Archive of SID

بهینه‌سازی فرمولاسیون فیلم خوراکی ترکیبی (متیل سلولز، نشاسته ذرت و پودر آب پنیر) حاوی سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با استفاده از روش سطح پاسخ

رویا امیری قندشتنی[۱]، **اسماعیل عطای صالحی**[۱*]، علی محمدی ثانی[۱]، معصومه مهربان سنگ آتش[۲]، امید صفری[۳]

[۱] گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.
[۲] گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.
[۳] دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۰۶/۲۸ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۸/۱۰/۱۳

چکیده

در این پژوهش فیلم مرکب متشکل ازمتیل‌سلولز (۱، ۲/۵ و ۴ درصد)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (۲، ۴ و ۶ درصد)، نشاسته ذرت (۱، ۲ و ۳ درصد) و گلیسرول به عنوان نرم‌کننده در غلظت ثابت (۲/۵ درصد) و باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (با غلظت $1/5\times10^{7}$ CFU/ml) تهیه شد. سپس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (ضخامت، نفوذ پذیری به بخار آب، رطوبت، انحلال پذیری و تغییرات رنگ) و مکانیکی (درصد ازدیاد طول ونیروی لازم جهت پاره شدن) فیلم و میزان زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که افزایش درصد متیل‌سلولز، پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت سبب افزایش میزان ضخامت، رطوبت، نیروی لازم برای پاره شدن، تغییرات رنگ و میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و کاهش انحلال‌پذیری و میزان نفوذپذیری به بخارآب شد. در مجموع فرمول پایه فیلم (غلظت متیل‌سلولز ۲/۰۸ درصد، کنسانتره پروتئین آب پنیر ۲/۱۳ درصد و نشاسته ذرت ۱/۱۴ درصد) سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمایی و مکانیکی فیلم خوراکی و بهبود زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک شد.

کلمات کلیدی: فیلم خوراکی، کنسانتره پروتئین آب پنیر، متیل سلولز، نشاسته ذرت

* eatayesalehi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

هر ماده مورد استفاده برای پوشاندن (به عنوان مثال پوشش یا پیچیدن) مواد غذایی مختلف با هدف افزایش زمان ماندگاری محصول، که همراه با غذا خورده شود به‌عنوان یک فیلم یا پوشش خوراکی تلقی می‌شود. فیلم‌های خوراکی با جایگزینی و یا تقویت لایه‌های طبیعی از اتلاف رطوبت جلوگیری کرده و اجازه‌ی تبادل انتخابی به گازهای درگیر فرایند تنفس، مانند اکسیژن، دی اکسید کربن و اتیلن می‌دهد. فیلم یا پوشش، سطحی سترون را فراهم کرده و از کاهش دیگر ترکیبات مهم جلوگیری می‌کند. به طور کلی ضخامت آن کمتر از ۰/۳ mm است. در تهیه فیلم‌های خوراکی بیشتر از زیست پلیمرهایی نظیر پروتئین، پلی‌ساکارید، لیپید و ترکیبات آن‌ها استفاده می‌شود (۱).

فیلم‌های تهیه شده از پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها دارای خواص خوبی برای ممانعت کنندگی در برابر اکسیژن و دی-اکسیدکربن هستند اما خواص ممانعت کنندگی ضعیفی در برابر انتقال آب دارند (۲). صمغ‌ها، هیدروکلوئیدهایی با وزن مولکولی قابل توجه و محلول در آب هستند که پس از حل شدن با آب تشکیل پیوندهای قوی هیدروژنی می‌دهد. به خاطر اندازه و ساختمان مولکول‌های این پلی‌ساکاریدها و در نتیجه ایجاد پیوند هیدروژنی بین زنجیره‌های پلیمری و نیز اصطکاک بین مولکولی وقتی در معرض برش قرار می‌گیرند دارای قابلیت سفت کنندگی و محلول آبی ژل هستند. متیل سلولز صمغی مشتق شده از سلولز با جایگزینی ۱/۹-۱/۶ گروه متیل بر روی اکسیژن ۶ یا ۲ یا ۳ بر روی واحدهای گلوکز است که ساختاری خطی و غیر یونی دارد. به خاطر ساختمان خطی و طبیعت غیر یونی و حلالیت بسیار زیاد، فیلم‌های متیل‌سلولز قوی و شفاف هستند. متیل سلولز دارای ویژگی‌های منحصر بفردی است که در آب سرد کاملا حل می‌شود و محلول شفافی ایجاد می‌کند، و بسته به درجه آن در دمای بین ۴۸ تا ۶۴ $^{\circ}C$ ژل تشکیل می‌دهد (۳).

برخی از پوشش‌ها دارای مزیت‌هایی چون قیمت پایین تر در مقایسه با سایر مواد دارای قدرت کششی بالا می‌باشد. استفاده از نشاسته ذرت با آمیلوز بالا ویژگی‌های فیلم تولیدی را تقویت می‌کند، جانشینی شیمیایی و هیدرولیز اسیدی نشاسته‌های آمیلوزی سبب افزایش شفافیت و کشسانی فیلم‌های ساخته شده از آن‌ها می‌شود (۴). نشاسته‌های دارای آمیلوز بالا به صورت گسترده‌ای در فرآیندهایی که نیاز به یک ژل شفاف و کاهش مقداری از رطوبت می‌باشد استفاده می‌شوند، همچنین این نشاسته‌ها در تولید فیلم و پوشش بکار می‌روند (۵).

پروتئین‌های آب پنیر شامل پروتئین‌های مختلف منحصر بفردی مثل آلفالاکتالبومین، بتالاکتوگلوبولین، سرم آلبومین-گاوی و ایمونوگلوبولین‌ها است که پروتئین‌های اصلی آب پنیر را تشکیل می‌دهند (۶). اسیدهای آمینه آبگریز و قطبی و باردار به طور بکنواخت در آن توزیع شده‌اند. تعامل بین زنجیره‌های پروتئینی منجر به تشکیل شبکه فیلم و خواص آن می‌شود. پس از دناتوراسیون حرارتی، گروه تیول برای تشکیل پیوند دی سولفیدی بین مولکولی در دسترس است. در نتیجه فیلم‌های خوراکی تهیه شده از آب پنیر دناتوره شده قویتر و چسبنده تر از فیلم‌هایی است که از پروتئین اصلی تهیه می‌شود (۷).

در چند دهه ی اخیر تقاضا از سوی مصرف کنندگان برای غذاهای هدفمند که تحت عنوان غذاهای سلامت بخش، فراسودمند و غذاهای هوشمند از آن‌ها یاد می‌شود، افزایش یافته است .غذاهای فراسودمند به محصولاتی اطلاق می‌شود که علاوه بر داشتن ارزش تغذیه‌ای، دارای اثرات درمانی و سلامتی بخش برای مصرف کننده باشند (۸). غذاهای پروبیوتیک باید در زمان مصرف حاوی تعداد ارگانیسم‌های قابل قبولی باشند. باکتری پروبیوتیک باید قابلیت زنده ماندن طی عملیات‌های فرآوری غذایی تا مرحله ورود به محصول نهایی را داشته باشند. این فواید پروبیوتیک ناشی از رشد و فعالیت آن‌ها طی تولید غذاهای فرآوری شده و یا ناشی از رشد و فعالیت بعضی از گونه‌های پروبیوتیک در دستگاه گوارش است (۹). یکی از گونه‌های مهم

www.SID.ir

Archive of SID

پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*[1] می‌باشد. این باکتری می‌تواند در روده به عنوان یک پروبیوتیک زنده بماند و تشکیل کلنی بدهد همچنین مقاوم به صفرا بوده و ضمن عبور از دستگاه گوارش انسان زنده می‌ماند و باعث تحریک سیستم ایمنی بدن نمی‌شود. لذا در موارد متعددی ازجمله پیشگیری و درمان اسهال در بچه‌ها، درمان آلرژی وغیره مورداستفاده قرار می‌گیرد (۱۰و۱۱). این پژوهش به منظور بهینه‌سازی فرمول پایه پوشش برای تولید فیلم خوراکی پروبیوتیک دارای سویه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (GG) انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مواد

باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس(GG)* از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌ها صنعتی ایران و محیط کشت MRS Broth و MRS Agar و قرص رینگر (شرکت مرک[2] آلمان) تهیه شد.

روش‌ها

تهیه فیلم خوراکی حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (GG)

برای تهیه فیلم مرکب که مخلوطی از متیل‌سلولز، نشاسته ذرت و کنسانتره آب پنیر بود هریک از اجزا برای تشکیل فیلم به آماده سازی مقدماتی نیاز داشت. به این ترتیب که متیل‌سلولز به منظور هیدراته شدن، در نیمی از آب مقطر با دمای ۷۰ °C به مدت ۱۵ دقیقه تا هیدراته شدن کامل مخلوط شد. سپس نصف دیگر آب با دمای ۰ °C به مدت ۵min تا تشکیل ژل توسط متیل‌سلولز مخلوط گردید. نشاسته ذرت (حل کردن در آب سرد و سپس حرارت دهی تا ۸۵ °C تا ژلاتینه شدن) و نیز کنسانتره آب پنیر (حل کردن در آب سرد و سپس حرارت دهی در حمام آب با دمای ۹۰ °C به مدت ۰/۵ h تا دناتوره شدن کامل کنسانتره آب پنیر و سردکردن متعاقب آن به منظور جلوگیری از دناتوره شدن بیشتر) و گلیسرول بعنوان روان کننده در غلظت ثابت ۲/۵ درصد وزنی استفاده گردید (۸).

