

## بررسی اثر افزودن اسانس سیر بر ویژگی های فیزیکی - مکانیکی، میکروبی و حسی فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا

هما بقایی<sup>۱\*</sup> - فریماه آقایی<sup>۲</sup> - ناصر صداقت<sup>۳</sup> - محبت محبی<sup>۴</sup> تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۱۲  
تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۷

### چکیده

به منظور رفع مسائل زیست محیطی و اقتصادی استفاده از پلاستیک‌ها در صنعت، امروزه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بر پایه پلی ساکاریدها، پروتئین‌ها، لیپیدها و یا ترکیبی از آن‌ها وارد دنیای بسته بندی شده است. این پوشش‌ها می‌توانند برخی افزودنی‌ها نظیر عوامل ضد میکروبی و ضد قهوه ای شدن، رنگ‌ها، طعم دهنده‌ها، مواد مغذی و ادویه‌ها را در خود جای داده و به عنوان بسته بندی‌های فعال به کار روند. در این پژوهش، اثر افزودن اسانس روغنی سیر (۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ درصد وزنی - وزنی محلول فیلم) بر فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا با اندازه گیری پارامترهای مکانیکی (استحکام کششی و ازدیاد طول)، فیزیکی (شفافیت، نفوذپذیری به بخار آب و ریزساختمان)، میکروبی (علیه باکتری‌های سالمونلا انترتیدیس، اشرشیاکلی H7: O157، استافیلوکوکوس اورئوس) و حسی (ظاهر، بو و قابلیت جویدن) ارزیابی گردید. بر اساس نتایج به دست آمده، اسانس سیر سبب بهبود خواص مکانیکی و نفوذپذیری به بخار آب شده، میزان شفافیت، یکنواختی ساختار و امتیاز حسی را کاهش می‌دهد ( $p < 0.05$ ). نمونه‌های فیلم تیمار شده فاقد قابلیت مهارکنندگی علیه اشرشیاکلی بوده اما به طور معنی داری خاصیت ضد میکروبی علیه سالمونلا انترتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس را دارا هستند ( $p < 0.05$ ).

واژه‌های کلیدی: اسانس سیر، ایزوله پروتئین سویا، فیلم خوراکی، ضد میکروبی

### مقدمه

تخریب پذیر<sup>۷</sup> هستند که تمایل به استفاده از آن‌ها در صنعت به دلیل دارا بودن مواد طبیعی و عدم ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی، به صورت روز افزون در حال افزایش است (یقبانی، ۱۳۷۴). فیلم‌ها و ورقه‌های خوراکی به لایه نازکی از مواد خوراکی اطلاق می‌شود که به عنوان پوشش روی ماده غذایی استفاده می‌گردد. فیلم خوراکی می‌تواند مواد آنتی‌اکسیدانی، رنگی، ضد میکروبی و اسانس‌ها را در خود جای دهد در حالی که بسته‌بندی‌های مرسوم غیر خوراکی این قابلیت را نداشته و لذا قادر به رقابت در این زمینه با فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی نمی‌باشند. رشد روزافزون کاربرد فیلم‌های خوراکی به واسطه جلوگیری از نفوذ دی اکسید کربن، رطوبت، اکسیژن و چربی‌ها، رقابت قابل توجهی را در مبحث پیشرفته بسته بندی مواد غذایی ایجاد نموده است (فردریک، ۲۰۰۰). از دیگر مزایای کاربرد فیلم‌های خوراکی می‌توان به قابل مصرف بودن به همراه ماده خوراکی و ایجاد بازارهای جدید برای فروش محصولات کشاورزی اشاره کرد (رهیم و شلهامر، ۲۰۰۵).

بسته بندی‌های ضد میکروبی نوع خاصی از بسته بندی‌های

در عصر حاضر، آلودگی‌های شیمیایی ناشی از وارد شدن مواد بسته بندی سنتزی به طبیعت، از خطرات بزرگی است که زندگی بشر را تهدید می‌کند. به طوری که بیش از نیمی از زیاله‌های شهروندان در کشورهای صنعتی را مواد بسته بندی تشکیل می‌دهند (صداقت، ۱۳۷۵). پلاستیک ماده‌ای است که به خاطر ناسازگاریش با طبیعت (به علت آبریز بودن و عدم اثر آنزیم‌های تجزیه کننده) در محیط زیست قابل تجزیه نمی‌باشد (بنکدار و وهاب زاده، ۱۳۷۴). پوشش‌ها<sup>۵</sup> و فیلم‌های خوراکی<sup>۶</sup> از جمله بسته بندی‌های زیست

۱- عضو هیات علمی گروه پژوهشی افزودنی‌های غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاددانشگاهی مشهد

\*- نویسنده مسئول: (Email.Homa\_9822003@yahoo.com)

۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیاران گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

5- Edible Coating

6- Edible Film

## مواد و روش‌ها

در انجام این پژوهش، ایزوله پروتئین سویا (خلوص ۹۰٪) با نام Soypro 900 از شرکت سمیه در بهشهر خریداری شد. کلرید کلسیم بدون آب از شرکت فلوکا آلمان و گلیسرول پروآنالیز ۸۳٪، برمید سدیم، هیدروکسید سدیم و سولفات پتاسیم از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. اسانس روغنی سیر به عنوان نگهدارنده طبیعی گیاهی از شرکت اکسیر گل سرخ تهیه گردید. آمپول‌های استریل حاوی سوش‌های اشرشیاکلی H7:O157، سالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس و محیط‌های کشت BHI Broth و Nutrient Agar از مرکز تحقیقات و فناوری تهران فراهم شد.

