تهیه و ارزیابی خصوصیات فیلم آنتی‌اکسیدان کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور

مهران مرادی[۱]، حسین تاجیک[۲]*، سیدمهدی رضوی‌روحانی[۳]، عبدالرسول ارومیه‌ای[٤]، حسن ملکی‌نژاد[٥]، هادی قاسم مهدی[٦]

۱- استادیار بهداشت مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز
۲- استاد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۳- استاد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
٤- دانشیار شیمی پلیمر، گروه پلاستیک، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران
٥- دانشیار فارماکولوژی وسم شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
٦- کارشناس میکروبیولوژی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
*آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، صندوق‌پستی: ۱۱۷۷، تلفن و نمابر: ۲۷۷۱۹۲٦ (۰٤٤۱)
پست الکترونیک: h.tajik@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۵ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۱/۱۸

چکیده

مقدمه: استفاده از فیلم‌های آنتی‌اکسیدان روشی مؤثر در کنترل فساد شیمیایی در مواد غذایی است.

هدف: هدف این مطالعه، تهیه فیلم آنتی‌اکسیدان کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور و ارزیابی خصوصیات آن در شرایط آزمایشگاهی است.

روش بررسی: فیلم کیتوزان به روش کاستینگ تهیه گردید و اثرات غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد عصاره بر روی ویژگی‌های مکانیکی، رنگ [(L^* (شفافیت، (قرمزی (a^*)، زردی (b^*)]، آنتی‌اکسیدان، درصد تورم و محتوای تام فنلی فیلم، ارزیابی شد.

نتایج: به طور کلی مقاومت در برابر پارگی فیلم کیتوزان تحت تأثیر میزان عصاره بود و در عصاره ۲ درصد، بهترین میزان یعنی مشابه مقاومت در برابر پارگی فیلم کیتوزان خالی را نشان داد. بالاترین میزان کشش در فیلم حاوی عصاره ۰/۵ درصد گزارش شد. اضافه کردن عصاره ضمن تغییر شاخص‌های شفافیت، قرمزی و زردی رنگ، موجب تولید فیلم‌های رنگی شد. قدرت آنتی‌اکسیدان فیلم کیتوزان حاوی عصاره به دلیل غنی بودن عصاره از ترکیبات فنلی، بسیار قابل توجه بود. این خصوصیت متأثر از میزان عصاره بوده و در عصاره (۸۵/۳۷ درصد) ۰/۵، (۱٦/۳۹ درصد) ۱ و ۲ درصد (۵۷/٤۱ درصد) نسبت به گروه کنترل (۳٤/۱۲ درصد) افزایش معنی‌داری نشان داد. ($p<۰/۰۵$). نتایج آزمون محتوای تام فنلی و درصد تورم نشان از افزایش میزان هر دو ویژگی در اثر اضافه شدن عصاره داشت.

نتیجه‌گیری: خصوصیات فیلم کیتوزان کاملاً متأثر از میزان عصاره مورد استفاده داشت و در مجموع موجب بهبود خصوصیات آنتی‌اکسیدان و فنل کل فیلم کیتوزان شد. چنین فیلم‌هایی بسیار مناسب برای استفاده در مواد غذایی هستند.

گل‌واژگان: بسته‌بندی فعال، فیلم کیتوزان، عصاره دانه انگور، آنتی‌اکسیدان

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

مقدمه

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در بسته‌بندی مواد غذایی، به دلیل کنترل بو و طعم تند ناشی از اکسیداسیون چربی و افزایش ماندگاری ماده غذایی بسیار مورد توجه است. بوتیلات هیدروکسی آنیزول و بوتیلات هیدروکسی تولوئن، مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های مورد استفاده در نگهداری مواد غذایی است. با وجود اینکه هر دو ترکیب بالا، ترکیباتی مؤثر، ارزان و پایدار هستند، ولی مشکلات ناشی از اثرات سمی آنها باعث شده که امروزه استفاده از این مواد محدود شود [۱،۲].

در بسیاری از کشورهای دنیا، درخواست فزاینده‌ایی برای استفاده از نگهدارنده‌های سالم و دوستدار محیط زیست در نگهداری مواد غذایی به وجود آمده است. روش‌های سنتی نگهداری غذا، تأثیر نامطلوبی بر جذابیت محصولات غذایی تازه دارند. بنابراین جستجو برای یافتن جایگزین طبیعی برای افزودنی‌های شیمیایی منطقی است، چون طبیعت برای طولانی مدت، منبع مناسبی برای این ترکیبات به شمار می‌رود [۳]. انگور یکی از قدیمی‌ترین میوه‌هایی است که در جهان مورد کشت و بهره برداری قرار می‌گیرد [٤]. عصاره دانه انگور Grape Seed Extract (GSE) محصول جانبی انگور می‌باشد که حاوی مخلوطی از منومرهای کاتکین، الیگومرهای پروسیانیدین و پلی‌مرهای پروسیانیدین است که از دانه‌های ویتیس وینیفرا (*Vitis vinifera*) استخراج می‌شود [٥].