به منظور فعال سازی باکتری لیوفلیزه، مقدار ۵۲/۲ gr از محیط کشت MRS Broth را در ۱ L آب مقطر حل کرده و سپس در دمای ۱۲۱ °C به مدت ۱۵min استریل شد. مقدار ۰/۵ mm از آن را توسط میکروسمپلر در کنار شعله به درون لوله حاوی۱۰ mm از محیط کشت MRS Broth تلقیح شد. سپس در انکوباتور با دمای ۳۰°C به مدت ۶h گرمخانه‌گذاری شد. محتویات لوله درون ارلن حاوی محیط کشت MRS Broth با دمای ۳۰ °C تخلیه شد و مجددا ارلن درون انکوباتور با دمای ۳۰°C به مدت ۲۴ h گرمخانه‌گذاری شد. فالکون‌های سانتریفیوژ استریل شده (در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵min) را با سوسپانسیون باکتری که در مرحله قبل توضیح داده شد پرکرده و با سرعت ۵۰۰۰rpm به مدت ۱۰min سانتریفیوژ شد. مایع روی فالکون‌ها را دور ریخته و رسوب حاصله (سلول‌های باکتری) نگه‌داشته شد. به منظور شستشوی باکتری‌ها، روی رسوب حاصله از مرحله قبل سرم فیزیولوژیک ریخته و پس از بستن درب، فالکون‌ها را تکان-داده و مجددا عمل سانتریفیوژ در سرعت ۵۰۰۰rpm به مدت ۱۰min انجام شد. در نهایت رسوب سفید رنگ بدست‌آمده را که همان باکتری فعال شده است را به کمک رینگر کاملا مخلوط کرده و در یخچال با دمای ۱۵ °C تا زمان استفاده، نگهداری شد. به منظور تهیه کشت پروبیوتیک با غلظتی معادل $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU/ml، از نمونه تهیه شده مقدار ml ۱ را توسط رینگری که درون لوله‌های استریل شده بود رقیق کرده و با هم خوب مخلوط شد. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۲۵ nm که توسط رینگر بلنک کالیبر شده بود، جذب محلول قرائت شد. وقتی میزان جذب با میزان جذب ۵ مک فارلند برابر شد، از نمونه داخل لوله که حاوی ۱۵×۱۰^{۸} CFU/ml باکتری است، ml ۱ برداشته و به ۱۰۰ml از فرمول پوشش بهینه که بر اساس نتایج بدست آمده از فرمول پایه فیلم مرکب شامل نشاسته ذرت، متیل‌سلولز و کنسانتره آب پنیر است اضافه شد تا غلظت باکتری در ml

[1] *Lactobacillus rhamnosus*

[2] merk

www.SID.ir

Archive of SID

۱۰۰ از پوشش به $۱/۵\times۱۰^{۷}$ CFU/ml رسید (۸). فیلم‌ها تا زمان آزمون در یخچال با دمای ۴ °C نگهداری شد.

آزمون‌های فیلم خوراکی

ضخامت

ضخامت فیلم به وسیله یک میکرومتر دستی با دقت ۰/۰۱ mm در حداقل ۱۰ نقطه تصادفی هر فیلم اندازه‌گیری شد. میانگین ضخامت نقاط مختلف به عنوان ضخامت فیلم تهیه شده گزارش شد (۸).

میزان رطوبت

رطوبت بر اساس میزان افت وزن مقدار مشخصی از نمونه در طی خشک شدن در آون ۱۱۰°C اندازه‌گیری شد (۱۲).

حلالیت

قطعه‌ای از پوشش با ابعاد ۱ در $۳\ cm^2$ از فیلم تهیه شده و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ gr توزین شد. فیلم تهیه شده را در ۵۰ ml آب مقطر تحت شرایط همزدن یکنواخت و مشخص در دمای ۲۵ °C و به مدت ۶ h قرار داده شد. بعد از گذشت این زمان، قطعات باقی‌مانده را از آب بیرون آورده و تا رسیدن به وزن ثابت (وزن خشک نهایی) در آون (دمای ۱۱۰ °C) قرارگرفت. وزن خشک اولیه نیز با قرار دادن نمونه‌ای با همان ابعاد ذکر شده در آون با دمای ۱۱۰°C تا رسیدن به وزن ثابت بدست آمد. در نهایت حلالیت در آب (درصد) با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (۸).

$$H = \frac{W_d - W_e}{W_d} \times ۱۰۰$$

H: درصد حلالیت

W_d: وزن ماده خشک اولیه تکه فیلم

W_e: وزن فیلم خشک پس از غوطه وری

اندازه‌گیری رنگ

شاخص‌های رنگ هانتر (L*, a*, b*) توسط دستگاه رنگ سنج وپس از کالیبر کردن توسط کاشی سفید برای هر نمونه فراورده در سه تکرار اندازه گیری شدند. L* شاخص شفافیت نمونه (رنگ سیاه برابر ۰ و رنگ سفید برابر ۱۰۰)، a* (منفیa برابر سبزی، مثبت a برابر قرمزی)، b* (منفی b برابر آبی و مثبت b برابر زردی) می‌باشد. تغییر رنگ کلی نیز به کمک فرمول زیر محاسبه شد (۱۳).

$$\Delta E = \left[\left(L^* - L\right)^2 + \left(a^* - a\right)^2 + \left(b^* - b\right)^2\right]^{1/2}$$

خواص مکانیکی پوشش

برای انجام آزمون مکانیکی از دستگاه بافت سنج استفاده شد. بدین منظور قطعاتی از فیلم در ابعاد ۲×۹ cm از فیلم تهیه شده و جهت مشروط شدن به مدت ۲۴ h در دسیکاتور حاوی کلرید سدیم اشباع با رطوبت نسبی ۷۵ درصد قرارگرفت. سپس قطعات فیلم در داخل فک‌های دستگاه بسته شد. فاصله بین دوفک قبل از آزمون ۴ cm بود. فک بالا با سرعت ۴۰ mm/min شروع به فاصله گرفتن کرد. در لحظه پاره شدن فیلم آزمون پایان یافت. مقاومت کششی از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۸).

$$TS = \frac{\textbf{Maximum load}}{\textbf{Original.minimum.section.area}} = \frac{\mathbf{F}}{\mathbf{A}}$$

TS: مقاومت کششی بر حسب مگا پاسکال (MPa)، F: حداکثر نیروی لازم برای پاره شدن فیلم (N)، A: مساحت فیلم درگیر شده در فک دستگاه (m^2) درصد ازدیاد طول تا پارگی نیز از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$E_{\text{درصد}} = \frac{\textbf{Extension at moment of rupture}}{\textbf{Intial gage length}} = \frac{\mathbf{\Delta L}}{\mathbf{L}}$$

L: مقدار ازدیاد طول تا لحظه پارگی، L: مقدار طول اولیه فیلم (فاصله بین دوفک دستگاه)

نفوذپذیری به بخارآب

اندازه‌گیری نفوذپذیری به بخار آب بر اساس استاندارد ASTM E96(ASTM 2002) انجام گرفت. بدین صورت که محلول فوق اشباع کلرید سدیم درون دسیکاتور ریخته شد و شیشه‌های کوچکی با قطر ۱/۳۵ cm انتخاب و درون آن‌ها مقدار ۳ gr کلریدکلسیم (حذف رطوبت نسبی داخل شیشه) بدون آب ریخته شد و سطح شیشه‌ها توسط نمونه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

فیلم و بوسیله گیره و کش بسته شد. پس از وزن کردن تمامی نمونه‌ها، آن‌ها را داخل دسیکاتور حاوی نمک کلرید سدیم فوق اشباع قرار می‌دهیم که در دمای آزمایشگاه رطوبتی معادل ۷۵ درصد ایجاد می نماید. تغییرات وزن نمونه‌ها با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ gr اندازه‌گیری شده و نمودار تغییرات وزن بر حسب زمان رسم می‌شود تا شیب خط حاصل جهت انجام محاسبات مورد استفاده قرارگیرد. آهنگ انتقال بخار از طریق فرمول زیر محاسبه شد.

آهنگ انتقال بخار آب $$WVT = \frac{G}{t.A}$$

WVT: آهنگ انتقال بخارآب ($g/m^2.s$) ، A: سطح مقطع شیشه‌ها (m^2) ، G/t: شیب خط میانگین تغییرات وزن در مدت زمان آزمون، برای اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب از فرمول زیر استفاده شد.

نفوذپذیری به بخار آب $$WVP = \frac{WVT}{P(R_1-R_2)}.X$$

WVP: میزان نفوذپذیری به بخار آب (g/m.pa.s)، P : فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ °C (Pa)، X : ضخامت فیلم (mm)، R_1 : میزان رطوبت داخل دسیکاتور(۷۵ درصد)، R_2 میزان رطوبت فضای داخل شیشه‌ها (۰ درصد)

زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (GG)

به منظور کشت باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (*GG*) ابتدا نیاز به محیط کشت MRS Agar بود که مقدار ۶۸/۲g از محیط کشت را به ۱ L آب مقطر افزوده و خوب تکان داده تا کمی حل شود. به منظور حل شدن بیشتر از حمام آب با دمای جوش استفاده شد تا محیط کاملا حل شود. پس از انحلال کامل محیط کشت در آب مقطر، محیط کشت توسط پنبه و فویل درب بندی شده و به مدت ۱۵min در دمای ۱۲۱ °C اتوکلاو گردید.

