

خصوصیات مکانیکی و ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی بر پایه پروتئین کنجاله کنجد حاصل از دو روش استخراج قلیایی و نمکی

سیمین صادقی^۱، جعفر محمدزاده میلانی^{۲*}، رضا اسماعیل زاده کناری^۱ و محمدرضا کسایی^۲

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۱۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

^۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*مسئول مکاتبه: Email: Jmilany@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: برخی از خصوصیات فیلم خوراکی بر پایه پروتئین کنجاله کنجد با افزودن نانوذرات اکسیدروی و گلیسرول در دو روش استخراج قلیایی و نمکی می‌تواند متفاوت باشد و باعث بهبود برخی از خواص فیلم شوند. هدف: مقایسه و بررسی خصوصیات فیلم خوراکی زیست تخریب پذیر از پروتئین کنجاله کنجد با دو روش استخراج قلیایی و نمکی انجام شد. روش کار: در این پژوهش برای تولید فیلم‌های خوراکی از قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با ۱۲ گروه آزمایشی بصورت جداگانه برای دو نوع فیلم با استخراج متفاوت استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل نمونه شاهد (بدون نانوذره اکسیدروی)، نمونه حاوی گلیسرول به میزان ۴۰٪، ۴۵٪، ۵۰٪ و نمونه حاوی نانوذره اکسیدروی به مقدار ۱٪، ۳٪ و ۵٪ بود. نتایج: در هر دو روش استخراج میزان مقاومت کششی ومدول یانگ با افزایش گلیسرول کاهش و درصد کشش پذیری و نفوذپذیری به بخار آب افزایش یافت. با افزایش نانوذره به میزان ۳٪ مقاومت کششی ومدول یانگ افزایش و درصد کشش پذیری و نفوذپذیری به بخار آب کاهش یافت. اما در نفوذپذیری به اکسیژن افزایش گلیسرول تاثیری نداشت. با ادامه افزایش نانوذره تا ۵٪ مقاومت کششی، مدول یانگ و نفوذ پذیری به اکسیژن کاهش و درصد کشش پذیری و نفوذ پذیری به بخار آب افزایش یافت. خاصیت ضد میکروبی هر دو نوع فیلم با افزایش نانوذره اکسیدروی باعث افزایش قطر هاله عدم رشد باکتری شد. نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به نتایج میزان مقاومت کششی، درصد کشش پذیری و مدول یانگ در فیلم پروتئینی استخراج شده با روش قلیایی بیشتر از روش نمکی بود. اما میزان نفوذپذیری به بخار آب و میزان نفوذپذیری به اکسیژن در فیلم پروتئینی با روش نمکی بیشتر بود.

واژگان کلیدی: استخراج قلیایی، استخراج نمکی، پروتئین کنجاله کنجد، فیلم خوراکی

مقدمه
استفاده از مواد تجزیه پذیر مانند ماکرومولکول‌ها معطوف داشته است. فیلم و بسته بندی‌های خوراکی از منابع مختلف طبیعی از جمله: پروتئین‌ها،

در جهان امروز آلودگی‌های ناشی از پلیمرهای سنتزی که حاصل از مشتقات نفتی هستند، توجه عموم را به

شیمیایی (اکسیداسیون لیپید)، فیزیکی (کم آبی) و میکروبیولوژی، می‌شوند (قدسی و همکاران ۱۳۹۵). مواد ضد میکروبی فراوانی با ویژگی‌ها و مکانیسم اثر متفاوت در بسته بندی مواد غذایی بکار برده می‌شوند. این مواد بر اساس نوع ماده غذایی، نوع میکروارگانیسم‌ها، فعالیت و اثر ضد میکروبی، ترکیب شیمیایی ماده ضد میکروبی و عوامل دیگر انتخاب شده و استفاده می‌شوند. مواد ضد میکروبی مورد استفاده، باید تاثیر بسزایی بر روی میکروارگانیسم‌ها داشته باشند و به مقدار معینی استفاده شوند که هم به طور کامل به ماده غذایی نفوذ کنند و هم تاثیر منفی بر روی مصرف کننده نداشته باشند (دورانگو و همکاران ۲۰۰۶).

بسیاری از میکروارگانیسم‌ها نسبت به ترکیبات ضد میکروبی رایج از جمله آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند، بنابراین استفاده از فناوری نانو مورد توجه قرار گرفته است. برخی از نانومواد باعث بهبود ویژگی‌های نفوذپذیری و ویژگی‌های حرارتی، شیمیایی، مکانیکی و میکروبی بسته بندی می‌شوند (ویز و همکاران ۲۰۰۶).

نانو ذرات به تناسب سطح بزرگتری که در مقایسه با ذرات مشابه در مقیاس میکرو دارند، بر هم کنش مناسبی بین مواد زمینه‌ای و پرکننده ایجاد کرده و کارایی کامپوزیت حاصله را افزایش می‌دهند (هنریته و آزدو ۲۰۰۹).

در بین نانوذرات فلزی، اکسیدروی یکی از نانوذرات مهمی است که به علت داشتن ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی مانند پایداری شیمیایی، سازش با محیط زیست، مقاومت زیاد در مقابل نور، مقاوم به اشعه فرابنفش و خاصیت ضد میکروبی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (هینلین ۲۰۰۸). بنابراین سعی شد از نانوذرات اکسیدروی استفاده شود تا علاوه بر خاصیت ضد میکروبی، خواص عملکردی بسته‌ها بهبود یابد. از

پلی‌ساکاریدها، لیپیدها و یا ترکیبی از این مواد تهیه می‌شود (صارم نژاد و همکاران ۱۳۸۸).

ویژگی فیلم‌های خوراکی در برابر نفوذ رطوبت، گازها و خواص مطلوب مکانیکی اعم از مقاومت کششی و درصد افزایش طول تا حد پاره شدن و همچنین توانایی آن‌ها به عنوان حامل مواد ضد میکروبی، آنتی اکسیدان، رنگ‌ها (بارتو و همکاران ۲۰۰۳) زیست تخریب پذیر بودن و غیره سبب شده که محققین روی ویژگی‌های فیلم و بسته بندی خوراکی گوناگون به عنوان یک جایگزین مناسب برای بسته‌بندی‌های پلاستیکی مطالعات گسترده‌ای انجام دهند (گونتارد و گیولبرت ۱۹۹۴).

از میان فیلم‌های خوراکی، فیلم‌های پروتئینی دارای ویژگی‌های ممانعت کنندگی عالی نسبت به اکسیژن، چربی و آروما، خصوصیات مکانیکی متوسط و نفوذپذیری زیادی به بخار آب (به دلیل هیدروفیل بودن این ماکرومولکول‌ها) می‌باشند. خصوصیات عملکردی و مکانیکی فیلم‌ها به شدت وابسته به ساختار، حساسیت حرارتی و رفتار هیدروفیلی مولکول‌های درگیر در شبکه فیلم است (سالگادو و همکاران ۲۰۱۰). به منظور انعطاف و بهبود ساختار فیلم، افزودن نرم کننده به محلول‌های تشکیل دهنده آن امری ضروری است. نرم کننده‌ها با ورود به زنجیره مولکولی پلیمری استحکام درون شبکه فیلم را کاهش داده که از این طریق می‌توانند موجب انعطاف پذیری و نرم شدن ساختار آنها شوند. برای این منظور گلیسرول به عنوان نرم کننده بیشترین استفاده را برای بهبود خواص فیلم‌های خوراکی دارد (لی و همکاران ۲۰۱۴).