امروزه استفاده از فیلم‌های خوراکی (Edible films) و زیست تخریب‌پذیر، به عنوان یکی از روش‌های بسته‌بندی فعال، جایگزین مناسب برای پوشش‌های پلاستیکی غیرتخریب‌پذیر، مورد توجه قرار گرفته است [٦]. بیو پلیمرهای مورد استفاده در تهیه فیلم‌های خوراکی را می‌توان بر اساس نوع تهیه آنها به سه دسته، لیپیدی (واکس‌ها و اسیدهای چرب)، پلی‌ساکاریدی (کیتوزان، سلولز، آلژینات و نشاسته) و پروتئینی (پروتئین‌های آب پنیر، سویا و ذرت)تقسیم‌بندی نمود [۷]. کیتوزان، پلی‌ساکاریدی است که از استیل‌زدایی کیتین تهیه می‌شود. این پلیمر کاتیونی، از نظر فراوانی در طبیعت دومین پلی‌ساکارید مهم بعد از سلولز می‌باشد. کیتوزان با ساختمان منحصر به فرد کاتیونی، دارای خصوصیات مطلوب و گوناگونی همچون غیرسمی بودن، قابلیت بازیافت و خصوصیت ضدمیکروبی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدان و ویژگی تشکیل فیلم و پوشش است. فیلم کیتوزان اولین بار در سال ۱۹۳٦ توسط ریگبای (ybgiR) به روش کاستینگ تهیه شد [۸،۹،۱۰].

ایده افزودن ترکیبات آنتی اکسیدان به فیلم‌های خوراکی، علاوه بر بهبود خصوصیات فیزیکی - مکانیکی، کنترل فساد شیمیایی و بهبود طعم و رنگ است [۱۱]. در این روش، ترکیب بیواکتیو، به صورت افزودنی به طور مستقیم به ماده غذایی اضافه نمی‌شود و لذا امکان تغییر در ترکیب آنتی‌اکسیدان در حین فرآوری که در روش استفاده مستقیم افزودنی اتفاق می‌افتد، مشاهده نمی‌شود. مزیت دیگر این روش، رهایش آهسته و تدریجی ترکیبات بیواکتیو، به داخل غذا است [٦].

در فیلم کیتوزان استفاده از مواد بیواکتیو طبیعی با منشاء حیوانی، گیاهی و میکروبی، با اهداف متفاوتی از جمله بهبود خصوصیت نفوذپذیری، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان، ضدمیکروبی و ضدقارچی فیلم مورد مطالعه قرارگرفته شده است [۸]. هدف این مطالعه بررسی اثرات اضافه کردن سه غلظت ۰/۵، ۱، ۲ درصد عصاره دانه انگور بر روی خصوصیات مکانیکی، رنگ، محتوای تام فنلی، قدرت آنتی‌اکسیدان و درصد تورم فیلم خوراکی کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره دانه انگور

عصاره دانه انگور با نام تجاری مگا نچرال (MegaNatural®) (Mega Natural Inc., Madera, CA, USA) به صورت پودر با مشخصات ذیل تهیه شد: محتوای تام فنلی (≥ 90g GAE/100 g) و پروفایل فنلی (منومر (۱۰٪ >)، الیگومر (٦۰ – ۸۰ درصد) و پلیمر (۲۵٪>) ارزیابی شده به روش HPLC). روزانه محلول استوک عصاره در داخل

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

آب مقطر تهیه و پس از عبور فیلترهای ۰/۲۲ میکرونی، مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه فیلم کیتوزان

برای تهیه محلول کیتوزان، از کیتوزان با وزن مولکولی متوسط، درجه استیل زدایی (Sigma, Aldrich, St. Louis, MO, USA) ≥ 75% استفاده شد. ابتدا محلول اسید استیک یک درصد حجمی / حجمی تهیه و سپس محلول کیتوزان دو درصد وزنی / حجمی در اسید مذکور تهیه و پس از حل شدن کامل (در دمای اتاق، به مدت یک شبانه‌روز)، در شرایط خلاء و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۳ صاف شد. سپس به میزان ۰/۵ گرم گلیسرول به ازاء هر گرم کیتوزان به محلول اضافه و به مدت نیم ساعت دیگر در دمای اتاق هم زده شد.

برای تهیه فیلم، تیمارهای لازم با استفاده از عصاره در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۲ درصد در محلول کیتوزان تهیه شد. سپس محلول در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت یک دقیقه توسط دستگاه هموژنیزاتور هم زده شد. سپس حباب‌های هوای داخل آن در شرایط تحت خلاء و نیز با استفاده از گاز نیتروژن گرفته شد. برای تهیه فیلم، از روش کاستینگ استفاده شد. برای این منظور، به میزان لازم از محلول، در قالب‌های از جنس پلی‌تترافلورواتیلن با سطح ۲۶۹ متر مربع به وسیله پیپت‌های استریل ریخته و سپس قالب به منظور پخش یکنواخت محلول به آرامی تکان داده شد. نهایتاً جهت خشک شدن فیلم، قالب‌ها در یک سطح کاملاً صاف، در دمای اتاق، به مدت ۳۶ ساعت نگهداری شد. پس از خشک شدن کامل و قبل از انجام آزمایش‌های مربوطه، فیلم‌ها در شرایط ثابت رطوبت (۲±۵۰٪) و دما (۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد) در داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع برومید سدیم به مدت ٤٨ ساعت نگهداری شدند.