### تهیه فیلم خوراکی از ایزوله پروتئین سویا

۵ گرم ایزوله پروتئین سویا به داخل ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حاوی ۱/۷۶ گرم گلیسرین افزوده شده و توسط همزن مغناطیسی مخلوط می‌گردد. سپس به کمک سود یک نرمال، pH محلول روی ۱۱ تنظیم گردید. پروتئین‌های سویا که حاوی اسیدهای آمینه یونیزه بالا هستند (۲۵/۴٪) شدیداً تحت تاثیر pH قرار می‌گیرند و در غیر این pH به سختی فیلم تشکیل می‌دهند. اسانس روغنی سیر در سه سطح ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ درصد وزنی - وزنی به محلول اضافه شده و محلول روی هیتر مجهز به همزن مغناطیسی تا درجه حرارت ۸۵ °C و تحت همزن با دور ۱۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. برای جداسازی لخته‌های پروتئینی موجود، محلول توسط توری پارچه ای صاف شده و به مقدار ۳/۵ میلی لیتر در ۱ سانتیمتر مربع در قالب‌های آلومینیومی ریخته شد. قالب‌های حاوی محلول فیلم به مدت ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاه قرار داده شدند تا رطوبتشان تبخیر شده و فیلم خوراکی تشکیل گردد. در نهایت فیلم‌های سالم، بدون حباب و فاقد ترک برای انجام آزمون‌ها انتخاب شدند.

### مشروط کردن فیلم خوراکی

قبل از انجام آزمون‌های نفوذپذیری به بخار آب (WVP)، اندازه گیری خواص مکانیکی و شفافیت، فیلم‌های خوراکی توسط نمک برمید سدیم و مطابق با استاندارد ASTM, D 523 در داخل دسیکاتور مشروط شدند (۷). فیلم‌هایی که برای تعیین WVP آماده شده بودند در درجه حرارت ۲۵°C و رطوبت نسبی ۵۵٪ به مدت ۷۲ ساعت مشروط شدند. بقیه فیلم‌ها در شرایط مشابه و به مدت زمان ۴۸ ساعت به شرایط لازم جهت انجام آزمون‌ها رسانده شدند.

فعال هستند که می‌توانند عمر محصول را افزایش بیشتری داده و ایمنی میکروبی بالایی را برای مصرف کننده تامین نمایند. این بسته بندی‌ها در جهت کاهش، مهار و یا به تاخیر انداختن رشد پاتوژن‌ها در غذاهای بسته بندی شده و یا مواد بسته بندی عمل می‌کنند. از آنجا که پوشش‌های خوراکی می‌توانند به عنوان حامل ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عمل نمایند، ترکیبات مختلفی که با این هدف در بسته بندی مواد غذایی قابل استفاده است عبارتند از اسیدهای آلی، آنزیم‌هایی نظیر لیزوزیم، ضد قارچ‌هایی مانند بنومیل و ضد میکروب‌های طبیعی نظیر بسیاری از ادویه جات و اسانس‌های روغنی (سوتونوویت و کروچتا، ۲۰۰۸). تحقیقات نشان داده است اضافه نمودن ترکیبات ضد میکروبی به فیلم‌های خوراکی نه تنها بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها اثر می‌گذارد بلکه می‌تواند ویژگی‌های مکانیکی و فیزیکی‌شیمیایی را نیز تغییر دهد (ازدمیر و فلوروس، ۲۰۰۸). به تازگی در پژوهشی فعالیت ضد میکروبی فیلم خوراکی ایزوله پروتئین سویا که حاوی مقادیر ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ درصد اسانس روغنی پونه کوهی و آویشن بود بر علیه برخی باکتری‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد هر دو نوع اسانس اثر مشابهی در مهار رشد باکتری‌های اشرشیاکلی، اشرشیاکلی H7:O157، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آروچینوز و لاکتوباسیلوس پلانتراروم داشته است (امیروگلو و همکاران، ۲۰۱۰). پژوهش دیگری ویژگی‌های فیزیکی و ضد میکروبی عصاره دانه انگور، نایسین و EDTA را بر فیلم خوراکی تهیه شده از پروتئین سویا بررسی کرد. بر اساس نتایج به دست آمده افزودن ۱ درصد (وزنی - وزنی) عصاره دانه انگور به طور معنی داری ضخامت و تنش کششی فیلم را افزایش داده است (سیواروبان و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین تاثیر فعالیت ضد میکروبی اسید سیتریک، لاکتیک، مالیک، تارتاریک و نایسین افزوده شده به فیلم خوراکی پروتئین سویا بر علیه برخی باکتری‌ها بررسی گردید. نتایج نشان داد مالیک اسید (۲/۶ w/w٪) می‌تواند به عنوان جایگزین گلیسرول با کاه pH به منظور بهبود خواص ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی پروتئینی استفاده شود (طواراناندام و همکاران، ۲۰۰۴).

پژوهش حاضر با هدف تولید نوعی فیلم خوراکی ضد میکروبی از ایزوله پروتئین سویا و بررسی اثر افزودن غلظت‌های مختلف اسانس روغنی سیر (۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ درصد وزنی - وزنی محلول فیلم) بر خواص خواص ضد میکروبی (علیه اشرشیاکلی H7:O157، سالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس)، مکانیکی (استحکام کششی و درصد ازدیاد طول)، فیزیکی (شفافیت، نفوذپذیری به بخار آب، ریزاختمان) و حسی (خاصیت جویدنی، ظاهر و بو) فیلم تهیه شده صورت گرفت.