برای هر نمونه نیاز به ۹۰ ml از رینگر استریل بود که با استفاده از قرص رینگر و بالون ژوژه ۵۰۰ ml یک قرص رینگر را درون ۵۰۰ ml آب مقطر حل کرده و سپس ۹۰ ml از آن را به کمک مزور درون ارلن ریخته و درون اتوکلاو با دمای ۱۲۱ °C به مدت ۱۵min اتوکلاو شد.

مقدار ۱۰ gr از نمونه در کنار شعله از سطح پوسته نان توسط ترازوی دیجیتال توزین شده و درون ارلن حاوی ۹۰ ml رینگر افزوده شد و به مدت ۳۰min نمونه اولیه فرصت داده شد تا عمل اختلاط به خوبی صورت‌گیرد. سپس توسط سمپلر و در کنار شعله ۱ ml از نمونه فوق برداشته و درون لوله آزمایش حاوی ۹ ml محلول رینگر استریل ریخته شد.

برای تهیه رقت بعدی مجددا مقدار ۱ ml از نمونه درون لوله قبلی برداشته و به درون لوله دیگری حاوی ۹ ml محلول رینگر استریل اضافه شد.

به منظور کشت باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (GG) از روش کشت پورپلیت استفاده شد. بدین ترتیب که ۱ ml از رقت مورد نیاز درون پلیت ریخته شده و روی آن محیط کشت MRS Agar ریخته شد.

پس از سفت شدن نمونه‌ها، پلیت‌ها درون انکوباتور با دمای ۳۰ °C به مدت ۴۸ h به صورت وارونه قرار گرفت تا پرگنه‌های لاکتوباسیلوس رامنوسوس در محیط رشد نماید. پس از مدت زمان ذکر شده، نمونه‌ها به منظور شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* توسط دستگاه کلنی کانتر شمارش گردید (۸).

تجزیه و تحلیل آماری

بهینه‌سازی متغیرها در هر مرحله به روش سطح پاسخ در قالب "طرح مرکب مرکزی" توسط نرم‌افزار Design-Expert 7.0.2 بررسی شد. سه متغیر مستقل درصد نشاسته ذرت، پروتئین آب پنیر و متیل‌سلولز بود. استخراج کفایت مدل با استفاده از ضریب تبیین (R2) و R2 پیشگویی مورد بررسی قرارگرفت.

نتایج با استفاده از رویه سطح پاسخ و در قالب طرح مرکب مرکزی و با استفاده از مدل درجه دوم آنالیزشد. جهت تعیین نقطه بهینه از بخش بهینه‌یابی عددی نرم افزار مذکور استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آن‌ها در تهیه فیلم

Run	غلظت متیل سلولز (وزن به حجم درصد)	غلظت کنسانتره آب پنیر (وزن به حجم درصد)	غلظت نشاسته ذرت (وزن به حجم درصد)
۱	۱	۲	۱
۲	۴	۲	۱
۳	۱	۶	۱
۴	۴	۶	۱
۵	۱	۲	۳
۶	۴	۲	۳
۷	۱	۶	۳
۸	۴	۶	۳
۹	۱	۴	۲
۱۰	۴	۴	۲
۱۱	۲/۵	۲	۲
۱۲	۲/۵	۶	۲
۱۳	۲/۵	۴	۱
۱۴	۲/۵	۴	۳
۱۵	۲/۵	۴	۲
۱۶	۲/۵	۴	۲
۱۷	۲/۵	۴	۲
۱۸	۲/۵	۴	۲
۱۹	۲/۵	۴	۲
۲۰	۲/۵	۴	۲

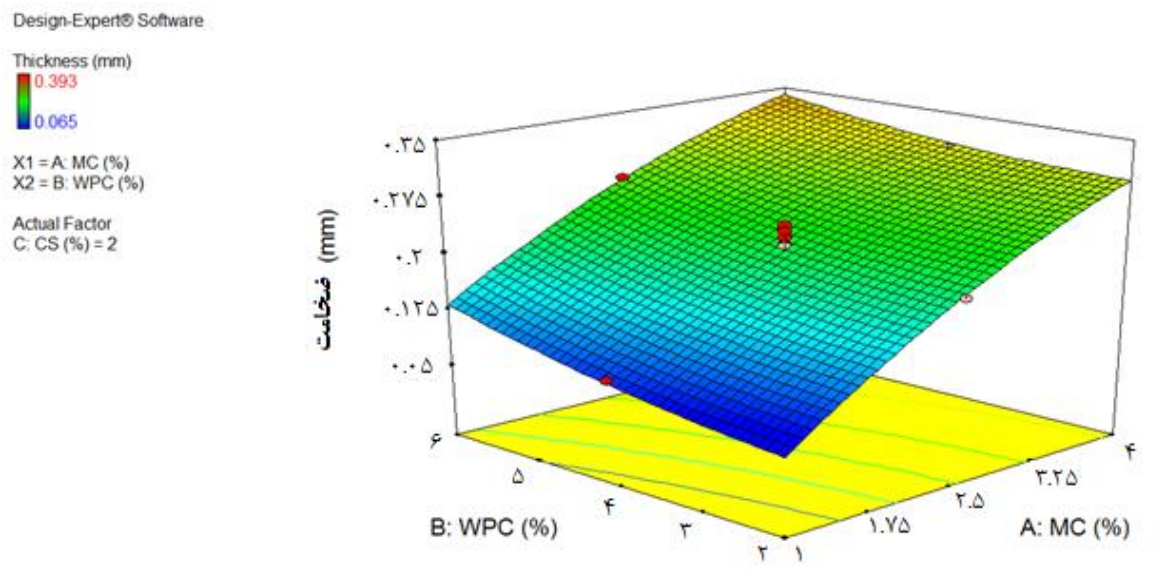
نتایج

ضخامت

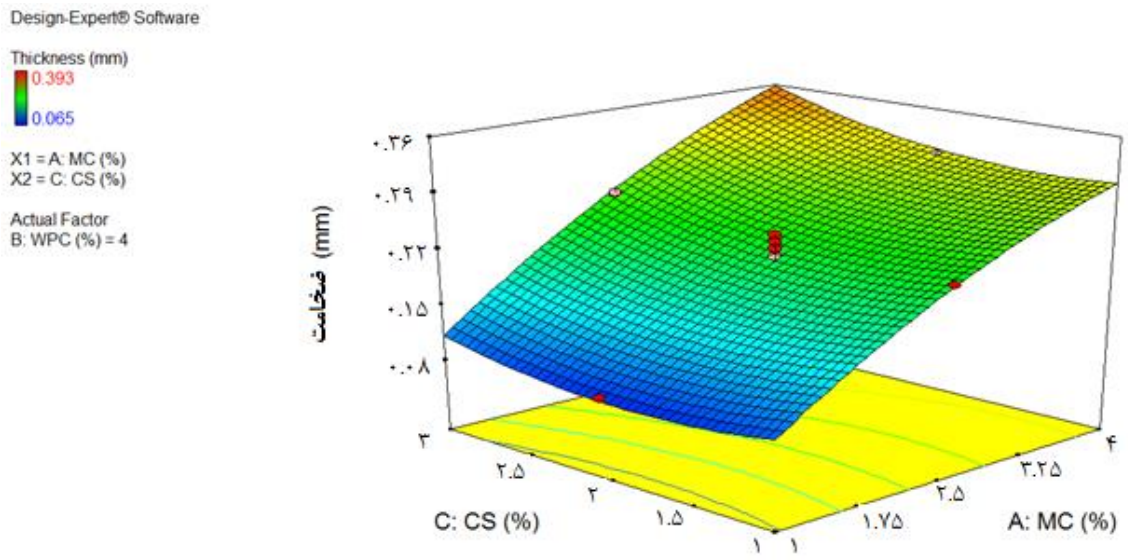
بررسی تاثیر خطی غلظت‌های متغیرهای مستقل (متیل-سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت) بر نمونه‌های فیلم در سطح ۹۹ درصد ($p<۰/۰۱$) معنی‌دار شده است. در بین عبارت‌های درجه دوم عبارت درجه دوم غلظت متیل‌سلولز و نشاسته ذرت معنی‌دار شده‌اند ($p<۰/۰۱$) و عامل ایجاد انحنا در نمودارهای سه بعدی هستند؛ عبارت‌های اثر متقابل بین غلظت متیل‌سلولز و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و نیز عبارت اثر متقابل بین غلظت متیل‌سلولز و نشاسته‌ذرت معنی‌دار شده است ($p<۰/۰۵$). روند تغییرات میزان ضخامت فیلم‌های خوراکی تهیه شده از متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت درشکل‌های ۱ و۲ نشان داده شده است. با توجه به منحنی‌های سطح پاسخ، متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته سبب افزایش میزان ضخامت شده‌اند، لذا این متغیرها به صورت توام دارای تاثیرات متقابل مثبت روی میزان ضخامت بودند. در شکل ۱ در غلظت ثابت نشاسته ذرت (۲ درصد)، اثر همزمان غلظت متیل‌سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر بر میزان ضخامت نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد متیل‌سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر سبب افزایش میزان ضخامت شد. در شکل ۲ در غلظت ثابت کنسانتره پروتئین آب پنیر (۴ درصد)، اثر همزمان غلظت متیل سلولز – نشاسته ذرت بر میزان ضخامت نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد متیل‌سلولز و نشاسته ذرت سبب افزایش میزان ضخامت شد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر روی ضخامت فیلم خوراکی



