مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۱ شماره ۲/ سال ۱۴۰۰/ صفحات ۱۳۳ تا ۱۵۳

DOI: 10.22034/FR.2021.39404.1734

تهیه فیلم فعال آنتی اکسیدانی برپایه ایزوله پروتئین کنجد حاوی عصاره اتانولی کنجاله کنجد و بررسی تأثیر آن در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا

هادی الماسی[1*] و نسیم فتحی[2]

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/٦/۲

[1] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه

[2] دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه

* مسئول مکاتبه: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: استفاده از بسته بندی‌های فعال و بکارگیری آنتی اکسیدان‌های طبیعی، از جمله جدیدترین رویکردهای نگهداری مواد غذایی محسوب می‌شوند. **هدف**: هدف از این پژوهش تولید فیلم فعال آنتی اکسیدانی برپایه‌ی ایزوله‌ی پروتئین کنجد (SPI) حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد (SCE) و بررسی تأثیر آن در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا بود. روش کار: ابتدا از کنجاله‌ی روغن گیری شده‌ی کنجد، SCE با استفاده از اتانول و SPI به روش تیمار قلیایی استخراج شد. سپس از SPI فیلم تهیه گردید و SCE در سه غلظت ۳، ۵ و ۷ درصد به ترکیب فیلم افزوده شد. پس از بررسی خواص فیلم، تأثیر فیلم فعال در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا با اندازه‌گیری مقادیر عدد پراکسید و ظرفیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH طی ٦۰ روز نگهداری در دمای ۲۵ °C تعیین شد. **نتایج**: آزمون FT-IR تشکیل پیوندهای هیدروژنی جدید بین ترکیبات فنولی عصاره و پروتئین کنجد را اثبات کرد. نتایج آزمون XRD و FE-SEM نشان داد که افزودن SCE تا غلظت ۵ درصد تأثیر نامطلوبی روی خواص ساختاری فیلم SPI ندارد. اما با افزایش غلظت به ۷ درصد، بلورینگی کاهش و بی‌نظمی ساختاری افزایش می‌یابد. همچنین تا غلظت ۵ درصد نفوذپذیری به بخار آب و کشش پذیری فیلم کاهش یافت و استحکام کششی و مدول یانگ بیشتر شد اما غلظت ۷ درصد اثر معکوس روی این ویژگی‌ها داشت. فیلم حاوی ۷ درصد SCE بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را نشان داد (۷۹/۴۳ درصد). فعالیت آنتی اکسیدانی روغن معمولی حاوی TBHQ ۱۰۰ ppm بیشتر از روغن‌های در تماس با فیلم‌های فعال بود اما قدرت مهارکنندگی در این روغن باگذشت زمان کاهش یافت درحالیکه در نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال، رفته رفته خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر شد. عدد پراکسید روغن سویا در طول زمان افزایش یافت اما استفاده از فیلم فعال قادر به کنترل میزان افزایش در عدد پراکسید روغن بود و در زمان‌های طولانی مدت نگهداری و غلظت بالای عصاره، تأثیر فیلم فعال مشابه افزودن مستقیم TBHQ به داخل روغن بود. **نتیجه گیری نهایی**: نتایج این پژوهش نشان داد که فیلم آنتی اکسیدانی پروتئین کنجد حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد قادر است به نگهداری روغن خوراکی کمک کند و تولید چنین فیلمی ارزش افزوده‌ی ضایعات روغن‌کشی از کنجد را بیشتر خواهد نمود.

واژگان کلیدی: فیلم فعال آنتی اکسیدانی، پایداری اکسیداتیو، کنجاله کنجد، مورفولوژی، روغن سویا

مقدمه

در طی سال‌های اخیر، به دلیل مشکل آلودگی‌های زیست محیطی، بیوپلیمرهای طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیر به عنوان جایگزین پلیمرهای سنتزی در بسته‌بندی موادغذایی معرفی شده‌اند. فیلم‌های خوراکی زیست- تخریب‌پذیر می‌توانند از پلی‌ساکاریدها یا پروتئین‌ها تشکیل شوند. یکی از کاربردهای مواد بیوپلیمری زیست تخریب پذیر، استفاده در طراحی بسته بندی فعال است. بسته بندی فعال نوعی بسته بندی است که علاوه بر داشتن خواص بازدارندگی اصلی بسته‌بندی‌های معمول، با تغییر شرایط بسته‌بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های حسی ماده غذایی را بهبود می‌بخشد و در عین حال کیفیت ماده غذایی حفظ می‌گردد (قنبرزاده و همکاران ۱۳۸۸). ترکیباتی مانند آنتی اکسیدان‌ها، ترکیبات ضدمیکروبی، جاذب‌های اکسیژن و... از جمله ترکیبات فعالی هستند که در تولید این نوع مواد بسته بندی به کار می‌روند.

امروزه بدلیل افزایش آگاهی مصرف کنندگان، استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی طبیعی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، روند روبه‌رشدی یافته است. یکی از رایج‌ترین مکانیسم‌های فساد مواد غذایی بویژه محصولات چرب، اکسیداسیون می‌باشد. اکسیداسیون عمده‌ترین دلیل فساد در روغن‌های خوراکی محسوب می‌شود. برای افزایش ماندگاری روغن‌ها از انواع مختلف آنتی اکسیدان‌های سنتزی استفاده می‌شود که تأثیر منفی آنها بر سلامتی مصرف کننده به اثبات رسیده است (آلزاندرو و همکاران ۲۰۱۱). در طی سال‌های اخیر تأثیر انواع مختلف عصارهای طبیعی گیاهی در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن‌های خوراکی مورد ارزیابی قرار گرفته است (سلمانیان و همکاران ۱۳۹۲؛ الماسی ۱۳۹۵؛ دولت آبادی و همکاران ۱۳۹٦).

یکی از منابع طبیعی و ارزان قیمت آنتی اکسیدان‌های طبیعی که به عنوان ضایعات صنعت روغن کشی محسوب می‌شود، کنجاله‌ی کنجد است. به طور معمول از کنجاله‌ی کنجد روغن‌گیری شده به عنوان خوراک دام و کود استفاده می‌شود. در حالیکه این ماده‌ی باارزش، حاوی حدود ۳۰ درصد پروتئین است که می‌تواند در تولید بسته بندی‌های زیست تخریب پذیر استفاده شود (لی و همکاران ۲۰۱٤). همچنین کنجاله‌ی کنجد ترکیبات فنولی قابل توجهی دارد که می‌توانند استخراج شده و به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار گیرند (شاهین و همکاران ۲۰۱۳).

اخیراً مطالعاتی در زمینه‌ی تولید فیلم‌های خوراکی از پروتئین کنجاله‌ی کنجد انجام گرفته است (لی و همکاران ۲۰۱٤؛ شارما و سینگ ۲۰۱٦). در جدیدترین تحقیقات بر روی فیلم ایزوله پروتئین کنجد[۱](SPI)، فتحی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تابش دهی محلول تشکیل دهنده‌ی فیلم SPI با نور فرابنفش به بهبود خواص مکانیکی، بازدارندگی و مورفولوژیکی فیلم پروتئین کنجد کمک می‌کند. در یک تحقیق دیگر، این محققین تأثیر افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) را بر روی خواص فیزیکی و اثر فتوکاتالیستی فیلم SPI بررسی کردند (فتحی و همکاران ۲۰۱۹). تمام این مطالعات معدود، قابلیت SPI در تولید فیلم زیست تخریب پذیر با خواص کاربردی مطلوب را به اثبات رسانده‌اند.

کنجاله‌ی حاصل از روغن‌کشی کنجد علاوه بر پروتئین حاوی میزان قابل توجهی ترکیبات فنولی نیز می‌باشد. درواقع پایداری اکسیداتیو روغن کنجد که به طور طبیعی نسبت به روغن‌های دیگر بالاتر است، مربوط به وجود ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا در این دانه می‌باشد (اسماعیل زاده کناری و همکاران ۲۰۱٤). سزامول، سزامین، سزامولین، کوماریک اسید، فرولیک اسید، کوئینیک اسید و گالیک اسید از جمله مهمترین ترکیبات فنولی موجود در دانه‌ی کنجد محسوب می‌شوند (بودوئیرا و همکاران ۲۰۱۷).

۱. Sesame protein isolate

بررسی‌ها نشان داده است که بین ۴۰-۳۰ درصد از ترکیبات فنولی دانه‌ی کنجد پس از استخراج روغن به روش پرس سرد در کنجاله‌ی آن باقی می‌ماند (سارکیس و همکاران ۲۰۱٤). بنابراین استخراج این ترکیبات فنولی می‌تواند ارزش افزوده‌ی کنجاله‌ی کنجد را بیش از پیش افزایش دهد. خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجه عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد[1](SCE) توسط بن اوتهمن و همکاران (۲۰۱۵) به اثبات رسید. آنها عصاره‌ی کنجاله را با استفاده از اتانول ۷۰ درصد استخراج نموده و فعالیت عصاره را در مهار رادیکال‌های آزاد بررسی کردند. آزمون DPPH و آزمون قدرت جذب رادیکال اکسیژن[2](ORAC) نشان داد که SCE خاصیت آنتی اکسیدانی قابل رقابت با آنتی اکسیدان‌های سنتزی مانند BHA و BHT دارد. تأثیر SCE در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن‌های خوراکی (عبدالعظیم و همکاران ۲۰۱۳؛ مهدالی و همکاران ۲۰۱۱) و کره (ندیم و همکاران ۲۰۱٤) نیز به اثبات رسیده است. در روش استفاده از بسته بندی فعال، نیازی به استفاده از غلظت‌های بالاتر آنتی اکسیدان در داخل روغن نبوده و مهاجرت مقادیر کم آنتی اکسیدان به سطح روغن، می‌تواند اکسیداسیون را که از سطح ماده غذایی آغاز می‌شود به تأخیر بیاندازد. بنابراین استفاده از بسته بندی فعال حاوی آنتی اکسیدان، می‌تواند روش مناسبی برای مهار واکنش‌های اکسیداسیون در سطح ماده غذایی باشد (سوخته زاری و همکاران ۱۳۹٦). در طی سال‌های اخیر مطالعاتی در خصوص استفاده از بسته بندی فعال آنتی اکسیدانی در افزایش ماندگاری روغن‌های خوراکی صورت گرفته است (الماسی ۱۳۹۵؛ الماسی و همکاران ۲۰۱٤؛ استول و همکاران ۲۰۱۷؛ وانگ و همکاران ۲۰۱۹).