ارزیابی خصوصیات فیلم‌ها

تعیین ضخامت

ضخامت فیلم‌ها با استفاده از میکرومتر دیجیتال اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری در پنج نقطه از فیلم به صورت تصادفی صورت گرفت و میانگین اعداد در آزمون های مکانیکی مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی خصوصیات مکانیکی

خصوصیات مکانیکی شامل مقاومت فیلم در برابر پارگی (Tensile strength) (TS) و میزان کشش تا نقطه پاره شدن (Elongation at break) (%E) بر اساس روش ASTM شماره D 882 اندازه‌گیری شد [۱۲]. از هر فیلم، نوارهایی در اندازه ۱×۷ سانتی‌متر تهیه و مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش با دستگاه یونیورسال تعیین شد. فاصله اولیه بین دو فک دستگاه ۵۰ میلی‌متر و فیلم‌ها با لود سل ۵۰ نیوتن و با سرعت ۱ میلی‌متر در ثانیه کشیده شدند.

اندازه‌گیری رنگ

شاخص‌های رنگ هانتر (L^*, a^*, b^*) توسط دستگاه رنگ سنج مینولتا اندازه‌گیری شد. L^* شاخص شفافیت نمونه (سیاه=۰ و سفید=۱۰۰)، a^* شاخص قرمزی (سبز=-۶۰ و قرمز=+۶۰) و b^* شاخص زردی (آبی=-۶۰ و زردی=+۶۰) می‌باشند. ابتدا دستگاه با استفاده از کاشی سفید استاندارد مخصوص دستگاه، کالیبره شده و سپس شاخص‌های رنگ هانتر فیلم بررسی شد. ارزیابی رنگ در چهار نقطه از فیلم یکی در وسط و سه نقطه در کنار انجام شد. شاخص سفیدی (Whitish index) (WI) و تغییرات کلی رنگ (ΔE) از فرمول ذیل محاسبه شد.

$$\Delta L = L_{\text{استاندارد}} - L_{\text{نمونه}} \ , \ \Delta a = a_{\text{استاندارد}} - a_{\text{نمونه}} \ , \ \Delta b = b_{\text{استاندارد}} - b_{\text{نمونه}}$$

درصد شاخص تورم (Swelling index) (%SI)

قطعاتی در اندازه ۱۵×۵/۱ میلی‌متر از فیلم تهیه و وزن اولیه آن بر حسب گرم و با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم تعیین شد. سپس نمونه‌ها در داخل پتری دیش‌های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده و در دمای ۲۵ ± ۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس پس از ٢٤ ساعت، نمونه‌ها از پتری دیش برداشته و به آرامی آب اضافی آنها با کاغذ فیلتر گرفته و وزن نهایی فیلم‌ها

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

تعیین شد. درصد شاخص تورم با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$SI\ (\%) = W_f\text{-}W_i/W_i \times 100$$

W_i و W_f به ترتیب وزن اولیه و وزن نهایی فیلم‌ها به گرم می‌باشد.

تعیین محتوای تام فنلی

برای اندازه‌گیری محتوای تام فنلی فیلم‌ها، از روش رنگ سنجی فولین سیوکالتو (Folin- Ciocalteu) استفاده شد [۲] ۲۵ میلی‌گرم از فیلم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده و به مدت ۵ دقیقه به آرامی هم زده شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره فیلم، با ۷ میلی‌لیتر آب مقطر را در داخل لوله آزمایشگاهی ریخته و در مرحله بعد، ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین (Merck Company, Darmstadt, Germany) را اضافه کرده و محتویات با هم مخلوط شد. پس از ۸ دقیقه، ۵/۱ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم اشباع به لوله اضافه و حجم مخلوط با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. لوله‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد و سپس مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. اسید گالیک (Fluka Chemical Company, St. Louis, MO, USA) به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. غلظت‌های صفر تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای رسم منحنی استاندارد انتخاب شد و نتایج با استفاده از معادله زیر تعیین و به صورت میلی‌گرم اکی والان اسید گالیک بر گرم وزن فیلم بیان شد (mg GAE/ g film).

به طوری که محتوای تام فنلی= T (میلی‌گرم اکی والان اسید گالیک)، غلظت اسید گالیک = C به دست آمده از منحنی استاندارد (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، حجم عصاره فیلم = V (میلی‌لیتر) و وزن فیلم خشک = M گرم است.