بسته‌بندی‌های فعال مواد غذایی، نقش مهمی در حفظ و نگهداری مواد غذایی دارد و تعامل مناسبی بین غذا و محیط ایجاد می‌کنند. این نوع بسته بندی‌ها موجب تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی (تنفس میوه‌ها)،

نسبت به عبور بخار آب در مقایسه با فیلم شاهد کاهش یافت. خادم و همکاران (۱۳۹۶) اثر نانو اکسید روی را بر خواص فیزیکیوشیمیایی فیلم های سلولز مورد بررسی قرار دادند. نتایج آزمون میکروبی نشان داد که نانوذرات اکسید روی در کنترل رشد باکتریها موثرتر از اسانس رزماری عمل کرده اند.

هدف از این تحقیق بررسی امکان تولید فیلم خوراکی بر پایه پروتئین کنجاله کنجد با دو روش استخراج پروتئین با روش قلیایی و نمکی به منظور ایجاد محصولی با ارزش افزوده به همراه نانوذرات اکسیدروی برای بهبود خواص عملکردی بسته‌ها و ایجاد خاصیت ضد میکروبی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

نانوذرات اکسیدروی از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان خراسان رضوی و کنجاله کنجد از بازار محلی در ساری خریداری شد. اسید کلریدریک هیدروکسیدسدیم، کلریدسدیم و گلیسرول از شرکت مرک آلمان تهیه شد. روغن آفتابگردان بدون آنتی-اکسیدان از شرکت غنچه، ساری خریداری شد. باکتری اشرشیاکلی (ETCC 25922) از پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان تهیه گردید.

استخراج پروتئین

پروتئین کنجاله کنجد بر اساس روش استخراج قلیایی و استخراج با نمک NaCl طبق روش اونسارد و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد. برای افزایش راندمان استخراج پروتئین قبل از استخراج کنجاله‌های کنجد توسط آسیاب برقی کاملاً خرد و پودر شدند، سپس پودرکنجاله کنجد با آب به نسبت ۱ به ۱۰ وزنی/حجمی مخلوط شدند، سپس در روش اول pH با استفاده از ۲ مولار محلول قلیایی هیدروکسید سدیم به ۱۱ رسانیده شد. در روش دوم pH با استفاده از ۲ مولار NaCl به ۷ رسانیده شد. در هر دو روش مخلوط به طور پیوسته

طرفی دیگر با توجه به اهمیت کاهش هزینه‌های تولید در بسته بندی مواد غذایی یافتن مواد اولیه ارزان قیمت در این مورد می‌تواند تاثیرگذار باشد. کنجد یک منبع روغن خوراکی مطلوب محسوب می‌شود که به طور گسترده در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری آسیا، مناطق مدیترانه‌ای و آمریکای جنوبی رشد می‌کند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که پروتئین کنجد یک پروتئین با کیفیت عالی حاوی (تقریباً ۸۰٪ آلفاگلوبولین و ۲۰٪ بتاگلوبولین) با ارزش بیولوژیکی و تغذیه‌ای بالا می‌باشد (ژائو و همکاران ۲۰۱۲). کنجاله کنجد که یک محصول جانبی پس از استخراج روغن است که حاوی ۳۵٪ الی ۴۰٪ پروتئین بوده اما معمولاً به عنوان غذای حیوانات یا کود مورد استفاده قرار می‌گیرد (شارما و همکاران ۲۰۱۶). بنابراین استفاده از آن به عنوان یک منبع پلیمری از نظر اقتصادی بسیار مقرون به صرفه است.

جی هون لی و همکاران (۲۰۱۴)، تاثیر نانوذرات رس بر خواص فیزیکی فیلم کامپوزیت پروتئین کنجاله دانه کنجد را مورد مطالعه قرار دارند. نتایج نشان داد که در فیلم‌های پروتئینی کنجاله دانه کنجد با افزودن نانوذره خواص فیزیکی فیلم پروتئینی کنجاله کنجد بهبود یافت. طبق نتایج مقاومت کششی افزایش و نفوذ پذیری به بخار آب کاهش یافت. براین اساس، فیلم نانوکامپوزیت پروتئین کنجاله دانه کنجد می‌تواند در بسته بندی مواد غذایی به کار رود.

قدسی و همکاران (۱۳۹۵) فیلم بیونانوکامپوزیتی از ایزوله پروتئینی گاودانه را تهیه کردند و با افزودن ذرات اکسید روی و خواص عملکردی آن را بررسی کردند. خصوصیات مکانیکی و ممانعتی فیلم‌های بیونانوکامپوزیتی ارزیابی شد و مشخص گردید که افزودن نانوذرات اکسیدروی به عنوان یک عامل ضد میکروبی به فیلم‌های پروتئینی سبب کاهش شدید تراوایی فیلم‌ها نسبت به عبور گاز اکسیژن می‌شود. همچنین میزان نفوذپذیری فیلم‌های بیونانوکامپوزیتی

نسبی $50 \pm 5\%$ در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون‌ها نگهداری شدند (لی و همکاران ۲۰۱۴).

ضخامت فیلم

ضخامت فیلم‌های تولید شده قبل از انجام آزمون‌های مختلف با استفاده از میکرومتر (Helios, Japan) با دقت 0.01 میلی‌متر در 10 نقطه تصادفی بر روی فیلم که از قسمت‌های مختلف آن انتخاب شده بودند، اندازه‌گیری شد. میانگین هر 10 ضخامت اندازه‌گیری شده برای هر نمونه در محاسبات انجام شده لحاظ شد.

خواص مکانیکی

آنالیزهای مکانیکی طبق استاندارد ASTM, D882 با استفاده از دستگاه بافت‌سنج بروکفیلد (Brookfield) آمریکا مدل CT3 صورت گرفت. فیلم به شکل نوارهایی با ابعاد 1×4 سانتی‌متر بریده و مقاومت کششی، از یاد طول تا نقطه پارگی و مدول الاستیک فیلم‌ها با سرعت 10 میلی‌متر بر دقیقه توسط دستگاه بافت‌سنج تعیین شد. آزمایشات در سه تکرار انجام شد و میانگین به عنوان نتیجه گزارش شد.

آزمون تراوایی نسبت به بخار آب

نفوذپذیری فیلم نسبت به بخار آب طبق استاندارد ASTM, 96-00 در 3 تکرار برای هر یک از نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. برای انجام آزمون‌ها از فنجانک‌های شیشه‌ای استفاده شد. در فنجانک‌ها 10 گرم سیلیکاژل ریخته شد که رطوبت نسبی 10% در داخل فنجانک ایجاد می‌کند. نمونه‌های فیلم را بر روی فنجانک‌ها قرار داده و سپس با چسب نواری آب بندی شد. سپس فنجانک‌ها درون دسی‌کاتور با رطوبت نسبی $50 \pm 5\%$ و دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فنجانک‌ها در بازه‌های زمانی مشخص با ترازویی با دقت 0.0001 وزن شدند. منحنی افزایش وزن فنجانک‌ها در طول زمان رسم و از معادله رگرسیون خطی، شیب خط محاسبه شد. از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر فنجانک به سطح

با یک همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت هم زده می‌شود و سپس در 2822 g به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ شده و فازهای محلول جدا شد. فازهای محلول با استفاده از 0.1 یا 1 مولار HCl به $pH=4.5$ رسید. سوسپانسیون به مدت 15 دقیقه در 2822 g سانتریفیوژ شد سپس بخش فوقانی دور ریخته شد و رسوبات پروتئین وزن و سپس با استفاده از فریزدرایر خشک شدند. میزان پروتئین طبق استاندارد AOAC,2000 با روش کلدال سنجیده شد.

