stathopoulos, C. E. (2017). Characterization of pea starch-guar gum biocomposite edible films enriched by natural antimicrobial agents for active food packaging. *Food and Bioproducts Processing*, 105, 51-63.

[50] Ejaz, M., Arfat, Y. A., Mulla, M., & Ahmed, J. (2018). Zinc oxide nanorods/clove essential oil incorporated Type B gelatin composite films and its applicability for shrimp packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 15, 113-121.

[51] Martucci, J. F., Gende, L. B., Neira, L., & Ruseckaite, R. A. (2015). Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Industrial Crops and Products*, 71, 205-213.

[52] Lopes, A. I., Melo, A., Caleja, C., Pereira, E., Finimundy, T. C., Afonso, T. B., Silva, S., Ivanov, M., Soković, M., Freni, K., Tavaría, F. K., Barros, L., & Pintado, M. (2023). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of alginate edible coatings incorporated with plant extracts. *Coatings*, 13(1487), 24.



Scientific Research

Investigation of the Properties of Whey Protein-Sodium Alginate Edible Films Containing Extracts of Chia (*Graminifolius Tragopogon*) and Peppermint (*Mentha piperita*) Using a Mixture Design

Hamed Hassanzadeh¹, Elham Ahmadi^{*2}, Homeyra Aasal³, Mohammadyar Hosseini^{*4}, Zahra kavyani³

1- Assistant Professor, Department of Food Science and hygiene, Faculty of veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran.

2- * ph.D in Food Science and Technology, , Department of Food Science and hygiene, Faculty of veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran.

3- Bachelor student of food hygiene, Faculty of veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran

4- * Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Interdisciplinary Science and Technology. University of Bonab, Bonab, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2025/03/16

Review: 2025/04/20

Accepted: 2025/05/04

Keywords:

Edible film,

Sodium alginate,

Whey protein,

Mentha piperita,

Graminifolius Tragopogon

DOI: 10.48311/fsct.2026.84010.0

*Corresponding Author E-

m.hosseini@ubonab.ac.ir,

ahmadielham674@gmail.com

Food films made from biodegradable materials play a significant role in addressing consumer concerns about environmental pollution and food contamination. One of these modern packaging technologies is active packaging based on biopolymers, which offers a sustainable and environmentally friendly way to improve food shelf life. Edible coatings and films, layers They are edible compounds and biopolymers that are placed on the surface of food or among their compounds, and their use is considered one of the important methods to control physicochemical, microbial and physiological changes in food. Alginate is a linear polysaccharide extracted from brown algae, which consists of Lα (1-3) gluronic acid and βD (1-4) mannuronic acid units. This biopolymer is characterized by its unique colloidal properties, including: thickness, stability, film formation, gel production and emulsion stability, has a high potential for film and coating formation. Considering that polysaccharide films such as sodium alginate have better tensile strength compared to protein films, while protein films such as whey protein have a greater elongation than polysaccharide films, it is possible to combine sodium alginate with whey protein. It strengthened the properties of this film. Whey protein and sodium alginate solutions were prepared separately according to Table 1. First, whey protein solution (w/v) was prepared in distilled water at 80°C and stirred for 30 minutes. Glycerol (30% w/w film base) was added to the resulting solution and homogenized at 2400 rpm for 10 minutes (IKA T25 digital Ultra turrax, Germany). Then, a sodium alginate solution (w/v) was prepared in distilled water, 0.5 g of glycerol was added, heated to 80°C, and homogenized for 5 minutes at 2400 rpm. The two prepared solutions (whey protein-sodium alginate) were mixed and adjusted to pH=5-5.5. 0.1% Tween 80 was added to the resulting solution and homogenized for 4 minutes. In the next step, the resulting solution was cooled and the extracts of *Graminifolius Tragopogon*, *Mentha piperita* were added to the solution according to Table 1 and mixed for 2 minutes. The samples were poured into a plastic petri dish with a diameter of 15 cm and kept under a hood under vacuum for one hour and transferred to an oven at 37 degrees Celsius. The samples were dried for 20 hours and kept in a desiccator for testing. The highest opacity was associated with a 1% concentration of Peppermint extract, while the lowest opacity at the same concentration was noted for, *Graminifolius Tragopogon* extract. Increasing the concentration of Peppermint up to 0.75% resulted in an increase in permeability by 9 grams per meter per second Pascal. The highest tensile strength and Young's modulus were recorded for whey protein at a concentration of 0.75% and sodium alginate at 0.25%, with values of 17 and 85 MPa, respectively. The antioxidant property of the edible film was significantly validated using DPPH radicals ($p < 0.05$), and increased with the concentration of Peppermint up to 1%. Evaluation of the antimicrobial activity of the films, using the disk diffusion method, indicated that the largest inhibition zone was obtained at a concentration of 0.5% whey protein-alginate-Peppermint-*Graminifolius Tragopogon* extracts against *Staphylococcus aureus*, with an average diameter of 24 mm. Subsequently, at concentrations of 0.75% and 1%, the average inhibition zone diameter for *Escherichia coli* was 20 mm, attributed to Peppermint and whey protein, respectively. Overall, the results demonstrated that the addition of the Peppermint- *Graminifolius Tragopogon* extract led to the production of films that not only inhibited the growth and proliferation of bacteria but also exhibited strength, making them suitable for use in perishable food items