## انجام آزمون ها

### استحکام کششی و درصد ازدیاد طول: پارامترهای

استحکام کششی و درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی بر اساس استاندارد ASTM, D 882-97 (۸) و به وسیله دستگاه بافت سنج مدل QTS Texture Analyzer, CNS Farnell, Essex, UK اندازه گیری گردید. برای انجام این آزمون، فیلم ها به ابعاد ۲×۱۲ سانتیمتر مربع بریده شدند، سپس به اندازه ۱ سانتیمتر از هر دو انتهای فیلم بین فک ها قرار گرفته و سفت شدند. فاصله بین دو فک قبل از شروع آزمون ۱۰ سانتیمتر بود. فک بالایی با سرعت ۶۰ mm/min شروع به فاصله گرفتن کرد. در لحظه پاره شدن فیلم، آزمایش پایان یافت. مقدار استحکام کششی بر حسب مگاپاسکال (MPa) و درصد ازدیاد طول تا نقطه پارگی بر حسب درصد بیان می شود.

$$Tensile\ Strength = \frac{Maximum\ load}{Original\ minimum\ cross\ sectional\ area}$$

که Maximum load، بیشینه نیروی وارد شده به فیلم بر حسب نیوتون و Minimum cross section area، کمترین سطح مقطع عرضی اولیه فیلم بر حسب متر مربع می باشد.

$$\%E = \frac{Extension\ at\ moment\ of\ rupture}{Initial\ gage\ length} \times 100$$

که Extension at moment of rupture، مقدار اتساع تا لحظه پارگی، Initial gage length، فاصله اولیه بین دو فک (یا طول اولیه فیلم) و %E درصد ازدیاد طول در نقطه پارگی است.

### نفوذپذیری به بخار آب: برای تعیین مقدار نفوذپذیری به

بخار آب فیلم های خوراکی از روش دسیکانت (استاندارد ASTM<sup>1</sup>, E 96-95) استفاده شد (۶). مقدار ۴ گرم کلرید کلسیم بدون آب داخل سل های شیشه ای مخصوص با ابعاد ۱/۵×۷ سانتیمتر ریخته شد. سپس توسط فیلم خوراکی دهانه سل مسدود گردید. سل ها توسط ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شده و داخل محفظه ای قرار گرفتند که رطوبت نسبی داخل آن توسط محلول اشباع سولفات پتاسیم به ۹۷٪ رسیده بود. توزین سل ها به صورت مرتب و به فواصل زمانی یک ساعت تا ۶-۷ ساعت بعد از رسیدن به تغییرات وزنی تقریباً ثابت در فاصله هر توزین، انجام گرفت. بعد از این، توزین به فواصل زمانی ۱۲ ساعت انجام گرفت. کل مدت زمان توزین از لحظه شروع ۷۲ ساعت بود.

$$WVP = \frac{WVT \times x}{\Delta P} = \frac{WVT \times x}{S(R_1 - R_2)}$$

ΔP، اختلاف فشار بخار بین داخل و خارج سل بر حسب پاسکال، S، فشار بخار اشباع در دمای آزمایش بر حسب پاسکال، R1، رطوبت نسبی موجود در محیط اندازه گیری و R2، رطوبت نسبی در داخل سل است.

### شفافیت: میزان شفافیت فیلم های خوراکی طبق روش گوتنارد

و همکاران (۱۹۹۴) تعیین گردید (۱۸). فیلم ها به ابعاد ۵×۵/۰ سانتیمتر بریده شده و داخل سل اسپکتروفوتومتر Vis-UV Shimadzu UV-160A قرار گرفتند. مقدار جذب فیلم در دامنه طول موج ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر اندازه گیری و طیف جذبی آن رسم شد. مساحت زیر منحنی طول موج جذب توسط دستگاه مساحت سنج مدل C-LI 3100 تعیین شد و به عنوان میزان کدورت فیلم یادداشت شد. از آنجایی که شفافیت و کدورت با هم رابطه عکس دارند، این پارامتر بر اساس شفافیت و به صورت درصد بیان گردید.

**ریز ساختمان:** تصویرگیری از ریز ساختار فیلم ها با استفاده از میکروسکوپ دیجیتال Dinolite ساخت چین با وضوح ۶۸۰\*۶۴۰ پیکسل و بزرگنمایی ۲۰۰ صورت گرفت و تصاویر با فرمت JPEG ذخیره شدند.

### آزمون میکروبی (روش انتشار آگار): به منظور آماده سازی

سوسپانسیون میکروبی، ابتدا با کمک لوپ استریل مقداری از هر باکتری سالمونلا انتریتیدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی H7:O157 را از داخل آمپول های استریل حاوی آن برداشته و وارد ۱۰ میلی لیتر محیط کشت BHI Broth نمودیم. محیط کشت را به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ C قرار دادیم. پس از تهیه محیط کشت Soft Agar (که از اختلاط ۰/۸ گرم Nutrient Agar با ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به دست می آید)، ۱۰ میلی لیتر از آن را داخل لوله آزمایش ریخته و توسط اتوکلاو استریل نمودیم. در زمان مصرف، محیط کشت های آماده داخل شیشه را به کمک بن ماری (دمای C ۴۶) مایع می نماییم. به منظور ارزیابی اثر ضدمیکروبی فیلم خوراکی از روش دیسکی استفاده گردید، به این صورت که ۱۰ میکرولیتر از محیط BHI Broth کشت داده شده (حاوی 10<sup>6</sup> CFU در گرم میکروارگانیزم) را با ۱۰ میلی لیتر محیط کشت SA در دمای ۳۷ C مخلوط و به پلیت هایی که قبلاً ۱۰ میلی لیتر محیط کشت NA داخل آن ریخته شده اضافه شد. تیمارهای فیلم خوراکی تهیه شده به قطر ۱ سانتیمتر درون محیط کشت جاگذاری شده و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ C قرار گرفت. پس از طی مدت زمان مورد نظر، مساحت منطقه شفاف که اصطلاحاً هاله بازدارندگی نام دارد و نشاندهنده منطقه مهار شده رشد باکتری ها توسط نگهدارنده هاست، در اطراف فیلم بر اساس میلی متر مربع گزارش گردید. برای محاسبه مساحت هاله از پلانیمتر استفاده گردید که مساحت دایره اولیه نمونه فیلم از مساحت کلی آن کسر گردید.