تهیه فیلم

پروتئین کنجاله کنجد به میزان 3 گرم در 100 میلی‌لیتر آب مقطر در دمای محیط حل شد. گلیسرول به میزان 40% ، 45% و 50% در ساخت فیلم به کار رفت؛ طبق پیش آزمون صورت گرفته گلیسرول با درصد‌های کمتر از 40% موجب ترک خوردن فیلم‌ها شد، همچنین افزایش گلیسرول بیشتر از 50% موجب چسبندگی زیاد فیلم‌ها گردید. برای آماده سازی فیلم‌های نانوکامپوزیت مقادیر مختلف 1% ، 3% و 5% نانوذرات اکسیدروی به 100 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و با کمک همزن مغناطیسی در دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت هم زده شد. محلول تهیه شده به مدت 15 دقیقه در معرض امواج فراصوت با استفاده از پروب فراصوت در پالس متناوب 120 s روشن و 15 s خاموش در دامنه 50% قرار گرفت. سپس 3 گرم پروتئین کنجاله کنجد و گلیسرول به محلول نانوذرات اکسیدروی اضافه و به مدت 1 ساعت هم زده شد. سپس محلول در حمام آب در زمان 30 دقیقه و دمای 90 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و سپس به مدت 20 دقیقه برای حذف حباب‌های هوا تا رسیدن به دمای محیط خنک شد. سپس مقدار 100 میلی‌لیتر از محلول تشکیل دهنده فیلم‌ها بر روی ظروف تفلون با قطر 16 ریخته شد و سپس به مدت 24 ساعت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد برای بدست آوردن یک ضخامت یکنواخت خشک شدند. فیلم‌ها در دسیکاتور با رطوبت

سپس باکتری‌ها از محیط کشت مایع به صورت چمنی بر روی محیط کشت جامد کشت شدند و سپس نمونه های فیلم حاوی ۰٪، ۱٪، ۳٪ و ۵٪ نانوذرات اکسیدروی به صورت دیسک بر روی محیط کشت قرار داده شد و مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. قطر منطقه بازداری فیلم‌ها اندازه‌گیری گردید (تانخیوای و باجپای ۲۰۱۲).

طرح آماری

کلیه آزمایشات در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین نتایج آزمون‌ها، بر اساس آنالیز واریانس در سطح احتمال ۰/۰۵ صورت گرفت و در صورت معنادار بودن، برای تعیین تفاوت میانگین‌ها، آزمون دانکن (Duncan) انجام شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS16 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

خواص مکانیکی

مقاومت به کشش

ویژگی‌های مکانیکی یکی از مهمترین ویژگی‌های بسته بندی مواد غذایی می‌باشد. بهبود ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها در بسیاری از موارد از اهمیت بسیاری برخوردار است. فیلم‌های تهیه شده از پلیمرهای طبیعی در مجموع خصوصیات عملکردی ضعیفی را در مقایسه با انواع سنتزی نمایان می‌سازند. اما در بین پلیمرهای طبیعی، پروتئین‌ها خواص مکانیکی مناسب‌تری در مقایسه با فیلم‌های پلی ساکاریدی و لیپیدی دارند که به علت وجود ساختار منحصر به فرد (بر اساس ۲۰ نوع اسید آمینه متفاوت) و پیوندهای درون مولکولی متعدد در ساختمان آن‌هاست (ژیو و همکاران ۲۰۰۹).

نتایج مقایسه میانگین‌ها در هر دو نوع فیلم نشان داد که بالاترین میزان مقاومت به کشش به تیمارهای حاوی

کل فیلم، سرعت انتقال بخار آب (WVPR) بدست می‌آید. طبق رابطه محاسبه شدند:

معادله (۱)

$$WVP = (WVPR \times L) / \Delta P$$

در معادله بالا L میانگین ضخامت فیلم و ΔP اختلاف فشار بخار آب بین داخل و خارج فنجانک هاست.

اندازه‌گیری عبور اکسیژن

نفوذپذیری به اکسیژن، به صورت غیر مستقیم و توسط روش ایو و همکاران (۲۰۰۵) در سه تکرار انجام شد. نمونه‌های روغن تازه آفتابگردان بدون آنتی‌اکسیدان در فنجانک‌ها ریخته شد و روی دهانه آن‌ها توسط فیلم پوشانده شد. سپس فنجانک‌ها برای مدت ۱۵ روز در شرایط آزمایشگاه نگه داری شدند. عدد پراکسید طی زمان مشخص شده اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول ۲ محاسبه شدند: PV عدد پراکسید، V: حجم تیوسولفات مصرفی (mL)، N: نرمالیت تیوسولفات (Normal/lit) و M: وزن نمونه (g) می‌باشند.

$$PV = \frac{V \times N \times 1000}{M}$$

معادله (۲)

خاصیت ضد میکروبی

خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها با حضور و رشد باکتری اشرشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور محیط کشت مایع محلول LB شامل کلرید سدیم، عصاره مخمر و تریپتون در آب مقطر تهیه شد. سپس محلول درون اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه استریل شد و باکتری در محلول کشت داده شد و تا رسیدن به ۰/۱ OD روی شیکر قرار داده شد. محیط کشت آگار آماده و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه استریل شد.

³- Luria-Betani Broth

¹- Water vapor permeability

²- Peroxide Value, PV

۳٪ نانواکسیدروی تعلق داشت و با ادامه افزایش این نانوذره در ساختار فیلم‌های پروتئینی، مقاومت مکانیکی فیلم‌ها کاهش پیدا کرد، این در حالی بود که

غلظت ۱٪ نانوذره در هر دو نوع فیلم بر تغییرات این پارامتر موثر نبود.

جدول ۱- مقاومت کششی فیلم‌های نانوکامپوزیت برپایه پروتئین کنجاله کنجد استخراج شده با قلیا و آب نمک حاوی نانوذرات اکسید روی

Table 1-Tensile strength of nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline and saline solutions containing zinc oxide nanoparticles.

Tensile strength (MPa)		Films	
Alkali Extraction	Saline Extraction	Glycerol	ZnO(%)
0.84±0.1 ^{def A}	0.84±0.1 ^{c A}	40	0
0.64±0.04 ^{gh A}	0.64±0.04 ^{de A}	45	0
0.51±0.02 ^{h A}	0.51±0.08 ^{f A}	50	0
0.92±0.09 ^{d^e A}	0.83±0.03 ^{c A}	40	1
0.79±0.07 ^{ef A}	0.59±0.08 ^{ef B}	45	1
0.75±0.1 ^{fg A}	0.61±0.01 ^{def B}	50	1
1.47±0.15 ^{a A}	1.1±0.02 ^{ab B}	40	3
1.07±0.03 ^{c A}	1.12±0.04 ^{aA}	45	3
1.24±0.01 ^{b A}	0.95±0.05 ^{bb B}	50	3
0.98±0.08 ^{cd A}	0.98±0.1 ^{b A}	40	5
0.81±0.1 ^{ef A}	0.72±0.07 ^{d A}	45	5
0.76±0.05 ^{fg A}	0.68±0.05 ^{de A}	50	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column ($P < 0.05$).