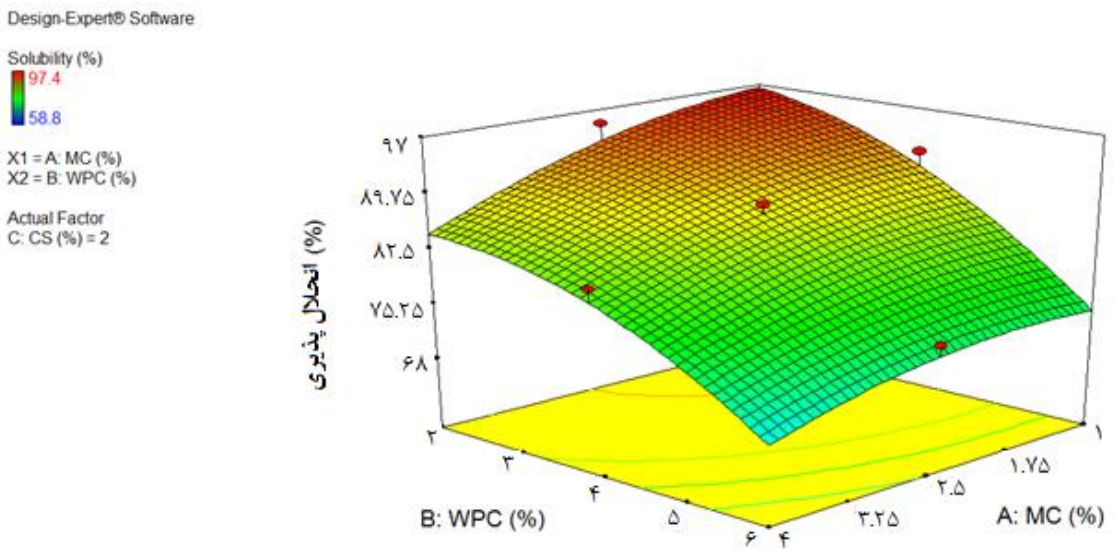
شکل ۲. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل درصد متیل سلولز و نشاسته ذرت روی ضخامت فیلم خوراکی

میزان حل شدن

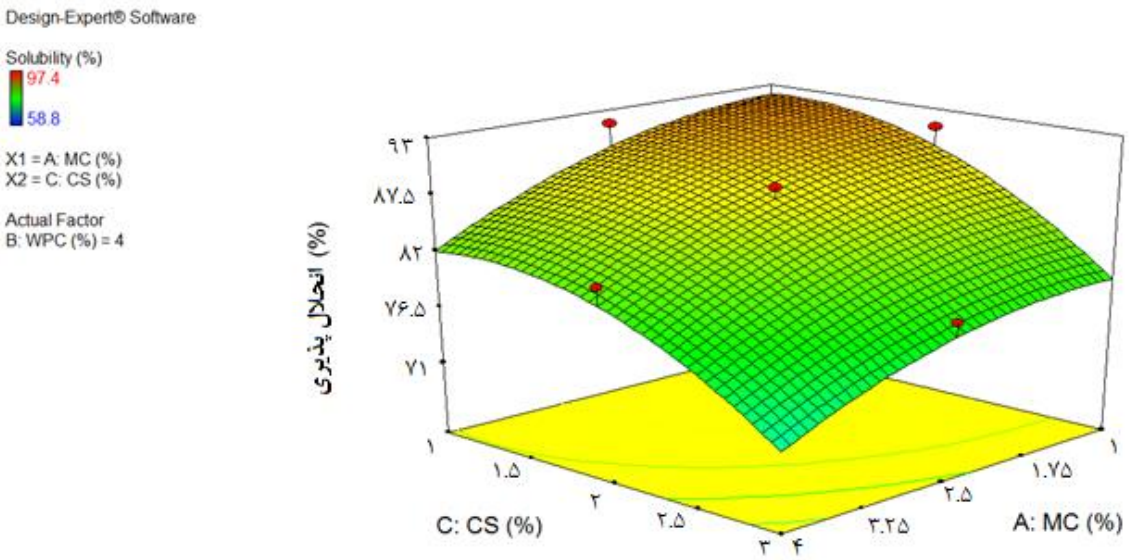
نتایج میزان حل شدن با استفاده از کنسانتره پروتئین آب پنیر، متیل‌سلولز و نشاسته ذرت نشان داد که میزان انحلال پذیری با افزایش غلظت ترکیبات کم شده است، بیشترین میزان انحلال پذیری در غلظت یک درصد متیل‌سلولز و یک درصد کنسانتره پروتئین آب پنیر و یک درصد نشاسته ذرت مشاهده شد، افزایش غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر، متیل سلولز و نشاسته ذرت سبب کاهش میزان انحلال پذیری فیلم گشت، بطوریکه بیشترین میزان حل شدن ۹۷/۴ درصد در حداقل استفاده غلظت استفاده شده از ترکیبات بود و کمترین میزان حل شدن ۵۸/۸ بود که در ماکزیمم غلظت متیل‌سلولز (۴ درصد)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (۶ درصد) و نشاسته ذرت (۳ درصد) بود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر بر انحلال پذیری فیلم خوراکی



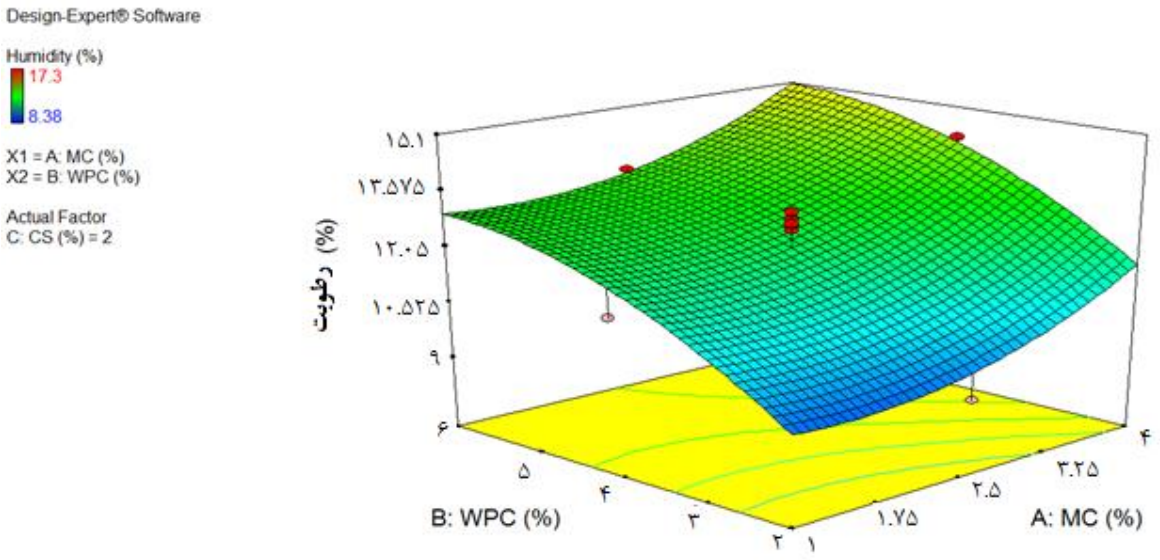
شکل ۴. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و نشاسته ذرت بر انحلال پذیری فیلم خوراکی

رطوبت

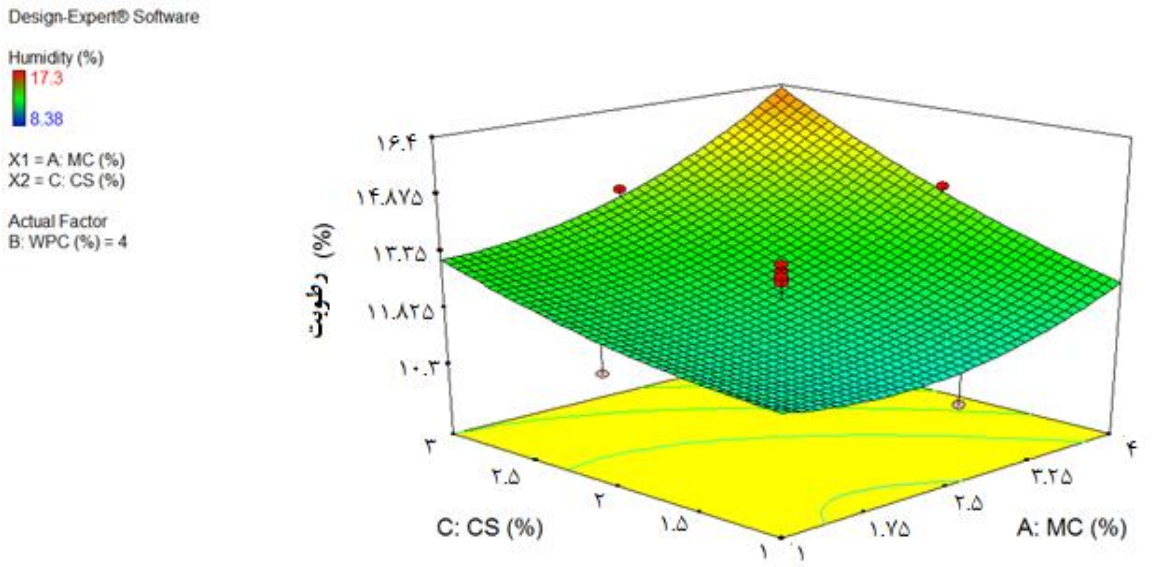
نتایج استفاده از غلظت‌های مختلف متیل‌سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت بر میزان رطوبت نشان داد که در تاثیر خطی غلظت‌های متغیرهای مستقل متیل-سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت معنی‌دار شد ($p<۰/۰۱$). همانطور که در شکل ۵ و ۶ مشاهده می‌گردد با افزایش غلظت متیل‌سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت ، میزان رطوبت در نمونه‌های فیلم افزایش یافت، بطوریکه با فزایش غلظت متیل‌سلولز به ۴ درصد، کنسانتره پروتئین آب پنیر به ۶ درصد و نشاسته ذرت به ۳ درصد میزان رطوبت از ۸/۳ به ۱۷/۳ افزایش داشت. این نتایج نشان می‌دهد استفاده از متیل‌سلولز، نشاسته ذرت و کنسانتره پروتئین آب پنیر در فیلم خوراکی سبب فزایش محتوای رطوبت آن شد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر بر رطوبت فیلم خوراکی