تاکنون مطالعه‌ای در زمینه‌ی استفاده از عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد در ترکیب بسته بندی‌های فعال صورت نگرفته است. همچنین از پروتئین کنجد نیز در تولید بسته بندی‌های فعال آنتی اکسیدانی استفاده نشده است. هدف این پژوهش، بهره‌گیری حداکثری از کنجاله‌ی کنجد به‌عنوان ضایعات صنعت روغن کشی به منظور استفاده در نگهداری مواد غذایی بود. برای این منظور، عصاره‌ی اتانولی کنجاله‌ی کنجد استخراج و تغلیظ شد و از مواد باقیمانده، ایزوله‌ی پروتئین کنجد نیز استحصال گردید. از ایزوله‌ی پروتئین کنجد فیلم تهیه شد و عصاره‌ی کنجاله به عنوان ترکیب آنتی اکسیدانی به این فیلم اضافه گردید. پس از بررسی خصوصیات فیزیکی فیلم فعال برپایه‌ی کنجاله‌ی کنجد، تأثیر فیلم حاصل، در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

کیک پرس کنجد روغن‌گیری شده حاصل از پرس سرد از شرکت درنیکا (پیرانشهر-ایران) تهیه شد. حلال‌های استون و اتانول، نرم کننده‌ی گلیسرول، اسید کلریدریک، هیدروکسید سدیم، سولفات کلسیم، سولفات پتاسیم و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده، همگی از نمایندگی شرکت سیگما (آلمان) خریداری شدند.

استخراج عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد (SCE)

برای استخراج SCE از روش بن اوتهمن و همکاران (۲۰۱۵) استفاده شد. کیک پرس کنجد روغن گیری شده برای حذف روغن باقیمانده، ابتدا با آسیاب خانگی آسیاب شد و سپس با نسبت (w/v) ۱:۵ با استون مخلوط شد. هم زدن به مدت یک ساعت ادامه یافت و در نهایت فیلتراسیون برای جداسازی پودر کنجد و حذف روغن باقیمانده انجام گرفت. پودر حاصل با اتانول ۷۰ درصد با نسبت (w/v) ۱:۱۰ مخلوط شد و به مدت دو ساعت هم زدن در دمای اتاق ادامه یافت. برای افزایش راندمان، استخراج سه مرتبه تکرار شد و در نهایت عصاره‌ی حاصل جهت خروج اتانول تحت خلاء تغلیظ گردید و عصاره‌ی تغلیظ شده برای انجام آزمون‌های

1 .Sesame cake extract
2 .Oxygen radical absorbing capacity

بعدی در محل خنک و تاریک نگهداری شد.
جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل عصاره از معرف فولین- سیوکالتو استفاده شد (مهدالی و همکاران ۲۰۱۱). مقدار ۰/۵میلی گرم از عصاره با ۵ میلی لیتر از معرف فولین- سیوکالتو (که با آب مقطر،۱۰ برابر رقیق شده بود) و ٤ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم ۱ مولار به خوبی مخلوط شد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٧٦٥ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنلی با استفاده از منحنی کالیبراسیون و بر مبنای اسید گالیک محاسبه شد.

استخراج ایزوله‌ی پروتئین کنجد (SPI)

برای استخراج پروتئین کنجد از تیمار قلیایی مطابق روش فتحی و همکاران (۲۰۱۸) استفاده شد. پودر کیک پرس کنجد باقیمانده از استخراج SCE، دو مرتبه با آب شستشو داده شد و سپس به نسبت (w/v) ۱:٦ با محلول نمک NaCl یک مولار مخلوط شد. pH محلول با NaOH یک مولار به ۷ رسید و به مدت دو ساعت با یک همزن مغناطیسی مخلوط شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰rpm سانتریفوژ شد تا مواد جامد حذف شوند. pH محلول رویی، به وسیله HCl ۰/۱ مولار روی ٤/٥ (pH ایزوالکتریک SPI) تنظیم شد، تا پروتئین رسوب کند. مواد رسوب داده شده به وسیله سانتریفیوژ ۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه از محلول رویی جدا شدند. محلول رویی دور ریخته شد و رسوبات با آب شستشو داده شد. پس از خنثی سازی با NaOH دو مولار، pH به ۷ رسانده شد. SPI حاصله، به روش انجمادی خشک شد و در دمای ٤ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده، نگهداری شد.

ترکیب شیمیایی SPI شامل رطوبت، پروتئین، چربی و فیبر با استفاده از روش‌های استاندارد (۱۹۹٤) AOAC به شماره ۹٦٥/۳۳ اندازی‌گیری شد.

آماده سازی فیلم‌های فعال

فیلم‌های SPI به وسیله‌ی حل کردن ۳ گرم از پودر SPI در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شدند (فتحی و همکاران ۲۰۱۸). pH محلول با NaOH یک مولار به ۱۱ رسید. محلول تهیه شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای۵۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد و گلیسرول (٤۰ درصد وزنی/وزنی از ماده خشک SPI) به عنوان نرم کننده اضافه شد. ۳۵ میلی لیتر از محلول درون پلیت‌های پلی استایرنی با قطر ۹ سانتی متر ریخته شد. پلیت‌ها در یک آون با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت خشک شدند و سپس فیلم‌ها از سطح پلیت جدا شدند. برای تهیه فیلم‌های حاوی SCE نیز از روش ذکر شده استفاده شد و عصاره‌ی SCE به میزان ۳، ۵ و ۷ درصد وزن SPI قبل از اضافه کردن گلیسرول به محلول فیلم اضافه گردید. خشک شدن فیلم‌ها مطابق با روش فوق انجام شد و نمونه‌ها جهت انجام آزمون‌ها در رطوبت نسبی ۵۵ درصد به مدت ۱۸ ساعت مشروط شدند. فیلم‌های حاصل با کدهای SPI، SCE-3، SCE-5 و SCE-7 نامگذاری شدند.

آزمون ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌ها

آزمون طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR)[۱]

از آنالیز FT-IR برای بررسی ساختار و برهمکنش‌های بین SPI و SCE استفاده شد. برای این کار از طیف سنج FT-IR (SHIMADZU IRPrestige/FTIR-8000) استفاده شد. حدود ۲ میلی گرم از فیلم به صورت دستی آسیاب و با نسبت ۱:۱۰۰ با KBr مخلوط شد و توسط پرس به قرصی با ضخامت حدود ۱ میلی‌متر تبدیل شد. در ادامه آزمون اسپکتروسکوپی FT-IR نمونه‌ها در محدوده‌ی عدد موجی cm^{-1} ٤۰۰۰-٤۰۰ و با تفکیک‌پذیری cm^{-1} ٤ انجام شد.

آزمون پراش پرتو X (XRD)

از آنالیز XRD برای بررسی خصوصیات ساختاری

۱. Fourier transform infrared

فیلم‌های SPI استفاده شد. دستگاه X' Pert Pro (PANalytical company, Netherlands) برای این کار مورد استفاده قرار گرفت. ژنراتور تولید اشعه X در ۴۰kV و ۴۰mA تنظیم شد. دستگاه مجهز به تابش Cu Kα در طول موج ۰/۱۵۶۴ بود. نمونه‌ها در معرض اشعه X با این طول موج مشخص قرار گرفتند. تشعشات بازتابشی از نمونه، در دمای محیط و در محدوده زاویه 2θ از ۵° تا ۴۰° و سرعت روبش ۱°/min اندازه‌گیری شد.

میکروسکوپ روبش الکترونی نشر میدانی (FE-SEM)

مورفولوژی سطحی فیلم‌های SPI با استفاده از FE-SEM بررسی شد (ZEISS, SIGMA, Germany). نمونه‌های فیلم در ابعاد ۵×۵ میلی متر مربع روی یک نگهدارنده‌ی آلومنیومی قرار گرفتند تا با آلیاژ طلا/پلادیوم در دستگاه اسپری‌کننده‌ی پوشش‌دهنده Hummer IV پوشش داده شوند. ولتاژ شتاب‌دهنده اعمال‌شده ۱۵ kV بود.

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

برای اندازه گیری WVP، از روش ASTM E96-05 (۲۰۰۵) استفاده شد. برای این کار ویال‌های مخصوصی به قطر ۲ سانتی متر و ارتفاع ۴/۵ سانتی متر به کار رفتند. در درپوش این ویال‌ها منفذی به قطر ۸ میلی متر قرار دارد که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار می‌گیرد. ۳ گرم سولفات کلسیم که رطوبت نسبی صفر درصد ایجاد می‌کند در داخل ویال‌ها ریخته شد. سپس قطعه‌ای از فیلم‌ها بریده شده و در درپوش ویال قرار گرفته و بر روی ویال بسته شد. ویال‌ها همراه با محتویاتشان توزین شده و درون دسیکاتوری حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (ایجاد کننده رطوبت نسبی ۹۷ درصد) قرار گرفتند. دسیکاتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و به مدت چهار روز هر چند ساعت یکبار وزن ویال‌ها اندازه گیری شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ویال‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر ویال به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب[۱](WVTR) به دست آمد. سپس با استفاده از رابطه زیر، WVP محاسبه شد:

(۱)

$$WVP = \left[\frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)}\right] \times X$$

X ضخامت فیلم (متر)، P فشار بخار آب در ۲۵ درجه سانتی گراد (پاسکال)، R_1 رطوبت نسبی داخل دسیکاتور (۹۷ درصد) و R_2 رطوبت نسبی داخل ویال (صفر درصد) می‌باشد. این آزمون درمورد هرکدام از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

خواص مکانیکی

استحکام کششی نهایی (UTS)، کرنش تا نقطه شکست (ETB) و مدول یانگ (YM) هرکدام از نمونه‌های فیلم طبق روش آزمون استاندارد ASTM D-882-10 (2010) به وسیله دستگاه Universal Testing Machine (Model H100K-S, England) و مطابق با روابط ۳، ۴ و ۵ اندازه‌گیری شد. سه نمونه از هرکدام از فیلم‌ها به شکل دمبل با ابعاد ۱ × ۸ سانتی متر مربع بریده شد و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب برابر ۵۰ میلی متر و ۵۰ میلی متر بر دقیقه در دمای اتاق بود.

$$UTS = \frac{F_{max}}{A} \quad (۳)$$

$$ETB = \frac{L_{max}}{L_0} \times 100 \quad (۴)$$

$$YM = \frac{FL_0}{A\Delta L} \quad (۵)$$

F_{max} حداکثر نیرو (نیوتن)، A مساحت مقطع عرضی فیلم (متر مربع)، L_{max} میزان کشش در نقطه شکست (متر)،

۱. Water vapor transmission rate

L_0 طول اولیه (متر)، نیرو (نیوتن) و ΔL میزان تغییرات طول (متر) است.

قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد فیلم‌ها

فعالیت آنتی اکسیدانی فیلمها با استفاده از روش تعیین قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH به روش سوخته زاری و همکاران (۲۰۱۷) مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمون ۰/۰۲۵ گرم از هر فیلم در ٤ میلی لیتر آب مقطر حل شده و به‌مدت ٥ دقیقه تکان داده شد. سپس محلول حاصل با ۱ میلی لیتر از محلول DPPH یک میلی مولار ترکیب شده و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٥١٧ نانومتر خوانده شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد طبق فرمول زیر محاسبه شد:

(۲)

$$DPPH\ scavenging\ activity\ (\%) = \frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} 100$$

$Abs_{control}$ میزان جذب نمونه‌ی متانولی DPPH و Abs_{sample} میزان جذب نمونه در طول موج ٥١٧ نانومتر می‌باشد. این آزمون در مورد هرکدام از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

تأثیر فیلم‌های فعال بر روی پایداری اکسیداتیو روغن سویا

به منظور تعیین کارایی فیلم‌های فعال تهیه شده، روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی اکسیدان از کارخانجات روغن مایع آذران پیه (روغن ماهک، آذرشهر، تبریز، ایران) تهیه گردید. مقدار ۱۰ میلی لیتر روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی اکسیدانِ افزوده شده، درون یک ویال شیشه‌ای شفاف به حجم ۱۰ میلی لیتر منتقل شده و ٤ سانتی متر مربع از فیلم‌های فعال، بریده شده و درون روغن غوطه‌ور گردید. درب ویال به‌صورت درزبندی شده سفت گردید و به مدت دو ماه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و در معرض نور طبیعی محیط قرار داده شد. در طول دو ماه نگهداری، هر بیست روز یکبار سه عدد از هر کدام از ویال‌ها برداشته شده و پایداری اکسیداتیو روغن درون آن با تعیین قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد و اندازه‌گیری عدد پراکسید[۱] (PV)، مورد بررسی قرار گرفت. به منظور مطالعه‌ی دقیق‌تر تأثیر آنتی اکسیدان مهاجرت کرده در طول دو ماه و مقایسه‌ی آن با روغن مایع معمولی موجود در بازار، دو نمونه‌ی شاهد نیز در نظر گرفته شد: روغن سویای تصفیه شده‌ی حاوی ۰/۰۱ درصد TBHQ (روغن معمولی) و روغن سویای تصفیه شده‌ی فاقد TBHQ که به ترتیب Cont1 و Cont2 نامگذاری شدند و درون ویال‌ها ریخته شده و هر بیست روز مشابه نمونه‌ی روغن در تماس با فیلم فعال، مورد آزمون قرار گرفتند.

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی روغن

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های روغن، با استفاده از روش تعیین قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت (الماسی و همکاران ۲۰١٤). یک میلی لیتر از نمونه‌های روغن در هر بازه زمانی، با دو میلی لیتر متانول مخلوط گردید و پس از ۲ دقیقه ورتکس کردن، به مدت ۳۰ دقیقه در rpm ٦۰۰۰ سانتریفوژ شد و محلول رویی برای تعیین قدرت مهارکنندگی DPPH مورد استفاده قرار گرفت. تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی محلول متانولی روغن مشابه روش انجام شده روی محلول فیلم‌ها و مطابق با رابطه ۱ انجام شد.

اندازه گیری عدد پراکسید (PV)

عدد پراکسید نمونه‌های روغن طبق روش AOAC (AOAC، ۱۹۹۰) به شماره ۹۹۱/۲۰ و براساس اندازه گیری میزان ید تولید شده در اثر واکنش با پراکسیدها محاسبه گردید.

تحلیل آماری

تمامی آزمون‌های شیمیایی در سه مرتبه انجام شد.

۱. Peroxide value

تجزیه و تحلیل آماری در قالب طرح کاملا تصادفی، با استفاده از روش تحلیل واریانس (ANOVA) در نرم‌افزار SPSS 21 (Version 23, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام‌شد. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p<0.05$) نیز برای تایید وجود اختلاف بین میانگین خواص فیلم‌ها استفاده‌شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel (Office 2013) استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شدند.

نتایج و بحث

خصوصیات شیمیایی ایزوله‌ی پروتئین و عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد

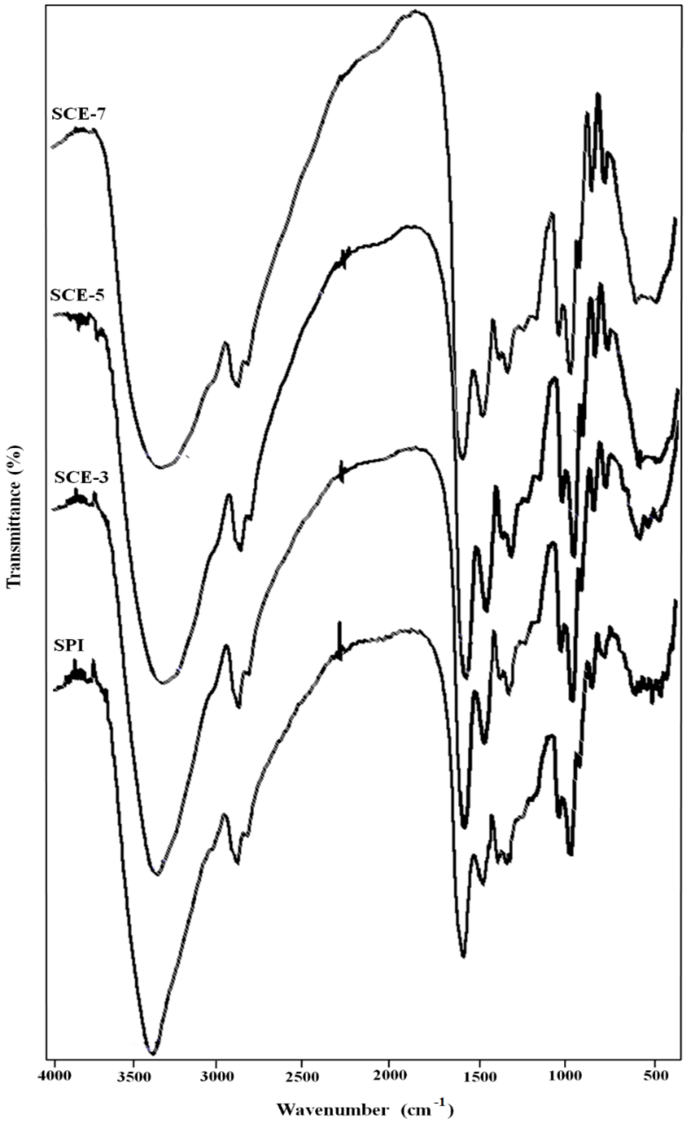
ترکیبات فنولی به عنوان متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهان، عموماً مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی هستند. براساس مقادیر جذب پس از واکنش با معرف فولین سیوکالتو، محتوای فنول کل SCE برابر ٦٤/۰۳±۳/۰ میلی گرم بر گرم برمبنای اسید گالیک بدست آمد. این مقدار، مشابه نتیجه‌ی سارکیس و همکاران (۲۰۱٤) بود که محتوای فنول کل عصاره‌ی اتانولی ۷۰ درصد کنجاله‌ی کنجد را برابر ۳/۵۵ میلی گرم بر گرم گزارش نمودند. این درحالی است که مهدالی و همکاران (۲۰۰۹) مقدار ۰/۵۵ میلی گرم بر گرم (برمبنای اسید گالیک) و سوجا و همکاران (۲۰۰۵) مقدار ٥/۷٤ میلی گرم بر گرم (برمبنای اسید گالیک) را برای محتوای فنول کل عصاره‌ی اتانولی کنجاله‌ی کنجد گزارش نمودند. این مقادیر متفاوت نشان می‌دهد که نوع، واریته گیاه، شرایط رشد آن و همچنین تفاوت در شرایط استخراج عصاره مانند میزان تغلیظ آن از جمله عواملی هستند که بر میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های گیاهی موثر می‌باشند.

آنالیز ترکیبات شیمیایی SPI نیز نشان داد که ٨٦/٣٣ درصد از ماده‌ی استخراج شده را پروتئین تشکیل می‌دهد. سایر ترکیبات شیمیایی SPI خشک شده به روش انجمادی عبارت بودند از رطوبت ٦/٨٦ درصد، خاکستر ۳/۳۲ درصد، چربی ۱/۸۳ درصد و فیبر خام ١/٦٦ درصد. همان طور که مشاهده می‌شود میزان پروتئین SPI تولید شده، بالا و نزدیک ۹۰/۵ درصد گزارش شده توسط شارما و سینگ (۲۰۱٦) می‌باشد. به طور کلی، میزان پروتئین در SPI تولید شده، بالاتر از ۸۰ درصد بود و بنابراین بکار بردن اصطلاح «ایزوله» در مورد آن کاملاً درست می‌باشد (هوتون و کمپبل ۱۹۷۷). این میزان بالای پروتئین امکان تولید فیلم زیست تخریب پذیر از SPI را فراهم می‌سازد.

