

## بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش خوراکی پروبیوتیک و بررسی خواص فیزیکی و بافتی آن جهت پوشش دهی نبات فراسودمند

نسیم ادیب پور<sup>1</sup>، مرضیه حسینی نژاد<sup>2\*</sup>، ابوالفضل پهلوانلو<sup>3</sup>

1- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

2- دانشیار، گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

3- استادیار، گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: 98/06/12 تاریخ پذیرش: 99/01/16)

### چکیده

در سالهای اخیر، کاربرد پوشش‌های خوراکی به عنوان حامل انتقال ترکیبات فعال زیستی از جمله میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک مورد توجه روزافزون قرار گرفته است. در این پژوهش، بهینه‌سازی فرمولاسیون یک نوع پوشش خوراکی بر پایه کربوکسی‌متیل سلولز و ساکارز به عنوان حامل پروبیوتیک جهت پوشش‌دهی نبات مورد بررسی قرار گرفت. میزان حرکت پوشش روی نبات، مقدار پوشش باقیمانده روی محصول پس از غوطه‌وری و خصوصیات بافتی، چسبندگی و گرانروی محلول پوشش تحت غلظت‌های مختلف کربوکسی‌متیل سلولز و ساکارز با استفاده از روش سطح پاسخ و بر اساس طرح مربع مرکزی مورد بررسی قرار گرفت. فرمولاسیون بهینه برای پوشش دهی کامل نبات با استفاده از غلظت 0/97 درصد کربوکسی‌متیل سلولز، 46/5 درصد ساکارز، همراه با شربت گلوکز و شربت فروکتوز هر کدام به میزان 5 درصد به دست آمد. براساس نتایج، افزایش همزمان غلظت کربوکسی‌متیل سلولز (از 0/8 تا 1/2 درصد) و ساکارز (از 40 تا 50 درصد)، موجب افزایش ضریب قوام محلول پوشش از 9/27 به 82/62 گردید. همچنین کاهش شاخص رفتار جریان با افزایش غلظت کربوکسی‌متیل سلولز و ساکارز در محلول پوشش، بر تشدید رفتار رقیق شونده با برش، تحت تأثیر این عوامل دلالت دارد. براساس نتایج، افزایش غلظت کربوکسی‌متیل سلولز بر گرانروی پوشش (ضریب قوام و شاخص رفتار جریان) از اثر قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با ساکارز برخوردار است. همچنین، با بررسی زنده‌مانی سویه پروبیوتیک طی شش ماه زمان انبارمانی نبات ملاحظه گردید که بیش از 90 درصد باکتری اسپورزای باسیلوس کواگولانس (ATCC PAT-11748) Unique IS-2 در شرایط نگهداری نبات (دمای محیط و مکان خشک) حفظ گردیده است.

کلید واژگان: باسیلوس کواگولانس، پوشش خوراکی، خصوصیات بافتی، کربوکسی‌متیل سلولز، نبات

\*مسئول مکاتبات: m.hosseininezhad@rifst.ac.ir

**1- مقدمه**

امروزه به دلیل گسترش گرایش بسیاری از مصرف کنندگان به رژیم های غذایی گیاه‌خواری و افزایش تعداد افراد دارای محدودیت‌های تغذیه‌ای خاص نظیر عدم تحمل لاکتوز، حساسیت به پروتئین‌های شیر و سطح کلسترول بالا، توجه زیادی به محصولات پروبیوتیک غیرلبنی معطوف گردیده است [1]. بر اساس آمار جهانی، پیش‌بینی می‌شود که بازار پروبیوتیک با افزایش 7 درصدی در نرخ رشد ترکیبی سالیانه (CAGR<sup>1</sup>) تا سال 2023 به ارزش 69/3 میلیارد دلار برسد. لذا نوآوری در بازار برای غذاها، نوشیدنی‌ها و مکمل‌های غذایی فراسودمند حاوی سویه پروبیوتیک، با آگاه‌سازی بیشتر نقش میکروارگانیسم‌ها در ارتقا سلامت و کمک به درمان برخی بیماری‌ها، ایجاد می‌شود [2]. از آنجا که زنده ماندن پروبیوتیک برای اعطای اثرات سلامتی‌بخش بسیار مهم است، تلاش می‌شود تا بقای آنها در طول فرآوری و ذخیره‌سازی مواد غذایی تا زمان مصرف بهبود یا تداوم یابد [1، 3]. پروبیوتیک‌ها ممکن است در بستر ماتریس‌های پلیمری خوراکی که توسط صنعت بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شود، حمل و در دسترس مصرف کننده قرار گیرند [4]. توسعه محصولات فراسودمند، به عنوان حاملین پروبیوتیک‌ها، می‌توانند نقش اساسی در ارتقاء سلامت انسان داشته باشند [5]. به منظور اثر بخشی موثر در سلامت مصرف کننده، مصرف  $10^8$  تا  $10^9$  سلول زنده پروبیوتیک در روز توصیه شده است. در واقع، عوامل متعددی از جمله نوع محیط کشت انتخابی، وضعیت فیزیولوژیکی باکتری‌ها، ماتریس مواد غذایی، pH، دما، فرآیندهای تولید و شرایط ذخیره‌سازی، می‌توانند بر زنده ماندن و رفتار یک میکروارگانیسم در محیط‌های مختلف غذایی تأثیر بگذارد [6، 7]. برای غلبه بر این محدودیت‌ها و افزایش بقای باکتری‌های پروبیوتیک، استراتژی‌های مختلف فن‌آوری پیشنهاد شده و مورد بررسی قرار گرفته است، که مهمترین آنها تلقیح پروبیوتیک‌ها در بستر فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی یا میکرو کپسول شدن آنها در ماتریس‌های پلیمری است [3، 5]. اولین مطالعه در مورد ترکیب پروبیوتیک‌ها در فیلم‌ها و

پوشش‌های خوراکی، توسط تاپیا<sup>2</sup> و همکاران در سال 2007 انجام شد [8].

پوشش‌های خوراکی را می‌توان به عنوان یک فیلم خوراکی با لایه نازک روی سطوح مواد غذایی استفاده کرد. اجزای مورد استفاده در تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی را می‌توان در سه دسته هیدروکلوئیدها، لیپیدها و کامپوزیت‌ها طبقه‌بندی کرد [1]. گروه هیدروکلوئیدها از پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها تشکیل شده است. پلی ساکاریدهای مورد استفاده برای فیلم‌ها و پوشش‌ها، مشتقات سلولز، دکستران، اینولین، آلژینات، کاراگینان، مشتقات نشاسته، مشتقات پکتین، کیتوزان، عصاره جلبک دریایی و گالاکتومانان می‌باشند [1، 9، 10]. فیلم‌ها و پوشش‌های پلی ساکاریدی به‌عنوان موانع اکسیژن، بو و روغن با خواص مکانیکی خوبی عمل می‌کنند، اما مهمترین اشکال آن نفوذپذیری رطوبت به دلیل ویژگی‌های آبگریز آنها بنظر می‌رسد [11]. سلولز ماده اصلی دیواره سلولی در گیاهان است و مشتقات سلولز مانند متیل سلولز<sup>3</sup> و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز<sup>4</sup> معمولاً در فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار گرفته و هر دو از توانایی تشکیل پوشش‌های ژلاتینی پس از اعمال فرآیند حرارتی برخوردار هستند. فیلم‌ها و پوشش‌های بر پایه سلولز و مشتقات آن شفاف، انعطاف‌پذیر، بی بو و بی مزه بوده و این ویژگی‌ها که کاربرد آنها به عنوان حامل‌های پروبیوتیکی را مورد توجه قرار داده است. [12].