### آزمون حسی: آزمون خواص حسی به روش هدونیک ۵ نقطه

ای (۱: بسیار بد، ۲: بد، ۳: نه خوب- نه بد، ۴: خوب، ۵: بسیار خوب) و توسط ۱۰ پانلیست انجام شد. از پانلیست ها خواسته شد نمونه های فیلم را با نمونه شاهد به لحاظ پارامترهای بو، قابلیت جویدن، ظاهر، پذیرش کلی مقایسه نمایند.

## تجزیه و تحلیل آماری

هر یک از نمونه‌های فیلم در ۲ تکرار تولید و آزمایش‌ها هر کدام در ۳ تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده از نتایج آزمون‌های صورت گرفته با استفاده از طرح کاملاً تصادفی مورد آنالیز آماری قرار گرفت. برای انجام محاسبات از نرم افزار Excel<sup>۱</sup> و برای تجزیه واریانس نتایج، از نرم‌افزار Minitab<sup>۲</sup> استفاده گردید. میانگین تکرارها نیز به کمک نرم‌افزار MSTAT C<sup>۳</sup> در قالب آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح آماری ۵٪ مورد مقایسه قرار گرفت.

## نتایج و بحث

### استحکام کششی

استحکام کششی یا در واقع مقاومت به کشش نهایی، حداکثر تنش کششی است که یک ماده می‌تواند تحمل کند بدون آن که دچار کرنش دائمی گردد (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸). این پارامتر مکانیکی در فیلم خوراکی بستگی به ساختار شیمیایی مولکول‌ها یا بهم پیوستگی زنجیره‌های پلیمر در ماتریکس ورقه‌ای فیلم دارد (کروچتا و مادler، ۱۹۹۷). همان‌طور که در شکل ۱، ملاحظه می‌گردد افزودن اسانس سیر به طور معنی‌داری مقاومت به کشش نمونه‌های فیلم را نسبت به شاهد افزایش داده است ( $p < 0.05$ ). این نتیجه نشانه آن است که با اضافه کردن اسانس سیر پیوستگی ساختاری بیشتری در فیلم خوراکی حاصل می‌شود. فیلم خوراکی ایزوله پروتئین سویا و ساختار ژلی آن از پیوندهای دی‌سولفیدی کووالانسی در کنار ارتباطات هیدروفوبی و باندهای هیدروژنی تشکیل شده است (فوکوشیما و ون برون، ۱۹۷۰). طول زنجیر و وزن مولکولی ماکرومولکول‌ها، ماهیت و موقعیت زنجیره‌های جانبی (بی‌ویژه در پروتئین‌ها) بر توانایی بیوپلیمر در تشکیل پیوندهای بین مولکولی مؤثر است. هرچه ساختار بیوپلیمر خطی و ساده‌تر باشد مقاومت کششی بالاتری خواهد داشت و بالعکس، با افزایش پیوندهای بین مولکولی و درون مولکولی بین زنجیره‌های جانبی بیوپلیمر که ساختار آن را پیچیده‌تر می‌نماید کشش پذیری فیلم افزایش و استحکام کششی آن کاهش خواهد یافت (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸). پیوندهای بین مولکولی بیوپلیمری قطبی قوی‌تر از پیوندهای بین مولکول‌های روغنی غیرقطبی و یا مولکول‌های روغنی غیرقطبی با پلیمرهای قطبی است (یانگ و پائولسون، ۲۰۰۰). بر اساس نظر چن (۱۹۹۵)، فیلم‌های پروتئینی ساده قوی‌تر و کشسان‌تر از فیلم‌های خوراکی پروتئینی دارای ترکیبات لپیدی هستند (قنبرزاده و همکاران،

۱۳۸۸). نتایج آزمایش حاضر نشان داد در اثر افزودن اسانس روغنی، تغییر ساختار پلیمرهای پروتئینی در ماتریکس فیلم اتفاق می‌افتد، به صورتی که زنجیره‌های جانبی بیوپلیمر کم شده و بیوپلیمر به سمت خطی شدن می‌رود زیرا همان‌طور که ملاحظه می‌گردد استحکام کششی نمونه‌های فیلم حاوی اسانس سیر بیشتر از نمونه‌های شاهد بوده است. به عبارتی دیگر اسانس روغنی سیر سبب تقویت پیوندهای بین مولکولی بیوپلیمری قطبی در فیلم خوراکی ایزوله پروتئین سویا شده است. تاثیر افزودن ترکیبات روغنی بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم خوراکی بستگی زیادی به ویژگی‌های ترکیب روغنی و توانایی آن در برقراری ارتباط با ماتریکس پروتئین دارد (گونتارد و همکاران، ۱۹۹۴).