(جدول ۱). نرم کننده‌ها اغلب از طریق تخریب باندهای هیدروژنی بین زنجیره‌های پلیمری موجب افزایش تحرک و فاصله بین زنجیره‌ها میگردد. بنابراین اثر منفی افزایش گلیسرول احتمالاً ناشی از این واقعیت است (شارما و سینگ ۲۰۱۶). بدین ترتیب در فیلم پروتئینی با روش استخراج قلیایی بالاترین مقاومت کششی به تیمار حاوی ۳٪ نانوذره و ۴۰٪ گلیسرول تعلق داشت و بعد از آن فیلم حاوی ۳٪ نانوذره و ۵۰٪ گلیسرول بود. در مورد فیلم پروتئینی با روش استخراج نمکی نیز روند نسبتاً مشابهی به دست آمد بدین صورت که بالاترین میزان مقاومت کششی به فیلم‌های حاوی ۳٪ نانوذره و ۴۵-۴۰٪ گلیسرول تعلق داشت. با این تفاوت که میزان مقاومت کششی فیلم‌ها نسبت به نوع قلیایی کمتر بود که این نتیجه بیان کننده

بهبود مقاومت کششی فیلم‌ها در درصدهای کم نانوذره ممکن است به دلیل نقش پرکنندگی نانوذرات در ساختار شبکه پلیمری به عنوان یک پرکننده مناسب درابعاد نانومتری باشد. عدم بهبود مقاومت کششی در درصدهای بالاتر نانوذرات نیز ممکن است به دلیل تجمع نانوذرات (آگلومره شدن) ناشی از نیروی سطحی نانوذرات در درصدهای بالا باشد که این تجمعات خود به عنوان نقطه شکست درحین کشش در ساختار فیلم عمل می‌نمایند. با بررسی اثر گلیسرول روی مقاومت مکانیکی فیلم‌ها نیز مشخص شد که در غلظت ثابتی از نانوذره، بیشترین مقاومت مکانیکی در میزان فیلم‌های پروتئینی حاوی ۴۰٪ گلیسرول بدست آمد و با افزایش غلظت این نرم کننده تا ۵۰٪ از مقاومت کششی فیلم‌های خوراکی بطور معنی داری کاسته شد

استخراج شده با محلول آب نمک به دلیل ضعیف بودن پیوندهای پروتئین-پروتئین مقاومت کمتری در برابر ازدیاد طول داشته و زودتر پاره می‌شوند.

در همین راستا لای و چن (۲۰۰۸) بیان کردند نرم کننده‌ها با تخریب باندهای درون و بین‌ملکولی، پیوندهای هیدروژنی و یونی بین زنجیره‌های پلیمرها را کاهش می‌دهند و برهم کنش بین آن‌ها را کم می‌کنند. در نتیجه، فاصله بین ملکول‌های پلیمر و حرکات ملکولی زیاد می‌شود و انعطاف‌پذیری پلیمر افزایش می‌یابد. نتایج اثر نانواکسیدروی بر کشش پذیری فیلم‌ها نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در هر دو نوع فیلم با افزایش نانوذره تا مقدار ۳٪ از انعطاف پذیری فیلم‌ها کاسته شده است.

ولی با ادامه افزایش آن تا مقدار ۵٪ مجدداً کشش پذیری فیلم‌ها افزایش پیدا کرده است ولی همچنان کمتر از نمونه های فاقد نانوذره می‌باشند. بر این اساس کمترین کشش پذیری در مورد همه فیلم‌ها به تیمار حاوی ۳٪ نانوذره و ۴۰٪ گلیسرول تعلق داشت. نانوذرات اکسیدروی نیز در غلظت کم به علت پراکنده شدن مناسب در بستر پلیمر و بروز خواص منحصر به فرد سطحی، مقاومت مکانیکی فیلم‌ها را افزایش داده و در نتیجه کشش پذیری روند کاهشی داشته است. در تحقیقاتی مشابه قاروی آهنگر و همکاران (۱۳۹۲)، نیز با بررسی ویژگی‌های مکانیکی فیلم نانوکامپوزیت PVA/ZnO گزارش دادند که با افزایش نانواکسید روی تا غلظت ۳٪ استحکام کششی فیلم‌ها ۲۰/۲۶٪ افزایش یافت و در نتیجه کشش پذیری فیلم‌ها کاسته شد ولی در ادامه با افزایش این نانوذره تا ۵٪ روند معکوس شد و مقاومت مکانیکی فیلم‌ها کاهش پیدا کرد.

این مطلب است که پروتئین‌های استخراج شده با محلول آب نمک به دلیل ضعیف بودن پیوندهای پروتئین-پروتئین مقاومت کششی ضعیفتری دارند.

در تحقیقات کاملی که شارما و سینگ (۲۰۱۶) بر روی ویژگی‌های فیلم تهیه شده از پروتئین کنجاله کنجد استخراج شده به روش قلیایی انجام دادند، اثر غلظت پروتئین (۳-۹٪)، pH (۹-۱۲) و میزان گلیسرول (۵۰-۱۰٪ بر اساس پروتئین) مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها عنوان کردند با افزایش غلظت پروتئین برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین بیشتر شده در نتیجه شبکه پروتئینی قوی‌تری تشکیل می‌گردد. همچنین با افزایش pH پیوستگی زنجیره‌های پروتئین بیشتر می‌شود که منجر به تولید فیلم‌هایی با ساختار متراکم و منسجم‌تری می‌گردد. طبق نتایج این محققین افزایش غلظت گلیسرول به دلیل ماهیت آبدوستی آن و همچنین قرار گرفتن گلیسرول بین زنجیره‌های پروتئینی و کاهش پیوندهای بین‌مولکولی و در نتیجه تضعیف شبکه فیلم، با نتایج این تحقیق کاملاً سازگاری دارد.

درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی (کشش پذیری)

نتایج ارزیابی متغیرهای فرایند بر تغییرات درصد ازدیاد طول فیلم‌های پروتئینی استخراج شده به روش قلیایی و آب نمک در جدول ۲ آورده شده است.

همانطور که مشاهده می‌گردد با افزایش غلظت گلیسرول در ساختار فیلم‌ها، انعطاف پذیری فیلم‌های پروتئینی و در نتیجه کشش پذیری آن‌ها افزایش پیدا کرد بطوریکه میزان این پارامتر برای فیلم پروتئینی با روش استخراج قلیایی با افزایش غلظت گلیسرول افزایش یافت.

در مورد فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج نمکی روند مشابهی بدست آمد با این تفاوت که میزان کشسانی فیلم‌ها نسبت به نوع قلیایی کمتر بود که این نتیجه بیان کننده این مطلب است که پروتئین‌های

جدول ۲- درصد کشش پذیری تا نقطه پارگی فیلم‌های بیونانوکامپوزیت بر پایه پروتئین کنجاله کنجد استخراج شده با قلیا و آب نمک حاوی نانوذرات اکسید روی

Table 2- Elongation to break of nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline and saline solutions containing zinc oxide nanoparticles

Elongation(%)		Films	
Alkali Extraction	Saline Extraction	Glycerol	ZnO(%)
76.67±2.31 ^{cd A}	58.3±2.3 ^{e B}	40	0
81.56±1.57 ^{b A}	75±2.8 ^{b B}	45	0
85.01±0.96 ^{a A}	81.9±2 ^{a B}	50	0
61.75±1.5 ^{f A}	57.65±1.4 ^{e B}	40	1
69.1±1.55 ^{e B}	73.4±2.5 ^{bc A}	45	1
70.5±2.94 ^{e A}	70.12±2 ^{c A}	50	1
51.7±0.68 ^{h A}	45.6±2.5 ^{g B}	40	3
56.2±0.9 ^{g A}	42.8±1.9 ^{g B}	45	3
63.1±1.18 ^{f A}	50.89±2.6 ^{f B}	50	3
74.2±0.88 ^{d A}	54.17±3 ^{ef B}	40	5
68.1±1.31 ^{e A}	55.32±2 ^{e B}	45	5
78.65±1.3 ^{c A}	63.78±1 ^{d B}	50	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column (P<0.05).