آزمون FT-IR

شکل ۱ الگوهای FT-IR فیلم‌های SPI را نشان می‌دهد. تمام فیلم‌های SPI چند پیک جذب خاص را نشان دادند که شامل این موارد بود: ۱) پیک‌ها در محدوده‌ی cm^{-1} ۵۰۰–۷۵۰ مربوط به پیوندهای جذبی C-O در گلیسرول؛ ۲) پیک‌ها در محدوده‌ی cm^{-1} ۸۰۰–۱۰۰۰ مربوط به پیوندهای کششی N-H و C-N (آمید نوع III)؛ ۳) پیک‌های cm^{-1} ١٦٥٠–١١٠٠ مربوط به گروه‌های خمشی N-H (آمید نوع II)؛ ٤) یک پیک تیز و تند در محدوده‌ی cm^{-1} ۲۸۰۰–۲۹۰۰ مربوط به پیوند کششی C-H و ٥) پیک در محدوده‌ی cm^{-1} ۳۱۰۰–۳۷۰۰ که مربوط به گروه‌های آزاد O-H و N-H روی رشته‌های پروتئین‌هاست (شارما و سینگ ۲۰۱٦). پس از اضافه کردن SCE، تغییراتی در طیف فیلم SPI به وجود آمد. پیک مربوط به گروه C-H در cm^{-1} ۲۸۹۰ و نیز پیک مربوط به پیوندهای کششی N-H و C-N در cm^{-1} ۹۹۲ در فیلم خالص SPI، با افزودن SCE به عدد موجی پایین‌تر (به ترتیب ۲۸۰۵ و cm^{-1} ۸۷۱) انتقال یافتند. اصلی‌ترین تغییر ایجاد شده، کاهش شدت پیک مربوط به گروه‌های O-H و N-H آزاد در محدوده‌ی cm^{-1} ۳۱۰۰–۳۷۰۰ بود. همان طور که مشاهده می‌شود، با افزایش میزان SCE، میزان کاهش شدت این پیک جذبی افزایش می‌یابد. این تغییرات مهم، تشکیل پیوندهای جدید بین زنجیره‌های پروتئین و ترکیبات فنولی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد را تایید می‌کند و نشان می‌دهد

که گروه‌های N-H و O-H می‌توانند نقش مهمی در ایجاد این فعل و انفعالات داشته باشد. براساس نتایج آزمون FT-IR برقراری برهمکنش‌های شیمیایی از نوع هیدروژنی بین رشته‌های پروتئین و ترکیبات فنولی عصاره‌ی کنجد تأیید شد. در خصوص افزودن عصاره‌ی آویشن به فیلم پروتئینی ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است (قلیزاده قلعه عزیز و الماسی، ۲۰۱۸).



شکل ۱- طیف نگاره‌های FT-IR فیلم خالص ایزوله پروتئین کنجد (SPI) و فیلم‌های فعال حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد در غلظت ۳ درصد (SCE-3)، ۵ درصد (SCE-5) و ۷ درصد (SCE-7)

Figure 1- FT-IR spectra of pure sesame protein isolate film (SPI) and active films containing sesame cake extract at concentrations of 3% (SCE-3), 5% (SCE-5) and 7% (SCE-7)

آزمون پراش پرتو X (XRD)

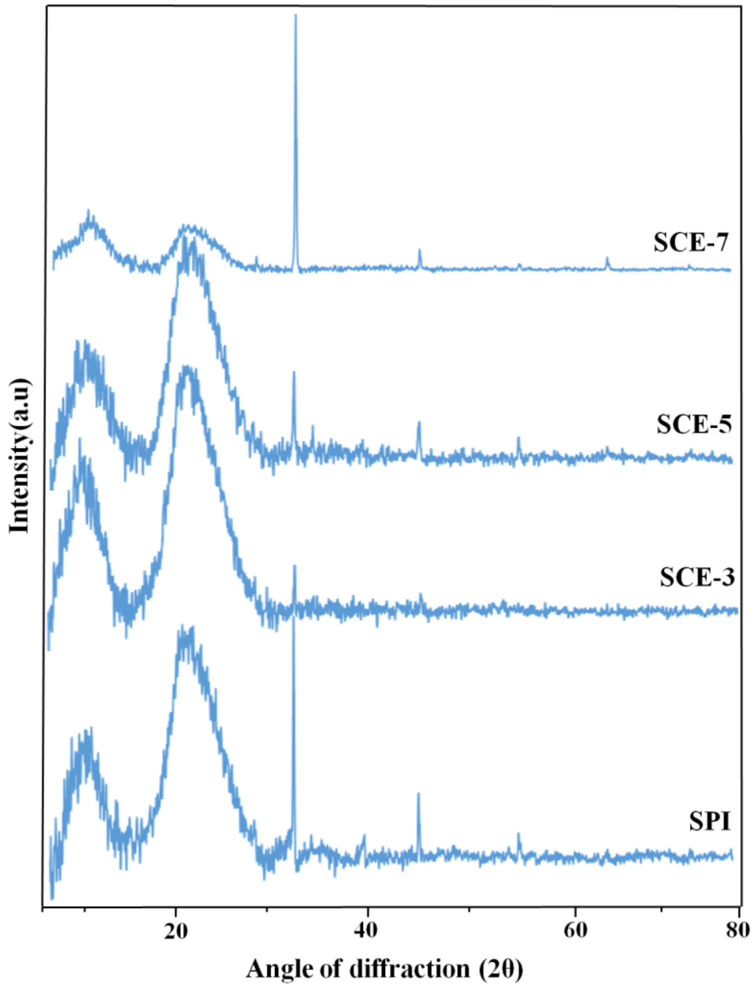
نتایج آزمون XRD فیلم‌های فعال در شکل ۲ نشان داده شده است. فیلم شاهد SPI چهار پیک اختصاصی را در 2θ برابر ۹/۹°، ۲۲/۳°، ۳۲/۲° و ٤۳/۱° نشان داد. این نشان می‌دهد که فیلم SPI درجه‌ی بلورینگی نسبتاً خوبی دارد و می‌تواند یک بیوپلیمر نیمه‌کریستالی به حساب آید. این در حالی است که شارما و سینگ (۲۰۱٦) یک بازتابش بلورین اصلی را در ۲۰ ° برای فیلم

SPI گزارش کردند. لی و همکاران (۲۰۱٤) نیز یک پیک پراش را در °۱۰ برای فیلم کامپوزیت پروتئین کنجد و نانورس در سطح ۱ درصد مشاهده کردند. هرچند که این اختلاف می‌تواند به خاطر تفاوت در نوع دستگاه XRD مورد استفاده باشد، اما می‌تواند نشان دهندهٔ این باشد که پتانسیل تشکیل فیلم SPI و ساختار مورفولوژیکی فیلم‌های حاصله بستگی به خلوص پروتئین و شرایط تشکیل فیلم از جمله غلظت ماده خشک، دمای محلول و میزان نرم کننده نیز بستگی دارد (فتحی و همکاران ۲۰۱۹؛ ۲۰۱۸).

با افزودن SCE در سطح ۳ درصد تقریباً تغییر مشهودی در شدت پیک‌های پراش فیلم SPI در °۹/۹ و °۲۲/۳ ایجاد نشد اما شدت پیک‌های تیز در محدودهٔ °۳۲/۲ و °٤۳/۱ به طور قابل توجهی کاهش یافتند. زمانی که میزان عصاره به ٥ درصد رسید، از ارتفاع پیک‌های اول کاسته شد و پیک‌های تیز °۳۲/۲ و °٤۳/۱ کاملاً ناپدید شدند. در فیلم حاوی ۷ درصد SCE، کمترین شدت پیک‌های بلورین در °۹/۹ و °۲۲/۳ مشاهده گردید و پیک °٤۳/۱ نیز به صورت جزئی مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که با افزودن عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد هرچند که اتصالات شیمیایی بین ترکیبات عصاره و رشته‌های پروتئین برقرار می‌شود اما این ترکیبات فنولی مانند نرم کننده‌ی داخلی عمل کرده و با کاهش انسجام و فشردگی بین رشته‌های بیوپلیمر، درجه بلورینگی فیلم را کاهش می‌دهند. در خصوص افزودن عصاره گیاه تشنه داری به فیلم سلولز باکتریایی (سوخته زاری و همکاران ۲۰۱۷) و افزودن عصاره آویشن به فیلم WPI (قلیزاده قلعه عزیز و الماسی ۲۰۱۸) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است.

آزمون میکروسکوپ الکترونی FE-SEM

مورفولوژی سطحی فیلم‌ها توسط آزمون FE-SEM مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در شکل ۳ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود فیلم خالص SPI سطحی نسبتاً زبر و ناهموار داشت. در بزرگنمایی بیشتر نیز رشته‌های پروتئینی به صورت تجمع یافته و توده شده مشاهده می‌شوند. اما زمانی‌که SCE به ترکیب فیلم اضافه می‌شود، زبری کاهش یافته و توده شدن فیبریل‌های پروتئینی نیز کمتر می‌شود. این اثر در غلظت ۳ و ٥ درصد SCE بیشتر مشهود است و رشته‌های فیبریلی SPI به راحتی قابل تشخیص هستند. اما زمانی‌که میزان SCE به ۷ درصد می‌رسد نه تنها زبری سطحی مشابه فیلم خالص SPI می‌شود، بلکه توده شدن افزایش یافته و کاهش حالت فیبریلی مجزا بین رشته‌ها مشاهده می‌شود و در این نمونه، رشته‌های فیبریلی منظم پروتئینی تقریباً قابل تشخیص نیستند. این مشاهده با نتایج آزمون XRD همخوانی دارد. درواقع با افزایش میزان SCE و نفوذ ترکیبات فنولی به داخل فضای بین رشته‌ای، نظم بین رشته‌های پروتئینی کاهش می‌یابد و با کاهش میزان بلورینگی، آرایش منظم زنجیرها نیز به هم می‌ریزد که این امر در شکل ۳ و نمونه SCE-7 کاملاً مشهود است. در مورد تأثیر افزودن غلظت‌های بالای نانوذرات TiO_2 بر روی مورفولوژی فیلم SPI نیز نتایج مشابهی گزارش شده است (فتحی و همکاران ۲۰۱۹).