### درصد ازدیاد طول تا نقطه شکست<sup>۴</sup>

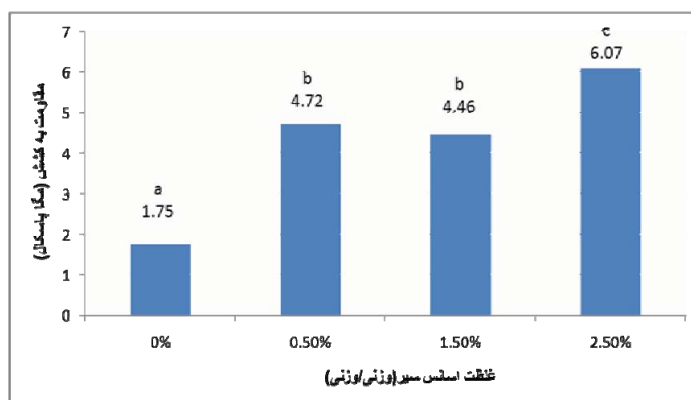
درصد ازدیاد طول حداکثر افزایش طول فیلم نسبت به طول اولیه فیلم تا نقطه پاره شدن در اثر اعمال تنش کششی را نشان می‌دهد که حکایت از میزان انعطاف پذیری فیلم خوراکی دارد (ازدمیر و فلوروس، ۲۰۰۸). بر اساس نتایج آنالیز واریانس، افزودن اسانس سیر اثر معنی‌داری بر ازدیاد طول نمونه‌های فیلم خوراکی نسبت به نمونه شاهد داشته و میزان این پارامتر را افزایش می‌دهد ( $p < 0.05$ ). همچنین تاثیر غلظت نگهدارنده بر درصد ازدیاد طول نیز معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ، شکل ۲) و با افزایش غلظت، طول پارگی فیلم افزایش می‌یابد. پروتئین‌های اصلی سویا از نوع کروی شامل ۳۵٪ نوع SV و ۵۲٪ نوع S11 هستند (کینسلا، ۱۹۷۹). کومار و همکاران، ۲۰۰۸. موری و همکاران، ۱۹۸۱). مشابه آزمون استحکام کششی، هر عاملی که سبب باز شدن و گسترده شدن زنجیره پروتئین‌ها در ساختار فیلم خوراکی گردد، افزایش درصد ازدیاد طول را سبب می‌شود. لذا احتمال می‌رود که کاربرد اسانس سیر در این پژوهش چنین خاصیتی را داشته است (گراولند و همکاران، ۱۹۷۹). در یک پژوهش در خصوص تاثیر افزودن اسانس دارچین و میخک بر ویژگی‌های فیلم خوراکی تهیه شده از نشاسته کاساوا، اندازه ذرات عامل مهمی در تغییر ویژگی‌های مکانیکی فیلم خوراکی عنوان شده است (کچیچیان و همکاران، ۲۰۱۰). از آن جایی که اسانس روغنی سیر در دمای محیط مایع است، ممکن است این افزودنی در ساختار فیلم خوراکی به شکل قطرات چربی ظاهر گردد که به راحتی می‌تواند تغییر شکل دهد و لذا ازدیاد طول فیلم خوراکی را بهبود بخشد (فابرا و همکاران، ۲۰۰۸).

1- Microsoft Office, Package 2003

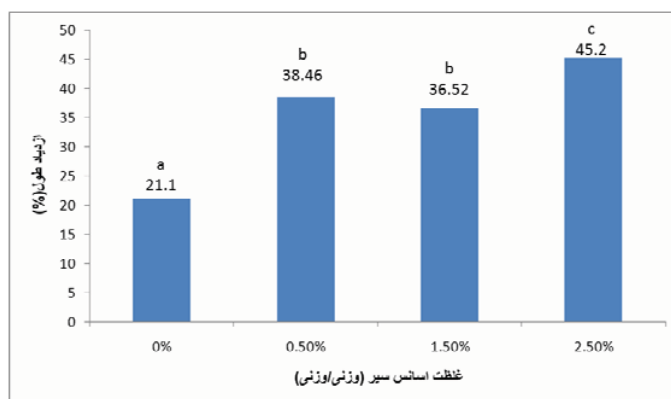
2- Rekease 13.20

3- Version 1.42, Michigan State university

4- Elongation to Break



شکل ۱- تغییرات مقاومت به کشش در غلظت های مختلف اسانس سیر.

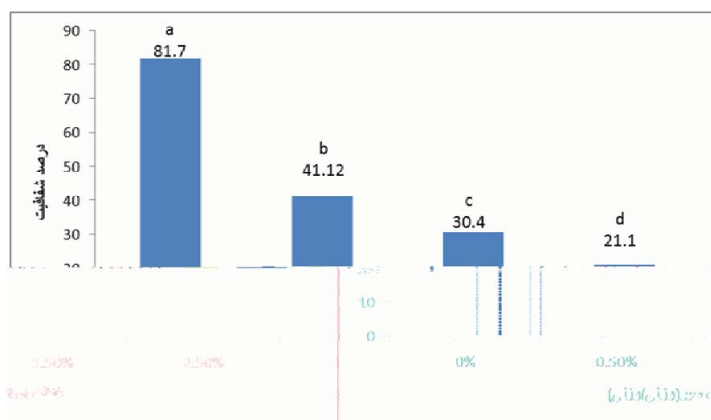


شکل ۲- تغییرات درصد ازدیاد طول در غلظت های مختلف اسانس سیر.

که قابلیت انحلال آن ها در محلول های آبی کم است. لذا قطرات چربی حل نشده در محلول فیلم باقی می ماند و یک ساختار غیر یکنواخت و غیر هموزن را سبب می شود که عامل کدورت است.

#### شفافیت

بر اساس نتایج تجزیه واریانس افزودن اسانس سیر موجب کاهش معنی دار میزان شفافیت در نمونه های فیلم خوراکی گردید ( $p < 0.05$ ). دلیل این امر را می توان به ماهیت روغنی اسانس سیر نسبت داد