جدول ۳- تغییرات مدول یانگ در فیلم‌های بیونانوکامپوزیت بر پایه پروتئین کنجاله کنجد استخراج شده با قلیا و آب نمک حاوی نانوذرات اکسید روی

Table 3 - The Young modulus changes of nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline and saline solutions containing zinc oxide nanoparticles

Elastic modulus(MPa)		Films	
Alkali Extraction	Saline Extraction	Glycerol	ZnO(%)
18.26±0.7 ^{g A}	16.78±1.2 ^{g A}	40	0
17.8±0.5 ^{g A}	16.5±1.5 ^{g A}	45	0
15.58±0.25 ^{h A}	13.98±1 ^{g B}	50	0
28.46±1 ^{e A}	22.57±0.8 ^{de B}	40	1
22.1±0.5 ^{f B}	24.1±1.2 ^{cd A}	45	1
23.12±0.8 ^{f A}	19.65±2 ^{f B}	50	1
46.2±1.5 ^{b A}	27.1±0.5 ^{b B}	40	3
51.62±1.2 ^{a A}	29.85±1.5 ^{a B}	45	3
41.89±1.3 ^{c A}	20.35±2.6 ^{ef B}	50	3
45.1±0.5 ^{b A}	30.22±0.8 ^{a B}	40	5
37.1±1.8 ^{d A}	24.88±2.5 ^{bc B}	45	5
38.11±1 ^{d A}	25.8±1.8 ^{bc B}	50	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column (P<0.05).

میزان عددی مدول یانگ برای فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج قلیایی و نمکی با افزایش میزان گلیسرول مدول الاستیسیته نمونه‌های فیلم پروتئینی بطور معنی داری کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$). این در

مدول یانگ

مدول یانگ یا مدول الاستیسیته به نسبت تنش کششی به کرنش کششی در حالتی که رابطه بین این دو خطی باشد؛ گفته می‌شود. طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها،

هستند که با اضافه شدن به مواد پلیمر، موجب تغییر در ساختار سه بعدی آن‌ها می‌گردند که با کم کردن نیروهای جاذبه بین مولکولی و افزایش سیالیت شاخه-های پلیمری باعث ازدیاد انعطاف پذیری و نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم می‌شوند. این در حالی بود که افزودن نانوذره اکسید روی تا میزان ۳٪ منجر به کاهش قابل توجهی در میزان WVP فیلم‌ها گردید ولی با ادامه افزایش آن تا میزان ۵٪ بر میزان نفوذپذیری فیلم‌ها به بخارات آب افزوده شد (جدول ۴). کاهش معنی‌دار در میزان نفوذپذیری به بخار آب بعد از افزودن نانواکسیدروی ممکن است موجب به وجود آمدن مسیری پرپیچ و خم برای عبور مولکول‌های بخار آب گردد (یو و همکاران ۲۰۰۹). در مورد فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج نمکی نیز روندی مشابه بدست آمد.

بدین معنی که افزایش غلظت گلیسرول منجر به افزایش WVP فیلم‌ها شد در حالیکه نانوذرات اکسید روی حتی در غلظت بالاتر نیز سبب کاهش WVP نسبت به نمونه های فاقد نانوذره گردید. همانطور که از نتایج پیداست در غلظت ثابتی از گلیسرول و نانوذره، میزان نفوذ پذیری به بخار آب فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج نمکی حدود ۲-۳ برابر فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج قلیایی می‌باشد که حاکی از ضعیف بودن ساختار شبکه فیلم تشکیل شده با این نوع پروتئین است. صحرایی و همکاران (۲۰۱۷) ویژگی‌های فیلم بیونانوکامپوزیت ژلاتین دارای نانوذرات کیتین و اکسید روی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج ارزیابی نشان داد که افزودن نانوذرات اکسید روی به میزان ۳٪ باعث کاهش معنی داری در انتقال به بخار آب فیلم شد. با افزایش غلظت اکسیدروی تا ۵٪ نفوذپذیری به بخار آب تا حدی افزایش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

حالی بود که با اضافه کردن نانواکسیدروی به فرمولاسیون فیلم‌ها تا غلظت ۳٪، به دلیل افزایش انسجام و پیوستگی شبکه ساختار فیلم مدول الاستیسیته بطور معنی داری افزایش یافت ولی در ادامه با افزودن این نانوذره تا مقدار ۵٪، استحکام کششی و همچنین مدول الاستیسیته فیلم‌های پروتئینی روند کاهشی داشت ولی همچنان نسبت به نمونه‌های فاقد نانوذره مدول یانگ بالاتری داشتند (جدول ۳). افزایش در مقدار مدول الاستیسیته ممکن است به دلیل کاهش تحرک رشته‌های پروتئینی حاصل از افزایش پیوندهای بین رشته‌ای باشد. همچنین پخش یکنواخت نانوذرات در ماتریس پلیمر و برهمکنش مناسب بین نانوذره و پلیمر موجب افزایش مقاومت مکانیکی نانوکامپوزیت‌ها می‌شود (جعفری و همکاران ۲۰۱۶).

نفوذپذیری به بخار آب

میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های خوراکی مرتبط با نوع کاربرد آنها است به طوری که نمی‌توان با یک پلیمر یکسان هر نوع ماده غذایی را بسته بندی نمود. بنابراین بسیاری از فیلم‌های زیست تخریب پذیر، به دلیل بازدارندگی نسبتاً کم نسبت به بخارات آب، کاربرد محدودی دارند (جاهد و همکاران ۱۳۹۷). نتایج آنالیز واریانس نشان دهنده معنی دار بودن اثر ساده نانوذرات اکسید روی و گلیسرول و همچنین اثر متقابل این دو متغیر بر میزان نفوذپذیری فیلم‌های پروتئینی نسبت به بخار آب بود ($P < 0.05$) و در این بین نانوذره تاثیر بیشتری بر میزان این پارامتر داشت. طبق نتایج مشخص شد که میزان نفوذپذیری به بخار آب برای فیلم پروتئینی با روش استخراج قلیایی با افزودن میزان گلیسرول مقدار این پارامتر افزایش یافت که این افزایش از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0.05$). بر اساس مطالعات پارک و همکاران (۱۹۹۳) ودونهاو و همکاران (۲۰۰۱) نرم‌کننده‌ها مولکول‌های کوچکی

جدول ۴- نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های بیونانوکامپوزیت بر پایه پروتئین کنجاله کنجد استخراج شده با قلیا و آب نمک حاوی نانوذرات اکسید روی

Table 4 - Water vapor permeability of Nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline and saline solutions containing zinc oxide nanoparticles

WVP (gmm/m ² h Pa)		Films	
Alkali Extraction	Saline Extraction	Glycerol	ZnO(%)
2.06±0.05 ^{de} B	5.44±0.05 ^b A	40	0
2.34±0.12 ^{bc} B	5.5±0.18 ^b A	45	0
2.86±0.1 ^a B	5.89±0.1 ^a A	50	0
1.92±0.1 ^e B	4.28±0.05 ^d A	40	1
1.94±0.07 ^e B	4.05±0.15 ^e A	45	1
2.34±0.05 ^{bc} B	4.56±0.1 ^c A	50	1
1.62±0.1 ^f B	3.18±12 ^g A	40	3
1.74±0.03 ^f B	2.91±0.2 ^h A	45	3
2.02±0.08 ^{de} B	3.15±0.15 ^g A	50	3
2.1±0.04 ^d B	3.42±0.05 ^f A	40	5
2.46±0.1 ^b B	3.58±0.1 ^f A	45	5
2.28±0.11 ^c B	3.15±0.06 ^g A	50	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column ($P < 0.05$).