شکل ۶. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و نشاسته ذرت بر رطوبت فیلم خوراکی

نفوذپذیری به بخار آب

نتایج تاثیر خطی غلظت‌های متغیرهای مستقل(متیل-سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت) بر نمونه-های فیلم در سطح ۹۹ درصد ($p<۰/۰۱$) معنی‌دار شده است. در بین عبارت‌های درجه دوم عبارت درجه دوم تنها افزایش غلظت متیل‌سلولز تاثیر معنی‌داری بر میزان نفوذپذیری به بخار آب داشته است ($p<۰/۰۱$) و عامل ایجاد انحنا در نمودارهای سه بعدی می‌باشد؛ عبارت اثر متقابل بین غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت تنها عبارت معنی‌دار شده ($p<۰/۰۵$) در بین متغیرهای مستقل بود. بررسی نمودارهای تاثیرات متقابل این فاکتورها نشان داد که استفاده ازمتیل-سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت سبب کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب شده‌اند، لذا این متغیرها به صورت توام دارای تاثیرات متقابل مثبت کاهنده بر روی

www.SID.ir

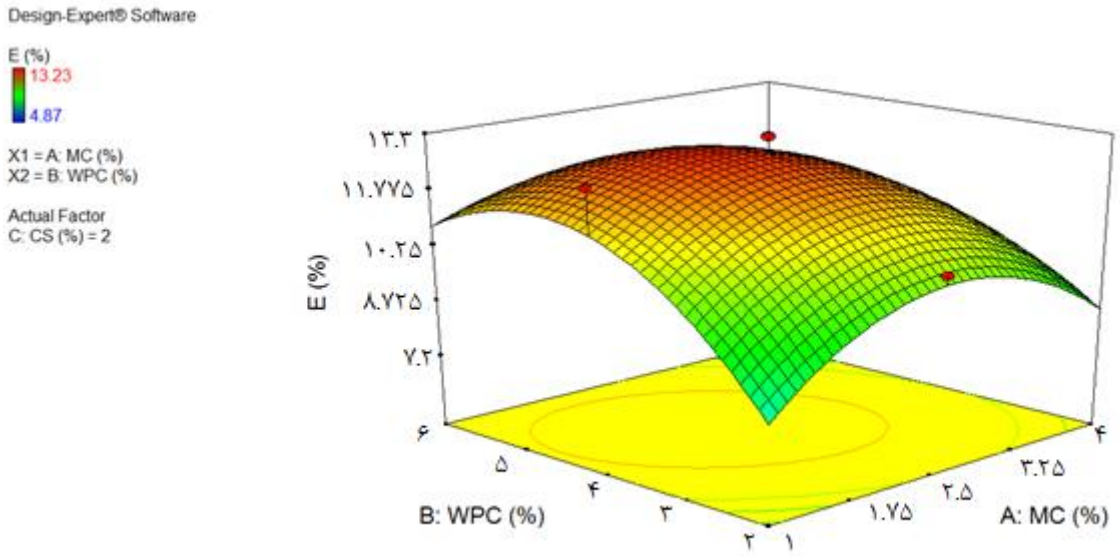
Archive of SID

میزان نفوذپذیری به بخار آب بودند. با افزایش میزان متیل سلولز تا غلظت۴ درصد، نشاسته ذرت تا غلظت ۳ درصد و کنسانتره پروتئین آب پنیر تا غلظت ۶ درصد میزان نفوذپذیری به بخار آب کمترین میزان (۰/۰۵ درصد) شد. همچنین اثر متقابل نشاسته ذرت، میزان نفوذپذیری به بخار آب کاهش یافت، این کاهش در مورد متیل‌سلولز تاثیر شدیدتری داشت و در مورد کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت با شیب آهسته‌تری کاهش یافت.

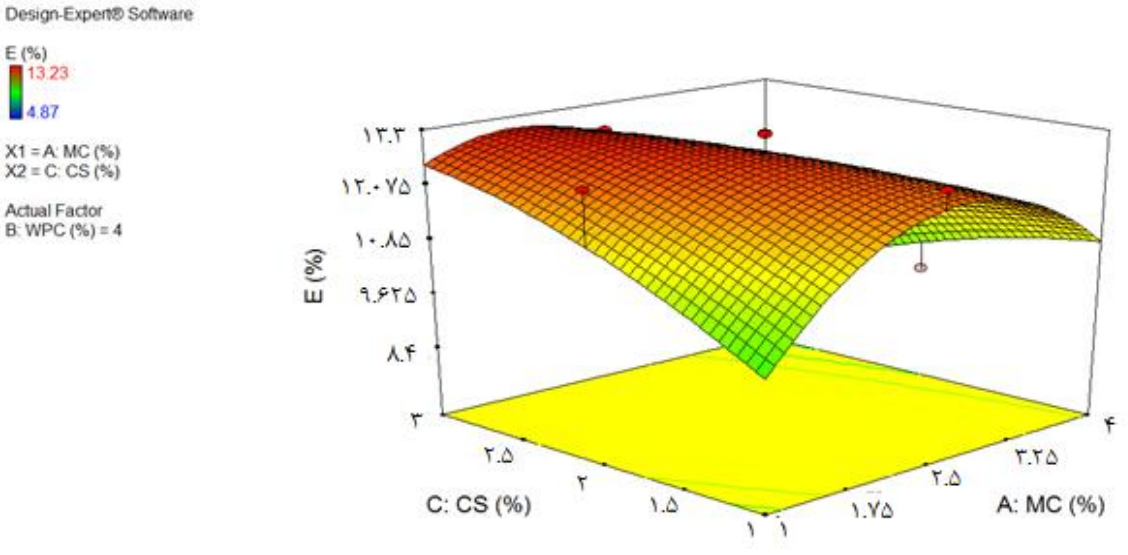
خواص مکانیکی فیلم

درصد ازدیاد طول

نتایج استفاده از متیل‌سلولز، نشاسته ذرت وکنسانتره پروتئین آب پنیر بر درصد ازدیاد طول فیلم نشان داد که عبارت‌های اثر متقابل بین غلظت متیل سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر ($p<۰/۰۵$) و نیز عبارت اثر متقابل بین غلظت متیل‌سلولز و نشاسته ذرت معنی‌دار شده است ($p<۰/۰۱$)؛ از سوی دیگر با توجه به نمودارهای تاثیرات متقابل این



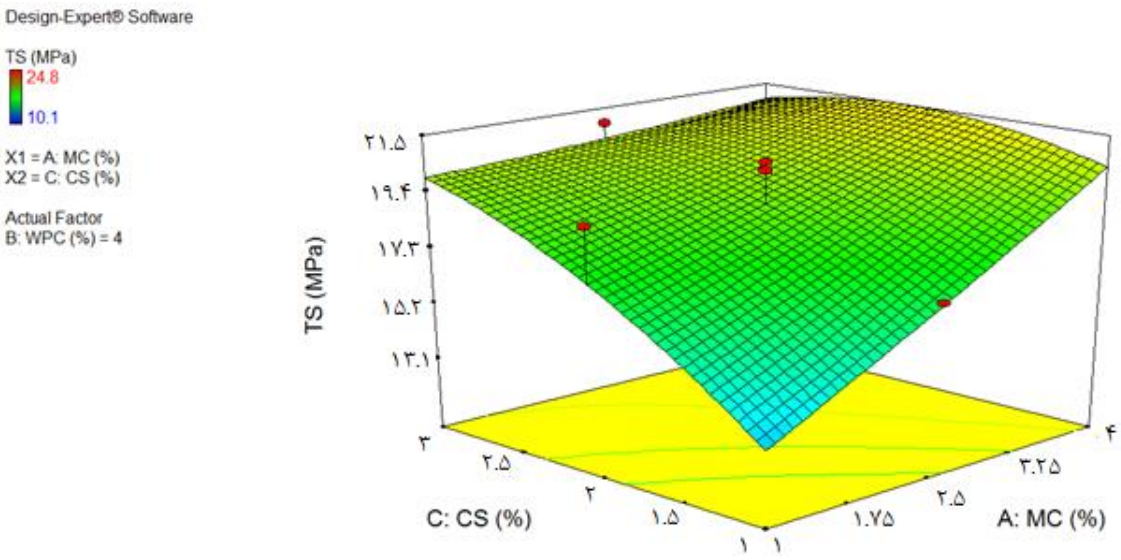
شکل ۷. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر بر درصد ازدیاد طول فیلم خوراکی



شکل ۸. منحنی‌های سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و نشاسته ذرت بردرصد ازدیاد طول فیلم خوراکی

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۹. منحنی سطح پاسخ تراز و سه بعدی اثر متقابل متیل سلولز و نشاسته ذرت بر نیروی لازم برای پاره شدن فیلم خوراکی

تغییر رنگ کلی

داده‌های حاصل از آزمون تغییر رنگ کلی فیلم‌های خوراکی حاوی متیل‌سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت مشاهده شد که تاثیر خطی غلظت‌های متغیرهای مستقل متیل‌سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر ($p<۰/۰۱$) و نشاسته ذرت ($p<۰/۰۵$) بر نمونه‌های فیلم معنی‌دار شده است. با توجه به نمودارهای تاثیرات متقابل این فاکتورها چون همگی سبب افزایش میزان تغییر رنگ کلی شده‌اند، لذا این متغیرها به صورت توام دارای تاثیرات متقابل مثبت افزاینده بر روی میزان تغییر رنگ کلی بودند. میزان تغییر رنگ کلی تابعی از افزایش میزان غلظت متغیرهای مستقل در فرمولاسیون فیلم است. بدین‌صورت که افزایش میزان متغیرهای مستقل (متیل‌سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت) سبب افزایش میزان تغییر رنگ کلی نمونه‌های فیلم گردید. بطوریکه با افزایش غلظت متیل‌سلولز تا ۴ درصد، کنسانتره پروتئین آب پنیر تا ۶ درصد و نشاسته ذرت تا ۳ درصد میزان تغییرات رنگ فیلم خوراکی از ۵۰/۷ تا ۷۸/۹ افزایش داشت.

