نشریهٔ پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۵ شمارهٔ۲، صفحهٔ ۱۵۰-۱۳۹، نیمهٔ دوم ۱۳۹۳

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 5, No. 2, 2014, p. 139-150

ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و ممانعت‌کنندگی فیلم خوراکی بر پایهٔ ایزولهٔ پروتئین خلر (*Lathyrus sativus*) با استفاده از روش سطح پاسخ

امین حسین‌زاده[۱]، الناز میلانی[۲*]، امیرحسین الهامی‌راد[۳] و محمدحسین حداد خداپرست[۴]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران
۲- استادیار گروه فرآوری مواد غذایی پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاددانشگاهی، مشهد، ایران
۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران
۴- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده‌ی کشاورزی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۲۵

چکیده

حبوبات، منابع غنی از پروتئین بوده و گزینه مطلوب برای تهیه فیلم‌های پروتئینی به‌شمار می‌آیند. در این پژوهش از طرح مرکب مرکزی، به‌منظور بررسی تأثیر همزمان؛ نسبت ایزوله پروتئین خلر (۲–۱۰درصد)، گلیسرول (۰/۵- ۷ درصد) و اسید اولئیک (۰– ۲ درصد) بر خصوصیات فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین خلر نظیر میزان ضخامت، دانسیته، درصد مواد محلول در آب، اسید و قلیا، نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن، استفاده شد. نتایج پژوهش نشان داد؛ نفوذپذیری به بخار آب با افزایش غلظت پروتئین و گلیسرول به‌طور معنی‌داری افزایش و با افزایش غلظت اسید اولئیک کاهش یافت. حلالیت در آب و اسید با افزایش میزان پروتئین کاهش و با افزایش میزان گلیسرول و اسید اولئیک افزایش نشان داد ($P<0.05$). نتایج بهینه‌سازی فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین خلر حاکی از این است که برای داشتن یک فیلم بهینه با دارابودن ویژگی‌های نظیر حداقل ضخامت برابر با ۰/۰۸۷ میلیمتر، حداقل دانسیته برابر با ($kg.m^{-3}$) ۶۹۷/۴۸۶، حداقل نفوذپذیری به بخار آب برابر با ($g.m^{-1}.pa^{-1}.s^{-1}$) $۱/۴۲\times۱۰^{-۹}$، حداقل نفوذپذیری به اکسیژن (عدد پراکسید) معادل ۲۴/۷۲، حداکثر حلالیت در آب و اسید به ترتیب برابر با ۵۳/۵۲ درصد و ۴۶/۶۴ درصد ضروری است، پارامترهای غلظت ایزوله پروتئین خلر ۲/۶۴ درصد، غلظت گلیسرول ۰/۵ درصد و غلظت اسید اولئیک ۰/۰۸۷ درصد باشد.

واژه‌های کلیدی: فیلم خوراکی، ایزوله پروتئین، خلر، خواص فیزیکو شیمیایی، روش سطح پاسخ

مقدمه

خلر یا سنگینک (*Lathyrus sativus*) گیاهی است یکساله از خانواده بقولات (نوعی ماشک)، پاییزه و بومی آسیای جنوب غربی، که در شرایط نامناسب به خوبی رشد و نمو می‌نماید. دانه خلر، دارای میزان پروتئین بالا (حدود ۲۸/۴ – ۲۵/۶ درصد) بوده و در برخی از کشورهای آسیایی و آفریقایی مثل هند و اتیوپی در زمان قحطی به‌عنوان بخشی از جیره غذایی مصرف می‌شود (Jayan *et al*., 2004; Rotter *et al*., 1991).

جهت تهیه فیلم‌های خوراکی بیشتر از بیوپلیمرها شامل پروتئین، پلی ساکاریدها، لیپیدها و ترکیبات آن‌ها استفاده می‌شود (Arthan *et al*., 2009).

پروتئین‌های مورد استفاده در پوشش‌های خوراکی شامل گلوتن گندم، کلاژن، زئین ذرت، کازئین و پروتئین آب پنیر می‌باشند و لیپیدهای مناسب برای استفاده در فیلم‌ها و پوشش‌ها شامل موم‌ها، اسیل گلیسرول و اسیدهای چرب می‌باشند (Kester & Fennema, 1986). در مواد هتروژن همیشه انتقال رطوبت از بخش مرطوب به خشک انجام می‌گیرد. حتی اگر آب موجود در فرآورده مرطوب‌تر به‌صورت جامد باشد این امر به‌صورت انتقال مایع یا بخار انجام می‌گیرد. این پدیده در مواد غذایی منجمد مثل بستنی قیفی مشاهده می شود (Morillon *et al*., 2002). انتقال رطوبت یکی از فرآیندهای انتقال جرم است و به دو صورت انجام می‌پذیرد یکی بین ماده غذایی و محیط پیرامون آن و دیگری بین اجزای داخل بسته‌بندی که دارای میزان رطوبت متفاوتی باشند؛ نظیر سوپ آماده و غیره که در نتیجه این عمل سبب افزایش کیفیت فراورده می‌گردد. با جذب رطوبت ماده غذایی از محیط و

* نویسنده مسئول: e_mialani81@yahoo.com،۰۵۱۳۸۸۱۰۱۰۹

افزایش فعالیت آب، انواع فساد اعم از میکروبی، شیمیایی، فیزیکی و آنزیمی آغاز می‌شود، که به‌ویژه در مواد جاذب الرطوبه (هیگروسکوپ) اهمیت بیشتری دارد. بدین منظور تولید یک فیلم خوراکی که دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مناسبی جهت بسته‌بندی مواد غذایی باشد، دارای اهمیت است. ضخامت و دانسیته فیلم تولیدی جهت افزایش بازار پسندی فراورده حائز اهمیت است، از سوی دیگر انجام یک بسته‌بندی مناسب و درصد مواد محلول در اسید و آب جهت یک بسته‌بندی که در دهان به‌راحتی حل شده و قابل هضم باشد نیز مطلوب می‌باشد. ممانعت‌کنندگی در برابر رطوبت، بخار آب و گازها در مواد غذایی جهت نگهداری، تازگی، کنترل آلودگی و رشد میکروبی، حفظ ویژگی حسی بسیار مهم است. فیلم‌های خوراکی می‌توانند برای میوه‌های تازه، خشک شده و یا میوه‌های حداقل فرآیند شده به‌منظور افزایش ماندگاری استفاده شوند (Drochta & Johnston., 1997). خاصیت مقاومت در برابر آب برای فیلم‌های خوراکی جهت محافظت از مواد غذایی با فعالیت آب بالا ویژگی مهمی قلمداد می‌گردد. همچنین ممکن است فیلم‌های خوراکی با حلالیت بالا جهت نگهداری موادی که می‌خواهند در آب حل شوند مورد استفاده قرار گیرند (A`arabi *et al*., 2007).

