

## خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مکانیکی فیلم‌های خوراکی بر پایه کفیران و پروتئین‌های آب پنیر

محسن زلفی، فرامرز خدائیان\*، سیدمحمدعلی ابراهیم‌زاده موسوی و مریم هاشمی\*\*

\*نگارنده مسئول: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ص. پ: ۴۱۱۱، تلفن: (۰۲۶)۳۲۲۴۸۸۰۴،

پيام‌نگار: khodaiyan@ut.ac.ir

\*\*به‌ترتیب: دانشجوی کارشناسی ارشد؛ دانشیار؛ و استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه

تهران، استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۵

### چکیده

در این پژوهش، فیلم‌های مرکب خوراکی کفیران- پروتئین‌های آب پنیر با نسبت‌های مختلف (۳۰:۷۰، ۵۰:۵۰، ۳۰:۳۰، ۷۰:۳۰) به روش قالب‌ریزی ساخته شدند. نتایج بررسی خواص فیزیکی شامل ضخامت، میزان رطوبت، انحلال‌پذیری در آب و خواص مکانیکی شامل کرنش در نقطه پارگی و استحکام کششی، آهنگ عبور بخار آب و ریزساختار فیلم‌ها نشان می‌دهد که افزایش مقدار پروتئین‌های آب پنیر از صفر تا ۵۰ درصد (حجمی/حجمی) باعث کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌ها از  $3/95 \times 10^{-11}$  به  $3/39 \times 10^{-11}$  گرم بر متر بر ثانیه بر پاسکال شده است و استحکام کششی و انعطاف‌پذیری فیلم‌ها افزایش و به‌ترتیب از  $5/30$  و  $60/39$  به  $6/54$  مگاپاسکال و  $83/79$  درصد رسیده است، ولی با افزایش مقدار پروتئین‌های آب پنیر از ۵۰ درصد، نفوذپذیری افزایش و استحکام کششی و انعطاف‌پذیری فیلم‌ها کاهش می‌یابد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان دهنده ایجاد ساختار یکنواخت در فیلم‌های مرکب است و جداسازی فاز مشاهده نمی‌شود، که به دلیل سازگاری این دو بیوپلیمر با هم است.

### واژه‌های کلیدی

خواص مکانیکی، فیلم‌های مرکب خوراکی، کفیران- پروتئین‌های آب پنیر

### مقدمه

فراورده‌های غذایی به تحقیقات گسترده دست زند (Debeaufort *et al.*, 1998). چالش‌ها و نگرانی‌ها در مورد کاربرد بیوپلیمرها کمتر است زیرا فرایند زیست‌تخریب‌پذیری آنها در طبیعت انجام می‌شود. جایگزینی تمام پلاستیک‌های سنتزی با بیوپلیمرها ناممکن است ولی می‌توان برای بسته‌بندی مواد غذایی تا آنجاکه ممکن است از این منابع تجدیدپذیر استفاده کرد. پروتئین‌های آب پنیر یکی از انواع بیوپلیمرها هستند. آب پنیر محصول فرعی کارخانه‌های تولید پنیر و حاوی

پلاستیک‌ها به علت در دسترس بودن در مقادیر زیاد، قیمت پائین و ویژگی‌های کاربردی‌شان به‌طور گسترده به‌عنوان ماده اولیه بسته‌بندی به‌کار می‌روند، اما این ترکیبات کاملاً زیست‌تخریب‌ناپذیرند و محیط زیست را آلوده می‌کنند (Tharanathan, 2003). ایمن نبودن مواد خام مشتق شده از منابع نفتی که به منظور بسته‌بندی به‌کار می‌روند، موجب شده است تا کارشناسان عرصه غذا، به‌منظور تولید و توسعه بیوپلیمرها برای بسته‌بندی

احتمالی برای بهبود خواص فیلم‌ها، مخلوط کردن بیوپلیمرها با یکدیگر و تولید فیلم‌های مرکب خوراکی است (Vilaseca, 2007).