زنده مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*

آنالیز واریانس داده‌های حاصل از آزمون زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در فیلم خوراکی تهیه شده با متیل‌سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت در طی زمان نگهداری ۴ روز، نشان می‌دهد که استفاده از این فیلم در مدت زمان نگهداری سبب تغییر معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) بر روی زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در نمونه‌ها شد. داده‌های حاصل از آزمون آنالیز واریانس نشان دادکه افزایش مدت زمان نگهداری سبب کاهش زنده مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به طور معنی داری ($p<۰/۰۱$) شد. بطوریکه میزان زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* از CFU/g ۱۰۷ * ۵/۶ به CFU/g ۱۰۷* ۴/۲ کاهش داشت.

در مقابل افزایش غلظت متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* را بهبود بخشید و با افزایش غلظت این ترکیبات در فیلم خوراکی میزان زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بیشتر شد و میزان باقی مانده باکتری در محدوده قابل قبول برای محصولات پروبیتیک بود ($۱۰^{۶}$-$۱۰^{۷}$ CFU/g) بود. نکته قابل ذکر این است که مقایسه بین متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت نشان داد که افزایش غلظت متیل سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر تاثیر بیشتری بر زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

بهینه یابی فرمول پایه فیلم خوراکی مرکب

تکنیک بهینه‌سازی عددی، برای بهینه‌سازی فرمولاسیون فیلم پایه بکار رفت. اهمیت همه پاسخ‌ها برابر در نظر گرفته شد. بدین منظور محصولی داری ویژگی‌های بهینه است، که در دامنه‌های بدست آمده از آزمون‌های مختلف، ضخامت، رطوبت، نفوذپذیری به بخار آب، نیروی لازم برای پاره شدن فیلم و تغییر رنگ کلی حداقل و انحلال پذیری و درصد ازدیاد طول حداکثر باشد. نتایج نشان داد در حالتی که غلظت متیل‌سلولز ۲/۰۸ درصد، کنسانتره پروتئین آب پنیر ۲/۱۳ درصد و نشاسته ذرت ۱/۱۴ درصد باشد، شرایط بهینه تولید را خواهیم داشت. بنا به پیش بینی نرم افزار در سطح مطلوبیت ۰/۷۴۰، فیلم بهینه تشکیل شده از فرمول بالا دارای خصوصیات زیر است. میزان ضخامت ۰/۱۶۵ mm ، انحلال پذیری ۹۵/۹۳ درصد، رطوبت ۸/۶۴ درصد، نفوذپذیری به بخار آب ۲/۹۳ g/m.pa.s ، درصد ازدیاد طول ۹/۶۴ درصد، نیروی لازم برای پاره شدن ۱۳/۷۳ MPa و تغییر رنگ کلی معادل ۵۶/۵۹ است. از سوی دیگر، بیشترین میزان زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس در ۳ h پس از نگهداری فیلم وجود خواهد داشت و در این نقطه میزان زنده‌مانی باکتری ۶/۵۸ log CFU/g است.

بحث

نتایج میزان ضخامت فیلم‌های خوراکی تهیه شده از متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت نشان داد که استفاده از این ترکیبات سبب بهبود ویژگی‌های فیلم خوراکی تهیه شده از باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* شد. ضخامت یک پارامتر حیاتی است که شفافیت را تعیین می کند WVP و خواص مکانیکی فیلم‌ها توانایی فیلم برای افزایش یکپارچگی مکانیکی مواد غذایی را بهبود می‌بخشد (۱۴). استفاده از متیل‌سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت سبب افزایش ضخامت فیلم شد، دلیل افزایش ضخامت با افزایش درصد کنسانتره پروتئین آب پنیر به این دلیل است که محلول فیلم، غلظت بیشتری دارد و سبب افزایش ساختار شبکه‌ی پروتئینی و حفظ بهتر آب درون آن می‌شود. از سوی دیگر افزایش میزان نشاسته ذرت و متیل سلولز نیز به جذب آب بیشتر کمک کرده و سبب تشکیل شبکه مستحکم‌تر و ضخیم‌تری به هنگام تشکیل فیلم گردیده است. کوکوسزاکا و همکاران (۱۵) طی بررسی تاثیر درصد ایزوله پروتئین سویا بر روی ضخامت فیلم تولید به این نتیجه رسیدند که با افزایش درصد ایزوله پروتئین از ۶ درصد به ۹ درصد ، ضخامت فیلم افزایش یافت که مشابه نتیجه تحقیقات حاضر بود؛ که افزایش درصد ایزوله پروتئین سویا در غلظت ثابت گلیسرول اثر معنی داری ($P<0.05$) بر روی افزایش ضخامت فیلم تولیدی داشت. گونگا و همکاران (۱۶) طی مطالعه‌ای بر روی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ایزوله‌ی پروتئین‌ها به این نتیجه دست یافتند که افزایش درصد ایزوله پروتئین بر روی ضخامت فیلم تهیه شده اثر معنی‌دار ($P<0.05$) داشت. اما ضخامت فیلم‌های تولیدی مشابه نتایج ما نبود که به خاطر تفاوت فرایند تولید فیلم خوراکی و نوع قالب‌های مورد استفاده بود. آمانکواش (۱۷) گزارش داد که ضخامت فیلم‌های تهیه شده با کیتوزان، چای سبز و دانه انگور به طور قابل توجهی افزایش داشت.

به نظر می‌رسد افزایش میزان کنسانتره پروتئین آب پنیر بدلیل دناتوراسیون حرارتی و نیز جذب آب بیشتر توسط آن، سبب گردیده از انحلال پذیری فیلم‌ها کاسته شود. به دلیل دناتوره شدن پروتئین حین فرایند تولید فیلم و تغییر ماهیت دادن ساختار پروتئین‌ها که سبب ایجاد شبکه‌ای مستحکم با پیوندهای دی‌سولفیدی قوی در ساختار شبکه پروتئینی شده و مانع از فروپاشی شبکه و انحلال پذیری آن می‌شود، این ساختمان قادر به نگهداری برخی مولکول‌های از قبیل مولکول‌های نشاسته و متیل سلولز در بین خود می‌باشد که با قرار گرفتن در آب سبب حفظ شدن بیشتر ساختمان و کمک به دیرتر حل شدن می‌کند. فیلم‌ها به عنوان مواد هیدروسکوپیک محتوای آب بالا دارند. رطوبت برای حفظ باکتری‌ها مهم است در نتیجه، کنترل رطوبت در طول فرآیند و ذخیره سازی بسیار مهم است. استفاده از متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت سبب افزایش رطوبت فیلم تهیه شده گردید بطوریکه بیشترین میزان رطوبت

www.SID.ir

Archive of SID

در حداکثر غلظت استفاده شده از این ترکیبا حاصل شد. اوزدمیر و فلوروس (۱۸) با بررسی فیلم‌های خوراکی با منشا پروتئین به نتایجی مشابه ما دست یافتند و بیان کردند که افزایش درصد پروتئین و موم زنبور عسل سبب کاهش مواد محلول در آب شد ولی سوربیتول به عنوان نرم کننده سبب افزایش مواد محلول در آب فیلم‌های خوراکی شد . این بدین معناست که با افزایش پروتئین و موم مقدار آب بیشتری در ساختار فیلم حفظ شده و افزایش میزان سوربیتول سبب بجا ماندن میزان آب کمتری در ساختار فیلم می‌شود.

نفوذپذیری به بخار آب یکی از مهمترین ویژگی‌های فیلم‌های خوراکی است که می تواند تحت تاثیر عوامل مانند یکپارچگی فیلم، نسبت هیدروفوب، نسبت بلوری و آمورف و ضخامت باشد (۱۹). نفوذ پذیری به بخار آب فیلم‌ها برای جلوگیری از انتقال جرم از غذا با محیط اطراف مهم است. قنبرزاده و همکاران (۲۰) گزارش داد که نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های نشاسته / CMC با افزایش محتوای CMC مورد استفاده برای بهبود ساختار فیلم‌ها کاهش می‌یابد. بهبهانی و اصلاحی (۲۱) به نتایج مشابهی در خصوص حفظ رطوبت در نمونه‌های خرمای کبکاب پوشش داده شده با متیل سلولز دست یافتند و گزارش کردند که در نمونه‌های خرمای پوشش داده شده، با افزایش میزان متیل سلولز میزان رطوبت بیشتری داشتند، این امر موید نقش مقابله با نفوذپذیری به بخار آب متیل سلولز بود. در سایر پژوهش‌ها محققین به بالاتر بودن میزان نفوذپذیری متیل سلولز نسبت به نشاسته ذرت و نشاسته برنج و پروتئین آب پنیر اشاره کرده‌اند (۲۲و۲۳). طبیعت آبدوست مولکول‌های نشاسته سبب جذب آسان آب توسط فیلم می گردد؛ که هرچه میزان آمیلوز نشاسته در قیاس با میزان آمیلوپکتین آن بالاتر باشد، سبب نفوذپذیرتر شدن فیلم تشکیل شده در برابر آب می گردد (۲۴).