اندازه‌گیری میزان خواص آنتی‌اکسیدان

درصد به دام اندازی رادیکال (۲ و ۲ -دی فنیل-۱ -پیکریل هیدرازیل) DPPH با استفاده از روش تغییر یافته سیریپاتراون و هارت (۲۰۱۰) انجام گرفت [۲] ۲۵ میلی‌گرم از فیلم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه به آرامی هم زده شد. سپس ۸/۲ میلی‌لیتر از عصاره فیلم به لوله‌های آزمون حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر محلول یک میلی‌مولار DPPH (Fluka Chemical Company, St. Louis, MO, USA) در متانول افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در اتاق نگهداری شد. میزان جذب لوله‌های آزمون و شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان مربوطه می‌باشد. در نهایت با استفاده از فرمول زیر، درصد فعالیت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایش‌ها، در قالب طرح کاملاً تصادفی و در حداقل سه تکرار انجام شد. آنالیز بر اساس مدل فاکتوریال صورت گرفت. تحلیل و ارزیابی اطلاعات به دست آمده با استفاده از مدل خطی نرم‌افزار آماری SPSS 15 در سطح معنی‌دار $p > ۰/۰۵$ و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار GraphPad Prism 5 استفاده شد.

نتایج

خصوصیات مکانیکی

از لحاظ ظاهری، فیلم کیتوزان تهیه شده به رنگ زرد متمایل به سفید، انعطاف‌پذیر و تا حدودی محکم بود و به راحتی از قالب جدا می‌شد. فیلم‌های آنتی‌اکسیدان کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور به دلیل رنگ مخصوص عصاره، به رنگ قهوای کم رنگ و براق بودند. ضخامت، مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش فیلم‌های تهیه شده در جدول شماره ۱ آورده شده است. عصاره دانه انگور در غلظت‌های پایین (۱ و ۰/۵ درصد) تأثیری بر روی ضخامت نداشت و تنها عصاره ۲ درصد باعث افزایش

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

جدول شماره ۱- اثرات افزودن عصاره دانه انگور برروی ضخامت، مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش فیلم کیتوزان

میزان عصاره (درصد)	ضخامت فیلم (میلی‌متر)	مقاومت در برابر پارگی (مگا پاسکال)	میزان کشش (درصد)
۰	۰/۰۸ ± ۰[a*]	۲٤ ± ۰/۲ [a]	۲۹/۳۳ ± ۱/۰۸ [c]
۰/۵	۰/۰۸ ± ۰[a]	۱۵/٤۰ ± ۰/٦ [b]	۵۹ ± ۱/٦٤ [d]
۱	۰/۰۸ ± ۰[a]	۱٦/۲۳ ± ۰/٦٤ [b]	٦۷/۲۱ ± ۲/۰۵ [b]
۲	۰/۱ ± ۰ [b]	۲۲/۵۷ ± ۰/۹۳ [a]	۳/٦٦ ± ۰/۵۷ [a]

*نتایج حاصل از میانگین حداقل سه تکرار بعلاوه منهای انحراف معیار. حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) است

معنی‌دار ضخامت فیلم شد ($p <۰/۰۵$). میزان مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش فیلم کیتوزان خالی به ترتیب ۲٤ مگا پاسکال و ۳۳/۲۹ درصد بود. بالاترین میزان مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش به ترتیب در فیلم حاوی عصاره ۲ و ۰/۵ درصد گزارش شد.

خصوصیات رنگ و شاخص تورم

اثرات اضافه شدن عصاره دانه انگور، برروی شاخص‌های رنگ هانتر (*L**, *a**, *b**)، تغییرات کلی رنگ و شاخص سفیدی در جدول شماره ۲ آورده شده است. مقایسه نتایج (شفافیت *L**)، (قرمزی *a**) و (زردی *b**) نشان از تغییر معنی‌دار شفافیت، قرمزی و زردی فیلم کیتوزان خالی در اثر اضافه کردن عصاره دارد. همچنین تغییرات هر سه شاخص به طور معنی‌داری متأثر از میزان عصاره ۰/۵، ۱، ۲ درصد بود ($p <۰/۰۵$) با وجود مشاهده تغییرات در شاخص‌های هانتر، نتایج تغییرات کلی رنگ نشان از تغییر معنی‌دار رنگ فیلم کیتوزان نداشت. بیشترین میزان شاخص سفیدی در فیلم‌ها به ترتیب مربوط به فیلم‌های کیتوزان خالی< عصاره ۰/۵ درصد< عصاره ۱ درصد< عصاره ۲ درصد بود.

نتایج درصد شاخص تورم فیلم‌های کیتوزان حاوی در نمودار شماره ۱ آمده است. میزان درصد شاخص تورم فیلم کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور، در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ به ترتیب ۲۰٦/۵۹، ۲٤۵/۵۵ و ٦۸۷/۳۸ درصد بود، که اختلاف معنی‌داری با میزان تورم در فیلم کیتوزان خالی (۳۱/۲۹ درصد) ندارد. افزایش میزان عصاره باعث تغییر معنی‌دار در میزان تورم فیلم می‌شد. حداکثر درصد میزان تورم (۳۸/٦۸۷)، در مدت ۲٤ ساعت، در فیلم حاوی ۲ درصد عصاره مشاهده شد.