پیرماریا و همکاران (Piermaria et al., 2009) از بیوپلیمر کفیران فیلم تولید کردند و با بررسی آن نتیجه گرفتند که کفیران قابلیت بالایی در تولید فیلم خوراکی دارد. آنها اعلام کردند که در مقادیر کمتر از ۱۰ گرم بر کیلوگرم نرم‌کننده، فیلم کفیران شکنندگی دارد و ویژگی‌های فیزیکی- مکانیکی آن نامناسب خواهد بود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که فیلم کفیران نفوذپذیری خوبی نسبت به بخار آب دارد. فیلم کفیران فاقد نرم‌کننده، شکننده است و مدول الاستیک و استحکام کششی بالایی دارد درحالی‌که با افزودن گلیسرول به آن فیلم انعطاف بیشتری پیدا می‌کند و افزایش طول بیشتری از خود نشان می‌دهد. محلول تهیه فیلم در این تحقیق، رفتار رئولوژیکی سود و پلاستیک از خود نشان داد. پیرماریا و همکاران (Piermaria et al., 2011) نیز اثر قندهای مختلف (گلوکز، گالاکتوز و ساکارز) و پلی‌اول‌ها (گلیسرول و سوربیتول) را به عنوان نرم‌کننده بر خواص فیلم کفیران بررسی و مشاهده کردند که همه فیلم‌ها شفاف با کدورت پایین هستند. فیلم کفیران بدون نرم‌کننده الگوهای پراش پرتو ایکس مشابه با فیلم‌های کفیران حاوی نرم‌کننده دارد که ساختار آمورف (غیر متبلور)- کریستالی را با درجه تبلور کم نشان می‌دهد. همه فیلم‌ها فعالیت آبی کمی دارند. کمترین مقدار نفوذپذیری فیلم کفیران با نرم‌کننده گلوکز بهترین ویژگی مکانیکی با اضافه کردن گلیسرول به دست آمد.

قاسملو و همکاران (Ghasemlou et al., 2011a, b)

مقادیر زیادی پروتئین با ارزش تغذیه‌ای بالا است که پروتئین‌های سرمی یا پروتئین‌های آب پنیری نامیده می‌شوند. این بیوپلیمر به دلیل خواص تغذیه‌ای و کاربردی بالا، مانند خاصیت تشکیل ژل، امولسیون‌کنندگی و قوام بخشی، گزینه‌ای مناسب برای تشکیل فیلم‌های خوراکی زیست‌تخریب‌پذیر است (Zhou et al., 2009). اگرچه فیلم‌های حاصل از پروتئین‌های آب پنیر بازدارنده‌ای مناسب برای اکسیژن هستند ولی به واسطه طبیعت آب‌دوستان که حاصل وجود اسیدهای آمینه آب‌دوست در ساختارشان است، در جلوگیری از انتقال رطوبت ضعیف عمل می‌کنند (Oses et al., 2009).

کفیران<sup>۱</sup> پلی‌ساکارید انحلال‌پذیر در آب حاصل از فلور میکروبی دانه‌های کفیر است. این بیوپلیمر ساختار خطی دارد و حاوی مقدار متعادلی از D-گلوکز و D-گالاکتوز (به نسبت ۱:۱) است که واحدهای ۳ گلوکوزی و ۳ گالاکتوزی آن تکرار می‌شود و به دلیل خصوصیات بافت دهنده‌گی و ژله‌ای‌کنندگی ممتاز آن، توجه زیادی را به خود معطوف کرده است. در مقایسه با سایر پلی‌ساکاریدها، کفیران چندین امتیاز برجسته مانند خصوصیات ضدتوموری، ضدقارچی و ضدباکتریایی نیز دارد. علاوه بر این، نتایج حاصل از بررسی‌های قاسملو و همکاران (Ghasemlou et al., 2011a, b) نشان می‌دهد که کفیران می‌تواند فیلم‌هایی با ظاهر مناسب و خصوصیات مکانیکی رضایت بخش تولید کند.

به‌طور کلی، فیلم‌های خوراکی زیست‌تخریب‌پذیر تولید شده با استفاده از تنها یک نوع بیوپلیمر، خصوصیات مطلوبی را در بعضی از زمینه‌ها از خود نشان می‌دهند ولی در بعضی از زمینه‌ها نیز ضعیف هستند. یکی از راه‌های

فیلم ساخته شده از پروتئین‌های آب پنیر، استحکام کششی بالاتری دارد ضمن اینکه فیلم‌های مرکب، در مقایسه با فیلم‌های ساخته شده از پروتئین‌های آب پنیر، ویژگی‌های بازدارندگی بالاتری نشان می‌دهند.

هدف از این پژوهش، استفاده از کفیران در ترکیب با ایزوله پروتئین‌های آب پنیر<sup>۱</sup> برای تولید فیلم خوراکی و بررسی ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، بازدارندگی و ریزساختار فیلم ترکیبی حاصل است.