نبات جزء آبنبات‌های کریستالی دسته‌بندی شده است که طی فرایند کریستالیزاسیون محلول اشباع شکر تشکیل می‌شود [13]. این شیرین کننده سنتی ایرانی سالانه به مقدار زیادی در کشور مورد مصرف قرار می‌گیرد؛ همچنین از منظر طب سنتی و در تحقیقات بالینی انجام شده، از نبات به منظور تسکین دهنده و عامل درمان برخی از بیماری‌ها بهره گرفته شده است [14]. لذا انجام پژوهش‌های کاربردی در خصوص محصولات فراسودمند و پروبیوتیک بر پایه نبات می‌تواند در ارتقاء سطح ایمنی غذایی و سلامت جامعه موثر قرار گیرد.

با توجه به اینکه فرایند تشکیل کریستال‌های نبات وابسته به وجود حداقل ناخالصی در محلول اشباع آب و شکر و خلوص

2. Tapia

3. Methylcellulose (MC)

4. Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)

1. Compound Annual Growth Rate

دمای محیط سرد گردید. پس از تهیه سری رقت مناسب از سوسپانسیون باکتری، بر روی محیط کشت Nutrient agar کشت سطحی انجام گرفت. پلیت‌ها تا حصول پرگنه‌های قابل مشاهده مدت 24-48 ساعت در شرایط هوازی با دمای 37 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند [15].

## 2-2- آماده‌سازی محلول پوشش

ابتدا بیوپلیمر کربوکسی متیل سلولز، ساکارز، شربت گلوکز، شربت فروکتوز (طبق غلظت‌های مندرج در جدول 1 و مقدار 0/01 درصد از پودر اسپور سویه پروبیوتیکی باسیلوس کواگولانس (معادل  $10^{10}$  cfu/g باکتری به ازای هر گرم محلول پوشش) با استفاده از همزن مغناطیسی با دور بالا (1000 دور بر دقیقه)، در محیط آبی کاملاً مخلوط شدند. محلول آماده شده جهت آب-گیری کامل تحت همزدن با دور پایین (200 دور بر دقیقه) در دمای محیط (25 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفته و حداقل 12 ساعت به محلول پوشش زمان داده شد. پس از حصول اطمینان از هیدراته شدن کامل اجزای فرمولاسیون و رسیدن به محلولی شفاف و یکنواخت، نبات‌ها به روش غوطه‌وری پوشش‌دهی و به دستگاه خشک کن منتقل شدند.

## 2-3- سنجش وزن پوشش بارگذاری شده روی

### نبات

جهت سنجش این عامل، سر نی‌نبات‌ها به اندازه یک سانتی‌متر وارد محلول پوشش شده و پس از خروج از محلول و چکه کردن مازاد پوشش از روی آن، مقدار پوشش باقی‌مانده روی نبات به صورت وزنی (بر حسب گرم) تعیین گردید.

## 2-4- سنجش رفتار جریان فرمولاسیون‌های

### پوشش

با توجه به نقش اثرگذار گرانیوی محلول پوشش در تعیین یکنواختی و ضخامت پوشش نهایی و همچنین میزان میکروارگانیزم بارگذاری شده روی محصول، رفتار جریان محلول‌های پوشش‌دهی در حمام آب 30 درجه سانتی‌گراد به کمک گرانیوی سنج بروکفیلد مدل DV-III ULTRA و دوک SC4-27 ساخت کشور آمریکا در محدوده نرخ برشی 1-50 (بر ثانیه) بررسی گردید. همچنین به منظور مقایسه رفتار جریان این

بالای این محلول می‌باشد، اضافه کردن میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک و یا ترکیبات مغذی جدید به بافت نبات میسر نمی‌باشد. در نتیجه تنها استفاده از پوشش‌های خوراکی حامل ترکیبات مورد نظر، راه حل مناسبی برای تولید نبات فراسودمند به نظر می‌رسد. در تحقیق ادیب‌پور و همکاران، 2019، تولید نبات پروبیوتیک با استفاده از تلقیح سویه‌های پروبیوتیک در پوشش خوراکی بر پایه کربوکسی‌متیل سلولز و پوشش‌دهی نبات مورد بررسی قرار گرفت [14]. در پژوهش فوق انتخاب کربوکسی‌متیل سلولز با هدف دستیابی به بالاترین میزان شفافیت پوشش بر روی محصول و عدم ایجاد کدورت پس از انحلال آن در نوشیدنی صورت پذیرفت. نتایج حاصل از آزمون‌های سنجش کدورت محصول پس از انحلال در آب، ارزیابی حسی محصول، اندازه-گیری میزان رطوبت، فعالیت آبی و میزان خاکستر محصول پس از تولید و همچنین بررسی زنده‌مانی سویه پروبیوتیک حین تولید محصول، حاکی از تولید موفقیت آمیز نبات فراسودمند بود [14]. در پژوهش حاضر، نحوه‌ی دستیابی به فرمولاسیون بهینه پوشش خوراکی بر پایه کربوکسی‌متیل سلولز به‌عنوان حامل سویه پروبیوتیکی به منظور تولید نبات فراسودمند مورد ارزیابی قرار گرفته و خصوصیات بافتی پوشش و همچنین پایش زنده‌مانی سویه پروبیوتیکی پس از تولید محصول بررسی می‌گردد.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد خام، سویه باکتری و شرایط کشت

نبات مورد استفاده در این پژوهش به شکل نی نبات آماده از خط تولید شرکت سحرخیز، کربوکسی‌متیل سلولز از شرکت AGC کشور چین، شربت گلوکز از شرکت گلوکز نمونه توس، شربت فروکتوز از شرکت زر فروکتوز و شکر (ساکارز) از مراکز خرید مواد غذایی تهیه شدند. همچنین محیط کشت Nutrient agar از شرکت مرک آلمان و سویه باسیلوس کواگولانس Unique Biotech (ATCC PAT-11748) IS-2 از شرکت Biotech واقع در حیدرآباد هند سفارش و دریافت گردید.

به منظور شمارش تعداد اولیه باکتری در پودر، مقدار یک گرم از پودر حاوی اسپور در 9 میلی‌لیتر بافر رینگر حل شده. سپس جهت فعال‌سازی اسپورهای باسیلوس به مدت 10 دقیقه در حمام آب با دمای 90-95 درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و بلافاصله تا

تلقیح اولیه باکتری پروبیوتیک در محلول پوشش به میزان 0/01 درصد، معادل با  $10^{10}$  cfu/g در هر گرم محصول (به صورت اسپور) صورت گرفته و نبات‌های حاوی پوشش پروبیوتیک پس از بسته‌بندی در پلاستیک‌های تک نفره، به مدت 6 ماه در مکان خشک و دمای محیط (حدود 30 درجه سانتی گراد) نگهداری شدند ارزیابی زنده‌مانی سویه پروبیوتیک طی مدت 6 ماه در فواصل زمانی یک ماهه صورت پذیرفت. بدین منظور مقدار یک گرم از نبات پوشش‌دهی شده حاوی سویه پروبیوتیک در 9 میلی‌لیتر رینگر بافر حل و پس از فعال‌سازی اسپور (مطابق روش بخش 1-2)، زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در محیط کشت Nutrient agar در دمای 37 درجه سانتی‌گراد پس از 24-48 ساعت بررسی گردید [15].