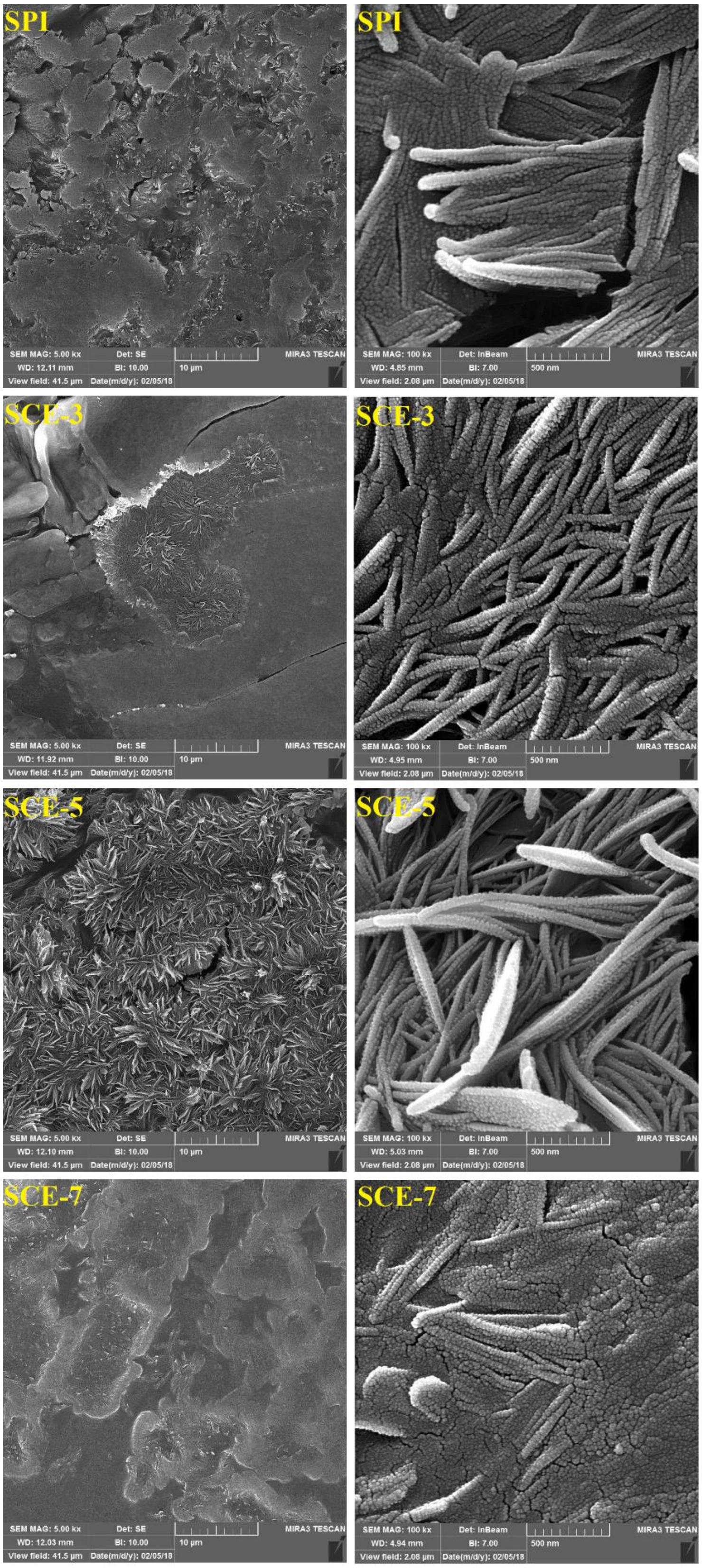


شکل ۲- الگوهای پراش اشعه X فیلم خالص ایزوله پروتئین کنجد (SPI) و فیلم‌های فعال حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد در غلظت ۳ درصد (SCE-3)، ۵ درصد (SCE-5) و ۷ درصد (SCE-7)

Figure 2- XRD patterns of pure sesame protein isolate film (SPI) and active films containing sesame cake extract at concentrations of 3% (SCE-3), 5% (SCE-5) and 7% (SCE-7)

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

مقادیر WVP فیلم‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، مقادیر WVP فیلم SPI با افزودن عصاره‌ی کنجاله در غلظت ۳ درصد به طور معنی داری کاهش یافت (p<۰/۰۵) که دلیل آن امکان برقراری اتصالات شیمیایی و تشکیل شبکه منظم در ماتریکس فیلم بود. اما زمانی‌که میزان SCE به ۵ و ۷ درصد افزایش یافت، WVP مجدداً رو به افزایش گذاشت و فیلم حاوی ۷ درصد عصاره بیشترین میزان WVP را نشان داد. دلیل این امر، نقش عصاره در کاهش پیوستگی ماتریکس فیلم و کاهش نظم بین رشته‌ای در غلظت‌های بالاتر عصاره است. در واقع افزایش میزان ترکیبات فنولی در ماتریکس فیلم، با به هم ریختن آرایش منظم بین رشته‌های فیبریلی بیوپلیمر، نظم شبکه را کاهش داده و درنتیجه به نفوذ راحت‌تر مولکول‌های آب کمک می‌کند. نتایج آزمون FE-SEM و XRD نیز تغییر خصوصیات ساختاری فیلم SPI در غلظت‌های بالاتر عصاره‌ی کنجاله را اثبات نمودند. در مورد تأثیر عصاره‌ی گیاه تشنه داری بر فیلم سلولز باکتریایی (سوخته زاری و همکاران ۲۰۱۷) و تأثیر اسانس گیاه بیزه بر فیلم WPI (قادرتاج و همکاران ۲۰۱۸) نتایج مشابهی در مورد تغییرات WVP گزارش شده است.



شکل ۳- تصاویر FE-SEM از سطح فیلم خالص ایزوله پروتئین کنجد (SPI) و فیلم‌های فعال حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد در غلظت ۳ درصد (SCE-3)، ۵ درصد (SCE-5) و ۷ درصد (SCE-7)

Figure 3- FE-SEM images of surface of pure sesame protein isolate film (SPI) and active films containing sesame cake extract at concentrations of 3% (SCE-3), 5% (SCE-5) and 7% (SCE-7).

خواص مکانیکی

مقادیر UTS، ETB و YM فیلم‌های فعال در جدول ۱ نشان داده شده است. افزودن عصاره در غلظت ۳ و ۵ درصد باعث کاهش استحکام کششی فیلم‌ها شد. YM در فیلم حاوی ۳ درصد SCE بیشتر از فیلم خالص SPI بود. در نمونه‌ی SCE-5 نیز هرچند که YM از فیلم خالص بیشتر بود، اما در مقایسه با فیلم SCE-3 کاهش معنی داری نشان داد (p<۰/۰۵). این کاهش استحکام کششی با افزایش میزان SCE ادامه یافت و میزان YM برای فیلم SCE-7 اختلاف غیرمعنی دار با فیلم شاهد SPI نشان داد (p>۰/۰۵). تغییر مقادیر UTS نیز تقریباً روند مشابهی داشت و فیلم SEE-5 بیشترین مقادیر UTS را نشان داد و استحکام کششی در غلظت بالاتر عصاره کمتر شد. میزان انعطاف پذیری فیلم نیز که با شاخص ETB نشان داده می‌شود، روند معکوسی داشت. به نحوی که در فیلم حاوی ۳ درصد عصاره، میزان کشش پذیری به طور معنی داری کاهش یافت (p<۰/۰۵) اما با افزایش غلظت به ۵ و ۷ درصد، مجدداً مقادیر ETB رو به افزایش گذاشت.

بطور کلی نتایج آزمون مکانیکی نشان داد که تأثیر عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد بر استحکام کششی فیلم پروتئین کنجد به غلظت آن بستگی دارد. در غلظت‌های پایین SCE، ترکیبات فنولی قادرند مانند اتصال دهنده‌های عرضی عمل نموده و مقاومت مکانیکی را افزایش و انعطاف پذیری را کاهش دهند. اما با افزایش غلظت عصاره، افزایش مقادیر ETB و کاهش UTS و YM نشان می‌دهد که عصاره بدلیل ایفای نقش نرم کنندگی و دخالت در ایجاد برهمکنش‌های کافی بین رشته‌های پروتئینی باعث تضعیف خواص مکانیکی فیلم می‌شود. در تأیید این نتایج، افزودن عصاره‌ی هسته انگور به فیلم کیتوزان نیز باعث کاهش استحکام کششی و افزایش کرنش در نقطه شکست شد (مرادی و همکاران، ۱۳۹۱).

جدول ۱- نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) ، مدول یانگ (YM)، استحکام کششی نهایی (UTS)، ازدیاد طول تا نقطه شکست (ETB) و فعالیت آنتی اکسیدانی (AA) فیلم خالص ایزوله پروتئین کنجد (SPI) و فیلم‌های فعال حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد در غلظت ۳ درصد (SCE-3)، ۵ درصد (SCE-5) و ۷ درصد (SCE-7)

Table 1- Water vapor permeability (WVP), Young's modulus (YM), ultimate tensile strength (UTS), elongation to break (ETB) and antioxidant activity (AA) of pure sesame protein isolate film (SPI) and active films containing sesame cake extract at concentrations of 3% (SCE-3), 5% (SCE-5) and 7% (SCE-7).

Film sample	WVP ($\times 10^{-7}$ g/m/h.Pa)	YM (MPa)	UTS (MPa)	ETB (%)	AA (%)
SPI	23.11±1.12^{b}	504.45±12.21^{a}	2.66±0.54^{a}	10.68±1.09^{ab}	21.21±1.21^{a}
SCE-3	19.43±0.98^{a}	766.51±9.00^{c}	3.44±0.11^{b}	8.85±0.87^{a}	58.32±1.87^{b}
SCE-5	20.65±1.00^{a}	654.11±13.87^{b}	4.42±0.20^{c}	12.35±0.55^{b}	63.34±2.43^{b}
SCE-7	24.50±0.80^{b}	536.42±7.19^{a}	3.65±1.03^{b}	14.84±0.30^{c}	79.43±1.99^{c}

Different subscripts in a same column represent significant difference at level of 5% ($p<0.05$).

فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی مهمترین خصوصیت عملکردی است که از بسته بندی فعال محصولات غذایی چرب مانند روغن‌های خوراکی انتظار می‌رود. نتایج آزمون قدرت مهارکنندگی DPPH بر روی فیلم‌های فعال SPI در جدول ۱ نشان داده شده است. فیلم خالص SPI کمترین قدرت آنتی اکسیدانی در حد ۲۱/۲۱ درصد را نشان داد. این میزان خاصیت آنتی اکسیدانی احتمالاً به دلیل حضور گروه‌های جانبی فنولی در اسیدهای آمینه و همچنین وجود گروه‌های آمین در ساختمان پروتئین کنجد می‌باشد (کانو-مدینا و همکاران ۲۰۱۱). چنین فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیف برای سایر پروتئین‌های

گیاهی نیز گزارش شده است (قادرتاج و همکاران ۲۰۱۸). با افزودن SCE فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنی داری افزایش یافت و در بیشترین غلظت SCE، این فعالیت به بالاترین حد خود رسید (۷۹/۴۳ درصد). سزامول به عنوان موثرترین ترکیب آنتی اکسیدانی موجود در کنجد بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در این گیاه نشان می‌دهد و حضور این ترکیب در عصاره‌ی کنجاله به همراه سایر مشتقات فنولی مانند سزامین، سزامولین، کوماریک اسید، فرولیک اسید و کوئینیک اسید باعث ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی قابل قبول در فیلم‌های فعال SPI می‌شوند. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی اتانولی کنجاله‌ی کنجد پیش از این، مورد تأیید قرار گرفته و به ترکیبات نام برده شده نسبت داده شده است (شاهین و همکاران ۲۰۱۳؛ بن اوتهمن و همکاران ۲۰۱۵). در مورد فیلم نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی عصاره‌ی پوست بادام (صفدری و همکاران ۲۰۱۳) و فیلم کیتوزان حاوی عصاره‌ی هسته انگور (مرادی و همکاران، ۱۳۹۱) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است.