### مواد و روش‌ها

#### مواد مورد استفاده

برای استخراج کفیران، از دانه‌های کفیر استفاده شد. دانه‌های اولیه از فروشگاه‌های در شهر تهران تهیه و در شیر تازه گاو کشت داده شدند تا رشد کنند و تکثیر یابند. به علت حساسیت دانه‌ها نسبت به شرایط کشت، آنها در مدت زمان کشت در دمای ۲۱ درجه سلسیوس گرماخانه‌گذاری (انکوباسیون) شدند و هر ۴۸ ساعت یکبار شیر آنها تعویض می‌شد. ایزوله پروتئین‌های آب پنیر (۹۰ درصد پروتئین)، از شرکت آرلا دانمارک تهیه شد. گلیسرول، نیترات کلسیم، کلرید کلسیم از شرکت مرک آلمان و کلرید سدیم از شرکت مجلی خریداری شد.

#### استخراج کفیران از دانه‌های کفیر

اگزوپلی‌ساکاریدهای موجود در دانه‌های کفیر با اصلاحاتی در روش پیرماریا و همکاران (Piermaria *et al.*, 2009) استخراج شدند. مقداری مشخص از دانه کفیر به مدت ۱ ساعت در آب جوش به‌هم زده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور  $1000 \times g$  در دمای ۲۰ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. به‌منظور رسوب دادن

ویژگی‌ها و قابلیت تولید فیلم کفیران را بررسی و آن را با غلظت‌های مختلف گلیسرول تهیه کردند. این متخصصان با به‌کارگیری غلظت‌های مختلف گلیسرول از ۱۵ تا ۳۵ درصد، نتیجه گرفتند که با افزایش گلیسرول، انعطاف‌پذیری و قابلیت حرکت رشته‌های پلیمر افزایش می‌یابد؛ دمای انتقال شیشه‌ای فیلم نیز با افزایش گلیسرول، کاهش پیدا می‌کند که گفته شده دلیل آن افزایش انعطاف‌پذیری و قابلیت حرکت رشته‌های پلیمر کفیران است. در این تحقیق، ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی مختلفی از فیلم بررسی شد و در مجموع، نتایج نشان داد که کفیران قابلیت بالایی در تولید فیلم‌های خوراکی دارد. آنکر و همکاران (Anker *et al.*, 2001) دریافتند که خاصیت بازدارندگی فیلم‌های بر پایه پروتئین‌های آب پنیر با افزودن لیپید (به‌صورت لامینیت و امولسیون کردن)، افزایش می‌یابد. فیلم‌های چند لایه لیپید پروتئین، در مقایسه با فیلم‌هایی که فقط از پروتئین‌های آب پنیر ساخته شده‌اند، ۷۰ مرتبه نفوذپذیری نسبت به بخار آب را کاهش می‌دهند. مطالعات مکانیکی این فیلم‌ها نشان می‌دهد که لیپید به عنوان نرم‌کننده ظاهری عمل می‌کند و ویژگی فیلم‌های تولیدی را بهبود می‌بخشد و این ویژگی با هوموژنیزه کردن لیپید افزایش می‌یابد.

در مطالعه انجام شده توسط قنبرزاده و همکاران (Ghanbarzadeh *et al.*, 2008) خواص مکانیکی و بازدارندگی فیلم‌های ساخته شده از مخلوط پروتئین‌های آب پنیر و پروتئین زئین بررسی شده است. این محققان با استفاده از گلیسرول و روغن زیتون به‌عنوان نرم‌کننده نتیجه گرفتند که فیلم‌های مرکب ساخته شده از پروتئین‌های آب پنیر و پروتئین زئین، نسبت به

درصد نسبت به کل ماده جامد، اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه هم‌زده شد. ماده به دست آمده در آن تحت خلأ هواگیری شد تا حباب‌های ایجاد شده موقع هم‌زدن محلول، خارج شدند. بعد از هواگیری، نمونه‌ها را روی قالب‌های تفلونی تمیز و صاف ریخته و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. فیلم‌ها، پس از جدا شدن از پلیت، درون فویل آلومینیومی قرار داده شدند و تا زمان آزمایش در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

### اندازه‌گیری خواص فیزیکی

**ضخامت:** ضخامت فیلم با میکرومتر دستی و با دقت نزدیک به ۰/۰۱ میلی‌متر در حداقل ۱۰ نقطه تصادفی هر فیلم اندازه‌گیری شد. میانگین ضخامت نقاط مختلف هر فیلم در محاسبات خواص مکانیکی و نفوذپذیری به بخار آب کاربرد دارد.