محتوای تام فنلی و خصوصیات آنتی‌اکسیدان

محتوای تام فنلی فیلم کیتوزان حاوی عصاره در نمودار شماره ۲ آورده شده است. ترتیب محتوای تام فنلی فیلم‌ها: عصاره ۲ درصد> عصاره ۱ درصد> عصاره ۰/۵ درصد> کیتوزان خالی، است. که به ترتیب حاوی ۹۲/۳٦،۷۵/۱۱۲، ۲۲/۹۲ و ٤/٤ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم فیلم است. افزایش میزان عصاره، اثر معنی‌داری بر روی محتوای تام فنلی نشان داد ($p < ۰/۰۵$). بر اساس نتایج درصد به دام اندازی رادیکال DPPH، تمامی فیلم‌های تهیه شده، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بودند (نمودار شماره ۳) فیلم کیتوزان همانند خود کیتوزان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۲/۳٤ درصد) مناسبی است (نمودار شماره ۳). چنانچه در نمودار شماره ۳ گزارش شده است، قدرت آنتی‌اکسیدان فیلم کیتوزان با افزودن عصاره افزایش می‌یابد. این میزان افزایش در استفاده از عصاره ۰/۵ درصد (۳۷/۸۵ درصد)، ۱ درصد (۳۹/۱٦ درصد) و ۲ درصد (٤۱/۵۷ درصد) نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$).

بحث

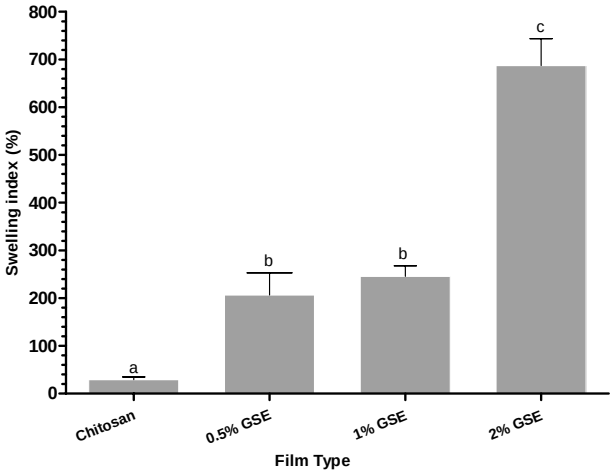
نتایج آزمون مکانیکی فیلم کیتوزان خالی این مطالعه مشابه نتایج (سرینیواسا و همکاران) [۱۳] مقاومت در برابر پارگی ۱۰/۳۹ مگا پاسکال و میزان کشش ۸٤/۱۰ درصد و متفاوت از

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

جدول شماره ۲- پارامترهای مربوط به رنگ فیلم کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور

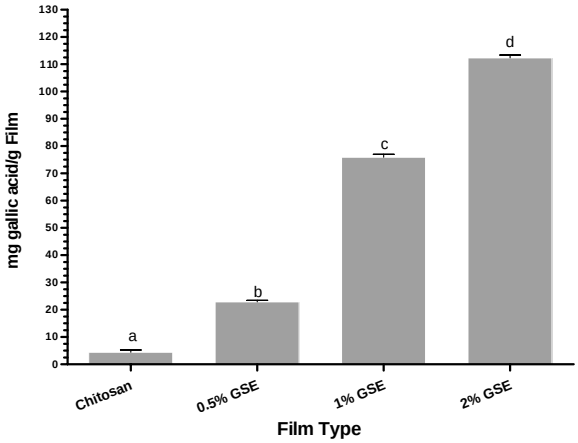
میزان عصاره (درصد)	شاخص شفافیت	شاخص قرمزی	شاخص زردی	تغییرات کلی رنگ	شاخص سفیدی
۰	۷۷/۰۸±۱/۳٤^{a}	-۰/۷٤±۰/۹۷^{a}	۲۹/۳۹±۱/۹۹^{a}	٦۲/٤۱±۰/۱۳^{b}	٦۲/۷۱±۲/۹۹^{a}
۰/۵	٤۰/۹٤±۱/٤^{b}	۱۹/٤٦±۱/۵۲^{b}	۱۸/۲۲±۰/۹٦^{b}	٦۷/٦٦±۰/۱۲^{b}	۳۵/۱۸±۲/۵۰^{b}
۱	۳٦/۲۷±۱/۷^{cd}	۲۱/۳۳±۰/۸۸^{c}	۱٦/۵۰±۰/۱۷^{b}	٦۹/٦۹±۰/۰۹^{b}	۳۰/۸۰±۱/۸۳^{c}
۲	۳٤/٤٤±۳/۱^{d}	۲٦/۳۵±۰/۳۲^{d}	۱۵/٦۷±۳/٦۸^{b}	۷۲/۸۰±۰/۱^{a}	۲۷/۵۱±۳/۵۳^{c}

نتایج حاصل از میانگین حداقل سه تکرار بعلاوه منهای انحراف معیار. حروف غیرمشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) است.