## 2-2- طراحی مدل سطح پاسخ در بهینه‌سازی

### فرمولاسیون پوشش

بهینه‌سازی فرمولاسیون محلول پوشش جهت پوشش‌دهی نبات با استفاده از روش سطح پاسخ<sup>3</sup> (RSM) بر اساس طرح مربع مرکزی<sup>4</sup> با 5 تکرار در نقطه مرکزی و بررسی تأثیر خطی و متقابل فاکتورهای غلظت کربوکسی‌متیل سلولز و ساکارز بر فرمولاسیون پوشش با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه 10 صورت گرفت. (Y) چسبندگی محلول پوشش (نیوتن)، چکه کردن پوشش از روی نبات (پس از غوطه وری 1 سانتی‌متر از آن در محلول پوشش، براساس گرم) و حرکت پوشش روی نبات در دمای محیط در حین خشک شدن (سانتی‌متر) تحت تأثیر دو متغیر مستقل مقدار کربوکسی‌متیل سلولز ( $X_1$ ) و محتوای شکر (ساکارز) ( $X_2$ ), در سه سطح، ارزیابی گردید. با توجه به غلظت ثابت اجزای شربت گلوکز و شربت فروکتوز (5 درصد) که با هدف افزایش جلای پوشش محصول مورد استفاده قرار گرفتند، از وارد کردن آن‌ها در بهینه‌سازی فرمولاسیون صرف نظر شد. برای هر یک از پاسخ‌های مورد ارزیابی نیز بر اساس آنالیز انجام شده، یک مدل چند متغیره (معادله 1) تعریف گردید که در این مدل ها  $\beta_0$  ضریب ثابت،  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  ضرایب خطی،  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$  اثرات مربعی و  $\beta_{12}$  اثرات متقابل می‌باشند.

معادله (1)  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$

جدول 1 تیمارهای اعمال شده در این پژوهش را نشان می‌دهد.

محلول‌ها، ضریب قوام (K) و شاخص رفتار جریان (n) آن‌ها، براساس قانون توان<sup>1</sup> (معادله 2) مورد ارزیابی قرار گرفت [16].

$$\eta = K \gamma^{n-1}$$

معادله (2)

$\eta$ : ویسکوزیته، K: ضریب قوام،  $\gamma$ : نرخ برش، n: شاخص رفتار جریان.

## 2-5- آزمون روزن‌رانی برگشتی<sup>2</sup> در فرمولاسیون

### پوشش

خصوصیات بافتی محلول پوشش‌های تولید شده، به کمک دستگاه TA.XT plus Texture Analyser (Stable Micro Systems) و آزمون روزن‌رانی برگشتی، ارزیابی گردید. در این آزمون محلول‌های پوشش در ظروف پلاستیکی استوانه‌ای شکل با ارتفاع 10 سانتی‌متر و قطر سطح مقطع 5 سانتی‌متر (تا ارتفاع 38 میلی‌متر) ریخته شد. سپس میزان مقاومت در برابر ورود کاونده (با سطح مقطع 4 سانتی‌متر و ضخامت 5 میلی‌متر) با سرعت 0/83 (میلی‌متر بر ثانیه) به داخل نمونه و خروج از آن اندازه‌گیری گردید [16, 17].

## 2-6- بررسی مقاومت باکتری پروبیوتیک در

### برابر فرایند خشک شدن پوشش روی محصول

نبات‌ها پس از فرایند پوشش‌دهی جهت خشک شدن، در خشک کن کابینی به همراه جریان هوا با دمای 30 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فرایند خشک شدن حداقل به مدت 10 ساعت تا رسیدن فعالیت آبی به کمتر از 0/7 ادامه یافت. پس از خشک شدن کامل پوشش روی محصول، زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک با استفاده از روش ارائه شده توسط ورکامن و همکاران (2012) با کمی تغییرات، مورد سنجش قرار گرفت. بدین منظور مقدار یک گرم از نبات حاوی پوشش پروبیوتیک در 9 میلی‌لیتر رینگر بافر حل و پس از فعال‌سازی اسپور (مطابق روش بخش 1-2)، زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در محیط کشت Nutrient agar در دمای 37 درجه سانتی‌گراد طی 24-48 ساعت بررسی گردید [15].

## 2-7- تعیین زنده‌مانی باکتری در مدت ماندگاری

### محصول

3. Response Surface Methodology (RSM)

4. Central composite design

1. Power law

2. Back extrusion

**Table 1** Responses for carboxymethyl cellulose-based edible coatings

Standard Order of Run	Factor 1 CMC concentration	Factor 2 Sucrose concentration	Response 1 Dripping the coating (g)	Response 2 Movement of the coating (cm)	Response 3 Adhesion of coating (N)
4	1.2	50	0.98	2.5	0.879
13	1	45	1.2	5.8	0.223
2	1.2	40	0.94	3.5	0.466
1	0.8	40	0.28	4	0.17
8	1	50	1.4	4.5	0.378
11	1	45	0.99	7	0.276
5	0.8	45	0.62	5.3	0.205
3	0.8	50	1.11	4.6	0.374
6	1.2	45	1	3.2	0.545
7	1	40	0.87	6.5	0.207
12	1	45	1.15	6.5	0.269
10	1	45	1.25	5.6	0.249
9	1	45	1.11	6.1	0.214

سلولز با غلظت ساکارز ( $X_1X_2$ )، اثر درجه دوم غلظت کربوکسی متیل سلولز ( $X_{11}$ ) و اثر درجه دوم غلظت ساکارز ( $X_{22}$ ) به کمک مدل متغیره درجه دوم پیش بینی شدند. ارزیابی تناسب تمامی مدل‌های حاصل از پاسخ‌های ذکر شده در بخش مواد و روش در جدول 2 به اختصار نشان داده شده است.

میزان چسبندگی محلول پوشش یکی از فاکتورهای مهم در فرایند غوطه‌وری ماده غذایی و پوشش‌دهی موفق آن بشمار می‌رود [19]. در این پژوهش، چسبندگی فرمول‌های پوشش به کمک آزمون روزن‌رانی برگشتی بررسی گردید (شکل 1-A). نتایج نشان داد که متغیرهای مستقل درصد کربوکسی متیل سلولز و درصد شکر هر کدام به تنهایی بر میزان چسبندگی محلول پوشش در سطح 5 درصد معنی‌دار بوده و افزایش غلظت هر یک از این دو متغیر موجب افزایش چسبندگی پوشش شده است. همچنین طبق بررسی صورت گرفته اثر متقابل درصد کربوکسی متیل سلولز و درصد ساکارز بر چسبندگی در سطح 5 درصد دارای تأثیر معنی‌دار است (جدول 2). نهایتاً مدل چند متغیره درجه دوم (معادله 3) جهت پیش‌بینی اثر متغیرهای مستقل غلظت کربوکسی متیل سلولز ( $X_1$ )، غلظت ساکارز ( $X_2$ )، اثر متقابل غلظت کربوکسی متیل سلولز با محتوی ساکارز ( $X_1X_2$ ) و همچنین اثرات درجه دوم غلظت کربوکسی متیل سلولز ( $X_1^2$ ) و محتوی ساکارز ( $X_2^2$ ) بر میزان چسبندگی پوشش روی محصول برآورد گردید. ارزیابی ضعف برآزش در کنار ضریب همبستگی

علاوه بر بهینه‌سازی فرمولاسیون، تأثیر غلظت ترکیبات موجود در فرمولاسیون بر رفتار جریان و خصوصیات فیزیکی مواد از طریق مقایسه میانگین‌ها و آزمون دانکن در سطح 95 درصد با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه 9/1) بررسی گردید.