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی شامل اسید کلریدریک، هیدروکسید سدیم، گلیسرول، هگزان نرمال و اسید اولئیک تهیه شده از شرکت مرک آلمان و کلرید کلسیم ساخت شرکت فولکا آلمان بود. تجهیزات مورد استفاده شامل، pH متر مدل جن وی ساخت آلمان، همزن مغناطیسی هیتر دار مدل هیدولف آلمان، ترازوی دیجیتال مدل کرن آلمان، آون مدل بایندر و سانتریفوژ مدل سیگما آلمان مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه ایزوله پروتئین از دانه خلر

مراحل تهیه ایزوله پروتئین خلر بر اساس روش ژو شان – شان و همکاران (۲۰۰۶) انجام گردید (Xu Shan Shan *et al*., 2006). دانه خلر از بازار محلّی تهیه شده و سنگ و برگ‌های اضافی و تکه‌های چوبی آن به‌صورت دستی حذف گردید. دانه‌ها توسط آسیاب صنعتی خشکبار ساخت شرکت توس شکن خراسان آسیاب گردید تا پودر آرد یکنواختی جهت استخراج بهتر پروتئین حاصل شود. جهت حصول دانه‌بندی یکنواخت از الک با مش ۶۰ عبور داده شد.

برای حذف چربی موجود در آرد دانه خلر، از حلّال هگزان استفاده شد. حلال به میزان ۵ به ۱ به آرد اضافه شده و مخلوط به مدت یک ساعت بر روی همزن مغناطیسی در دمای آزمایشگاه مخلوط گردید. پس از این مرحله مخلوط در سرعت ۷۴۰۰ دور در دقیقه و زمان ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و رسوب ته فالکون که آرد چربی‌گیری شده بود، درون آون تحت خلأ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت خشک گردید. در ادامه فرآیند استخراج ایزوله پروتئینی، آرد چربی‌گیری شده در دمای آزمایشگاه به میزان ۱ به ۱۰ با آب مقطر مخلوط و همزمان هم زده شد. سپس pH مخلوط به آهستگی توسط سود یک نرمال، به ۱۰/۵ رسانده شد. مخلوط به مدت ۴۵ دقیقه در این شرایط هم زده شد، سپس در ۷۴۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع شفاف رویی برای مرحله بعد جمع‌آوری گردید. محلول قلیایی حاصل از مرحله قبل توسط همزن مغناطیسی هم زده شد و توسط اسیدکلریدریک ۱ نرمال pH به ۴/۸ (نقطه ایزوالکتریک پروتئین دانه خلر) رسانده شد (Xu Shan Shan *et al*., 2006). در این مرحله با تغییر pH از ۱۰/۵ به ۴/۸ رنگ محلول به‌تدریج از قهوه‌ای به سفید شیری متمایل شد. سپس محلول شیری رنگ در برای ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و رسوبات پروتئینی حاصل از مرحله قبل با pH اسیدی، جدا شد و طی دو مرحله توسط آب مقطر و سود ۰/۱ نرمال به pH خنثی رسانیده شدند، جهت شستشوی کامل، در هر مرحله عملیات سانتریفوژ در ۷۴۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه اعمال و مایع رویی دور ریخته شد. رسوبات در آون تحت خلأ با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

تهیه فیلم خوراکی از ایزوله پروتئینی خلر

برای تهیه فیلم خوراکی، درصدهای مختلف ایزوله پروتئین خلر (۲ تا ۱۰ درصد)، گلیسرول (۰/۵ تا ۷ درصد) و اسید اولئیک (۰ تا ۲ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پروتئین توزین شده درون ۷۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۲ دقیقه مخلوط گردید؛ سپس گلیسرول به آن افزوده شد. جهت انحلال کامل، به مدت ۱ دقیقه مخلوط را هم زده و سپس توسط سود ۰/۱ نرمال، pH محلول به ۱۰/۵ رسانده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد بر روی بن ماری شیکردار قرار گرفت تا محلول تولید فیلم حاصل گردد. برای تهیه فیلم حاوی اسید اولئیک، پس از پایان این مرحله اسید اولئیک، بلافاصله به محلول داغ اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه توسط هوموژنایزر اولتراتراکس ساخت شرکت یورواستار در rpm ۱۶۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه یکنواخت گردید. پس از سرد شدن، محلول بر روی قالب فویل آلومینیوم تراز شده ریخته شد. قالب‌های حاوی محلول فیلم به مدت ۲۴ ساعت در دمای

آزمایشگاه قرار گرفت تا فیلم‌ها تشکیل شدند. سپس فیلم‌ها از کف قالب جدا شده، در کیسه‌های پلی اتیلنی درب دار و در دمای محیط نگهداری شدند (Xu Shan Shan, 2006).

تعیین ضخامت

ضخامت فیلم خوراکی توسط میکرومتر با دقت ۰/۰۱ میلیمتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در ۵ نقطه پیرامون و یک نقطه در مرکز فیلم انجام گرفت (Meshkani *et al.*, 2011).

اندازه‌گیری دانسیته

برای اندازه‌گیری دانسیته قطعات فیلم در ابعاد ۱×۴ سانتی‌متر توسط کولیس با دقت ۰/۱ میلیمتر اندازه‌گیری و بریده شد و پس از اندازه‌گیری ضخامت میانگین توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد. مطابق فرمول۱،از تقسیم جرم بر حجم قطعه فیلم بریده شده می‌توان دانسیته فیلم را اندازه‌گیری کرد.

$\rho = m / V$ معادله (۱)

درصد مواد محلول در آب و اسید و قلیا

در این آزمایش از هر نمونه سه قطعه دایره‌ای شکل به قطر ۴ سانتیمتر جدا شد و پس از توزین به مدت ۲۴ ساعت در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر، اسید کلریدریک ۱ نرمال و سود ۱ نرمال قرار گرفت و در این مدت بر روی دستگاه شیکر با سرعت پایین قرار داده شد و بعد از این مدت فیلم را از آب خارج کرده و پس از خشک شدن در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت دوباره توزین شدند و با محاسبه اختلاف وزن درصد حلالیت فیلم در آب اسید و قلیا به‌دست آمد (A`arabi *et al.*, 2007).

نفوذپذیری به بخار آب

اندازه‌گیری نفوذپذیری به بخار آب بر اساس استاندار ASTM E96 (ASTM 2002) انجام گرفت. بدین صورت که شیشه‌های کوچکی با قطر ۱/۳۵ سانتی متر انتخاب و درون آن‌ها مقدار ۳ گرم کلرور کلسیم بدون آب ریخته شد و سطح شیشه‌ها توسط نمونه‌های فیلم و به‌وسیله گیره و کش بسته شد. کلرور کلسیم رطوبت نسبی داخل شیشه را که توسط فیلم بسته شده است را صفر درصد کرد. پس از توزین، کلیه نمونه‌ها داخل دسیکاتور حاوی نمک کلرید سدیم فوق اشباع با رطوبت معادل ۷۵ درصد قرار گرفتند. تغییرات وزن نمونه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شده و نمودار تغییرات وزن بر حسب زمان رسم شد تا شیب خط حاصل جهت انجام محاسبات مورد استفاده قرار گیرد. آهنگ انتقال بخار از طریق فرمول ۲ محاسبه شد:

$WVT = G / t. A$ معادله (۲)

که در این معادله WVT: آهنگ انتقال بخار آب ($g.m^{-2}.s^{-1}$)، A: سطح مقطع شیشه‌ها (m^2)، G/t: شیب خط میانگین تغییرات وزن در مدت زمان آزمون است. برای اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب از فرمول ۳ استفاده شد:

$WVP = WVT. X / P (R_1 - R_2)$ معادله (۳)

که در این معادله، WVP: میزان نفوذپذیری به بخار آب ($g.m^{-1}.pa^{-1}.s^{-1}$)، P: فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (Pa)، X: ضخامت فیلم (m)، R_1: میزان رطوبت داخل دسیکاتور (۷۵ درصد) و R_2: میزان رطوبت فضای داخل شیشه‌ها (۰ درصد) می‌باشد (Hosseini *et al.*, 2006).