شکل ۳- تغییرات درصد شفافیت در غلظت های مختلف اسانس سیر

### نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

نفوذپذیری زیاد به بخار آب یکی از محدودیت‌های اصلی استفاده از فیلم‌های خوراکی پروتئینی در صنعت بسته بندی است. لذا افزودن هر ترکیبی که بتواند این حالت را بهبود بخشد بسیار مؤثر خواهد بود (گنادیوس و همکاران، ۱۹۹۴، کروچتا و مادلا، ۱۹۹۷). فیلم‌های خوراکی کربوهیدراتی و پروتئینی به علت بالا بودن گروه‌های هیدروفیل در زنجیرهای پلیمر، بازدارندگی کمی در برابر بخار آب دارند. در ساختار پروتئین‌ها، هر چقدر اسیدهای آمینه غیرقطبی (آبگریز) نسبت به اسیدهای آمینه قطبی بیشتر باشد بازدارندگی بیشتر خواهد بود (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸). در پژوهش حاضر، براساس نتایج تجزیه واریانس، اسانس روغنی سیر به طور معنی داری نفوذپذیری به بخار آب فیلم را کاهش می‌دهد ( $p < 0.05$ ). علت این امر به ماهیت روغنی و هیدروفوبی اسانس سیر بر می‌گردد که می‌تواند آن چنان در ساختار شبکه پروتئینی دخالت نماید که سرعت جذب و انتقال مولکول‌های آب را کاهش دهد. به احتمال زیاد اسانس سیر توانسته است ضریب حلالیت را در فیلم کاهش دهد، بدین ترتیب WVP کاهش پیدا کرده است. در پژوهش‌های پیراناتو و همکاران (۲۰۰۵) اثر افزودن روغن سیر بر ویژگی‌های فیلم خوراکی تهیه شده از آلژینات بررسی شد. نتیجه آن که با افزایش غلظت روغن سیر، WVP کاهش یافت. محققین دلیل این امر را به قسمت هیدروفوبیکی روغن سیر نسبت دادند. روغن سیر احتمالاً در گسترش پیوندهای داخل مولکولی شبکه ساختاری فیلم دخالت داشته، بدین ترتیب انتقال رطوبت از درون فیلم خوراکی را محدود نموده است.

در پژوهش آتارس و همکاران (۲۰۱۰) بر خواص فیلم خوراکی از ایزوله پروتئین سویا در اثر افزودن اسانس روغنی دارچین و زنجبیل، این دو افزودنی به طور معنی داری WVP را کاهش دادند. کچی چیان و همکاران (۲۰۱۰) اثر افزودن دارچین و میخک را بر خواص فیلم خوراکی تهیه شده از نشاسته کاساوا بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد تاثیر این دو افزودنی بر پارامتر نفوذپذیری به بخار آب معنی دار است. پودر دارچین از آنجا که شبکه فیلم خوراکی

را بهبود می‌بخشد، میزان نفوذپذیری به بخار آب را کاهش می‌دهد. اما افزودن مقادیر بالای پودر دارچین اثر معکوس می‌گذارد که نشانه محدودیت آن‌ها در استفاده برای مقادیر بالا است.

### ریز ساختمان

ارزیابی تصاویر میکروسکوپ دیجیتال نشان داد که ریزساختار فیلم خوراکی شاهد بسیار یکنواخت و هموژن است (شکل ۵-الف). در حالی که افزودن اسانس سیر ریزساختار فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا را غیریکنواخت کرده و ذرات ریز حباب ماندی در ساختار فیلم ایجاد می‌نماید (شکل ۵-ب).

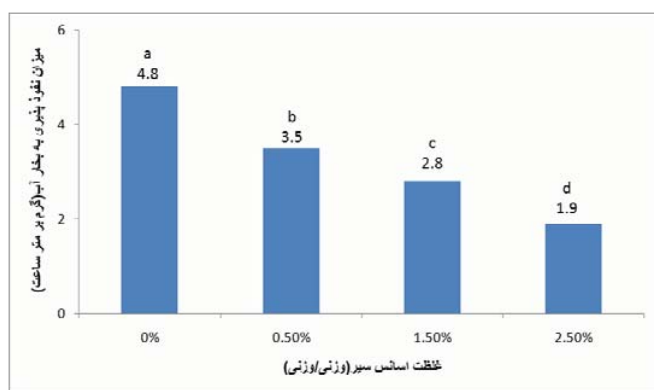
### خواص حسی

جدول ۱، نتایج مقایسه میانگین داده‌های خواص حسی را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، افزودن اسانس سیر امتیاز ظاهر، بو و قابلیت جویدن را به طور معنی داری کاهش می‌دهد ( $p < 0.05$ ) به طوری که امتیازات خواص حسی در اکثر موارد بین بد تا متوسط می‌باشد. به طور کلی فیلم‌های تهیه شده حاوی اسانس سیر رنگ بسیار تیره تری داشته و به شدت بوی سیر از آن‌ها استشمام می‌گردد.

جدول ۱- نتایج آزمون حسی

| نوع نمونه                 | ظاهر              | قابلیت جویدن      | بو                |
|---------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| شاهد                      | <sup>a</sup> ۵    | <sup>a</sup> ۵    | <sup>a</sup> ۵    |
| حاوی اسانس روغنی سیر ۰/۵٪ | <sup>c</sup> ۲/۹  | <sup>c</sup> ۳/۰۶ | <sup>b</sup> ۲/۲۵ |
| حاوی اسانس روغنی سیر ۱/۵٪ | <sup>d</sup> ۱/۸  | <sup>c</sup> ۲/۵۵ | <sup>c</sup> ۱/۵۰ |
| حاوی اسانس روغنی سیر ۲/۵٪ | <sup>d</sup> ۱/۱۲ | <sup>d</sup> ۱/۹۴ | <sup>c</sup> ۱/۰۸ |

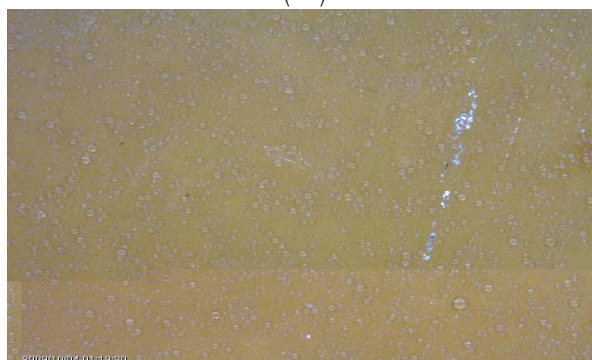
\* اعداد میانگین ۱۰ داده می‌باشد.