یک نکته‌ی مهم در مورد روند تغییر فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های SPI این است که در فیلم حاوی ۳ و ۵ درصد SCE، با وجود افزایش غلظت عصاره، خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش معنی داری نداشته است ($p>0/05$) اما در غلظت ۷ درصد، این ویژگی به یکباره ۲۵ درصد نسبت به فیلم حاوی ۵ درصد عصاره افزایش یافته است. افزایش میزان ترکیبات فنولی فیلم در غلظت ۷ درصد دلیل این افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی در بالاترین غلظت عصاره است. همچنین دلیل دیگر این این پدیده احتمالاً این است که در غلظت‌های کم SCE همان طور که ذکر شد، اثر نرم کنندگی عصاره کمتر است و بنابراین تورم فیلم در داخل محلول آزمون DPPH و درنتیجه نشت ترکیبات فنولی کمتر اتفاق می‌افتد. اما زمانی‌که میزان SCE به ۷ درصد افزایش می‌یابد، با کاهش انسجام بین رشته‌ای و کاهش بلورینگی فیلم، فضاهای آزاد بین مولکولی بیشتر شده و نفوذ حلال و انتشار ترکیبات فنولی بیشتر می‌شود. این نتیجه نشان می‌دهد که مورفولوژی و خصوصیات ساختاری فیلم فعال، همچنین خصوصیات ماده غذایی و محیط اطراف مخصوصاً از نظر میزان رطوبت، نقش مهمی در سرعت آزاد شدن ترکیبات فعال و ایفای نقش آنتی اکسیدانی فیلم دارد. سوخته زاری و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده کردند که ترکیب عصاره‌ی گیاه تشنه داری با بتاسیکلودکسترین، خروج این ترکیب از فیلم سلولز باکتریایی را کمتر کرده و خاصیت آنتی اکسیدانی فیلم در این حالت کاهش می‌یابد. رنجبریان و همکاران (۲۰۱۹) نیز در مورد تأثیر نانوفیبر سلولز در کاهش انتشار اسانس دارچین از فیلم کازئینات سدیم به نتایج مشابهی دست یافتند.

تأثیر فیلم‌های فعال روی پارامترهای اکسیداتیو روغن سویا

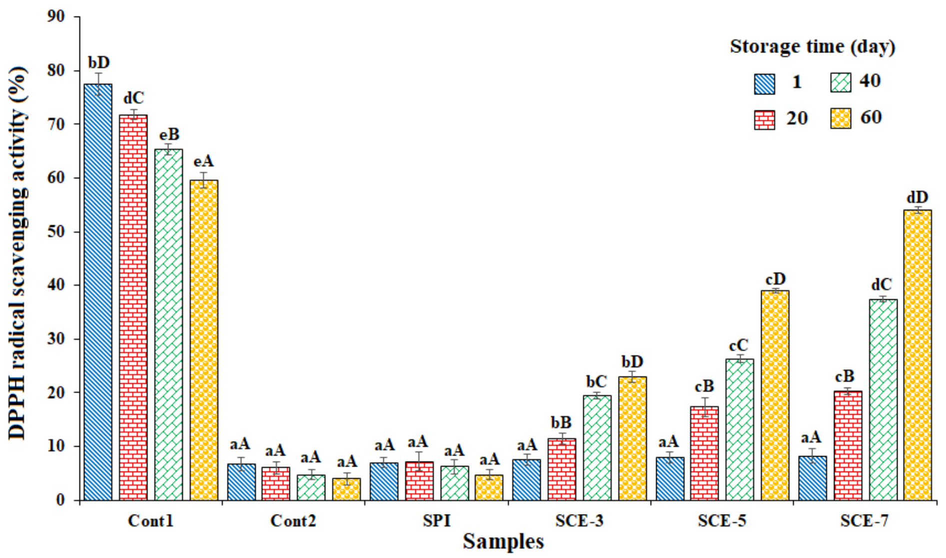
قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی روغن سویا از روش مبتنی بر کاهش رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. شکل ٤، فعالیت احیاکنندگی روغن سویای حاوی TBHQ ۱۰۰ppm (Cont1)، روغن سویای بدون آنتی اکسیدان (Cont2) و نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال را طی ٦٠ روز نگهداری در ۲۵ درجه سانتی گراد نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود نمونه‌ی شاهد فاقد آنتی اکسیدان سنتزی (Cont2) مقادیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که دلیل آن باقی ماندن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر توکوفرول‌ها در روغن سویای تصفیه شده است (الماسی و همکاران، ۲۰۱٤).

نمونه حاوی TBHQ (Cont1) بیشترین میزان فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد را نشان داد (۷۷/٤۰ درصد) و در طول زمان نگهداری نیز بیشترین میزان فعالیت را حفظ کرد. این نتایج بطور آشکاری اشاره بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی TBHQ در این غلظت دارد.

فیلم خالص SPI نیز با توجه به اینکه خاصیت آنتی اکسیدانی کمی داشت، فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد کمی نیز در طول ٦٠ روز تماس با روغن سویا نشان داد و از این نظر تفاوت معنی داری با روغن بدون آنتی اکسیدان نداشت. اما زمانی‌که از فیلم‌های فعال در تماس با روغن سویا استفاده شد نتایج متفاوت بود. با افزایش غلظت SCE فعالیت آنتی اکسیدانی روغن نیز افزایش پیدا کرد و مخصوصاً در زمان‌های نگهداری ٤٠ و ٦٠ روز، اختلاف بین نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال معنی‌دار بود (p<۰/۰۵).

همان طور که در شکل ٤ مشخص است، قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد روغن‌های در تماس با فیلم‌های فعال با افزایش زمان نگهداری بطور معنی‌داری (p<۰/۰۵) افزایش می‌یابد. این افزایش قدرت مهار کنندگی، به مهاجرت آنتی اکسیدان از فیلم به داخل روغن مربوط می‌شود. با افزایش غلظت عصاره در فیلم، نرخ افزایش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد در روغن بیشتر شده و در نمونه روغن در تماس با فیلم حاوی ۷ درصد عصاره‌ی کنجاله، بیشترین شیب افزایش قدرت مهارکنندگی DPPH از روز اول تا روز شصتم مشاهده می‌شود. دلیل این پدیده را می‌توان افزایش گرادیان غلظت و در نتیجه افزایش ضریب انتشار آنتی اکسیدان در حضور غلظت‌های بالاتر عصاره دانست که باعث می‌شود رسیدن به حالت تعادلی دیرتر اتفاق بیافتد (فیاض دستگردی و همکاران، ۱۳۹۲).



شکل ۴- قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH نمونه‌های روغن سویای در تماس با فیلم خالص ایزوله پروتئین کنجد (SPI) و فیلم‌های فعال حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد در غلظت ۳ درصد (SCE-3)، ۵ درصد (SCE-5) و ۷ درصد (SCE-7).

Cont1نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان TBHQ و Cont2 نمونه روغن فاقد آنتی اکسیدان می‌باشد. حروف غیرمشابه کوچک نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها در هرزمان و حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌ها در هر تیمار می‌باشد.

Figure 4- DPPH scavenging potential of soybean oil samples in contact with pure sesame protein isolate film (SPI) and active films containing sesame cake extract at concentrations of 3% (SCE-3), 5% (SCE-5) and 7% (SCE-7).

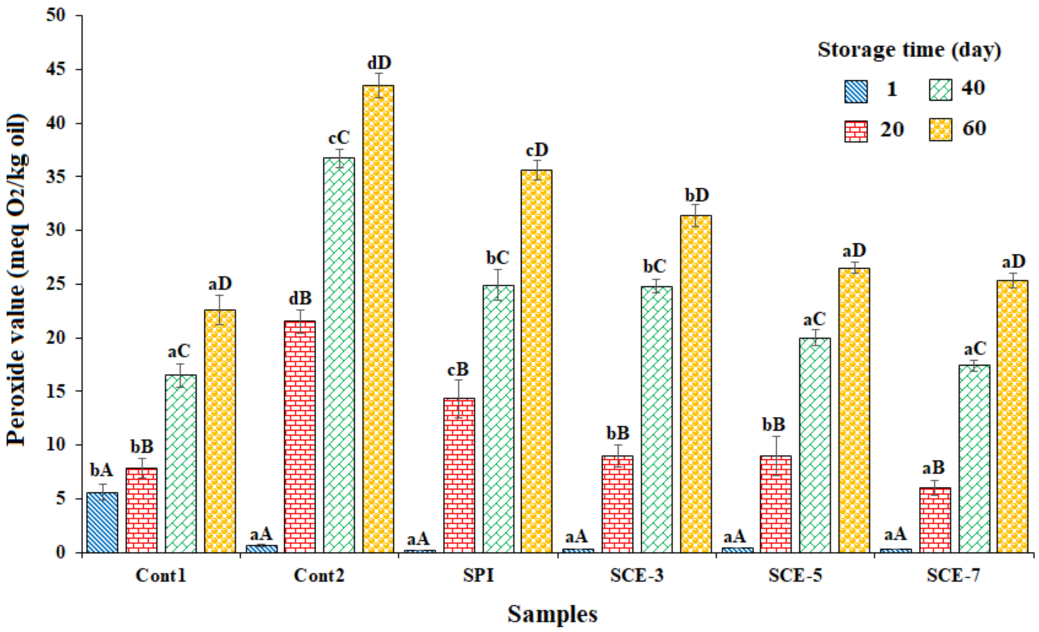
Cont1: the oil containing TBHQ antioxidant; Cont2: the oil without added antioxidant. Different lowercase letters show significantly different ($p<0.05$) between samples for each time and different uppercase letters show significantly different ($p<0.05$) between times for each sample.