### 3- نتایج و بحث

#### 3-1- بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش جهت

##### پوشش‌دهی نبات

ارزش جدول تحلیل آماری بهینه‌سازی در بخش آنالیز واریانس را متغیر ضعف برآزش تعیین می‌کند؛ که نشان دهنده مناسب یا نامناسب بودن مدل مهیا شده برای هر پاسخ است. علاوه بر این، هرچه مقدار مطلق  $F$ ، بزرگتر و مقدار  $P$  کوچکتر باشد عملکرد مدل در میزان معنی‌داری پاسخ‌ها بیشتر خواهد بود [18]. بر این اساس مدل درجه دوم، برای پیشگویی رفتار پاسخ‌ها و اثرات متقابل پارامترهای متغیر، مدل مناسبی شناخته شد. در مدل‌های گزینش شده نیز معنی‌دار نبودن آزمون عدم برآزش برای هیچ یک از صفات اندازه‌گیری شده ( $P < 0/05$ ) حاکی از تفسیر مناسب روند تغییر داده‌ها توسط مدل‌های انتخابی بنظر می‌رسد. مقادیر ضریب تبیین متناسب و قابل قبول در پاسخ‌های مورد استفاده در این پژوهش معیاری از صحت درجه تناسب مدل برآزش یافته است. نهایتاً اثر متغیرهای مستقل غلظت کربوکسی متیل سلولز ( $X_1$ )، غلظت ساکارز ( $X_2$ )، اثر متقابل غلظت کربوکسی متیل

با بررسی اثرات درجه دوم پارامترهای متغیر میزان پوشش باقی-مانده پس از چکه کردن با ضریب همبستگی  $R^2=0/89$  و ضریب تغییرات 12/08 به دست آمد که با ارزیابی ضعف برازش، تناسب مدل مذکور نیز در معادله 4 تأیید گردید.

معادله (4)

$$-18.11 + 25.60 X_1 + 0.22 X_2 - 0.19 X_1 X_2 - 7.97 X_1^2 + 0.00023 X_2^2 = \text{میزان پوشش باقی‌مانده پس از چکه کردن پوشش}$$

براساس آزمون های اولیه غوطه‌ور سازی کامل هر نبات در محلول پوشش و خشک کردن آن به صورت آویزان به شکلی که نی یا چوب نبات به سمت بالا و سر نبات به سمت پایین باشد، از شکل‌گیری پوشش یکنواخت و نازک پس از خشک شدن ممانعت کرده و در صورت خشک کردن نبات ها به صورت ایستاده هم غوطه‌وری کامل نبات موجب ریزش پوشش و آغشته شدن چوب نبات می‌گردد. بنابراین بر اساس پیش تست‌ها، غوطه‌وری به گونه ای انجام شد که 1 سانتی‌متر از سر نبات در پوشش فرو رفته و حرکت پوشش طی مدت فرایند خشک شدن، موجب پوشیده شدن کل نبات بدون آغشته کردن نی آن گردد. از این‌رو میزان حرکت پوشش روی نبات طی خشک شدن، بر اساس سانتی‌متر به عنوان یکی از فاکتورهای موثر در انتخاب فرمول بهینه در نظر گرفته شد. به طور متوسط طول نی- نبات های مورد استفاده در این پژوهش 7 سانتی‌متر است که این عدد به عنوان طول مناسب برای حرکت پوشش روی نبات در نظر گرفته شد. (شکل 1-C). نتایج نشان داد که افزایش متغیر مستقل کربوکسی‌متیل سلولوز تا غلظت 1 درصد بر حرکت پوشش روی نبات تأثیر مثبت داشت؛ اما در غلظت های بالاتر (غلظت‌های بیش از 1 درصد)، افزایش غلظت کربوکسی‌متیل سلولوز موجب کاهش میزان حرکت پوشش بر روی نبات می‌گردد (جدول 2). ارزیابی متغیر مستقل محتوای ساکارز نیز بیانگر عدم تاثیر معنی دار افزایش غلظت این جزء بر حرکت (در سطح 5 درصد) است. به رغم مشاهده روند کاهشی حرکت پوشش در مقابل اثر متقابل درصد کربوکسی‌متیل سلولوز و درصد ساکارز، بر اساس جدول 2 تاثیر این تغییرات در سطح 5 درصد غیرمعنی دار بود. در نهایت جهت پیش‌بینی اثر متغیرهای مستقل، اثر متقابل و همچنین اثرات درجه دوم پارامترهای متغیر بر میزان حرکت پوشش روی محصول، یک مدل چند متغیره درجه دوم (معادله 5) با ضریب

$R^2=0/97$  و ضریب تغییرات 12/23، به خوبی موید تناسب مدل مذکور در معادله 3 است.

معادله (3)

$$10.03 - 9.07 X_1 - 0.28 X_2 - 0.05 X_1 X_2 + 3.83 X_1^2 + 0.0028 X_2^2 = \text{میزان چسبندگی پوشش}$$

با توجه به اینکه پوشش‌دهی نبات در پژوهش حاضر با هدف انتقال سویه پروبیوتیک در بستر پوشش و تولید محصولی فراسودمند صورت گرفته است؛ جمعیت سویه میکروبی در محصول نهایی به منظور برخورداری از ویژگی های پروبیوتیک محصول حائز اهمیت می‌باشد. از جمله عوامل موثر در میزان پوشش بارگذاری شده بر روی نبات می‌توان به چسبندگی پوشش و میزان چکه کردن آن پس از خروج نبات از محلول آبی بکار گرفته شده جهت پوشش آن، اشاره نمود. شکل 1-B میزان پوشش باقی‌مانده روی سطح نبات را نشان می‌دهد.

بر اساس این نتایج، افزایش درصد ساکارز موجب افزایش پوشش باقی‌مانده روی نبات می‌شود؛ همچنین غلظت کربوکسی‌متیل سلولوز تا محدوده 1 درصد سبب باقی ماندن بیشتر پوشش روی محصول گردید؛ این عامل را می‌توان ناشی از کاهش چکه کردن پوشش از روی نبات تحت تأثیر افزایش گرانیوی آن دانست. در حالی‌که با افزایش غلظت کربوکسی‌متیل سلولوز از 1 درصد، میزان پوشش باقی‌مانده روی محصول با کاهش معنی‌داری همراه بود. همانگونه که در جدول 2 مشاهده می‌شود، نتایج ارزیابی هر دو متغیر مستقل به تنهایی در سطح 5 درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل افزایش محتوای کربوکسی‌متیل سلولوز - شکر تا محدوده غلظتی 1 درصد کربوکسی‌متیل سلولوز، مقدار پوشش باقی‌مانده روی محصول را افزایش داده و پس از آن موجب کاهش مقدار پوشش باقی‌مانده گردیده است (این نتایج در سطح 5 درصد معنی‌دار بود). بر اساس مشاهدات، کاهش مقدار وزنی پوشش باقی‌مانده روی نبات در غلظت‌های بالاتر کربوکسی‌متیل سلولوز به علت بارگذاری کمتر ناشی از ویسکوزیته‌ی بالای محلول‌ها در این محدوده‌ی غلظتی بوده و چکه کردن پوشش از سطح نبات تأثیری بر آن نداشته است. به عبارت دیگر در این محدوده غلظتی، همبستگی ساختار ناشی از غلظت بالای کربوکسی‌متیل سلولوز در محلول پوشش موجب شده پس از خروج نبات از محلول، مقدار پوشش کمتری روی آن قرار گیرد.