شکل ۴- تغییرات نفوذپذیری به بخار آب در غلظت‌های مختلف اسانس سیر.



(الف)



(ب)

شکل ۵- نمایش تصویر میکروسکوپ دیجیتال فیلم خوراکی ایزوله پروتئین سویا. الف- شاهد ب- حاوی اسانس سیر

است. برای مثال در غلظت ۱/۵٪ اسانس سیر، مساحت هاله تشکیل شده در محیط کشت سالمونلا انتریتیدیس برابر ۱۲۲/۴۶ و در محیط کشت استافیلوکوکوس اورئوس برابر ۸۸۳/۱۲ میلیمترمربع می باشد. در توجیه اثر ضد میکروبی اسانس سیر قابل توجه است که روغن سیر حاوی ۶۰٪ دی آلیل سولفید، ۲۰٪ تری آلیل سولفید، ۱۶٪ دی سولفید پروپیل آلیل و میزان کمی دی سولفید و مقادیر کمتری پلی سولفید دی آلیل است که آلیسین نامیده می شود (واراده و شاینده، ۱۹۹۸). هان و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند که میزان فعالیت آنتی بیوتیکی ۱ میلیگرم آلیسین برابر ۱۵ واحد بین المللی<sup>۱</sup> از پنی سیلین است.

در یک پژوهش، به کارگیری اسانس سیر در فیلم خوراکی در غلظت های ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و درصد هیچگونه هاله ای علیه اشرشیاکلی در محیط کشت به وجود نیامد. اما در غلظت های ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ درصد به ترتیب هاله ای به قطر برابر ۲۰/۱۳، ۴۰/۶۷ و ۴۶/۳۸ میلیمترمربع علیه استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد نمود (پراناتو و همکاران، ۲۰۰۵).

### خواص ضد میکروبی

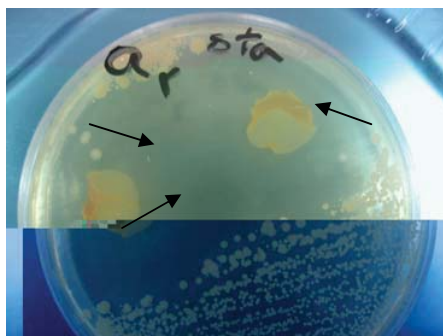
بیان اثر ضد میکروبی بر اساس محاسبه مساحت هاله تشکیل شده در اطراف فیلم بر حسب میلیمتر مربع می باشد. جدول ۲، نتایج خواص ضد میکروبی نمونه های فیلم خوراکی تهیه شده و تیمار شده را علیه باکتری های سالمونلا انتریتیدیس، اشرشیاکلی H7:O157، استافیلوکوکوس اورئوس نشان می دهد.

بر اساس نتایج جدول ۲، افزودن اسانس روغنی سیر به فیلم خوراکی ایزوله پروتئین سویا هیچگونه قدرت مهارکنندگی در فیلم علیه باکتری اشرشیاکلی ایجاد نکرده اما این افزودنی اثر ضد میکروبی معنی داری ( $p < 0/05$ ) علیه سالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس داشته است. با افزایش غلظت اسانس سیر تاثیر مهارکنندگی فیلم بر روی باکتری های سالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس زیاد می شود که این امر به خصوص در نمونه های فیلم حاوی ۲/۵٪ اسانس سیر بسیار چشمگیر است (شکل ۶- هاله ای به مساحت ۱۱۷۷/۵۵ میلیمترمربع). نکته دیگر آن که، نتایج جدول ۲ نشان می دهد اثر اسانس سیر در مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت) بیشتر از مهار رشد سالمونلا انتریتیدیس (گرم منفی)

جدول ۲- نتایج آزمون میکروبی بر علیه سوش های انتخابی

| میزان اسانس سیر در نمونه | سالمونلا انتریتیدیس       | اشریشیا کلی H7: O157 | استافیلوکوکوس اورئوس       |
|--------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------------|
| ٪۰/۵                     | ۸/۲۵±۰/۰۸ <sup>c</sup>    | .                    | ۷۰/۶۵±۹/۸۵ <sup>c</sup>    |
| ٪۱/۵                     | ۱۲۲/۴۶±۱۷/۸ <sup>b</sup>  | .                    | ۸۸۳/۱۲±۴۵/۱۳ <sup>b</sup>  |
| ٪۲/۵                     | ۲۳۵/۵۰±۲۳/۵۵ <sup>a</sup> | .                    | ۱۱۷۷/۵۰±۵۶/۱۳ <sup>a</sup> |

\*اعداد میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است.



شکل ۶- هاله تشکیل شده در محیط کشت استافیلوکوکوس اورئوس توسط دیسک فیلم خوراکی ایزوله پروتئینی سویا حاوی اسانس سیر.

خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا، ویژگی های مکانیکی (استحکام کششی و درصد ازدیاد طول)، فیزیکی (نفوذپذیری به بخار آب) و ضد میکروبی (علیه سالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس) را بهبود می بخشد. اما امتیاز ریز ساختمانی و پارامترهای حسی (ظاهر، قابلیت جویدن و بو) در این نمونه ها کاهش می یابد. با توجه به این که در فیلم های خوراکی ضد میکروبی خصوصیات مکانیکی، فیزیکی و ضد میکروبی از اهمیت بالایی برخوردار است لذا می توان به دنبال راه هایی بود که خواص حسی و ریز ساختمانی فیلم نیز به طریقی اصلاح گردد.