نفوذپذیری به اکسیژن

نفوذپذیری به اکسیژن به‌صورت مقایسه‌ای بر اساس اندازه‌گیری مقدار تغییر در عدد پراکسید روغن فاقد آنتی اکسیدان تعیین گردید. در این آزمون مقدار۱۰ میلی‌لیتر روغن فاقد آنتی اکسیدان آفتابگردان داخل ظروف شیشه‌ای ریخته شد. در دهانه این ظروف فیلم خوراکی قرار گرفت و به مدت ۴۵ روز در محیطی با رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تأمین رطوبت نسبی از محلول اشباع نیترات کلسیم استفاده شد. بعد از این مدت عدد پروکسید روغن اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورهای غلظت ایزوله پروتئینی خلر، درصد گلیسرول و درصد اسیداولئیک بر ضخامت، دانسیته، مواد محلول در آب، اسید و قلیا، نفوذپذیری به بخار آب فیلم خوراکی اهداف اصلی این پژوهش بودند. روش سطح پاسخ به جهت یافتن حالت بهینه فاکتورها انتخاب شد که نشان‌دهنده‌ی چگونگی تأثیر فاکتورها بر نتایج آزمایش‌هاست. این در حالی است که آثار متقابل فاکتورهای مذبور را نیز در بر می‌گیرد. در این طرح ابتدا بر اساس آزمایش‌های مقدماتی، دامنه‌ی تغییرات فاکتورها برای غلظت ایزوله پروتئین (A) ۲ تا ۱۰ درصد، گلیسرول (B) ۰/۵ تا ۷ درصد و اسید اولئیک (C) ۰ تا ۲ درصد و هر یک در سه سطح انتخاب گردیدند.

از نرم افزار Design Expert 8.01 جهت تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ، استفاده گردید.

نتایج و بحث

تشکیل فیلم

فیلم‌ها به راحتی از قالب‌ها جداسازی شدند؛ فیلم‌ها منعطف و تاحدودی محکم بودند به‌طوری که به آسانی قابل جابه‌جایی بودند.

ضخامت و دانسیته

با افزایش درصد ایزوله پروتئین، ضخامت و دانسیته به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0.01$) و در غلظت ثابت پروتئین با افزایش میزان گلیسرول و اسید اولئیک ابتدا ضخامت افزایش یافته و سپس کم شد، این پدیده به‌دلیل باز شدن شبکه پروتئین و از دست دادن آب توسط فیلم قابل توجیه است. اما در غلظت ثابت پروتئین با افزایش درصد گلیسرول و اسید اولئیک، دانسیته به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.01$).

کوکوسزاکا و همکاران (۲۰۰۹) طی بررسی تأثیر درصد ایزوله پروتئین سویا بر روی ضخامت فیلم به این نتیجه رسیدند که با افزایش درصد ایزوله پروتئین از ۶ درصد به ۹ درصد، ضخامت فیلم از ۰/۰۵۲۶ میلی‌متر به ۰/۸۳۶ میلی‌متر رسید که مشابه ضخامت‌های اندازه‌گیری شده در این پژوهش بود و با افزایش درصد ایزوله پروتئین سویا در غلظت ثابت گلیسرول اثر معنی‌داری ($P<0.05$) بر افزایش ضخامت فیلم تولیدی داشت. همچنین در غلظت ثابت پروتئین با افزایش درصد گلیسرول کاهش کمی در ضخامت فیلم‌ها مشاهده گردید، ولی تأثیر آن بر ضخامت معنی‌دار نبود ($P<0.05$) (Kokoszka *et al.*, 2010).

نتایج این مطالعه مشابه نتایج او و همکاران (۲۰۰۵) بر روی افزایش اسید فرولیک بر خصوصیات فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا بود. در پژوهش اخیر ضخامت فیلم‌های تولیدی در دامنه بین ۶۵ تا ۸۰ میکرومتر بود (Ou *et al.*, 2005).

مطابق نتایج گونگا و همکاران (۲۰۰۷) بر روی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین آب پنیر، افزایش درصد ایزوله پروتئین بر روی ضخامت فیلم تهیه شده اثر معنی‌داری ($p<0.05$) دارد. اما ضخامت فیلم‌های تولیدی مشابه نتایج ما نبود که به خاطر تفاوت فرآیند تولید فیلم خوراکی و نوع قالب‌های مورد استفاده بود (Gounga *et al.*, 2007).

درصد مواد محلول در آب و اسید و قلیا

همانطور که در جدول ۱، مشاهده می شود، عبارت‌های معنی‌دار مدل شامل: درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول، درصد اسید اولئیک، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر و درصد گلیسرول و عبارات اثر متقابل درصد ایزوله پروتئین خلر – درصد گلیسرول و اثر متقابل درصد گلیسرول – اسید اولئیک است که نشان‌دهنده وجود رابطه خطی توام بین سه فاکتور مورد بررسی بر میزان حلالیت در آب فیلم خوراکی است. عبارات مربوط به اثرات درجه دوم درصد ایزوله پروتئین به شکل مدل حالت انحنا بخشید.

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای اندازه‌گیری مواد محلول در آب فیلم خوراکی

Table1. Analysis of variance (ANOVA) response surface model to measure the water- solubility of edible film

مقدار P P - Value	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of Square	منبع Source
$0<0.0001^{**}$	9	1100.18	مدل
$0<0.0001^{**}$	1	814.15	غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)
0.0117^{*}	1	42.52	غلظت گلیسرول (درصد) (B)
0.0212^{*}	1	33.45	غلظت اسید اولئیک (درصد) (C)
0.0103^{*}	1	44.63	عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A^2)
0.0196^{*}	1	34.59	عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B^2)
0.3513^{ns}	1	4.29	عبارت درجه دوم غلظت اسید اولئیک (C^2)
0.0012^{**}	1	89.18	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)
0.0991^{ns}	1	14.82	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولئیک (AC)
0.0174^{*}	1	36.34	غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولئیک (BC)

ns، *، **، به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح $\alpha = 0.05$ و $\alpha = 0.01$

ns: Non-significant, *and **: Significant at $\alpha= 0.05$ & $\alpha= 0.01$, respectively.