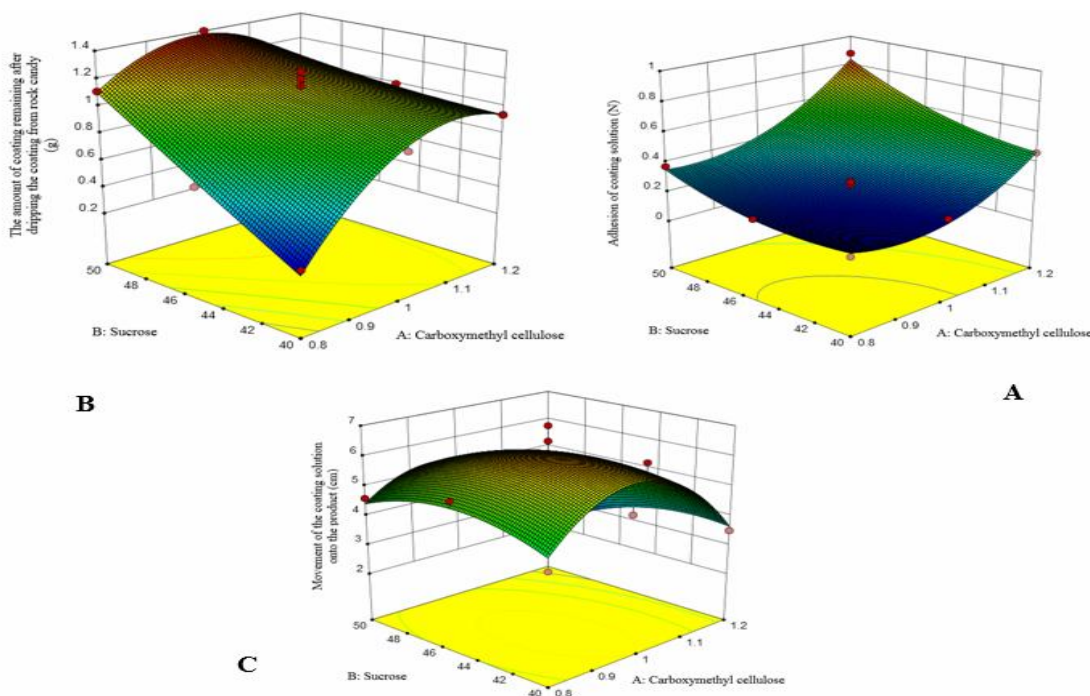
$$-104.62 + 109.16 X_1 + 2.66 X_2 - 0.4 X_1 X_2 - 47.54 X_1^2 - 0.02 X_2^2$$

= میزان حرکت پوشش روی محصول

همبستگی  $R^2=0/95$  و ضریب تغییرات 8/25 توسعه یافت و پس از ارزیابی ضعف برازش، تناسب آن تأیید گردید.  
(5) معادله

**Table 2** ANOVA analysis and lack of fit test for response surface model for formulation of rock candy coating solution

Source of variation	df	Adhesion of coating solution			Dripping the coating from rock candy			Movement of the coating solution onto the rock candy		
		Equation coefficient	Sum of squares	p Value	Equation coefficient	Sum of squares	p Value	Equation coefficient	Sum of squares	p Value
model	5	10.03	0.45	< 0.0001	-18.11	0.95	0.0002	-104.62	21.39	0.0027
X <sub>1</sub>	1	-9.07	0.22	< 0.0001	25.60	0.14	0.0027	109.16	3.68	0.0156
X <sub>2</sub>	1	-0.28	0.1	0.0001	0.22	0.33	0.0002	2.66	0.96	0.1492
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1	3.83	0.06	0.0005	-7.97	0.28	0.0003	-47.54	9.99	0.0012
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1	0.0028	0.01	0.0261	0.00023	0.00009	0.9087	-0.02	1.17	0.1164
X <sub>12</sub>	1	0.05	0.01	0.0414	-0.19	0.16	0.0019	-0.4	0.64	0.2275
Residual	7		0.01			0.04			2.56	
Lack of fit	3		0.0093	0.1014		0.0077	0.8486		1.30	0.3709
Pure error	4		0.0029			0.03			1.26	
Cor total	12		0.46			0.99			23.95	
R <sup>2</sup>		0.9734			0.8931			0.9527		
Adj- R <sup>2</sup>		0.9544			0.8167			0.9189		
Coefficient of variation		12.23			12.08			8.25		



**Fig 1** Physical properties of coating solutions affected by different concentrations of carboxymethyl cellulose and sucrose

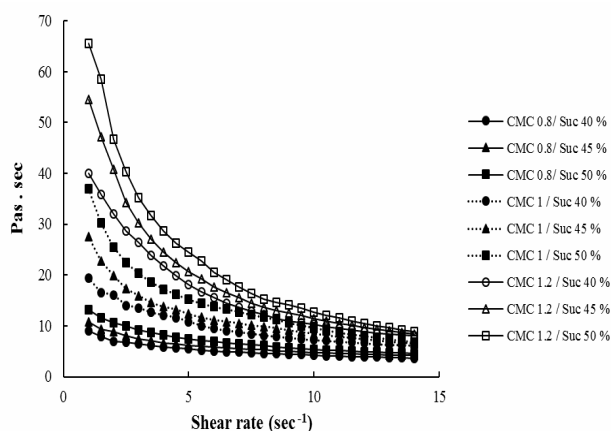
افزایش ویسکوزیته و کاهش میزان بارگذاری پوشش و کند کردن حرکت آن روی محصول در طی خشک شدن، موجب بروز مشکل در روند پوشش دهی گردید. همچنین، افزایش غلظت هر

نتایج به دست آمده حاکی از تأثیر قابل توجه کربوکسی متیل سلولز و ساکارزبر خصوصیات پوشش مورد استفاده است. افزایش بیش از حد غلظت کربوکسی متیل سلولز و ساکارز با

غلظت کربوکسی متیل سلولز بر رفتار جریان پوشش‌ها به مراتب از تأثیر تغییر غلظت ساکارز بیشتر است.

نتایج حاصل از این پژوهش در رابطه با ارزیابی رفتار جریان محلول پوشش‌دهنده، با نتایج مطالعه کنکلا و همکاران مطابقت داشت. Cancela و همکاران (2005) به بررسی خواص رئولوژیکی و تغییر پارمترهای قانون توان محلول‌های سدیم کربوکسی‌متیل سلولز (2-0/5 درصد) به تنهایی و در حضور غلظت‌های مختلف ساکارز (20-40 درصد) در دماهای مختلف (25 تا 40 درجه سانتی‌گراد) پرداختند. این محققین نشان دادند افزایش غلظت ترکیبات موجود در محلول (ساکاروز و کربوکسی متیل سلولز) و افزایش دما به ترتیب موجب افزایش و کاهش گرانیوی محلول‌ها خواهد شد. همچنین شاخص‌های رفتار جریان و ضریب قوام با غلظت ترکیبات رابطه‌ی نمایی چند جمله‌ای و با دما رابطه‌ی خطی دارند [21].

براساس تحقیقات صورت گرفته توسط Ghannam و Esmail (1997) کربوکسی‌متیل سلولز در غلظت‌ها اندک رفتار نیوتنی داشته و در غلظت‌های بالاتر رفتار شبه‌پلاستیک<sup>1</sup>، تیکستروپیک<sup>2</sup> و ویسکوالاستیک<sup>3</sup> از خود نشان می‌دهد [22]. Edali و همکاران (2001) نیز ضمن بررسی رفتار رئولوژیکی محلول‌های کربوکسی‌متیل سلولز در غلظت‌های بالاتر، رفتار غیرنیوتنی و ویسکوالاستیک این محلول‌ها را تأیید کرده‌اند [23].