در بررسی اثر افزودن اسانس های روغنی سیر، پونه کوهی و رزماری به فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت هر سه نوع افزودنی از ۱ تا ۴ درصد وزنی حجمی، قدرت مهار کنندگی فیلم علیه باکتری های سالمونلا انتریتیدیس، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس افزایش یافته است. آن ها بیشترین تاثیر اسانس سیر را علیه استافیلوکوکوس اورئوس گزارش کردند (سیدیم و ساریکوس، ۲۰۰۶).

### نتیجه گیری

با توجه به ارزیابی های انجام شده، افزودن اسانس سیر به فیلم

### منابع

- بنکدار پور، ب.، وهاب زاده، ف.، ۱۳۷۴. انتخاب بسته بندی مناسب و مسائل زیست محیطی. دفتر صنایع کشاورزی، معاونت فنی و تکنولوژی وزارت کشاورزی تهران: ۱۱۴-۳۲۵.
- صداقت، ن. ۱۳۷۵. بسته بندی مواد غذایی. انتشارات بارثاوا.
- کدخدایی، ر.، شفاف زنوریان، م.، ۱۳۷۴. حفظ کیفیت مواد غذایی و کاهش آلودگی های زیست محیطی. هشتمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران: ۴۴۶-۴۴۵.
- یقبانی، م.، ۱۳۷۴. استفاده از پلیمرهای طبیعی در بسته بندی مواد غذایی. هشتمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران: ۲۹۶-۲۸۴.
- قنبرزاده، ب.، ه.، الماسی، ی.، زاهدی. ۱۳۸۸. بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی و دارویی. انتشارات دانشگاه امیرکبیر.

ASTM.1995a. "Designation D 523: Standard Test Method for Specular Gloss" in Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA :American Society for Testing and Materials.



- ASTM .1995d .“Designation E 96-95 :Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials” in Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA :American Society for Testing and Materials.
- ASTM .1997 .“Designation D 882-97 :Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting” in Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA :American Society for Testing and Materials
- Atares, L., C., De Jesus, P., Talens and A., Chiralt .2010 .Characterization of SPI -based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils .Journal of food Engineering, in press.
- Brody, L .A. 2005 .Packaging .Food Technology, 59(2) :65-67
- Chen, H .1995 .Functional properties and applications of edible films made of milk protein .Journal of Dairy Science, 78 :2563-2583.
- Emiroğlu Z. K., G. P. Yemiş, B. K. Coşkun and K. Candoğan. 2010. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. Meat Science, 86(2): 283-288.
- Eswaranandam, S., N .S., Hettiarachchy and M .G., Johnson .2004 .Antimicrobial activity of citric, lactic, malic, or tartaric acids and nisin-incorporated soy protein film against *Listeria monocytogenes*, *Escherchia coli* O157 :H7, and *Salmonella gaminara* .Journal of Food Microbiology and Safety, 69(3): 79-84.
- Fabra, M .J., P., Talens, & A., Chiralt. 2008 .Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures .Journal of Food Engineering, 85 :393-400.
- Fredrick, J .F .2000 .Edible films and coatings .Wiley Inter Science, 579-584.
- Fukushima, D. and J., Van Buren. 1970 .Mechanisms of protein insolubilization during the drying of soy milk .Role of disulfide and hydrophobic bonds .Cereal Chemistry, 47:687-696.
- Gennadios, A., T.H., McHugh, C.L., Weller and J.M., Krochta. 1994a .Edible coatings and films based on proteins .In :Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M .(Eds.), Edible coatings and Films to Improve Food Quality .Thechnomic Publishing Company, Lancaster, PA, 201-277.
- Gontard, N., C., Duchez, J.L., Cuq and S., Guilbert. 1994 .Edible composite film of wheat gluten and lipids :water vapor permeability and other physical properties .International of food science and technology, 29 :39-50.
- Graveland, A., P., Bongers and P., Bosveld. 1979 .Extraction and fractionation of wheat flour proteins .Journal of food Science and Agriculture, 30:71-84.
- Han, J., L., Lawson, G., Han, and P., Han. 1995. A spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfinates .Annals of Biochemistry, 225: 157-160.
- Kechichian, V., C., Ditchfield, P., Veiga-Santos and C. C.Tadini .2010. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch .LWT – Food Science and Technology, in press.
- Kinsella, J.E .1979 .Functional properties of soy proteins .Journal of the American Oil Chemists Society, 56(3) : 242-258.
- Krochta, J .M .and C .D., Mulder-Johnston .1997 .Edible and biodegradable polymer films .Food Technology, 51(2) :61-74.
- Kumar, R., D., Lui and L., Zhang. 2008 .Advances in proteinous biomaterials .Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2(1):1-24.
- Mori, T., S., Utsum, K., Inaba and K., Harada, 1981 .Differences of subunit composition of glycinin among soybean cultivars .Journal of agricultural and chemistry, 29(1):20-23.
- Ozdemir, M .and J .D., Floros .2008 .Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties .Journal of Food Engineering, 84: 116-123.
- Pranoto, Y., V .M., Salokhe and S .K., Rakshit .2005 .Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil .Food Research International, 38: 267-272.
- Rhim J .W .and T .H., Shellhammer .2005 .Innovations in food packaging .CRC Press, U.S.A: 116-137.
- Seydim, A .C .and G., Sarikus .2006 .Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils .Food Research International, 39: 639-644 .
- Sivaraboon, T., N .S., Hettiarachchy and M .G., Johnson .2008 .Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films .Food Research International, 41(8) :781-785.
- Sothornvit, R .and J .M., Krochta .2001 .Plasticizer effect on mechanical properties of P-lactoglobulin films . Journal of Food Engineering, 50: 149-155.
- Warade, S.D., and K.G., Shinde. 1998 .Handbook of vegetable science and technology, In D.K., Salunke & S.S., Kadam (Eds.), USA :Marcel Dekker Inc :397-413.
- Yang, L., and A.T., Paulson. 2000 .Effect of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film .Food Research International, 33 :571-578.