نفوذپذیری به اکسیژن

نفوذپذیری به گازها بر روی ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها و نیز کاهش ترکیبات فرار غذا از جمله طعم دهنده‌ها یا گازها (O_2 , CO_2)، همچنین انتقال احتمالی ترکیبات نامطبوع محیطی به ماده بسته بندی شده موثر می‌باشد. به همین دلیل، در اکثر موارد، نفوذپذیری کم نسبت به گازها در حفظ کیفیت مواد غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است (سانچز گونزالز و همکاران ۲۰۱۱). در این پژوهش خاصیت ضد اکسیژنی فیلم‌ها بابررسی اکسیداسیون روغن مایع برمبنای عدد پراکسید، تعیین شد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نانو اکسیدروی در هر دو نوع فیلم پروتئینی تاثیر معنی داری بر نفوذپذیری به اکسیژن و در نتیجه اندیس پراکسید روغن داشت ($P < 0.05$). این در حالی بود که اثر غلظت گلیسرول بر نفوذپذیری به اکسیژن در فیلم پروتئینی با روش استخراج قلیایی معنی دار نبود ($P > 0.05$). ولی در فیلم پروتئینی با روش استخراج نمکی موثر بود.

محققان عنوان کرده‌اند پلیمرهایی که دارای گروه های فعال در برقراری پیوندهای یونی و هیدروژنی هستند، در رطوبت های نسبی پایین موانع خوبی در برابر عبور گازها هستند. پروتئین‌ها علی رغم داشتن این ویژگی به علت ماهیت آبدوستی آمینواسیدهایی که آن ها را تشکیل داده‌اند، تراوایی نسبتا بالایی در برابر گازها دارند (ویتایا ۲۰۱۲). به طور کلی افزایش در فاز کریستالی، جهت گیری، جرم مولکولی و اتصالات جانبی زنجیره‌ها باعث کاهش نفوذپذیری فیلم به گازها می‌گردد. از آنجا که نانوذرات باعث افزایش اتصالات جانبی و تراکم زنجیره های پلیمر می‌گردند می‌توانند به کاهش نفوذپذیری فیلم نسبت به بخار آب و گازها کمک کنند (کاروالهو و همکاران ۲۰۰۴). میانگین عدد پراکسید در ارزیابی میزان نفوذپذیری به اکسیژن فیلم‌های پروتئینی حاوی مقادیر مختلف گلیسرول و نانوذرات اکسید روی در جدول ۵ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در فیلم های پروتئینی با روش استخراج قلیایی با افزودن نانو اکسید روی میزان اندیس

مشابهی بدست آمد با این تفاوت که میزان نفوذپذیری به اکسیژن در این فیلم‌ها اندکی بیشتر و اثر گلیسرول در تغییرات نفوذپذیری به اکسیژن محسوس‌تر بود.

پراکسید بطور معنی داری کاهش یافت در حالیکه در غلظت ثابتی از نانوذره، افزایش گلیسرول از ۴۰٪ تا ۵۰٪ تاثیری بر این پارامتر نداشت (جدول ۵). در مورد فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج نمکی نیز روند

جدول ۵- اندیس پراکسید در ارزیابی نفوذپذیری به اکسیژن فیلم‌های بیونانوکامپوزیت بر پایه پروتئین کنجاله کنگد استخراج شده با قلیا و آب نمک حاوی نانوذرات اکسید روی

Table 5- Peroxide value for assessment of oxygen permeability of Nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline and saline solutions containing zinc oxide nanoparticles

Peroxide Index (meqO ₂ /Kg Oil)		Films	
Alkali Extraction	Saline Extraction	Glycerol	ZnO(%)
8±0.2 ^{aB}	10±0.8 ^{aA}	40	0
7.5±0.15 ^{bA}	8±1 ^{bA}	45	0
8.1±0.03 ^{aB}	8.8±0.5 ^{bA}	50	0
6±0.1 ^{cB}	7±0.25 ^{cA}	40	1
5.1±0.15 ^{deB}	5.9±0.75 ^{dA}	45	1
5.8±0.05 ^{cB}	6±0.1 ^{dA}	50	1
4.8±0.25 ^{eA}	5±0.2 ^{eA}	40	3
5.3±0.2 ^{dA}	4.8±0.15 ^{eB}	45	3
5±0.15 ^{deB}	6±0.18 ^{dA}	50	3
2±0.1 ^{hB}	2.4±0.3 ^{fA}	40	5
3±0.2 ^{fA}	2.8±0.25 ^{fA}	45	5
2.4±0.3 ^{gB}	3±0.2 ^{fA}	50	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column (P<0.05).

ضدمیکروبی فیلم‌های خوراکی بر پایه پروتئین کنجاله کنگد داشت (P<۰/۰۵)، بطوریکه با افزایش غلظت این نانوذره قطر هاله عدم رشد باکتری اشرشیاکلی در هر دونوع فیلم افزایش معنی داری نشان داد. طبق نتایج مشخص شد که گلیسرول و روش استخراج پروتئین (قلیایی و آب نمک) بر خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها موثر نبود (جدول ۶). همان‌طور که مشاهده می‌شود فیلم خالص پروتئین کنجاله که به روش قلیایی و یا آب نمک استخراج شده بود، فاقد فعالیت ضد میکروبی بر روی باکتری اشرشیاکلی بود ولی با افزودن نانواکسیدروی قطر هاله عدم رشد از ۱۱/۰۲ میلی‌متر در فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج قلیایی حاوی ۱٪ به ۲۱/۰۷ میلی‌متر در فیلم حاوی ۵٪ نانواکسید روی رسید که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود

قدسی و همکاران (۱۳۹۵) نیز با بررسی نفوذپذیری فیلم بیونانوکامپوزیتی بر پایه ایزوله پروتئین گاودانه و نانوذرات اکسیدروی به این نتیجه رسیدند که با افزودن ۲-۲۰٪ نانواکسیدروی تراوایی فیلم‌های نانوکامپوزیت نسبت به نمونه شاهد به شدت کاهش پیدا کرد به این علت که در ماتریس پروتئینی فیلم، نانوذرات در فضای بین زنجیره‌های پپتیدی نفوذ کرده و بین نانوذرات و زنجیره‌های جانبی رشته‌های پپتیدی مناطق غیرکریستالی ایجاد می‌کنند که باعث افزایش تراکم فیلم‌ها می‌شود که با نتایج این تحقیق کاملاً مطابقت دارد.