**Fig 2** Flow behavior of different coating solution formulations based on RSM method to optimize coating formula. CMC: carboxymethyl cellulose. Suc: sucrose.

1. Pseudoplastic
2. Thixotropic
3. Viscoelastic

دو پارامتر متغیر منجر به افزایش فاکتور چسبندگی در محلول پوشش شد. بررسی داده‌های حاصل از 3 فاکتور بررسی شده در تعیین فرمولاسیون بهینه نشان داد، چسبندگی و گرانیوی زیاد محلول پوشش با کاهش قابلیت گسترده شدن پوشش طی فرایند خشک کردن و حرکت نامطلوب آن روی نبات موجب عدم پوشش‌دهی کامل و یکنواخت محصول خواهد شد. در نهایت براساس بررسی نتایج، ترکیب بهینه برای پوشش‌دهی کامل نبات، مشخص گردید. بر این اساس فرمولاسیون بهینه، فرمولی است که حاوی کربوکسی‌متیل سلولز با غلظت 0/97 درصد، ساکارز با غلظت 46/5 درصد، شربت گلوکز و شربت فروکتوز هر کدام با غلظت 5 درصد، باشد.

### 3-2- سنجش رفتار جریان فرمولاسیون‌های

#### پوشش

با توجه به اهمیت گرانیوی در میزان بارگذاری پوشش بر روی نبات و تعیین میزان اثرگذاری اجزاء فرمولاسیون بر رفتار جریان پوشش، گرانیوی فرمولاسیون‌های ارائه شده در جدول 1 در محدوده برشی 1-14 (بر ثانیه) اندازه‌گیری شد (شکل 2) و پس از مطابقت با قانون توان میزان پارامترهای  $K$  و  $n$  مربوط به هر یک از آن‌ها در این محدوده از نرخ‌های برشی برآورد گردید. در این قانون،  $K$  به عنوان ضریب قوام سیال و  $n$  به عنوان شاخص رفتار جریان معرفی شده است. طبق قانون توان، رفتار جریان یک رفتار نیوتنی ( $n=1$ )، بین صفر و یک ( $0 < n < 1$ ) و بیشتر از یک ( $n > 1$ )، به ترتیب نشان‌دهنده رفتار نیوتنی، رقیق‌شونده با برش و غلیظ‌شونده با برش محلول مورد بررسی است. نتایج حاصل از بررسی رفتار جریان 9 پوشش، در شکل 2 و جدول 3 درج شده است. بر اساس نتایج حاصله افزایش غلظت کربوکسی‌متیل سلولز و ساکارز در محلول‌های پوشش موجب افزایش ضریب قوام ( $K$ ) و کاهش شاخص رفتار جریان ( $n$ ) شده است. به عبارت دیگر افزایش غلظت این ترکیبات در فرمول پوشش موجب افزایش گرانیوی و تشدید رفتار رقیق‌شونده با برش در آن‌ها خواهد شد. وقوع این امر عمدتاً ناشی از جهت‌گیری ماکرومولکول‌های کربوکسی‌متیل سلولز در جهت نیروی برشی است [20]. براساس این نتایج، تأثیر تغییرات



**Table 3** Consistency index and fluid flow behavior index for formulations of coating solution

Carboxymethyl cellulose (%)	Sucrose (%)	n (Flow behavior index)	K (Consistency index)
0.8	40	0.66	9.27
	45	0.63	11.12
	50	0.58	14.23
1	40	0.53	21.68
	45	0.46	26.91
	50	0.36	40.82
1.2	40	0.32	50.66
	45	0.24	66.42
	50	0.19	82.62

افزایش محتوای کربوکسی متیل سلولز و ساکارز نقش به سزایی در افزایش ویژگی های بافتی (سختی، چسبندگی، قوام و شاخص ویسکوزیته) حاصل از آزمون روزنرانی برگشتی داشته است. این امر با توجه به تأثیر افزایش غلظت بر تشکیل ساختارهای بیوپلی-مری و تشدید برهمکنش آن ها با یکدیگر، قابل توجیه است [24]. همچنین اثر تشدیدکنندگی در محدوده ی غلظتی 0/8-1 درصد کربوکسی متیل سلولز، بارزتر به نظر می رسد. علاوه بر این مقایسه خواص بافتی پوشش ها حاکی از اثر بیشتر کربوکسی متیل سلولز (در قیاس با ساکارز) بر ویژگی های بافتی نمونه هاست که با توجه به وزن مولکولی بالاتر کربوکسی متیل سلولز نسبت به ساکارز و ساختار هیدروکلوئیدی این ترکیب، این نکته امری قابل پیش بینی است [24، 25].

### 3-3- آزمون روزنرانی برگشتی در فرمولاسیون

#### پوشش

طبق بررسی های صورت گرفته، وارد کردن باکتری پروبیوتیکی در ساختار کریستال نبات جهت تولید نبات فراسودمند امکان پذیر نیست؛ لذا می بایست از یک محلول پوشش دهنده به عنوان حامل سویه پروبیوتیکی جهت تولید نبات پروبیوتیک استفاده نمود [15]. همچنین نظر به پوشش دهی نبات ها به روش غوطه وری، بررسی پارامترهای مرتبط با خواص فیزیکی پوشش، امری ضروری در دستیابی به پوششی با بهترین شرایط است. با توجه به شباهت فرآیند پوشش دهی نبات با آزمون روزنرانی برگشتی، تفاوت خواص فیزیکی پوشش های مختلف (جدول 1) به کمک این آزمون بررسی گردید. طبق نتایج این آزمون،

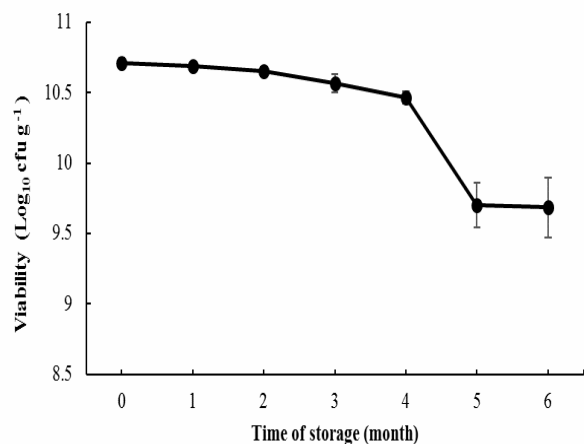
**Table 4** Textural characteristics of different formulations of coating solution

Textural properties*					
Carboxymethyl cellulose (%)	Sucrose (%)	Viscosity index (N s <sup>-1</sup> )	Consistency (N s <sup>-1</sup> )	Adhesiveness (N)	Hardness (N)
0.8	40	3.477 ± 0.462 <sup>h</sup>	7.329 ± 0.056 <sup>h</sup>	0.17 ± 0.002 <sup>g</sup>	0.260 ± 0.002 <sup>l</sup>
	45	5.371 ± 0.002 <sup>g</sup>	8.491 ± 0.072 <sup>g</sup>	0.205 ± 0.006 <sup>f</sup>	0.329 ± 0.009 <sup>g</sup>
	50	11.961 ± 0.002 <sup>e</sup>	15.661 ± 0.182 <sup>e</sup>	0.374 ± 0.003 <sup>d</sup>	0.565 ± 0.001 <sup>e</sup>
1	40	5.208 ± 0.002 <sup>g</sup>	8.703 ± 0.065 <sup>g</sup>	0.207 ± 0.005 <sup>i</sup>	0.314 ± 0.001 <sup>h</sup>
	45	8.306 ± 0.002 <sup>f</sup>	11.683 ± 0.194 <sup>f</sup>	0.263 ± 0.007 <sup>e</sup>	0.411 ± 0.004 <sup>f</sup>
	50	12.978 ± 0.003 <sup>d</sup>	16.299 ± 0.111 <sup>d</sup>	0.378 ± 0.021 <sup>d</sup>	0.580 ± 0.019 <sup>d</sup>
1.2	40	15.247 ± 0.005 <sup>c</sup>	20.928 ± 0.166 <sup>c</sup>	0.466 ± 0.003 <sup>c</sup>	0.694 ± 0.002 <sup>c</sup>
	45	18.395 ± 0.002 <sup>b</sup>	22.257 ± 0.168 <sup>b</sup>	0.545 ± 0.003 <sup>b</sup>	0.755 ± 0.002 <sup>b</sup>
	50	27.216 ± 0.002 <sup>a</sup>	31.283 ± 0.209 <sup>a</sup>	0.879 ± 0.011 <sup>a</sup>	1.249 ± 0.005 <sup>a</sup>