نمودار شماره ۱- درصد شاخص تورم فیلم کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور (ESG).

نتایج حاصل از میانگین حداقل سه تکرار بعلاوه منهای انحراف معیار بوده و حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) است.

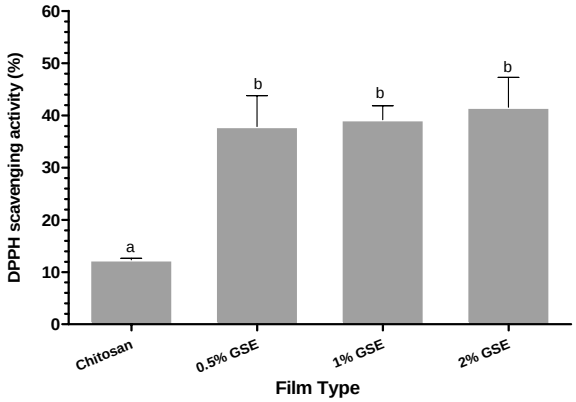


نمودار شماره ۲- محتوای تام فنلی فیلم کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور (GSE).

نتایج حاصل از میانگین حداقل سه تکرار بعلاوه منهای انحراف معیار بوده و حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) است.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]



نمودار شماره ۳- میزان به دام اندازی رادیکال DPPH فیلم کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور (GSE).

نتایج حاصل از میانگین حداقل سه تکرار بعلاوه منهای انحراف معیار بوده و حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) است.

نتایج (سانچزگونزالس و همکاران) [۱٤] مقاومت در برابر پارگی ۱۱۳ مگا پاسکال و میزان کشش ۲۲ درصد بود. تفاوت‌های موجود، ناشی از نوع کیتوزان، نوع اسید مورد استفاده در تهیه فیلم، شرایط تهیه و میزان و نوع پلاستی سایزر مورد استفاده است [۱٤].

به طور کلی مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش فیلم کیتوزان حاوی عصاره، بستگی به میزان عصاره اضافه شده دارد. مقاومت در برابر پارگی فیلم با اضافه شدن ۰/۵ درصد عصاره کاهش معنی‌داری با گروه کنترل نشان می‌دهد ولی با افزایش میزان عصاره، مقاومت در برابر پارگی فیلم افزایش پیدا کرده و حتی در استفاده از عصاره ۲ درصد، مقاومت در برابر پارگی به بهترین حالت خود یعنی تقریباً مشابه فیلم کیتوزان خالی رسید جدول شماره ۱ افزایش ضخامت و مقاومت در برابر پارگی فیلم حاوی عصاره ۲ درصد، ممکن است به دلیل پیوندهای عرضی باشد که بین کیتوزان و ترکیبات فنلی با وزن مولکولی بالای موجود در عصاره ایجاد می‌شود. این ترکیبات فنلی به دلیل خاصیت آب دوستی و وزن مولکولی بالا، موجب کاهش اثرات نرم‌کنندگی فیلم و نهایتاً باعث افزایش ضخامت و میزان مقاومت در برابر پارگی و میزان کشش فیلم خوراکی می‌شوند [۱۵]. کورالس و همکاران نشان دادند که افزودن عصاره دانه انگور به میزان ۱ درصد، باعث افزایش ضخامت و میزان کشش فیلم نشاسته نخود می‌شود [۱٦]. در حالی که، عصاره باعث کاهش ۵۰ درصدی میزان مقاومت در برابر پارگی فیلم می‌شود. سیواروبان و همکاران نیز نشان دادند، که اضافه کردن ۱ درصد عصاره دانه انگور به فیلم پروتئین سویا موجب افزایش مقاومت در برابر پارگی از ۸/۸ به ۷/۱۰ مگا پاسکال می‌شود [۱۷]. پایین بودن میزان کشش در فیلم حاوی ۲ درصد عصاره دانه انگور، به دلیل حضور میزان زیادی عصاره در داخل فیلم است که باعث پخش نشدن کامل عصاره در فیلم شده و در نهایت موجب ایجاد پیوندهای ضعیف بین پلیمر و عصاره می‌شود. این حالت باعث ایجاد یکسری نقاط با عدم تحمل به کشش بر روی فیلم می‌شود.