با توجه به آنالیز داده‌های بدست آمده از آزمون ازدیاد طول می توان نتیجه گرفت که افزایش متیل سلولز و کنسانتره پروتئین آب پنیر روندی افزایش وسپس کاهشی را ایجاد می‌نماید. دلیل این پدیده احتمالا بخاطر ثابت ماندن غلظت پلاستیسایزر گلیسرول در فرمول است؛ بدین صورت که افزایش میزان پروتئین و متیل سلولز تا حدی که نرم کننده توانایی ایجاد حالت کشسانی را در شبکه ایجاد می‌نماید سبب افزایش درصد ازدیاد طول گردیده اما با افزایش غلظت متیل سلولز و پروتئین آب پنیر از یک حد بحرانی سبب ایجاد حالت خشک و شکننده در ساختار شبکه گردیده و حالت کشسانی فیلم را بشدت کاهش داده بود. از سوی دیگر افزایش میزان نشاسته نیز در غلظت‌های کم پروتئین بکار رفته تا حدی سبب ایجاد حالت ژله ای و نرم در فیلم را ایجاد می-نمود اما افزایش غلظت پروتئین سبب خشک شدن فیلم گردیده، از سوی دیگر خود نشاسته حالت جاذب الرطوبه داشته و در غلظت‌های بالا باعث از دست رفتن شبکه فیلم گردیده است، به عبارت دیگر گرچه فیلم رطوبت بالاتری دارد اما این رطوبت باعث تضعیف شبکه فیلم گشته است.

نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری نیروی لازم برای پارگی فیلم حاکی از آن است که استفاده از بیشترین غلظت متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت سبب افزایش میزان نیروی لازم برای پاره شدن نمونه‌های فیلم شد، این پدیده احتمالا بدلیل افزایش ضخامت فیلم در نتیجه افزایش غلظت مواد بکار رفته در فرمولاسیون فیلم و کمک به حفظ بهتر ساختار شبکه فیلم می‌شود. نتایج حاصل از آزمون نیروی لازم برای پاره شدن با نتایج حاصل از پژوهش چوی و هان (۲۳) و کروچتا و همکاران (۲۲) مطابقت داشت که افزایش میزان متیل سلولز، پروتئین آب پنیر و نشاسته برنج و ذرت را سبب افزوده شدن میزان نیروی لازم برای پاره شدن فیلم دانستند. با نتیجه‌گیری کلی از نتایج پژوهش‌های اخیر می‌توان دریافت افزودن متیل سلولز بیشترین تاثیر را بر میزان نیروی لازم برای پاره شدن فیلم دارد و پس از آن پروتئین آب پنیر و در جایگاه آخر نشاسته نقش کمتری داشته است.

شفافیت یکی از خصوصیات نوری مشترک فیلم‌ها است. جذب نور توسط فیلم‌ها می‌تواند به عنوان یک مزیت برای غذاهای بسته بندی شده باشد زیرا باعث کاهش واکنش‌های شیمیایی ناخواسته مانند اکسیداسیون لیپید و از

www.SID.ir

Archive of SID

دست دادن ارزش تغذیه‌ای است. پذیرش فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی را می‌توان تحت تاثیر تغییرات نامطلوب در ویژگی‌های رنگ آن قرار داد. استفاده از متیل سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته ذرت سبب افزایش شدت رنگ فیلم خوراکی شد، دلیل آن را می‌توان بعلت افزایش ضخامت فیلم در نتیجه افزایش غلظت ترکیبات بکار رفته در آن و نیز سفید رنگ شدن فیلم بخاطر استفاده از کنسانتره پروتئین آب پنیر که در حالت دناتوره رنگ سفید قوی تولید می‌نماید، نسبت داد. مارتینز و همکاران (۲۵) گزارش دادند که مقادیر رطوبت فیلم‌ها ممکن است انعکاس نور بر روی سطح فیلم را تغییر دهند (مقادیر A *) که منجر به فیلم با قرمزی کمتر شود. قنبرزاده و همکاران (۲۰) بهبود خواص اپتیکی و کاهش زردی را با افزودن CMC به فیلم نشاسته گزارش کردند.

بر اساس استاندارد سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و داروی آمریکا، تعداد پروبیوتیک‌ها در ماده غذایی حامل آن در لحظه مصرف حداقل باید (10^6 CFU/g) باشد. فارز و همکاران (۲۶) *لاکتوباسیلوسپلانتاروم* را با آلژینات سدیم، زانتان، کیتوزان و کلریدکلسیم به روش اکستروژن و خشک کردن انجمادی ریزپوشانی کردند و میزان زنده-مانی باکتری ریزپوشانی شده را در دماها و زمآن‌ها ی مختلف بررسی کردند. نتایج بررسی نشان داد که ساختار ریزپوشانی شده با صمغ زانتان، آلژینات سدیم و کیتوزان به علت تشکیل ماتریس سنگین‌تر و قطر بیشتر، می‌تواند محافظت بیشتری از باکتری در برابر اعمال دماهای بالا ایجاد کند. موسیلی (۲۷)، اثرات دما و زمان فرآیند حرارتی بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس* ریزپوشانی شده با صمغ عربی و پروتئین آب پنیر و صمغ عربی و پروتئین سویا را بررسی و نشان دادند که پوشش صمغ عربی به تنهایی نمی‌تواند محافظت کافی را در برابر اعمال دماهای بالا ایجاد کند به‌گونه‌ای که پوشش پروتئین آب پنیر و صمغ عربی کارایی بیشتری در محافظت باکتری در برابر فرآیند حرارتی نسبت به دو ترکیب دیگر، نشان داد که دناتوره شدن پروتئین آب پنیر در دماهای بالا می‌تواند علت این پدیده باشد. محققین دیگری به نقش مدت زمان ماندگاری در کاهش زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک و بخصوص *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* اشاره کرده اند؛ سخاوتی زاده و همکاران (۲۸) به تاثیر مدت زمان نگهداری در زنده‌مانی باکتری‌های ریزپوشانی شده *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* پرداخته و به نتایج مشابهی دست یافتند. طبیعی است که افزایش مدت زمان نگهداری از یک سو و اتمام منابع غذایی برای باکتری و خشک شدن شبکه فیلم از سوی دیگر زنده‌مانی باکتری را تحت الشعاع قرار داد و میزان زنده‌مانی باکتری به مرور کاهش یافت. احتمالا با افزایش میزان متیل‌سلولز، کنسانتره پروتئین آب پنیر در فرمول، بدلیل حفظ رطوبت و نرمتر شدن پوشش و قابلیت دسترسی بهتر به منبع پروتئینی، میزان زنده-مانی باکتری کمی افزایش یافته است. کانمانی و لیم (۱۹) به نتایج مشابهی در خصوص زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در دوره زمانی ۲۰ روزه دست یافتند و گزارش کردند که تاثیر افزایش میزان زنده‌مانی باکتری‌ها در محیط یخچال به دلیل کاهش متابولیسم باکتری در دمای یخچال بود. سایر محققین به تاثیر فاکتورهای تنش زا از قبیل اکسیژن مولکولی، رطوبت، دما بر میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک اشاره نموده‌اند. سوکولیس و همکاران (۲۹) نیز طی پژوهش خود بر روی پایداری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در فیلم خوراکی به نتایج مشابهی دست یافتند و نشان دادند که در فیلم‌های پروبیوتیک حاوی اینولین، ژلاتین و دکسترین گندم اولیگوساکاریدهای گلوکوز و پلی دکستروز باکتری در طول مدت زمان نگهداری ۲۵ روز به میزان تقریبی ۳۰ تا ۴۰ درصد کاهش زنده‌مانی داشته است. این محققین همچنین به نقش کاهش دما از ۲۵ به ۴ °C ، در زنده مانی بیشتر باکتریه‌ای پروبیوتیک اشاره داشته اند.در مطالعه پریراو همکاران (۳۰) پایداری میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک *Bifidobacterium animalis Bb-12* و *Lactobacillus casei*-01 در فرمولاسیون‌های فیلم‌های خوراکی بر اساس ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) بررسی شد. کاهش زنده مانی سلول باکتری در حدود ۳ سیکل لگاریتمی (تا رسیدن به 10^6 CFU/g) طی ۶۰ روز در هر دو باکتری در دماهای ۲۳ و ۴ °C دیده شد و

www.SID.ir

Archive of SID

در هر دو باکتری به ترتیب ۱ و۲ سیکل لگاریتمی کاهش در دمای ۴ °C تا پایان ذخیره سازی دیده شده‌است. که نتایج حاصل نشان می‌دهد ایزوله پروتئین آب پنیرمی‌تواند به عنوان حاملی مناسب به منظورمحافظت بیشتراز پروبیوتیک‌ها باشد. در تحقیق ابراهیمی و همکاران قابلیت زیستی چند سویه پروبیوتیک شامل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در فیلم خوراکی برپایه کربوکسی متیل سلولز در دو دمای ۴ °C و ۲۵°C (محیط) طی دوره ۴۲ روزه نگهداری، بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد در صد افت پروبیوتیک‌ها در دمای ۴ °C به ترتیب ۱۸/۹۳، ۳۲/۸۸، ۲۲/۵۷ و ۴۰/۰۴ درصد در پایان دوره نکهداری بوده است.در این مطالعه معلوم شد که باکتری‌های پروبیوتیک در دمای ۴ °C زنده‌مانی بیشتری نسبت به پروبیوتیک‌های نگهداری شده در دمای محیط دارند. و فیلم خوراکی بر پایه کربوکسی متیل-سلولز می‌تواند حامل خوبی برای انتقال پروبیوتیک‌ها در بسته بندی مواد غذایی به هنگام نگهداری در یخچال باشد (۳۱).