Different letters indicate significant difference between samples ( $P < 0.05$ ). \* Mean ± SD.

در شرایط خشکی، قابلیت تحمل pH پایین و در نتیجه افزایش احتمال عبور موفقیت‌آمیز از معده، اشاره نمود [26]. به طوریکه مطالعات صورت گرفته در زمینه بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیک اسپورزا (سویه‌های مختلف باسیلوس کواگولانس) در محصولات غذایی حاکی از زنده‌مانی بالای باسیلوس کواگولانس در آن‌ها می‌باشد [27-31].

نتایج گزارش شده توسط ادیب‌پور و همکاران در سال 2019 نیز حاکی از زنده‌مانی حدود 90 درصد از باکتری باسیلوس سابتیلیس UBBS-14 تلقیح شده در نبات فراسودمند، طی مدت زمان نگهداری است. همچنین طبق نتایج این محققین نبات پوشش‌دهی شده حاوی سویه پروبیوتیک پس از انحلال در آب گرم هیچ تأثیری بر کدورت آن نداشت و طی آزمون‌های حسی نیز ارزیاب‌ها تفاوت معنی‌داری میان نبات ساده (نمونه شاهد) و نبات فراسودمند ملاحظه نکردند [14].



**Fig 3** Viability of *B. coagulans* Unique IS-2 in coated rock candy at room temperature and dry condition during storage period.

#### 4- نتیجه‌گیری

طی سالهای گذشته، پوشش‌های خوراکی با توجه به قابلیت آن‌ها در افزایش ماندگاری و بهبود خصوصیات ظاهری محصولات غذایی و به عنوان حاملی جهت انتقال و یا افزایش ماندگاری پروبیوتیک‌ها مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته‌اند. در پژوهش حاضر پوشش خوراکی حاوی کربوکسی‌متیل سلولز و ساکارز جهت تولید نبات فراسودمند مورد استفاده قرار گرفت. همچنین فرمول پوشش، براساس میزان بارگذاری و قابلیت

### 3-4- بررسی مقاومت باکتری پروبیوتیک طی خشک کردن و تعیین زنده‌مانی سویه در مدت ماندگاری محصول

نبات به عنوان یک شیرین‌کننده سنتی و حاوی خواص درمانی بویژه در ناراحتی‌های گوارشی، در فرهنگ تغذیه‌ای ایرانیان از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. افزودن باکتری‌های پروبیوتیک از طریق پوشش‌دهی می‌تواند موجب ارتقاء نبات از محصولی سنتی به محصولی فراسودمند را به همراه داشته باشد. از جمله عوامل مؤثر بر زنده ماندن سویه پروبیوتیکی مورد استفاده در نبات، می‌توان به دمای خشک کردن آن اشاره نمود. درجه حرارت محفظه خشک‌کن، بر میزان چکه کردن پوشش از روی محصول تا تکمیل فرایند خشک شدن نیز مؤثر است. لذا با توجه به آزمون‌های مقدماتی به منظور کاهش آسیب وارده به میکروارگانیسم‌ها و عدم بروز اختلال در فرآیند پوشش‌دهی، دمای 30 درجه سانتی‌گراد برای محفظه خشک‌کن انتخاب شد. ارزیابی زنده‌مانی باسیلوس کواگولانس موجود در پوشش، پس از خشک شدن محصول حاکی از عدم تأثیر این فرآیند بر زنده‌مانی آن است. نتایج انتشار یافته (ادیب‌پور و همکاران، 2019) بررسی اثر دماهای مختلف خشک‌کن بر زنده‌مانی سویه پروبیوتیکی باسیلوس سابتیلیس UBBS-14 تلقیح شده در محلول پوشش‌دهنده نبات، نشان داد که این سویه حتی پس از خشک شدن پوشش، تا چندین ساعت در برابر دمای 40 درجه سانتی‌گراد مقاومت نشان داده و زنده‌مانی خود را حفظ کرده است [14].

تولید محصول پروبیوتیکی، مستلزم پایداری باکتری‌های پروبیوتیک موجود در آن برای یک بازه زمانی مشخص است. نتایج بررسی زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک، حاکی از بقای 90/39 درصد از  $10^{10}$  باسیلوس کواگولانس Unique IS-2 تلقیح شده در پوشش بهینه نبات (با فرمولاسیون نهایی شامل کربوکسی‌متیل سلولز با غلظت 0/97 درصد، ساکارز با غلظت 46/5 درصد، شربت گلوکز و شربت فروکتوز هر کدام با غلظت 5 درصد) است (شکل 3). استفاده از اسپور باکتری‌ها به جای فرم رویشی آن‌ها در محصولات پروبیوتیکی از محاسن متعددی برخوردار است. از جمله این موارد می‌توان به مقاومت

- [6] Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Yonekura, L., Parmenter, C., Fisk, I. D. 2014. Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in prebiotic edible films, Food Chemistry. 159, 302–308.
- [7] Hosseini Nezhad, M., Hussain, M. A., Britz, M. L. 2015. Stress responses in probiotic *Lactobacillus casei*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 55(6), 740-749.
- [8] Tapia, M. S., Rojas-Grau, M. A., Rodríguez, E. J., Ramírez, J., Carmona, A., Martín-Belloso, O. 2007. Alginate- and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits, Journal of Food Science. 72, 190–196.
- [9] Valencia-Chamorro, S. A., Palou, L., del Río, M. A., Pérez-Gago, M. B. 2011. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 51, 872–900.
- [10] Suput, D. Z., Lazic, V. L., Popovic, S. Z., Hromis, N. M. 2015. Edible films and coatings-sources, properties and application, Food and Feed Research. 42, 11–22.
- [11] Ramos, O. L., Fernandes, J. C., Silva, S. I., Pintado, M. E., XavierMalcata, F. 2012. Edible films and coatings from whey proteins: a review on formulation, and on mechanical and bioactive properties, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 52, 533–552.
- [12] Romano, N., José Tavera-Quiroz, M., Bertola, N., Mobili, P., Pinotti, A., Gómez-Zavaglia, A. 2014. Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria, Food Research International. 64, 560–566.
- [13] Viclavi, A. V., Christian, E. W. 2008. Essential of food science, In: Sugars, sweeteners and confections, 3th ed., Springer, pp 331-348.
- [14] Adibpour, N., Hosseinezhad, M., Pahlevanlo, A. 2019. Application of spore-forming probiotic *Bacillus* in the production of Nabat-A new functional sweetener, LWT-Food Science and Technology. 108277.
- [15] Vercammen, A., Vivijis, B., Lurquin, I., Michiels, C. W. 2012. Germination and inactivation of *Bacillus coagulans* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high hydrostatic pressure treatment in buffer and

گسترده‌گی آن بر سطح نبات، به کمک روش سطح پاسخ بهینه‌سازی گردید. بررسی رفتار جریان و ویژگی های بافتی فرمول‌های مختلف پوشش حاکی از اثرگذاری بیشتر تغییرات غلظت کربوکسی‌متیل سلولز در قیاس با غلظت ساکارز بود. زنده‌مانی بیش از 90 درصد باکتری اسپورزای باسیلوس کواگولانس در این محصول، به خوبی بیانگر امکان بکارگیری سویه‌های اسپورزا در تولید محصولات غذایی فراسودمندی است که شرایط تولید و نگهداری آن‌ها برای فرم‌های رویشی لاکتوباسیلوس‌ها، مخاطره آمیز بنظر می‌رسد.