A = Grass pea protein isolate concentration (%) B = Glycerol concentration (%) C = Acid oleic concentration (%)

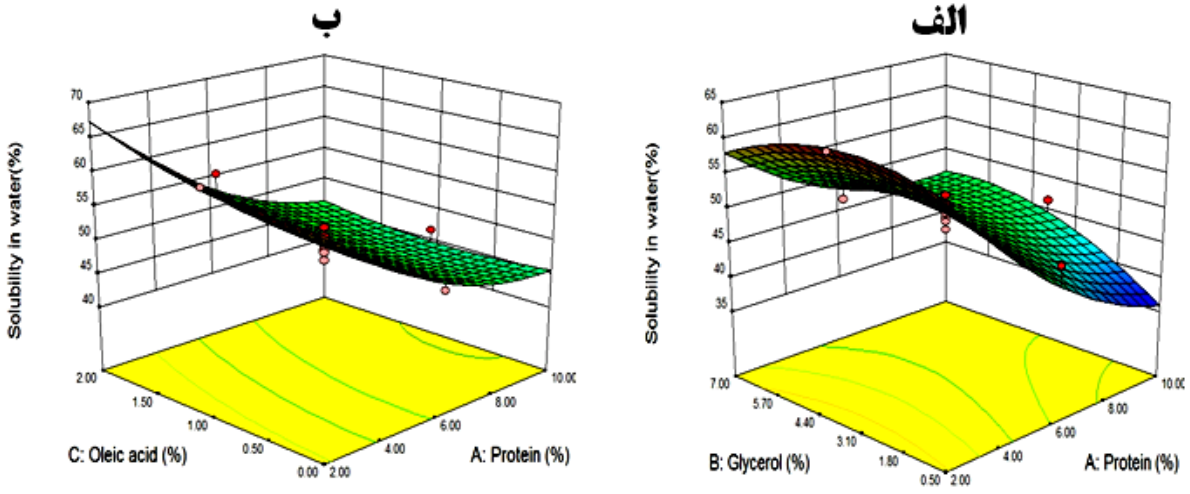
برای ارزیابی مطلوبیت برازش داده‌ها مقادیر R^2، R^2_{adj} و C.V مورد بررسی قرار گرفت؛ این مقادیر به‌ترتیب برابر ۰/۹۶۰۸، ۰/۹۲۵۶ و ۴/۱۸ بود. برای اطمینان از کفایت مدل از آزمون عدم برازش استفاده شد؛ باتوجه به جدول آنالیز واریانس مربوط به حلالیت در آب فیلم خوراکی مورد بررسی، معنی‌دار نشد که نشان‌دهنده برازش مناسب مدل بود.

در شکل ۱(الف)، در غلظت ثابت اسید اولئیک (۱ درصد)، اثر افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول بر میزان حلالیت در آب نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد ایزوله پروتئین، حلالیت در آب را کاهش داد ولی افزایش درصد گلیسرول به میزان بسیار کمتری نسبت به درصد ایزوله پروتئین سبب افزایش حلالیت در آب شد (البته در غلظت‌های پایین پروتئین ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش در حلالیت شد). با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین و گلیسرول و نیز اثر درجه دوم درصد ایزوله پروتئین و درصد گلیسرول ($P<0.05$)، می‌توان وجود حالت انحنا را در کنتور انتظار داشت. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین – گلیسرول، معنی‌دار شده است و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به‌صورت خطی با شیب کم حلالیت در آب کاهش می‌یابد. احتمالاً افزایش میزان گلیسرول سبب باز تر شدن ماتریس فیلم گردیده و باعث نفوذ آب در لا به لای شبکه افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، افزایش میزان پروتئین سبب افزایش استحکام فیلم شده و به حفظ حالت یکپارچگی آن کمک می‌کند. اوزدمیر و فلوروس (۲۰۰۷) با بررسی فیلم‌های خوراکی با منشأ پروتئین آب پنیر به نتایجی مشابه دست یافتند و گزارش کردند که افزایش درصد پروتئین و موم زنبور عسل سبب کاهش مواد محلول در آب شد ولی سوربیتول به عنوان نرم‌کننده سبب افزایش مواد محلول در آب فیلم‌های خوراکی شد. این بدین معنی است که با افزایش پروتئین و موم مقدار آب بیشتری در ساختار فیلم سبب حفظ آب بیشتر در ساختار فیلم و افزایش میزان سوربیتول سبب به‌جا ماندن میزان آب کمتری در ساختار فیلم می‌شود (Ozdemir & Floros, 2008).

پرز - گاگو و همکاران (۱۹۹۰) نیز مقدار مواد کل محلول فیلم‌های خوراکی تهیه شده از وی پروتئین‌ها را حدود ۲۰ درصد اعلام کرده‌اند. این نتایج در مقایسه با نتایج ما مقادیر کمتری را نشان می‌دهد (Perez-Gago *et al*., 1999).

کونته و همکاران (۱۹۹۷) نیز در بررسی فیلم‌های تهیه شده از پروتئین سویا ضمن اینکه به نتایجی مشابه تحقیقات ما دست یافتند، درصد مواد محلول را بین ۴۰ تا ۳۰ درصد اعلام کرده اند (Kunte *et al*.,1997).

بورتون (۲۰۰۸) در طی تحقیقات خود بر روی فیلم خوراکی تهیه شده از نشاسته برنج و کیتوزان گزارش کرد که با افزایش درصد نرم‌کننده انحلال‌پذیری فیلم افزایش می‌یابد (Bourtoom, 2008).



شکل ۱- نمایش نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر درصد ایزوله پروتئین خلر و درصد گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلر و اسید اولئیک؛ (ب) بر روی مواد محلول در آب فیلم خوراکی

Fig. 1. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on water-solubility of edible films.

محققان در بررسی میزان مواد کل محلول فیلم‌های خوراکی تهیه شده از پروتئین تغلیظ شده نخود اظهار داشتند که میزان مواد کل محلول این فیلم‌ها حدود ۴۰ درصد است (Choi & Han, 2001).

بر اساس شکل، در مقدار ثابت اسید اولئیک (۱ درصد)، بیشترین میزان حلالیت در آب در میزان ایزوله پروتئین ۲ درصد، گلیسرول ۳/۷۵ درصد و کمترین میزان حلالیت در آب در میزان ایزوله پروتئین ۱۰ درصد و گلیسرول ۰/۵ درصد مشاهده شد.

در شکل ۱(ب)، در غلظت ثابت گلیسرول (۳/۷۵)، اثر همزمان ایزوله پروتئین-اسید اولئیک بر میزان حلالیت در آب نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد اسید اولئیک، حلالیت در آب را افزایش داد. با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین، درصد اسید اولئیک ($P<0.05$) و معنی‌دار بودن درجه دوم غلظت پروتئین، می‌توان وجود حالت تقریباً خطی را در کنتور انتظار داشت که انحنای کم آن به‌دلیل معنی‌دار شدن عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین است. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین – اسید اولئیک، معنی‌دار نیست و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به‌صورت خطی و با شیب نسبتاً بیشتری نسبت به اثر متقابل پروتئین-گلیسرول حلالیت در آب کاهش یافته است. همچنین با توجه به شکل، در مقدار ثابت گلیسرول (۳/۷۵ درصد)، بیشترین میزان حلالیت در آب در میزان ایزوله پروتئین ۲ درصد و اسید اولئیک ۲ درصد و کمترین میزان حلالیت در آب در میزان ایزوله پروتئین ۱۰ درصد و اسید اولئیک صفر درصد مشاهده شد.