نتیجه گیری

در مجموع تحقیق حاضر به معرفی نمونه‌ای جدید از فیلم خوراکی پروبیوتیک برای استفاده در مواد غذایی پرداخته است. بدین منظور استفاده از ۲/۰۸ درصد از متیل-سلولز و ۲/۱۳ درصد از کنسانتره آب پنیر و ۱/۱۴ درصد از نشاسته ذرت، می‌توان محصولی بهینه با سطح مطلوبیت ۰/۷۴ تولید کرد که دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مناسب باشد.

منابع

1. Jayasekara, R., et al., Preparation, surface modification and characterisation of solution cast starch PVA blended films. Polymer testing, ۲۰۰۴. ۲۳(۱): p. ۲۷-۱۷.
2. Artharn, A., T. Prodpran, and S. Benjakul, Round scad protein-based film: storage stability and its effectiveness for shelf-life extension of dried fish powder. LWT-Food Science and Technology, ۲۰۰۹; ۴۲(۷): ۱۲۴۴-۱۲۳۸
3. Tavera-Quiroz, M.J., et al., Green apple baked snacks functionalized with edible coatings of methylcellulose containing Lactobacillus plantarum. Journal of Functional Foods, ۲۰۱۵; ۱۶: ۱۷۳-۱۶۴
4. Embuscado, M.E. and K.C. Huber, Edible films and coatings for food applications. Vol. ۹. ۲۰۰۹: Springer.
5. Soukoulis, C., et al., Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. Food hydrocolloids, ۲۰۱۶; ۵۲:۸۸۷-۸۷۶
6. deWit, J.N. and G. Klarenbeek, Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins . Journal of Dairy Science, ۱۹۸۴. ۶۷(۱۱): p. .۲۷۱۰-۲۷۰۱
7. Perez-Gago, M., et al., Effect of solid content and lipid content of whey protein isolate-beeswax edible coatings on color change of fresh-cut apples. Journal of food science, ۲۰۰۳. ۶۸(۷); ۲۱۹۱-۲۱۸۶
8. Ebrahimi, B., et al., Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. LWT, ۲۰۱۸; ۸۷: ۶۰-۵۴
9. Tripathi, M.K. and S.K. Giri, Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. Journal of functional foods, ۲۰۱۴. ۹: p. .۲۴۱-۲۲۵
10. Doron, S., D.R. Snydman, and S.L. Gorbach, Lactobacillus GG: bacteriology and clinical applications. Gastroenterology Clinics, ۲۰۰۵; ۳۴(۳): ۴۹۸-۴۸۳
11. Gardiner, G.E ,et al., Oral administration of the probiotic combination *Lactobacillus rhamnosus* GR- ۱and L. fermentum RC- ۱۴for human intestinal applications. International Dairy Journal, ۲۰۰۲; ۱۲(۳-۲): ۱۹۶-۱۹۱
12. Ojagh, S.M., et al., Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food chemistry, ۲۰۱۰; ۱۲۰(۱): ۱۹۸-۱۹۳
13. Taqi, A., et al., Effect of different concentrations of olive oil and oleic acid on the mechanical properties of albumen (egg white) edible films. African Journal of Biotechnology, ۲۰۱۱; ۱۰(۶۰): ۱۲۹۷۲-۱۲۹۶۳
14. Ghanbarzadeh, B. and H. Almasi, Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. International journal of biological Macromolecules, ۲۰۱۱; ۴۸(۱): ۴۹-۴۴

www.SID.ir

Archive of SID

15. Kokoszka, S., et al., Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. Innovative Food Science & Emerging Technologies, ۲۰۱۰; ۱۱(۳): ۵۱۰–۵۰۳

16. Gounga, M.E., S–.Y. Xu, and Z. Wang, Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. Journal of Food Engineering, ۲۰۰۷; ۸۳(۴): ۵۳۰–۵۲۱

17. Amankwaah, C., Incorporation of selected plant extracts into edible chitosan films and the effect on the antiviral, antibacterial and mechanical properties of the material. ۲۰۱۳, The Ohio State University.

18. Ozdemir, M. and J.D. Floros, Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. Journal of Food Engineering, ۲۰۰۸; ۸۶(۲): ۲۲۴–۲۱۵

19. Kanmani, P. and S.T. Lim, Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. Food chemistry, ۲۰۱۳; ۱۴۱(۲): ۱۰۴۹–۱۰۴۱

20. Ghanbarzadeh, B., H. Almasi, and A.A. Entezami, Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. Innovative food science & emerging technologies, ۲۰۱۰; ۱۱(۴): ۷۰۲–۶۹۷

۲۱. بهبهانی ل. و اصیلی م. تأثیر پوشش خوراکی متیل سلولز بر خصوصیات کیفی و میکروبی خرمای کبکاب. نوآوری در علوم و فناوری غذایی. ۱۳۹۷، ۱۰(۳):۳۱–۴۰.

22. Krochta, J.M., Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. Protein-based films and coatings, ۲۰۰۲; ۱:۴۰–۱ .

23. Choi, W.S. and J.H. Han, Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films. Journal of Food Science, ۲۰۰۱; ۶۶(۲): ۳۲۲–۳۱۹

24. Stading, M., Å. Rindlav-Westling, and P. Gatenholm, Humidity-induced structural transitions in amylose and amylopectin films. Carbohydrate polymers, ۲۰۰۱; ۴۵(۳): ۲۱۷–۲۰۹.

25. Martins, J.T., et al., Synergistic effects between κ-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. Food Hydrocolloids, 2012; (2)29۲۸۹–۲۸۰ :.

26. Fareez, I.M., et al., Chitosan coated alginate–xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of Lactobacillus plantarum LAB۱۲. International journal of biological macromolecules, ۲۰۱۵; ۷۲: ۱۴۲۸–۱۴۱۹

27. Mosilhey, S.H., Influence of different capsule materials on the physiological properties of microencapsulated Lactobacillus acidophilus. ۲۰۰۳, Universitäts-und Landesbibliothek Bonn.

۲۸. سخاوتی زاده س, لاری م ا. و قیصری ح. ارتقا خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس به وسیله ریز پوشانی اکستروژن دولایه با آلژینات سدیم و صمغ زودو. مجله علو و صنایع غذایی. ۲۰۱۸، ۲۰(۱۸): ۸۷۸۷–۲۰۰۸.

29. Soukoulis, C., et al., Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in prebiotic edible films. Food Chemistry, ۲۰۱۴; 159: ۳۰۸–۳۰۲ .

30. Pereira, J.O., et al., Edible films as carrier for lactic acid bacteria. LWT, ۲۰۱۶; ۷۳: ۵۵۰–۵۴۳.

۳۱. ابراهیمی, ب., محمدی، ر.، مرتضویان، س. ا م.، شجاعی علی آبادی، س.۱۳۹۷. افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به فیلم خوراکی بر پایه کربوکسی متیل سلولز وانذازه کیری میزان زنده مانی در دو دمای یخچالی و محیط. تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/ جلد ۱۷/ شماره ۶۵/ تابستان ۹۰

www.SID.ir

Archive of SID

Optimization formula of compound edible film (methyl cellulose, corn starch and whey powder) containing probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* (GG) *by* using response surface methodology

Roya Amiri Qandashtani[1], **Esmaeil Ataye Salehi**[*1], Ali Mohamadi Sani[1], Masoomeh Mehraban Sangatash[2], Omid Safari[3]

[1] Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
[2] Department of Food Quality and Safety Research, Food Science and Technology Research Institute, ACECR Khorasan Razavi Branch, Mashhad, Iran.
[3] Department of Fishery, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Abstract

In this study the composite edible films consist of methylcellulose (1, 2.5 and 4 percent), whey protein concentrate (2, 4 and 6 percent), corn starch (1, 2 and 3 percent) and glycerol as a softener in concentration Constant (2.5 percent) and *Lactobacillus rhamnosus* (GG) (at $1.5*10^7$ CFU/ml concentration) was produced. The physicochemical tests (thickness, permeability to water vapor, moisture, solubility and color changing) and mechanical properties (percentage of elongation and length of breeding) and the survival rate of *Lactobacillus rhamnosus* (GG) were measured. A viable bacterial study showed that the use of methyl cellulose and whey protein concentrate improved the survival of probiotic bacteria. The results of this study showed that the base formula of the film (methylcellulose concentration of 2.8 percent, whey protein concentrate 2.13 percent and corn starch 1.14 percent) improved the physico-chemical and mechanical properties of the film. The results showed that increasing the percentage Methylcellulose, whey protein and corn starch increased the amount of thickness, moisture, breaking force, color changes and viability of *Lactobacillus rhamnosus* (GG), and decreased solubility and water vapor permeability.

Keywords: Concentrate, Corn Starch, Edible film, Methyl cellulose, Whey Protein

* eatayesalehi@yahoo.com

www.SID.ir