## 5- تشکر و قدردانی

محققان بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از شرکت زعفران سحرخیز به جهت حمایت مالی و فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی لازم در این پژوهش اعلام می‌دارند.

## 6- منابع

- [1] Pavli, F., Tassou, C., Nychas, G. E., Chorianopoulos, N. 2018. Probiotic Incorporation in Edible Films and Coatings: Bioactive Solution for Functional Foods, International Journal of Molecular Sciences. 19(1), 150.
- [2] Wannissorn, B., Taengphan, W., Klungsupya, P., Ruengsomwong, S., Muangman, T. 2019. Health benefit screening on 45 Thai human probiotics (TISTR strains): their safety and immunomodulatory activity in macrophage function, In Proceedings of International Conference on Biodiversity: IBD2019. Vol. 33, p. 40.
- [3] De Prisco, A., Mauriello, G. 2016. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool, Trends Food Science and Technology. 48, 27–39.
- [4] Coma, V. 2008. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products, Meat Science. 78, 90–103.
- [5] Espitia, P. J. P., Batista, R. A., Azeredo, H. M. C., Otoni, C. G. 2016. Probiotics and their potential application in active edible films and coatings, Food Research International. 90, 42–52.

- [25] Saha, D., Bhattacharya, S. 2010. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review, *Journal of Food Science and Technology*. 47(6), 587-597.
- [26] Adibpour, N., Hosseininezhad, M., Pahlevanlo, A., Hussain, M. A. 2019. A review on *Bacillus coagulans* as a Spore-Forming Probiotic, *Applied Food Biotechnology*. 6(2), 91-100.
- [27] Żyżelewicz, D., Nebesny, E., Budryn, G., Motyl, I., Rosicka-Kaczmarek, J., Krysiak, W., Libudzisz, Z. 2012. Probiotic Confectionery Products-Preparation and Properties: INTECH Open Access Publisher.
- [28] Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Natarajan, S., Sivakumar, A., Ali, F. 2016. Evaluation of the stability of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 during processing and storage of functional foods, *International journal of Food Science & Technology*. 51(4), 894-901.
- [29] Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Arumugam, S., Beede, K., Ali, F. 2018. Evaluation of probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 viability after tea and coffee brewing and its growth in GIT hostile environment. *Food Research International*, 121, 497-505.
- [30] Jafari, M., Mortazavian, A. M., Hosseini, H. 2017. Effect of Household Cooking Methods on the Viability of *Bacillus* Probiotics Supplemented in Cooked Sausage, *Nutrition and Food Sciences Research*. 4(1), 47-56.
- [31] Marcial-Coba, M. S., Pjaca, A. S., Andersen, C. J., Knøchel, S., Nielsen, D. S. 2019. Dried date paste as carrier of the proposed probiotic *Bacillus coagulans* BC4 and viability assessment during storage and simulated gastric passage, *LWT-Food Science and Technology*. 99, 197-201.
- tomato sauce, *International Journal of Food Microbiology*. 152(3), 162-167.
- [16] Behnia, A., Karajian, H., Niazmand, R., Mohammadi Nafchi, E. R. 2014. Effect of cress seed gum on the rheological and textural properties of low-fat yogurt, *Research and Innovation in Food Science and Technology*. 3(3), 255-266.
- [17] Cevoli, C., Balestra, F., Ragni, L., Fabbri, A. 2013. Rheological characterisation of selected food hydrocolloids by traditional and simplified techniques, *Food hydrocolloids*. 33(1), 142-150.
- [18] Myers, R. H., Montgomery, D. C., Anderson-Cook, C. M. 2016. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. John Wiley & Sons.
- [19] Ebnesajjad, S. 2013. Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics: Properties, Processing and Applications. William Andrew.
- [20] Rozema, H., Beverloo, W. A. 1974. Laminar isothermal flow of non-Newtonian fluids in a circular pipe, *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*. 7(4), 223-228.
- [21] Cancela, M. A., Alvarez, E., Maceiras, R. 2005. Effects of temperature and concentration on carboxymethylcellulose with sucrose rheology, *Journal of Food Engineering*. 71(4), 419-424.
- [22] Ghannam, M. T., Esmail, M. N. 1997. Rheological properties of carboxymethyl cellulose, *Journal of Applied Polymer Science*. 64(2), 289-301.
- [23] Edali, M., Esmail, M. N., Vatistas, G. H. 2001. Rheological properties of high concentrations of carboxymethyl cellulose solutions, *Journal of Applied Polymer Science*. 79(10), 1787-1801.
- [24] Sworn, G. 2004. Hydrocolloid thickeners and their applications. In: Philips GO, Williams PA (eds) *Gums and Stabilizers for the Food Industry*, vol12. RSC Publishing, Oxford, pp 13-22.

## Optimization of probiotic edible coating formulation and evaluation of physical and textural properties for rock candy coating

Adibpour, N.<sup>1</sup>, Hosseini-zhad, M.<sup>2\*</sup>, Pahlevanlo, A.<sup>3</sup>

1. PhD. student, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.

(Received: 2019/09/03 Accepted: 2020/04/04)

During the last decade, application of edible coatings as efficient carriers for the transfer of bioactive compounds including probiotic microorganisms has become more prominent for production of food products with stressful condition for these bacteria. In this study, the effect of optimizing a coating formulation based on carboxymethylcellulose and sucrose as carrier of probiotic strain for rock candy coating was evaluated. Response surface method based on the central composite design was applied to evaluate the coating movement on the rock candy, the amount of coating remaining on the product after immersion and texture characteristics of the coating, such as adhesion. In addition, the textural and rheological properties of the coating solution under different concentrations of carboxymethyl cellulose and sucrose were investigated. The optimized formulation for rock candy coating was obtained with 97.9% carboxymethyl cellulose and 46.5% sucrose. The results showed that by increasing carboxymethyl cellulose concentration (from 0.8 to 1.2%) and sucrose (from 40 to 50%), the viscosity of the coating solution ranged from 9.27 to 82.62 Pa.s. Also, the flow behavior index of the coating solution confirmed the pseudoplastic behavior of the coating at carboxymethyl cellulose concentrations of 0.8 and higher. While, increasing the concentration of sucrose at a constant concentration of carboxymethyl cellulose had a greater effect on the textural parameters of the coating solution. In addition, the use of *Bacillus coagulans* spores in this product showed high viability of this strain (more than 90%) under product storage conditions (ambient temperature and dry place).

**Keywords:** *Bacillus coagulans*, Carboxymethyl cellulose, Edible coating, Textural properties, Rock candy

\* Corresponding Author E-Mail Address: m.hosseini-zhad@rifst.ac.ir