احتمالاً کاهش انحلال‌پذیری فیلم خوراکی با افزایش درصد پروتئین به‌دلیل دناتوره شدن و تغییر ماهیت ساختار پروتئین حین فرآیند تولید فیلم می‌باشد که سبب ایجاد شبکه‌ای مستحکم با پیوندهای دی سولفیدی قوی در ساختار شبکه پروتئینی شده و مانع از فروپاشی شبکه و انحلال‌پذیری آن می‌شود؛ این ساختمان قادر به نگهداری برخی مولکول‌های اسید چرب در بین خود می‌باشد که با قرارگرفتن در آب سبب باز شدن بیشتر ساختمان و کمک به حل شدن بیشتر آن می‌کند. همانطور که در جدول۲، مشاهده می‌شود، عبارت‌های معنی‌دار مدل شامل: درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول، درصد اسید اولئیک، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر و درصد گلیسرول و عبارات اثر متقابل درصد ایزوله پروتئین خلر – درصد گلیسرول است که نشان‌دهنده وجود رابطه سینرژیستی بر میزان حلالیت در اسید فیلم خوراکی است. عبارات مربوط به اثرات درجه دوم درصد ایزوله پروتئین به شکل مدل حالت انحنا بخشیده است.

برای ارزیابی مطلوبیت برازش داده‌ها مقادیر R^2، R^2_{adj} و C.V به‌ترتیب برابر ۰/۹۳۵۹، ۰/۸۷۸۲ و ۸/۹۰ بود. برای اطمینان از کفایت مدل از آزمون عدم برازش استفاده شد که باتوجه به جدول آنالیز واریانس مربوط به حلالیت در اسید فیلم خوراکی آزمون ضعف برازش معنی‌دار نشد که نشان‌دهنده برازش مناسب مدل بود.

در شکل ۲ (الف)، در غلظت ثابت اسید اولئیک ۱ درصد، اثر همزمان ایزوله پروتئین-گلیسرول بر میزان حلالیت در اسید نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد ایزوله پروتئین، حلالیت در اسید را کاهش داد ولی افزایش درصد گلیسرول به میزان بسیار کمتری نسبت به درصد ایزوله پروتئین سبب افزایش حلالیت در اسید شد (البته در غلظت‌های پایین پروتئین ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش در حلالیت گردید). با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین و گلیسرول و نیز اثر درجه دوم درصد ایزوله پروتئین و درصد گلیسرول ($P<0.05$) می‌توان وجود حالت منحنی را در کنتور انتظار داشت. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین-گلیسرول، معنی‌دار شده است و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به صورت خطی با شیب کم، حلالیت در اسید کاهش می‌یابد. همچنین با توجه به شکل، در مقدار ثابت اسید اولئیک۱ درصد، بیشترین میزان حلالیت در اسید در میزان ایزوله پروتئین ۲ درصد، گلیسرول ۳/۷۵ درصد مشاهده شد. اعرابی و همکاران (۱۳۸۵)، طی پژوهش خود روی تأثیر درصد گلیسرول بر روی میزان حلالیت فیلم‌های خوراکی تهیه شده از گلوتن گندم به نتایج مشابه ما دست یافتند و اظهار داشتند با افزایش درصد گلیسرول، فیلم خوراکی در اسید بیشتر حل می‌گردد (A`arabi *et al*., 2007).

در شکل۲ (ب)، در غلظت ثابت گلیسرول ۳/۷۵درصد، اثر همزمان ایزوله پروتئین - اسید اولئیک بر میزان حلالیت در اسید نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد اسید اولئیک، حلالیت در اسید را افزایش داد. با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین، درصد اسید اولئیک ($P<0.05$) و معنی‌دار بودن درجه دوم غلظت پروتئین و می‌توان وجود حالت تقریباً خطی را در کنتور انتظار داشت که انحنای کم آن به‌دلیل معنی‌دار شدن عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین است. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین-اسید اولئیک، معنی‌دار نمی‌باشد و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و اسید اولئیک به‌صورت تقریباً خطی حلالیت در اسید کاهش می‌یابد؛ زیرا

اسید اولئیک در ترکیب فیلم خوراکی مشابه نرم‌کننده عمل می‌کند در نتیجه با افزایش میزان این دو از میزان پیوندهای دی سولفیدی و هیدروژنی بین و داخل زنجیره‌ای پروتئین کاسته شده و در نتیجه ساختمان فیلم بازتر شده و فیلم محلول‌تر می‌گردد. اما افزایش پروتئین سبب افزایش پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های پروتئین و آب گردیده و به حفظ ساختار فیلم در اسید کمک می‌کند. با کاهش pH از انحلال‌پذیری پروتئین کاسته شد و درنتیجه حلالیت در اسید نسبت به حلالیت در آب و قلیا دارای میزان کمتری بود. همچنین با توجه به شکل، در مقدار ثابت گلیسرول ۳/۷۵ درصد، بیشترین میزان حلالیت در اسید در میزان ایزوله پروتئین ۲ درصد و اسید اولئیک ۲ درصد و کمترین میزان حلالیت در اسید در میزان ایزوله پروتئین ۱۰ درصد و فاقد اسید اولئیک مشاهده گردید.

جدول ۲- نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای اندازه‌گیری مواد محلول در اسید فیلم خوراکی

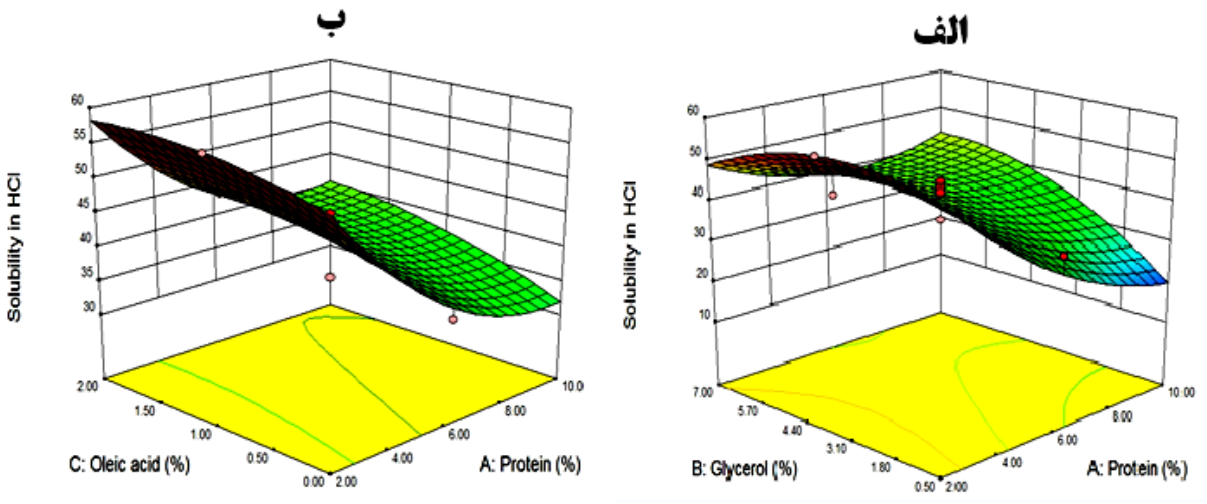
Table2. Analysis of variance (ANOVA) response surface model to measure the acid - solubility of edible film

منبع Source	مجموع مربعات Sum of Square	درجه آزادی df	مقدار P P - Value
مدل	1925.25	9	$0<0.0001^{**}$
غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)	989.03	1	$0<0.0001^{**}$
غلظت گلیسرول (درصد) (B)	202.41	1	0.0029^{**}
غلظت اسید اولئیک (درصد) (C)	100.49	1	0.0201^{*}
عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A^2)	115.96	1	0.0142^{*}
عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B^2)	104.23	1	0.0184^{*}
عبارت درجه دوم غلظت اسید اولئیک (C^2)	7.32	1	0.4734^{ns}
غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)	449.40	1	0.0002^{**}
غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولئیک (AC)	12.30	1	0.3569^{ns}
غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولئیک (BC)	1.14	1	0.7748^{ns}

ns، *، **، به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح $\alpha = 0.05$ و $\alpha = 0.01$

ns: Non-significant, *and **: Significant at α= 0.05 & α= 0.01, respectively.