خاصیت ضدمیکروبی

طبق نتایج آنالیز واریانس مشخص شد که نانواکسیدروی تاثیر معنی داری بر خاصیت

15.9±1.65 ^{bA}	16.08±2 ^{bA}	3
21.07±1.3 ^{aA}	20.36±1 ^{aA}	5

Large letters are used to compare the average in each row and small letters are used to compare the average in each column ($P<0.05$).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت که فیلم‌های تهیه شده از پروتئین کنجاله کنجد که با روش قلیایی استخراج شده بود از نظر خواص بازدارندگی و مکانیکی قوی‌تر از فیلم‌های بر پایه پروتئین استخراج شده به روش محلول آب نمک می‌باشد که به تاثیر منفی یون‌های نمک بر پیوندهای پپتیدی و نقش مثبت قلیا در جلوگیری از حلالیت و استخراج بهتر پروتئین‌ها در این شرایط نسبت

داده می‌شود. همچنین در مورد غلظت گلیسرول نیز با توجه به اثر منفی آن بر ویژگی‌های فیزیکی و ساختاری فیلم در غلظت‌های بالا و نقش مثبت آن بر انعطاف پذیری فیلم در غلظت‌های کمتر، مقدار ۴۰٪ انتخاب می‌گردد و در مورد نانوذره اکسیدروی نیز با توجه به تاثیر مثبت آن بر ویژگی‌های بازدارندگی و مکانیکی فیلم در غلظت ۳٪ و آگلومره شدن نانوذرات و افت کیفیت فیلم‌ها در غلظت‌های بالاتر (۵٪)، میزان ۳٪ بعنوان غلظت مطلوب جهت تولید فیلم‌های ضد میکروبی پیشنهاد می‌گردد.

($P<0.05$). همانطور که اشاره شد مقادیر هاله عدم رشد در فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج نمکی در غلظت ثابتی از نانوذره تفاوت معنی‌داری با فیلم‌های پروتئینی با روش استخراج قلیایی نداشت که نشان دهنده این موضوع است که در بین ترکیبات سازنده فیلم فقط نانوذرات اکسیدروی دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد. در تحقیقی که توسط شفیع‌ی و ابواکیل در سال (۲۰۱۱) بر روی کامپوزیت نانو اکسیدروی کربوکسی متیل کیتوزان انجام شد، طبق نتایج اثر ضد میکروبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی با افزایش غلظت نانوذرات افزایش می‌یابد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

جدول ۶- خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های

بیونانو کامپوزیت بر پایه پروتئین کنجاله کنجد استخراج شده با قلیا و آب نمک حاوی نانوذرات اکسیدروی

Table 6- Antimicrobial properties of Nanocomposite films based on sesame meal protein extracted by alkaline and saline solutions containing zinc oxide nanoparticles

The zones of inhibition (mm) film's diameter is 10 mm		ZnO(%)
Alkali Extraction	Saline Extraction	
0±0 ^{dA}	0±0 ^{dA}	0
11.02±1.2 ^{cA}	11.26±1.5 ^{cA}	1

منابع مورد استفاده

جاهد ع، الماسی ه و علیزاده خالدآباد م، ۱۳۹۷. تولید و بهینه سازی ویژگی‌های نانوکامپوزیت زیست تخریب پذیر کیتوزان / نانوفیبرآلی حاوی اسانس‌های مرزنجوش بخارایی و زنیان و کاربرد آن بر پایداری اکسیداتیو روغن کلزا. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۴، شماره ۵، صفحه ۹۲۷-۹۰۷.

صارم نژاد س، عزیزی م ح، برزگر م و عباسی س، ۱۳۸۸. بررسی اثر pH و غلظت پلاستی سایزر روی ویژگی‌های فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین باقلا، دانشگاه تربیت مدرس، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۶، شماره ۲، صفحه ۱۰۳-۹۳.

خادم م، الماسی ه و مشکینی س، ۱۳۹۶. تاثیر فیلم فعال سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری و نانوذرات اکسیدروی بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و تغذیه‌ای دانه‌های انار آماده مصرف در طول نگهداری سرد، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۷، شماره ۴، صفحه ۱۱۹-۱۰۳.

قاروی آهنگر ا، عباسپورفرد م ح، شاه طهماسبی ن و خجسته پور م، ۱۳۹۲. سنتز و مطالعه خواص ساختاری، فیزیکی و ضد میکروبی اکسید روی و نانوکامپوزیت پلیمری (PVA/ZnO) جهت بسته بندی مواد غذایی، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۱، شماره ۲، صفحه ۱۹۹-۱۹۱.

قدسی م، شاهدی م و کدیور م، ۱۳۹۵. تولید فیلم بیونانوکامپوزیتی از ایزوله پروتئینی گاودانه و نانوذرات اکسیدروی و بررسی خصوصیات عملکردی و موثر بر نگهداری مواد غذایی آن، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، شماره ۵۱، دوره ۱۳، صفحه ۱۱۳-۱۲۳.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Arlington (VA): Association of official analytical chemists.

ASTM, 2000. Standard Test Method for Water Vapor Transmission of Materials. Annual book of ASTM standards. Designation E96-00. Philadelphia: American Society for Testing Materials.

ASTM, 2002. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual book of ASTM standards. Designation D882-02. Philadelphia: American Society for Testing Materials.

Barreto PL M, Pires AT N and Soldi V, 2003. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. *Polymer Degradation and Stability*, 79: 147-152.

Carvalho RA and Grosso CRF, 2004. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids* 18:717-726.

Chen CH and Lai LS, 2008. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tso leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocoll*; 22: 1584-1595.

Gontard N and Guilbert S, 1994. Biopackaging: Technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In M. Mathouthi, *Food Processing and Preservation*; chapter 9. Glassgow: Blackie Academic and Professional.

Donhowe G and Fennema O, 2001. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability and mechanical properties of Methylcellulose films. *J Food Process Preserv* 1993; 17(4): 247-257

- Durango AM, Soares NFF and Andrade N J, 2006. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots, *Food Control*, 17: 336-341.
- Jafari H, Pirouzifard M, AlizadehKhaledabad M A and Almasi H, 2016. Effect of chitin nanofiber on the morphological and physical properties of chitosan/silver nanoparticle bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92: 461-466.
- Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier, H and Kahru A, 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*, *Chemosphere*, 71: 1308-1316.
- Henriette MC and de Azeredo, 2009. Nanocomposites for food packaging applications, *Food Research International*, 42, 1240–1253.
- Lee JH, Song NB, Jo WS and Song KB, 2014. Effects of nano-clay type and content on the physical properties of sesame seed meal protein composite films. *International Journal of Food Science and Technology*, 49: 1869-1875.
- Llorens A, Lloret E, Picouet P A, Trbojevich R and Fernandez A, 2012. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 24, 19–29.
- Onsaard E, Pomsamud P and Audtum P, 2010. Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. *As. J. Food Ag-Ind.*, 3(04): 420-431.
- Ou S, Wang Y, Tang S, Huang C and Jackson M G, 2005. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 70: 205-210.
- Park HJ, Weller CL, Verrgano PJ and Testin RF, 1993. Permeability and mechanical properties of cellulosebased edible films. *J Food Sci*; 58(6): 1361-1370.
- Saglam D, Venema P, De Vries R, Shi J and Van der Linden E, 2013. Concentrated whey protein particle dispersions: Heat stability and rheological Properties. *Food Hydrocolloids*. 30: 100-109
- Salgado PR, Molina Ortiz SE, Petruccelli S and Mauri A N, 2010. Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds. *Food Hydrocolloids*. 24: 525–533.
- Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A and Cháfer M, 2011. Use of essential oils in bioactive edible coatings. *J. Food Eng. Rev.*, 3: 1-16.
- Shafei A and Abou-Okeil A, 2011. ZnO/carboxymethylchitosan bionano-composite to impart antibacterial and UV protection for cotton fabric. *CarbohydrPolym*; 83(2):920-925.
- Sahraee s, Ghanbarzadeh B, and Milani J M and Hamishehkar H, 2017. Development of Gelatin Bionanocomposite Films Containing Chitin and ZnO Nanoparticles. *Food Bioprocess Technol*, 10:1441–1453.
- Sharma L and Singh CH, 2016. Sesame protein based edible film: Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 61:139-147.
- Tankhiwaie R and Bajpai SK, 2012. Preparation, characterization and antibacterial application of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging. *Colloids and Surfaces B: Bionterfaces*, (90):16-20.
- Weiss J, Takhistov P and McClements DJ, 2006. Functional Materials in Food Nanotechnology, *Journal Of Food Science*, 71(9): 107-116.
- Wittaya T, 2012. Protein-Based Edible Films: Characteristics and Improvement of Properties in Structure and Function of Food Engineering, *InTech*, 43-70.
- Yu J, Yang J, Liu B and Ma X, 2009. Preparation and characterization of glycerol plasticized-pea starch/ZnO-carboxymethylcellulose sodium nanocomposites. *Bioresour. Technol.*, 100(11): 2832-2841.
- Zhao J, Liu D, Chen F and LIU G, 2012. Functional Properties of Sesame Seed Protein Prepared by Two Different Methods, 34:1101-1106.
- Zhou JJ, Wang SY and Gunasekaran S, 2009. Preparation and Characterization of Whey Protein Film Incorporated with TiO₂ Nanoparticles, *Journal of Food Science*, 74 (7): 50-56.