نکته‌ی جالب توجه این است که میزان TBHQ در نمونه‌ی روغن معمولی ارائه شده به بازار (نمونه‌ی Cont1) با گذشت زمان به طور معنی‌داری ($p<0/05$) کاهش می‌یابد و احتمال فساد اکسیداتیو روغن افزایش می‌یابد درحالیکه در روغن‌های در تماس با فیلم‌های فعال، غلظت آنتی اکسیدان رفته رفته افزایش می‌یابد. درواقع، با گذشت زمان نگهداری، تازگی روغن سویا در بسته بندی معمولی کاهش می‌یابد اما در حالت استفاده از بسته بندی فعال این امر رخ نمی‌دهد و حتی فعالیت آنتی اکسیدانی روغن افزایش نیز می‌یابد. این یکی از مزایای بسته بندی‌های فعال است که می‌تواند تازگی و کیفیت ماده غذایی را در کل زمان نگهداری محصول حفظ نماید. الماسی (۱۳۹۵) نیز در مورد تأثیر فیلم نشاسته حاوی عصاره‌ی گزنه بر فعالیت آنتی اکسیدانی روغن سویا در طی ٦٠ روز نگهداری به نتایج مشابهی دست یافت.

عدد پراکسید (PV)

شاخص عدد پراکسید معرف میزان هیدروپراکسید به عنوان محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون روغن می‌باشد. شکل ۵ تأثیر استفاده از فیلم‌های فعال آنتی اکسیدانی را روی عدد پراکسید روغن سویا طی نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ٦٠ روز نشان می‌دهد. در روز اول نگهداری عدد پراکسید نمونه حاوی TBHQ (Cont1) به طور معنی داری بیشتر از نمونه‌های دیگر بود. دلیل این امر احتمالاً یک مرحله فرایند اضافی این روغن در کارخانه در هنگام افزودن آنتی اکسیدان بوده است که باعث تماس بیشتر با اکسیژن قبل از بسته بندی شده است (الماسی و همکاران، ٢٠١٤). اما در زمان‌های دیگر این نمونه کمترین عدد پراکسید را داشت و نمونه فاقد آنتی اکسیدان (Cont2) و نیز نمونه در تماس با فیلم خالص SPI بیشترین عدد پراکسید را نشان دادند.

همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، عدد پراکسید نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال نیز با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت. اما روند این افزایش کاملاً برعکس تغییر در قدرت مهارکنندگی DPPH بود و با افزایش میزان آنتی اکسیدان مهاجرت کرده به داخل روغن، شدت اکسیداسیون آن کاهش یافت. بطوریکه در روز ٤٠ و ٦٠، بدلیل حضور غلظت کافی آنتی اکسیدان، اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) در عدد پراکسید روغن در تماس با فیلم‌های فعال حاوی ۵ درصد و ۷ درصد SCE مشاهده نگردید. همچنین اختلاف عدد پراکسید این دو نمونه در روز چهلم و شصتم با نمونه Cont1 نیز غیرمعنی دار بود ($p>0/05$) که نشان دهنده‌ی کارایی قابل قبول فیلم فعال SPI-SCE در کنترل اکسیداسیون روغن می‌باشد و استفاده از این فیلم می‌تواند مانند افزودن مستقیم آنتی اکسیدان سنتزی، در کنترل فساد اکسیداتیو روغن سویا موثر باشد. در مورد تأثیر فیلم کیتوزان حاوی نانولیپوزوم عصاره گزنه بر عدد پراکسید روغن سویا (الماسی و همکاران ٢٠١٦) و فیلم ژلاتین حاوی نانوکمپلکس آنتوسیانین‌ها بر عدد پراکسید روغن زیتون (وانگ و همکاران ٢٠١٩) نتایج مشابهی گزارش شده است. نتایج تمام این پژوهش‌ها تأیید می‌کند که فیلم‌های فعال آنتی اکسیدانی قادرند همانند افزودن مستقیم آنتی اکسیدان‌های سنتزی به داخل روغن، در کنترل فساد اکسیداتیو روغن‌های خوراکی موثر باشند.



شکل ۵- عدد پراکسید نمونه‌های روغن سویای در تماس با فیلم خالص ایزوله پروتئین کنجد (SPI) و فیلم‌های فعال حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد در غلظت ۳ درصد (SCE-3)، ۵ درصد (SCE-5) و ۷ درصد (SCE-7)

Cont1نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان TBHQ و Cont2 نمونه روغن فاقد آنتی اکسیدان می‌باشد. حروف غیرمشابه کوچک نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها در هرزمان و حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌ها در هر تیمار می‌باشد.

Figure 5- Peroxide value of soybean oil samples in contact with pure sesame protein isolate film (SPI) and active films containing sesame cake extract at concentrations of 3% (SCE-3), 5% (SCE-5) and 7% (SCE-7)

Cont1: the oil containing TBHQ antioxidant; Cont2: the oil without added antioxidant. Different lowercase letters show significantly different ($p<0.05$) between samples for each time and different uppercase letters show significantly different ($p<0.05$) between times for each sample.

نتیجه گیری

طبق نتایج پژوهش حاضر، عصاره‌ی اتانولی کنجاله‌ی حاصل از روغن کشی کنجد فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی نشان داد. همچنین ایزوله‌ی پروتئین استخراج شده از کنجاله‌ی کنجد قابلیت فیلم سازی خوبی داشت و به عنوان فیلم فعال آنتی اکسیدانی حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد جهت افزایش ماندگاری روغن سویا مورد استفاده قرار گرفت. بررسی خصوصیات فیزیکی و ساختاری فیلم فعال SPI نشان داد که افزودن عصاره اتانولی تا غلظت ۵ درصد نه تنها تأثیری بر روی خواص فیزیکی و مورفولوژیکی فیلم ندارد بلکه با ایجاد اتصالات شیمیایی جدید بین ترکیبات فنولی عصاره و رشته‌های پروتئینی، حتی خواص بازدارندگی و مکانیکی فیلم تقویت می‌شود. اما استفاده از SCE در غلظت بالاتر از ۵ درصد باعث تضعیف خواص کاربردی فیلم SPI شد. فیلم فعال SPI-SCE از فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار بود و هنگامی‌که این فیلم‌های فعال در تماس با روغن سویا قرار گرفت، قدرت احیا کنندگی رادیکال آزاد و پایداری اکسیداتیو روغن، به مرور زمان و با مهاجرت عصاره افزایش یافته و در روز شصتم نگهداری، قابل مقایسه با نمونه روغن حاوی TBHQ بود. بطور کلی مشخص گردید که استفاده از فیلم فعال SPI حاوی عصاره‌ی کنجاله‌ی کنجد قادر است به اندازه افزودن مستقیم آنتی اکسیدان TBHQ در افزایش ماندگاری روغن موثر باشد. این پژوهش با ایجاد رویکرد جدید در استفاده از ضایعات حاصل از روغن کشی کنجد باعث می‌شود اهمیت کنجاله‌ی کنجد بیش از پیش شناخته شده و ارزش افزوده این ضایعات باارزش

صنایع غذایی به نحو بهتری معرفی شود.

منابع مورد استفاده

الماسی ه، ۱۳۹۵. مقایسه اثر افزودن مستقیم عصاره و استفاده از فیلم فعال آنتی اکسیدانی حاوی عصاره برگ‌های گزنه در پایداری اکسیداتیو روغن سویا، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ٢٦(٣)، ٤٢٧-٤١١.

دولت آبادی م، رفتنی امیری ز و اسماعیل زاده کناری ر، ١٣٩٦. ارزیابی خواص آنتی میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره پوست سبز گردوی منطقه هراز جریب در روغن سویای تصفیه شده، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ٢٧(٤)، ٣٥-٢٣.

سلمانیان ش، صادقی ماهونک ع، اعلمی م و قربانی م، ۱۳۹۲. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره میوه ولیک در پایدارسازی روغن سویا، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۳(۲)، ۲۰۹-۱۹۹.

سوخته‌زاری ش، الماسی ه،پیرسا س، زندی م و پیروزی فرد خ، ١٣٩٦. بررسی خصوصیات فیزیکی و آنتی اکسیدانی فیلم فعال سلولز باکتریایی حاوی عصاره گیاه تشنه داری (*Scrophularia striata*)، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ٢٧(٢)، ٦٢-٥١.

فیاض دستگردی گ، گلی الف و کدیور م، ۱۳۹۲. تأثیر بسته بندی پلی‌مری حاوی آنتی اکسیدان بر پایداری روغن سویا، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۳(۲)، ۳۹۱-۳۸۱.

قنبرزاده ب، الماسی ه و زاهدی ی، ۱۳۸۸. بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیروخوراکی در بسته بندی موادغذایی. انتشارات دانشگاه صنعتی امیرکبیر. چاپ اول، صفحات١٤-١٠.

قنبرزاده ب، پزشکی نجف آبادی الف و الماسی ه، ۱۳۹۰. فیلم‌های خوراکی فعال در بسته بندی مواد غذایی، مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۳۱، ۱۳۵-۱۲۳.

مرادی م، تاجیک ح، رضوی روحانی م، ارومیه‌ای ع، ملکی نژاد ح و قاسم مهدی ه، ۱۳۹۱. تهیه و ارزیابی خصوصیات فیلم آنتی اکسیدان کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور، فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۱، ٥١-٤٢.

Abdelazim AA, Mahmoud A and Ramadan MF, 2013. Oxidative stability of vegetable oils as affected by sesame extracts during accelerated oxidative storage. Journal of Food Science and Technology 50: 868-878.

Alezandro MR, Lui MCY, Lajolo FM and Genovese MI, 2011. Commercial spices and industrial ingredients: evaluation of antioxidant capacity and flavonoids content for functional foods development. Ciência e Tecnologia de Alimentos 31: 527-533.

Almasi H, Ghanbarzadeh B, Dehghannya J, Entezami AA and Khosrowshahi Asl A, 2014. Development of a novel controlled-release nanocomposite based on poly (lactic acid) to increase the oxidative stability of soybean oil. Food Additives & Contaminants: Part A 31(9): 1586-1597.

Almasi H, Zandi M, Beigzadeh S, Haghju S and Mehrnow N, 2016. Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica Dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: II. Antioxidant activity and release properties. Journal of Microencapsulation 33(5): 449-459.

Association of Official Analytical Chemists AOAC, 1990. Peroxide value of oils and fats. Method 965.33. In: Williams S, editor. Official methods of analysis. Washington (DC): AOAC.

Association of Official Analytical Chemists AOAC, 1994. Official methods of AOAC international (18th ed.). Maryland, USA: AOAC 991.20.

ASTM (2005). Standard test methods for water vapor transmission of material. E96-05. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

Ben Othman S, Katsuno, N, Kanamaru, Y and Yabe T, 2015. Water-soluble extracts from defatted sesame seed flour show antioxidant activity in vitro. Food Chemistry 175: 306-314.