A = Grass pea protein isolate consentration (%) B = Glycerol consentration (%) C = Acid oleic consentration (%)



شکل ۲- نمایش نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر درصد ایزوله پروتئین خلر و درصد گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلر و اسید اولئیک؛ (ب) بر روی مواد محلول در اسید فیلم خوراکی

Fig. 2. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on acid-solubility of edible films

کلیه فیلم‌های تولیدی در تمامی درصدهای ایزوله پروتئین، گلیسرول و اسید اولئیک، در سود ۱ نرمال پس از گذشت ۲۴ ساعت کاملاً حل شده و حتی تمامی نمونه‌ها در سود ۰/۱ نرمال نیز پس از گذشت ۲۴ ساعت حل شدند، مطلب اخیر، به واسطه افزایش انحلال‌پذیری پروتئین با افزایش pH قابل توجیه است. با افزایش pH پروتئین کاملاً حل شده و درنتیجه شبکه از هم جدا شده و فیلم در آب محلول گردید.

نفوذپذیری به بخار آب

بر اساس جدول ۳، عبارت‌های معنی‌دار مدل ($P<0.05$) شامل: درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول، درصد اسید اولئیک، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول و درصد اسید اولئیک و اثرمتقابل درصد ایزوله پروتئین-اسیداولئیک و درصد گلیسرول-اسید اولئیک بر میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم خوراکی است. برای ارزیابی مطلوبیت برازش داده‌ها مقادیر R^2، R^2_{adj} و C.V مورد بررسی قرار گرفت و به‌ترتیب معادل۰/۹۹۷۳، ۰/۹۹۴۹ و ۲/۸۳ بود. برای اطمینان از کفایت مدل از آزمون عدم برازش استفاده شد که باتوجه به جدول آنالیز واریانس مربوط به شفافیت فیلم خوراکی آزمون ضعف برازش معنی‌دار نشد که نشان‌دهنده برازش مناسب مدل بود. در شکل۳ (الف)، در غلظت ثابت اسید اولئیک۱ درصد، اثر همزمان ایزوله پروتئین-گلیسرول بر میزان نفوذپذیری به بخار آب نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش درصد ایزوله پروتئین و گلیسرول، نفوذپذیری به بخار آب افزایش یافت. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین – گلیسرول، معنی‌دار نشده است و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به‌صورت ثابت و وابسته به غلظت پروتئین، نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌یابد. در شکل ۳ (ب)، در غلظت ثابت گلیسرول ۳/۷۵، اثر همزمان ایزوله پروتئین- اسید اولئیک بر میزان نفوذپذیری به بخار آب نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد اسید اولئیک، نفوذپذیری به بخار آب را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. چون اثر متقابل ایزوله پروتئین- اسید اولئیک، معنی‌دار شده است، با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و اسید اولئیک به‌صورت آنتاگونیستی، نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌یابد که پروتئین در جهت افزایش اسید اولئیک در جهت کاهش نفوذپذیری عمل می‌کند.

یانگ و پاولسون (۲۰۰۰) طی بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ژلان گزارش کردند که با افزایش درصد گلیسرول نفوذ پذیری به بخار آب افزایش می‌یابد و با افزایش طول زنجیر و درجه اشباعیت نفوذپذیری به بخار آب کم می‌شود (Yang & Paulson, 2000). گونتارد و همکاران (۱۹۹۳) به نتایجی مشابه دست یافتند در تحقیقات آن‌ها نیز با افزایش درصد گلیسرول نفوذپذیری فیلم‌های خوراکی تولیدی از گلوتن گندم نیز افزایش یافت (Gontard *et al*., 1993).

تاوین (۲۰۰۸) به بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از نشاسته برنج و کیتوزان پرداخت و به نتایج مشابهی دست یافت وی اظهار داشت با افزایش غلظت نرم‌کننده نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌یابد (Thawien, 2008). اوزدمیر و فلوروس (۲۰۰۷) با بررسی فیلم‌های پروتئین آب پنیر، به این نتیجه رسیدند که پروتئین و موم سبب کاهش نفوذپذیری به بخار آب شده که مخالف بسیاری از مطالعات و نتایج پژوهش بود. اما با افزایش غلظت نرم‌کننده افزایش نفوذپذیری در فیلم‌ها گزارش شد که مشابه نتایج بود (Ozdemir & Floros, 2007).

چوی و هان (۲۰۰۱) طی بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از پروتئین نخود به این نتیجه رسیدند که درصد گلیسرول به‌طور معنی‌داری بر روی نفوذپذیری به بخار آب تأثیرگذار نیست. اما در تحقیقات مشکانی و همکاران (۱۳۸۹) بر روی ایزوله پروتئین نخود، افزایش درصد گلیسرول سبب افزایش نفوذپذیری به بخار آب شد (Choi & Han 2001 ; Meshkani *et al.*, 2011).

نفوذپذیری زیاد فیلم به بخار آب، به‌واسطه وجود گروه‌های هیدروکسیل زیاد در ساختار این فیلم‌هاست که خواص هیدروفیلیک را در فیلم افزایش داده و سبب کاهش خصوصیات ممانعت‌کنندگی در برابر انتقال بخار آب می‌شود. پروتئین خلر آبدوست است، زیرا پروتئین‌های اصلی بقولات گلوبولین‌ها و آلبومین‌ها هستند که ماهیتی هیدروفیل دارند (McHugh, 1994).

نفوذپذیری به اکسیژن

به‌دلیل جذب اکسیژن و دفع دی اکسید کربن توسط میوه‌ها و سبزی‌ها در فرآیند تنفس مواد غذایی طی نگهداری انبارمانی از موارد مهم در بسته‌بندی میوه‌ها و غذاهای تازه است. همچنین اکسیژن نقش بسیار مهمی در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی از جمله اکسیداسیون لیپیدها و تنفس سلول‌های زنده داراست. بنابراین کنترل مهاجرت اکسیژن به درون بسته‌بندی و میزان در دسترس بودن آن برای مواد غذایی بسیار حائز اهمیت است. همانطور که در جدول۴، مشاهده می‌شود، عبارت‌های معنی‌دار مدل شامل، درصد ایزوله پروتئین خلر، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر است که

نشان‌دهنده وجود رابطه خطی مقدار ایزوله پروتئین بر میزان نفوذپذیری به اکسیژن فیلم خوراکی است.