پارامترهای رنگی فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی، به دلیل اثرات آنها در مقبولیت مصرف‌کننده ماده غذایی، از اهمیت زیادی برخوردار است. در صورت تلفیق شاخص شفافیت و زردی و براساس فرمول‌های ریاضی، شاخصی تحت عنوان شاخص سفیدی یا WI به دست می‌آید. هرچه این شاخص بالا باشد، نشان از سفید رنگ بودن فیلم دارد. چنانچه در جدول شماره ۲ آورده شده است، افزودن عصاره موجب تغییر معنی‌دار در میزان شاخص سفیدی فیلم کیتوزان (۷۱/٦۲) می‌شود. این نتایج مشابه با مطالعه دو و همکاران است که نشان دادند تغییر رنگ فیلم‌ها کاملاً متأثر از نوع و میزان اسانس مورد استفاده، حتی در غلظت‌های پایین است [۱۸]. فیلم‌های کیتوزان حاوی عصاره، به دلیل داشتن شاخص شفافیت پایین و

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

شاخص‌های قرمزی و (ΔE تغییرات کلی رنگ) بالا، دارای یک رنگ قهوایی متمایل به خاکستری بودند. این حالت به دلیل رنگ قهوه‌ای عصاره دانه انگور می‌باشد ΔE شانگر تغییرات کلی رنگ فیلم می‌باشد و هر چه میزان آن افزایش می‌یابد، نشان‌دهنده تغییر رنگ کلی فیلم است. میزان ΔE با اضافه شدن عصاره دانه انگور، افزایش یافته جدول شماره ۲ و باعث ایجاد فیلم‌هایی کاملاً رنگی می‌شوند.

شاخص تورم به صورت درصد افزایش وزن فیلم در طی غوطه‌وری در آب مقطر در مدت ٢٤ ساعت تعریف می‌شود. نتایج مربوط به استفاده از غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد عصاره بر روی شاخص تورم، تا حدودی ایده‌ال است نمودار شماره ۱، چرا که در صورت استفاده از چنین فیلم‌هایی در مواد غذایی مرطوب، امکان پارگی و متلاشی شدن فیلم در اثر جذب آب وجود ندارد. این در حالی بود که میزان بالای شاخص تورم در فیلم حاوی عصاره ۲ درصد (٦٧٨/٣٨ درصد)، باعث می‌شد حتی حین انجام آزمایش، فیلم‌های مربوطه، ساختار خود را از دست داده و پاره شوند. این حالت به دلیل ایجاد تداخلات بین مولکولی ترکیبات آب دوست همچون عصاره با پلیمر، ایجاد می‌شود [۱۹].

افزودن عصاره دانه انگور به فیلم کیتوزان، باعث افزایش معنی‌داری در محتوای تام فنلی شد ($p < ۰/۰۵$) (نمودار شماره ۲). به طوری که محتوای فنل کیتوزان حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ درصد عصاره دانه انگور، به ترتیب ۵، ۱۷، ۲۵ برابر میزان فنل گروه کنترل (٤/٤ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم فیلم) شد (نمودار شماره ۲) نتایج مشابهی توسط سیریپاتراون و هارت در فیلم کیتوزان حاوی عصاره چای سبز گزارش شد [۲]. یافته جالب توجه که در این مطالعه مشاهده شد وجود مقدار کمی (٤/٤ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم فیلم) فنل کل در فیلم کیتوزان فاقد اسانس است. این یافته شاید به دلیل تشکیل یک کمپلکس رنگی در اثر واکنش معرف فولین سیوکالتو با یک سری ترکیبات احیاءکننده غیرفنلی کیتوزان باشد.

عصاره دانه انگور از نظر ترکیبات فنلی منومری، مثل کاتکین، اپی کاتکین، اپی کاتکین ۳-۱-گالات و پروسیانیدین‌های دیمری، تریمری و تترامری بسیار غنی بوده و لذا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی با قدرت ضدمیکروبی مناسب مطرح است [۲۰]. پروسیانیدین‌ها، شاخص‌ترین ترکیبات فنلی موجود در عصاره دانه انگور می‌باشند. همچنین، ترکیبات منو مری و پرو آنتو سیانیدین‌های پلیمری دانه انگور، توانایی به دام انداختن رادیکال‌های سوپر اکسید، هیدروکسیل، نیتریک اسید، پروکسی نیترات و آنیون نیتروکسیل را دارند [۲۱،۲۲] در تحقیق حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدان فیلم‌ها به صورت درصد به دام اندازی رادیکال DPPH بیان شد. همچنان که متصور بود، فیلم کیتوزان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی بود (نمودار شماره ۳) در بین پلیمرهای زیستی مختلف، این خاصیت تا حدودی منحصر به کیتوزان و برخی از فیلم‌های پروتیینی می‌باشد [۸،۲۳] فیلم کیتوزان حاوی ۲ درصد عصاره، دارای قدرت به دام اندازی بالا (٤١/٥٧ درصد) است، به طوری که این میزان ۳/۵ برابر قدرت آنتی‌اکسیدان فیلم کیتوزان خالی است (نمودار شماره ۳) به طور کلی قدرت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های خوراکی تابعی از نوع و میزان ترکیب آنتی‌اکسیدان مورد استفاده در فیلم و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ذاتی فیلم خوراکی است [۲۳]. اما در این مطالعه، افزایش میزان عصاره در فیلم، اثرات معنی‌داری بر روی میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی نشان نداد.