Bodoira R, Velez A, Andreatta AE, Martínez M and Maestri D, 2017. Extraction of bioactive compounds from sesame (*Sesamum indicum* L.) defatted seeds using water and ethanol under sub-critical conditions.

Food Chemistry 237: 114-120.

Cano-Medina A, Jiménez-Islas H, Dendooven L, Herrera RP, González-Alatorre G and Escamilla-Silva EM, 2011. Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. Food Research International 44: 684-692.

Esmaeilzadeh Kenari R, Mohsenzadeh F and Raftani Amiri Z, 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. Food Science & Nutrition 2(4): 426-435.

Fathi N, Almasi H and Pirouzifard MK, 2018. Effect of ultraviolet radiation on morphological and physicochemical properties of sesame protein isolate based edible films. Food Hydrocolloids 85: 136-143.

Fathi N, Almasi H and Pirouzifard MK, 2019. Sesame protein isolate based bionanocomposite films incorporated with TiO_2 nanoparticles: Study on morphological, physical and photocatalytic properties. Polymer Testing 77: 105919.

Ghadertaj A, Almasi H and Mehryar L, 2018. Development and characterization of whey protein isolate active films containing nanoemulsions of *Grammosciadium ptrocarpum* Bioss. essential oil. Food Packaging and Shelf Life 16: 31-40.

Gholizadeh-Ghaleh Aziz S and Almasi H, 2018. Physical characteristics, release properties, and antioxidant and antimicrobial activities of whey protein isolate films incorporated with thyme (*Thymus vulgaris* L.) extract-loaded nanoliposomes. Food and Bioprocess Technology 11: 1552-1565.

Hutton CW and Campbell AM, 1977. Functional properties of a soy concentrate and a soy isolate in simple systems. Nitrogen solubility index and water absorption. Journal of Food Science 42: 454-458.

Lee JH, Song NB, Jo WS and Song KB, 2014. Effects of nano-clay type and content on the physical properties of sesame seed meal protein composite films. International Journal of Food Science and Technology 49: 1869-1875.

Mohdaly AAA, Sarhan MA, Smetanska I and Mahmoud A, 2010. Antioxidant properties of various solvent extracts of potato peel, sugar beet pulp and sesame cake. J Sci Food Agric 90: 218-226.

Mohdaly AAA, Smetanska I, Ramadan MF, Sarhan MA and Mahmoud A, 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. Industrial Crops and Products 34: 952-959.

Nadeem M, Situ C, Mahmud A, Khalique A, Imran M, Rahman F and Khan S, 2014. Antioxidant activity of sesame (Sesamum indicum L.) cake extract for the stabilization of olein based butter. Journal of the American Oil Chemists' Society 91: 967-977.

Ranjbaryan S, Pourfathi B and Almasi H, 2019. Reinforcing and release controlling effect of cellulose nanofiber in sodium caseinate films activated by nanoemulsified cinnamon essential oil. Food Packaging and Shelf Life 21: 100341.

Safdari L, Dehghan, G and Hemmati A, 2013. Effect of silver nanoparticles and almond bark extract on the physical properties of biodegradable starch-PVA films. 1st international life science conference and 12th Iran biophysical chemistry conference. Tabriz, Iran, 22-24 May.

Sarkis JR, Michel I, Tessaro IC and Marczak LDF, 2014. Optimization of phenolics extraction from sesame seed cake. Separation and Purification Technology 122: 506-514.

Shahin S, Abdelillah E and Elhussein A, 2018. Assessment of sesame (*Sesamum indicum* L.) cake as a source of high-added value substances: from waste to health. Phytochemistry Reviews 17: 691-700.

Sharma L and Singh C, 2016. Sesame protein based edible films: Development and characterization. Food Hydrocolloids 61: 139-147.

Stoll L, da Silva AM, Iahnke EOS, Costa TMH, Flôres SH and Rios AO, 2017. Active biodegradable film with encapsulated anthocyanins: Effect on the quality attributes of extra-virgin olive oil during storage. Journal of Food Processing and Preservation 41(6): e13218.

Suja KP, Jayalekshmy A and Arumughan C, 2005. Antioxidant activity of sesame cake extract. Food Chemistry 91: 213-219.

Sukhtezari S, Almasi H, Pirsa S, Zandi M and Pirouzifard MK, 2017. Development of bacterial cellulose based slow-release active films byincorporation of *Scrophularia striata* Boiss. Extract. Carbohydrate Polymers 156: 340-350.

Wang S, Xia P, Wang S, Liang J, Sun Y, Yue P and Gao X, 2019. Packaging films formulated with gelatin and anthocyanins nanocomplexes: Physical properties, antioxidant activity and its application for olive oil protection. Food Hydrocolloids 96: 617-624.

Journal of Food Researches/vol.31 No.2 2021/pp 133-153
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir
DOI: 10.22034/FR.2021.39404.1734

Preparation of antioxidant active film based on sesame protein isolate containing ethanolic extract of sesame cake and studying its effect on oxidative stability of soybean oil

H Almasi[1*] and N Fathi[2]

Received: April 21, 2020 Accepted: August 23, 2020

[1]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[2] MSc Graduated, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[*]Corresponding author: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

Abstract

Introduction: Oxidation is one of the main factors affecting the shelf-life of food susceptible to lipid deterioration such as vegetable oils (Almasi et al., 2014). To reduce oxidation in sensitive food products, the direct addition of antioxidants to food formulation, dipping food in antioxidant solution and the design of a suitable vacuum or modified atmosphere packaging technology are the three most common alternatives. However, there are many foodstuffs that cannot be protected in these ways, as they are fresh or raw foodstuffs in which the addition of other substances is not permitted. One of the most promising systems to protect the foods against oxidation is to use an antioxidant active packaging. Antioxidant releasing packaging is a type of food preservation system, in which an antioxidant or a mixture of antioxidants is incorporated into the package instead of adding high levels of additives directly into the food. Most of synthetic antioxidants utilized in protection of vegetable oils, such as BHA, BHT and TBHQ have health hazards and for this reason, there is a growing interest in the using of natural antioxidant for shelf life extension of lipid based foods. Sesame (*Sesamum indicum* L.) is one of the important oilseeds cultivated in many tropical countries. Sesame seed cake is considered to be a by-product of the oil industry, being commonly used as cattle feed in several producing countries. However, this residue can be recovered and value added. Sesame cake extract (SCE) is a rich source of phenolic compounds such as sesamol, sesamin and sesamolin. This extract can be used as natural antioxidant in food formulation and also in preparation of antioxidant active films. Sesame cake also has protein content of about 30 %. Besides its high nutritional value, sesame protein can also be used as food additive. Foaming capacity, whippability, emulsifying activity and fat absorption capacity are some of the functional properties of sesame proteins (Cano-Medina et al., 2011). Sesame protein isolate (SPI) can be produced easily by isoelectric precipitation method. Because of inexpensive raw material (sesame oil extraction by-product), facile extraction process and interesting functional characteristics, sesame protein has become an attractive plant based protein with various applications. High molecular weight and good heat stability make SPI as a good candidate for film forming applications. There are some reports on film forming ability of SPI but the using of this protein for antioxidant active film preparation is not investigated up to now. The aim of this work was to fabricate the antioxidant active film based on sesame protein isolate containing ethanolic extract of sesame cake. The physical and morphological properties of films were investigated and also their effect on oxidative stability of soybean oil during 60 days storage was studied.

Materials and methods: The SCE was extracted by 70 % ethanol solvent and SPI was produced by alkaline method and followed by freeze drying. Antioxidant active films were prepared by addition of SCE in three levels of 3, 5 and 5 % w/w of SPI. Solvent casting method was used for preparation of films. The structural parameters of films were analyzed by FT-IR, XRD and FE-SEM tests. Water vapor permeability and mechanical properties were also studied. Antioxidant activity of films was examined by DPPH scavenging method. At the second step, the films were mounted in contact with antioxidant free soybean oil and the effect of SCE releasing on the preservation of soybean oil was analyzed. Sampling of oil was conducted on days of 1, 20, 40 and 60 and the antioxidant potential and peroxide value of oil samples were analyses. The one-way ANOVA method by using SPSS software was used for statistical analysis of obtained data.

Results and discussion: FT-IR analysis confirmed the formation of new hydrogen bonds between phenolic compounds of SCE and protein chains of SPI. XRD test revealed that up to 5 % concentration, the SCE has no effect on semi-crystalline structure of SPI film. But at the concentration of 7 %, the intensity of peaks related to crystallinity of SPI decreased. According to FE-SEM images, uniformity and ordered design of SPI chains were disrupted by addition of 7 % SCE. The water vapor permeability and extensibility of films decreased but tensile strength and Young's modulus of films increased by addition of 5 % SCE. When the SCE content was reached to 7 %, an adverse trend was observed in all parameters. The film containing 7 % SCE had the highest DPPH scavenging activity (79.43 %). Evaluation of the properties of soybean oil in contact with antioxidant active films indicated that the DPPH radical scavenging activity of oil samples in contact with active films increased with increasing storage time ($p<0.05$). this trend increased by increasing of SCE content in formulation of active films. But this property decreased in TBHQ added oil sample during storage. Antioxidant activity of SPI-SCE contacted oil ad 60^{th} day of storage was similar to 100 ppm TBHQ added sample. Measurement of peroxide value indicated that the all samples had an increasing trend during storage. But the using of active films was able to control the increase of peroxide value in soybean oil samples. TBHQ loaded oil had the lowest peroxide value in all times. This parameter was high for SPI films conducted oil samples but 5 and 7 % SCE containing films were able to control the increasing trend of peroxide value in samples.

Conclusions: The results of this research demonstrated the efficacy of sesame protein isolate films carrying sesame cake extract in slowing the lipid oxidation and increasing the oxidative stability of soybean oil. The SCE had strong antioxidant potential was proposed as potential antioxidant additive to edible oil protection. However, this research indicated that the incorporation of SCE to SPI film increases the efficiency of antioxidant activity by slowed release to oil. Addition of SCE slightly weakened the mechanical, barrier, morphological and structural properties of SPI films. But the good antioxidant activity of films covered these drawbacks. Preparation of these antioxidant active films is proposed for b better using of sesame cake in food industry. This research opens a new horizon on value added utilization of sesame oil extraction by-products.

Keywords: Antioxidant active film, Morphology, Oxidative stability, Sesame cake, Soybean oil