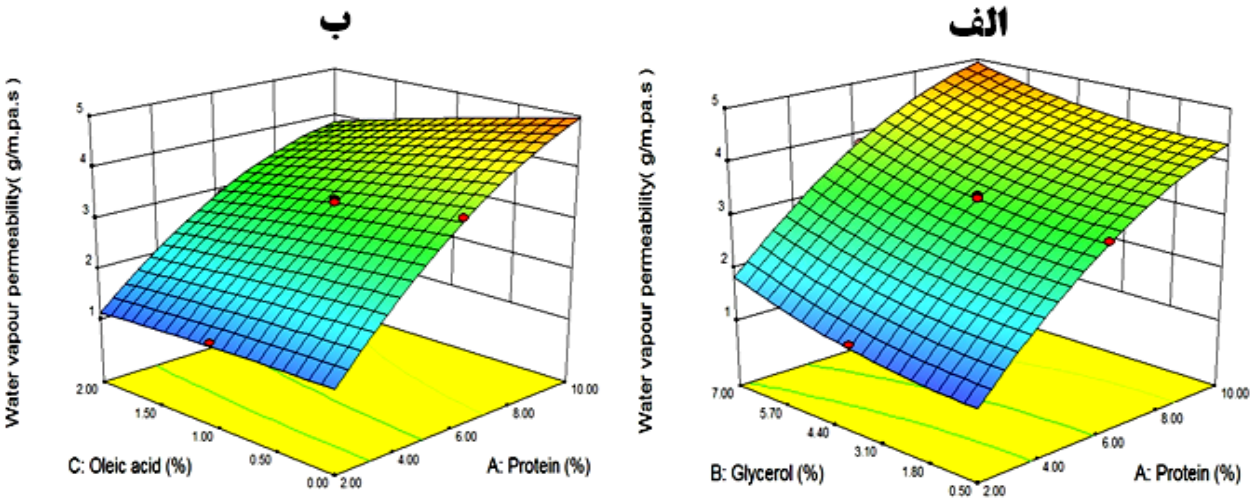
جدول ۳- آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ درجه دو برای نفوذپذیری به بخار آب

Table 3. Analysis of variance response surface model to measure the water vapor permeability of edible film

منبع Source	مجموع مربعات Sum of Square	درجه آزادی df	مقدار P P - Value
مدل	3.27	9	$0<0.0001^{**}$
غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)	25.89	1	$0<0.0001^{**}$
غلظت گلیسرول (درصد) (B)	1.27	1	$0<0.0001^{**}$
غلظت اسید اولئیک (درصد) (C)	0.95	1	0.0005^{**}
عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A^2)	0.63	1	$0<0.0001^{**}$
عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B^2)	0.096	1	$0<0.0001^{**}$
عبارت درجه دوم غلظت اسید اولئیک (C^2)	0.003	1	0.5464^{ns}
غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)	0.025	1	0.1053^{ns}
غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولئیک (AC)	0.43	1	$0<0.0001^{**}$
غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولئیک (BC)	0.044	1	0.0417^{*}

ns، *، ** و به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح $\alpha = 0.05$ و $\alpha = 0.01$

ns: Non-significant, *and **: Significant at α= 0.05 & α= 0.01, respectively.

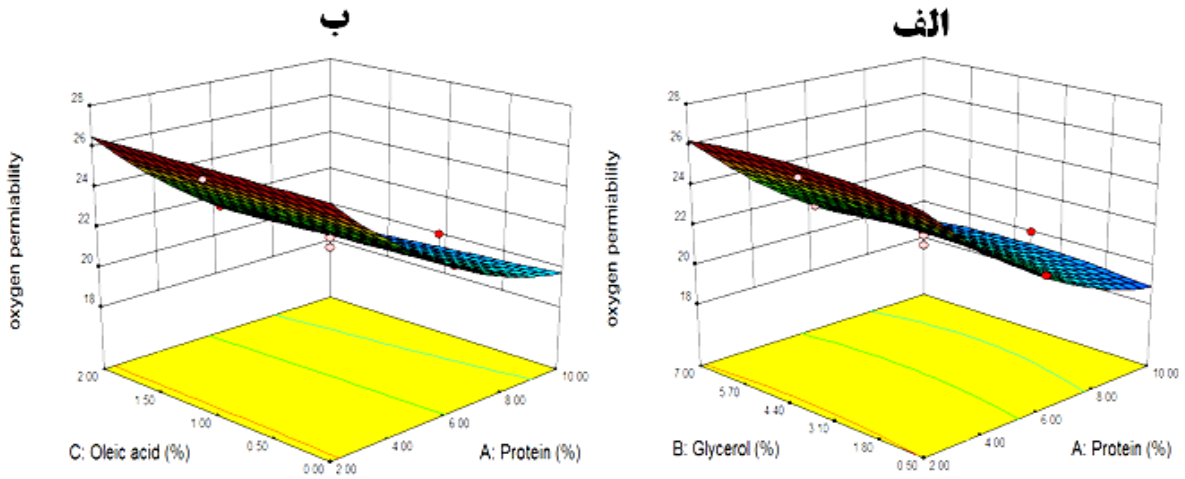


A = Grass pea protein isolate consentration (%) B = Glycerol consentration (%) C = Acid oleic consentration (%)

شکل۳- نمودار سه بعدی اثر همزمان درصد ایزوله پروتئین خلر و گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلر و اسید اولئیک (ب) بر نفوذپذیری به بخار آب فیلم خوراکی

Fig. 3. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on the water vapor permeability of edible films

عبارت‌های مربوط به اثرات درجه دوم درصد ایزوله پروتئین به شکل مدل حالت انحنا بخشیده است. گونگا و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین آب پنیر اظهار داشتند که افزایش درصد پروتئین اثر معنی‌داری بر کاهش نفوذپذیری به اکسیژن دارد، نتایج نامبردگان مشابه نتایج پژوهش بود. همچنین در نتایج تحقیقات بیان کردند با افزایش درصد گلیسرول نیز به‌آرامی نفوذپذیری به اکسیژن افزایش می‌یابد. که احتمالاً به‌دلیل رقابت آب و گلیسرول در حفظ جایگاه‌های فعال و آزاد شبکه فیلم و درنتیجه ایجاد فضاهای شبکه‌ای و خوشه‌ای آب کرده و فضاهای خالی را افزایش می‌دهد (Gounga *et al*., 2007). برای ارزیابی مطلوبیت برازش داده‌ها مقادیر R^2، R^2_{adj} و C.V به‌ترتیب برابر ۰/۹۸۴۰، ۰/۹۶۹۶ و ۲/۱۱ بود. آزمون ضعف برازش مدل مربوط به نفوذپذیری به بخارآب بود.



شکل ۴- نمودار سه بعدی اثر همزمان درصد ایزوله پروتئین خلر و گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلر و اسید اولئیک (ب) بر نفوذپذیری به اکسیژن فیلم خوراکی

Fig. 3. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on the oxygen permeability of edible films

جدول ۴- آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ درجه دوم برای نفوذپذیری به اکسیژن

Table4. Analysis of variance response surface model to measure the oxygen permeability of edible film

مقدار P P - Value	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of Square	منبع Source
$0<0.0001^{**}$	9	133.37	مدل
$0<0.0001^{**}$	1	126.74	غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)
0.4343^{ns}	1	0.14	غلظت گلیسرول (درصد) (B)
0.2754^{ns}	1	0.29	غلظت اسید اولئیک (درصد) (C)
0.9410^{ns}	1	4.11	عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A^2)
0.2261^{ns}	1	0.39	عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B^2)
0.1421^{ns}	1	0.002	عبارت درجه دوم غلظت اسید اولئیک (C^2)
0.9410^{ns}	1	0.0012	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)
0.2261^{ns}	1	0.36	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولئیک (AC)
0.1421^{ns}	1	0.55	غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولئیک (BC)

ns، * و **، به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح $\alpha = 0.05$ و $\alpha = 0.01$

ns: Non-significant, *and **: Significant at α= 0.05 & α= 0.01, respectively.