Mechanical and anti-microbial properties of edible films based on sesame meal protein obtained by alkaline and saline extractions

S Sadeghi¹, J Mohammadzadeh Milani^{2*}, R Esmailzadeh Kenari² and M Kasaei²

Received: February 23, 2019 Accepted: May 4, 2019

¹MSc Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

²Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

*Corresponding author: Email: jmilany@yahoo.com

Introduction: In today's world, contaminants from synthetic polymers derived from oil derivatives have attracted public attention to the use of degradable materials such as macromolecules. Films and food packaging come from a variety of natural sources including proteins, polysaccharides, lipids, or a combination of these materials (Saremnejad et al. 2009). The characteristics of edible films, including biodegradability, have caused researchers to study the properties of film and various edible packaging as a suitable alternative to plastic packaging (Gonzard and Giulbert 1994). Edible films have appeared as a substitute for synthetic plastic for food applications and have gained substantial attention in recent years due to their benefits over synthetic films. Casings, pouches, bags can be developed from edible films and also be utilized as wraps or covers. At low relative humidity protein films are expected to be good oxygen barriers. Edible films from different protein sources have been formulated. These include casein, gelatin, whey protein, corn zein, soy protein, wheat gluten, peanut protein and mung bean protein (Saglam et al. 2013). Sesame (*Sesamum indicum* L.) is an important oilseed which is grown in many tropical countries. Sesame meal contains 35 to 40 % protein, is a by-product after oil extraction and it is major protein source used to feed animals in India (Onsaard et al. 2010). Isoelectric precipitation is normally used to prepare sesame protein isolates or concentrates. Sesame protein is very stable to heat and contains large quantities of methionine. So far, there is no work reported on using sesame protein isolate for the formation of edible films for packaging applications. There are several methods to incorporate antimicrobial agents in food, but the most effective of which is the addition of active compounds to packaging materials. Since the surface of the food is a critical region easily exposed to contaminants and packaging material, the slow release of antimicrobial substance to surface of food and, subsequently, diffusion across the food during preservation are predictable. Recently, several nanoparticles such as nanosilver, gold, copper, chitin, and essential oils have been known for their antimicrobial properties. Generally, antimicrobial nanoparticles are classified to organic and inorganic materials, each of which has its particular advantages. For example, inorganic agents are more stable against processing and storage conditions, but organic materials are more compatible, accessible, and inexpensive (Sahraee et al. 2017). Zinc oxide (ZnO) is one of the most widely accessible metal nanoparticles with low cost, introducing more UV barrier property in polymers in comparison to silver and gold nanoparticles (Llorens et al. 2012).

Materials and methods: Sesame meal protein was extracted by two methods of alkaline and saline extractions according to Onsaard et al. (2010) method. In order to increase the protein extraction efficiency, the sesame meal was thoroughly crushed and powdered before extraction, then the sesame powder was mixed with water from 1 to 10 w / v, then in the first method, the pH was achieved to 11 with 2 molar NaOH. In the second method, pH was achieved to 7 with 2 molar NaCl. In both methods, the mixture was stirred continuously with a magnetic stirrer for one hour and then centrifuged at 2822g in 15 minutes and the dissolved phases were separated. The soluble phases were achieved by using 0.1 or 1 M HCl to pH 4.5. The suspension was centrifuged at 2822 g in 15 minutes, then the upper part was discarded and the sediments were weighed and the protein content was measured according to the AOAC 2000 standard. To preparation of films, the sesame meal protein was

dissolved in 3 grams in 100 ml distilled water at 25 °C temperature. Glycerol was used in the making of films at 40%, 45%, and 50%; according to a pre-test. Glycerol percentages of less than 40% caused cracking of films, and increased glycerol content by more than 50% caused a high adhesion of films. To prepare nanocomposite films, different amounts of 1%, 3% and 5% of ZnO nanoparticles were added to 100 ml of distilled water and stirred with a magnetic stirrer at 30 ° C for 1 h, followed by ultrasonication for 15 min. Then 3 gr of sesame meal protein and glycerol were added to the solution of ZnO nanoparticles and then stirred for 1 hour. The solution was then heated in a water bath for 30 minutes at 90 °C and then cooled for 20 minutes to remove the air bubbles until it reached 25° C temperature. Then, 100 ml of the film forming solution was poured on Teflon dishes with a diameter of 16 and then dried at 25 °C for 24 h to obtain a uniform thickness. The films were kept in a desiccator with a relative humidity of $50 \pm 5\%$ and temperature 23 ± 2 °C (Lee et al. 2014).

Results and discussion: In this study, the biodegradable edible films of sesame meal proteins were produced by two different protein extraction methods including alkaline and saline extractions. In these films, glycerol was used as a plasticizer in three concentrations of 40%, 45% and 50% and zinc oxide nanoparticles were used in three concentrations of 1%, 3%, and 5%. According to the results, it was shown that in both samples, the tensile strength and Young's modulus significantly decreased by increasing glycerol, the percentage of length to break and water vapor permeability increased, but the oxygen permeability did not increase by increasing glycerol content. The results showed that Increase of 3% in content nanoparticles, the tensile strength, and Young's modulus increased, but the percentage of elongation to break point and water vapor permeability decreased of the films. With increasing zinc oxide nanoparticles to 5%, Tensile strenght, Young's modulus and oxygen permeability decreased and the percentage of elongation to break and water vapor permeability increased. The results of this research showed that the antimicrobial properties in both samples increased by increasing zinc oxide nanoparticles, and the glycerol level was unaffected. Finally, considering these parameters the tensile strength and the percentage increase in elongation to break, Young's modulus in the protein films were more for the alkaline method than the saline method. But the rate of water vapor and oxygen permeability in the protein films was higher by the saline method.

Conclusion: It was concluded that the films prepared from the sesame meal protein produced by alkaline extraction have stronger inhibitory and mechanical properties than films based on protein extracted by saline solution, which has negative effect salt ions on peptide bonds and positive role alkali is attributed to preventing solubility and better extracting of proteins in these conditions.

Keywords: Alkaline extraction, Edible film, Protein sesame meal, Saline extraction