نتایج این مطالعه که در شرایط آزمایشگاهی صورت پذیرفت، نشان داد که می‌توان بسته و فیلم فعال کیتوزان با استفاده از عصاره دانه انگور تهیه نمود. افزودن عصاره، موجب بهبود خصوصیات آنتی‌اکسیدان و محتوای تام فنلی فیلم می‌شود. تغییرات نامناسب به وجود آمده در برخی از خصوصیات فیلم همچون خصوصیات مکانیکی و درصد تورم، که به دلیل اثرات برخی از غلظت‌های بالای عصاره که دارای ترکیبات فنلی با وزن مولکولی بالا است را می‌توان با تهیه فیلم‌های کامپوزیت بهبود داد. با بهینه‌سازی بیشتر فیلم آنتی‌اکسیدان کیتوزان تهیه شده در این مطالعه، می‌توان از آنها برای کنترل فساد شیمیایی مواد غذایی استفاده نمود.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حوزه تحصیلات تکمیلی و دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه به خاطر تأمین هزینه اجرای این طرح، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. همچنین از همکاری‌های خانم دکتر زمردی، آقای دکتر ناصری، خانم پادار، آقای طباطبایی و شرکت پلی فنلیک به خاطر در اختیار قرار دادن عصاره دانه انگور قدردانی می‌شود.

منابع

1. Yanishlieva N and Marinova E. Natural antioxidants from herbs and spices Eur. *J. Lipid Sci. Technol*. 2006; 108: 776 – 79.

2. Siripatrawan U and Harte BR. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloid*. 2010; 24: 770 - 5.

3. Smid EJ and Gorris LGM. Natural Antimicrobials for Food Preservation. In: Rahman MS (edi). Handbook of Food Preservation. CRC press. 2007.

4. Pinelo M, Arnous A and Meyer AS. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends. Food. Sci. Tech*. 2006; 17: 579 - 90.

5. Clouatre DL and Kandaswami C. Grape seed extract. Encyclopedia of Dietary Supplements. Marcel Dekker. USA. 2005, pp: 309 - 25.

6. Dainelli D, Gontard N, Spyropoulos D, Zondervan-van den Beuken E and Tobback P. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends Food. Sci. Tech*. 2008; 19: S99 - S108.

7. Quintero-Salazar B and Ponce-Alquicira E. Edible Packaging for Poultry and Poultry Products. In: Handbook of Food Products Manufacturing. John Wiley & Sons, Inc. 2007, pp: 797 - 815.

8. Moradi M, Tajik H, No HK, Razavi Rohani SM, Oromiehie A and Ghasemi S. Potential inherent properties of chitosan and its applications in preserving muscle food. *J. Chitin Chitosan*. 2010; 15: 35 - 45.

9. Bégin A, Calsteren MRV. Antimicrobial films produced from chitosan. *Int. J. Biol. Macromol*. 1999; 26: 63 - 7.

10. Suyatma NE, Copinet A, Tighzert L, Coma V. Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) blends. *J. Polym. Environ*. 2004; 12: 1 – 6.

11. Martín-Belloso O, Rojas-Graü M.A and Soliva-Fortuny R. Delivery of flavor and active ingredients using edible films and coatings. In: Embuscado ME and Huber KC. (ed). Edible films and coatings for food applications. Springer, New York, NY. pp: 2009, 295 - 314.

12. ASTM. Annual book of ASTM standards. Pennsylvania: American Society for Testing and Materials. 2003.

13. Srinivasa PC, Ramesh MN and Tharanathan RN. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloid*. 2007; 21: 1113 - 22.

14. Sánchez-González L, Cháfer M, Chiralt A and González-Martínez C. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum. Carbohyd. Polym*. 2010; 82: 277 - 83.

15. Adams B, Sivarooban T, Hettiarachchy NS and Johnson MG. Inhibitory activity against *Listeria monocytogenes* by soy protein edible film

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]

containing grape seed extract, nisin, and malic acid. *Discovery* 2005; 6: 3 - 9.

16. Corrales M, Han JH and Tauscher B. Antimicrobial properties of grape seed extracts and their effectiveness after incorporation into pea starch films. *Int. J. Food Sci. Tech*. 2009; 44: 425 – 33.

17. Sivarooban T, Hettiarachchy NS and Johnson MG. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Res. Int*. 2008; 41: 781 - 5.

18. Du WX, Olsen CW, Avena- Bustilios RJ, Mchugh TH, Levin CE and Friedman M. Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. *J. Food Sci*. 2009; 74: M372 - 378.

19. Mayachiew P, Devahastin S. Effects of drying methods and conditions on release characteristics of edible chitosan films enriched with Indian gooseberry extract. *Food Chem*. 2010; 118: 564 - 601.

20. FDA. (2008). Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) website at http://www.cfsan.fda.gov/dms/eafus.html.

21. Yilmaz Y and Toledo RT. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends. Food. Sci. Tech*. 2004; 15: 422 – 33.

22. Bañón S, Díaz P, Rodríguez M, Garrido MD and Price A. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Sci*. 2007; 77: 626 – 33.

23. Gómez-Estaca J, Gimnez B, Montero P and Gómez-Guillén MC. Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *J. Food Eng*. 2009; 92: 78 - 85.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1]