A = Grass pea protein isolate consentration (%) B = Glycerol consentration (%) C = Acid oleic consentration (%)

نتیجه‌گیری

ایزوله پروتئین خلر به‌راحتی تشکیل فیلم داده و می‌توان از آن در تهیه بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر با هدف افزایش زمان نگهداری ماده غذایی، استفاده نمود.

افزایش درصد ایزوله پروتئین سبب افزایش ضخامت، دانسیته، نفوذپذیری به بخار آب و کاهش حلالیت در آب و اسید شد.

اثر گلیسرول و اسید اولئیک بر روی ضخامت، دانسیته و حلالیت در آب و اسید تقریباً مشابه و افزایشی بود.

با افزایش گلیسرول و اسید اولئیک، نفوذپذیری به بخار آب به‌ترتیب افزایش و کاهش یافت.

با بهینه‌یابی طرح معلوم شد با استفاده از ۲/۶۰ درصد ایزوله پروتئین، ۶/۹۳ درصد گلیسرول و صفر درصد اسید اولئیک، برای تهیه فیلم خوراکی، این فیلم دارای ایده‌آل‌ترین

حالت مجموع خصوصیات ضخامت، دانسیته، درصد مواد محلول در آب و اسید و نفوذپذیری به بخار آب است.

مدل‌های پیشنهادی به روش سطح پاسخ برای بررسی ویژگی فیلم‌های تهیه شده، ضریب همبستگی بالایی (۸۶/۹۵) داشتند و این بیانگر مناسب بودن این روش برای بررسی و مطالعه اثر عوامل مختلف تولید فیلم بر ویژگی‌های آن می‌باشد.

منابع

1. A`arabi, A., Azizi, M.H., and Bahrami, B. 2007. Producing of edible film from wheat gluten. Sixteen National Congrees of Food Science. Iran, Gorgan. (In Persian with English Summary).
2. Arthan, A., Prodpran, T., and Benjakul, S. 2009. Round scad protein-based film: storage stability and its effectiveness for shelf-life extension of dried fish powder. LWT- Food Science and Technology 42: 1238-1244.
3. Choi, W.S., and Han, J.H. 2001. Physical and Mechanical Properties of Pea-Protein-based Edible Films. Journal of Food Science 66 (2): 319-322.
4. Druchta, J.M., and Johnston, C.D. 1997. An update on edible films. Food Technology 51 (2):1-3.
5. Jayan, P.R., and Kumar V.J.F. 2004. Planter design in relation to the physical properties of seeds. Journal of Tropical Agriculture 42 (1-2): 69-71.
6. Gontard, N., Guilbert, S., and Cuq, J.L. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat film. Journal of Food Science 58: 206-211.
7. Gounga, M.E. 2007. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. Journal of Food Engineering 83: 521-530.
8. Hosseini, S.M., Razavi, S.H., Musavi, S.M. 2006. Anti-microbial, physical and mechanical properties, of edible production chitosan films containing essence of thyme and clove. Journal of Food Science and Technology 5 (2):41-51. (In Persian).
9. Kadoya, T. 1990. Food Packaging. Academic, New York, NY.
10. Kester, J. J. and Fennema, O. R. 1986. Edible films and coatings: A review. Food Technology 40(12): 47-59.
11. Kokoszka, S., Debeaufort, F., Hambleton, A., Lenart, A., and Voilley, A. 2010. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. Innovative Food Science and Emerging Technologies 11: 503-510.
12. Kunte, L.A., Gennadios, A., Cuppett, S.L., Hanna, M.A., and Weller, C.L. 1997. Cast films from soy protein isolates and fractions. Cereal Chemistry 74 (2): 115-118.
13. McHugh, T.H., and Krochta, J.M. 1994. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. Journal of Agriculture Food Chemistry 59 (2): 416-419.
14. Meshkani, S.M., Mortazavi, S.A., Milani, E., Mokhtarian, M., and Sadeghian, L.S. 2011. Evaluation of mechanical and optical properties of edible films based on pea proteins isolated (*Cicer arietinum* L.) Containing Thymus essence using response surface methodology. Journal of Food Science and Technology 2 (3): 25-37. (In Persian with English Summary).
15. Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M., and Voilley, A. 2002. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. Food Science 42 (1): 67- 89.
16. 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.
17. Ozdemir, M., Floros John, D., 2008. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. Journal of Food Engineering 86: 215-224.
18. Perez-Gago, M.B., Nadaud, P., and Krochta, J.M. 1999. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. Journal of Food Science 64 (6): 1034-1037.
19. Rotter, R.G., Marquardt, R.R., and Campbell, C.G. 1991. The nutritional value of low lathyrogenic Lathyrus (Lathyrus sativus) for growing chicks. British Poultry Science.
20. Thawien, B. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan., Songklanakarin. Journal of Science and Technology 30 (1): 149-165.
21. Xu, Sh. 2006. Extraction of Protein from lathyrus sativus and study on its functional characters. Modern Food Science and Technology 6 (1): 3-10.
22. Yang, L., and Paulson, A.T. 2000. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. Food Research International 33: 563-570.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 5, No. 2, 2014, p. 139-150

Physicochemical and barrier properties of edible films based on protein isolated from grass pea (*Lathyrus sativus*) using response surface methodology

Hoseinzadeh[1], A., Milani[2*], E., Elhami Rad[3], A.H. & Haddad Khodaparast[4], M.H.

1- PhD. Student of Food Science and Technology Dep., Islamic Azad University of Sabzevar, Iran
2- Assistant Professor Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) Mashhad- Iran
3- Assistant Professor of Food Science and Technology, Islamic Azad University of Sabzevar, Iran
4- Professor of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Received: 12 March 2013
Accepted: 16 July 2014

Abstract

Legumes are rich sources of protein and consider a good alternative to make a protein films. In this study, central composite design to investigate the simultaneously effect of the grasspea protein isolates (2 - 10 percent), glycerol (0.5 - 7%) and oleic acid (0 - 2%) on properties of edible films made from grasspea protein isolates, such as thickness, density, percentage of solubility in water, acid and alkaline, and permeability to water vapor and oxygen were used. The result shows that increasing protein and glycerol concentrations were significantly increased water vapor permeability and increasing in concentrations of oleic acid decreased it signifcantly. Solubility in water and acid by increasing the protein content decreased and with increasing glycerol and oleic acid increased ($P<0.05$). Optimization results of edible films made from green pea protein isolates showed that for an optimal film that have minimum thickness with 0.087 mm, minimum equal density 697.486 ($kg.m^{-3}$), Least equal to the water vapor permeability 1.42×10^{-9} ($g.\ m^{-1}.pa^{-1}.s^{-1}$), least permeability to oxygen (peroxide value), equivalent to 24.72, maximum solubility in water and acid, respectively, 53.52% and 46.64 percent, Parameters the green pea protein isolate concentration 2.46 percent, glycerol concentration 0.5 percent and oleic acid concentration had to 0.087 percent.

Key words: Edible film, Protein isolate, Grass pea, Physicochemical and barrier properties, Response surface methodology

* **Corresponding Author:** e_milani81@yahoo.com, 05138810109