**اندازه‌گیری میزان رطوبت:** پس از آنکه فیلم‌ها به تعادل رطوبتی رسیدند میزان رطوبت آنها براساس مقدار افت وزن نمونه مشخصی از فیلم طی خشک کردن در آن اندازه‌گیری شد. برای این کار، ابتدا کپسول‌های خالی در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت در آن حرارت داده شد تا خشک شوند و به وزن ثابت برسند. پس از آن، کپسول‌ها خارج و در دسیکاتور خنک شدند و وزن آنها با ترازو تا دقت ۰/۰۰۰۱ گرم به دست آمد. تکه‌های فیلم (با وزن مشخص) در کپسول گذاشته و کپسول‌های حاوی فیلم درون آن در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا به وزن ثابت رسیدند. مجموعه را وزن کرده تا وزن نمونه خشک را به دست آوریم (Ojagh *et al.*, 2010). میزان رطوبت فیلم‌ها مطابق رابطه ۱ محاسبه شد. در این آزمایش تبخیر نرم‌کننده از درون روکش‌ها ناچیز در نظر گرفته شده است.

پلی ساکاریدهای ترشح شده در نمونه، اتانول ۹۶ درصد سرد به مایع شفاف رویی حاصل از سانتریفیوژ افزوده شد. حجم اتانول اضافه شده به اندازه حجم مایع شفاف رویی حاصل از سانتریفیوژ در نظر گرفته شد. پلی ساکاریدهای ترشح شده به مدت ۱۸ ساعت و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس رسوب داده شدند. پس از طی زمان مذکور، برای جدا کردن کربوهیدرات‌های رسوب یافته از سانتریفیوژ با دور  $10000 \times g$  در دمای ۴ درجه سلسیوس و زمان ۲۰ دقیقه استفاده شد. رسوبات حاصل از سانتریفیوژ در آب مقطر حل و مجدداً سانتریفیوژ شد. این مرحله سه بار تکرار شد که در نهایت، پلی ساکارید کفیران به دست آمد.

### تهیه فیلم

فیلم‌های کفیران- پروتئین‌های آب پنیر با استفاده از روش قالب‌ریزی تهیه شدند. محلول کفیران با غلظت ۵ درصد (وزنی/حجمی)، با پراکندن ۵ گرم از کفیران در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، تهیه شد، برای یکنواخت کردن، محلول در دمای ۳۰ تا ۴۰ درجه سلسیوس و به مدت نیم ساعت با همزن مغناطیسی مخلوط شد. با پراکندن ۵ گرم از پروتئین‌های آب پنیر در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر همراه با گرم کردن و هم‌زدن آن به مدت ۳۰ دقیقه در ۹۰ درجه سلسیوس و سپس سرد کردن آن درون ظرفی حاوی یخ (برای جلوگیری از دناتوراسیون بیشتر) محلول پروتئین‌های آب پنیر با غلظت ۵ درصد (وزنی- حجمی) تهیه گردید.

برای تهیه چهار فیلم ترکیبی کفیران- پروتئین‌های آب پنیر، هر بار حجم مشخصی از دو محلول فوق با نسبت‌های ۱۰:۹۰، ۳۰:۷۰، ۵۰:۵۰، ۳۰:۷۰ با همدیگر مخلوط شده. گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده و به مقدار ۳۵

$$(1) \quad \text{وزن نمونه بعد از آون گذاری} - \text{وزن نمونه قبل از آون گذاری} = \frac{\text{وزن نمونه مرطوب}}{\text{وزن نمونه مرطوب}} \times 100 = \text{درصد رطوبت بر مبنای وزن مرطوب}$$

**انحلال پذیری**  
تکه‌هایی از هر فیلم وزن و در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس در آون خشک شدند. تکه‌های فیلم پس از توزین در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۶ ساعت به آرامی هم زده شدند. با ریختن کل مجموعه (شامل مواد انحلال‌ناپذیر و فاز محلول) روی کاغذ صافی (با وزن مشخص)، مواد جامد انحلال‌ناپذیر با کاغذ صافی جدا شدند. صافی و مواد جامد انحلال‌ناپذیر در آون در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس خشک و وزن شدند (Gontard et al., 1994). درصد انحلال‌پذیری فیلم در آب از رابطه ۲ محاسبه شد:

$$(2) \quad \text{وزن فیلم بعد از غوطه‌وری} - \text{وزن ماده خشک اولیه تکه فیلم} = \frac{\text{وزن ماده خشک اولیه تکه فیلم}}{\text{وزن ماده خشک اولیه تکه فیلم}} \times 100 = \text{درصد حلالیت}$$

**خواص مکانیکی فیلم**  
آزمایش‌های مکانیکی فیلم‌ها با استفاده از دستگاه تستومتریک<sup>۱</sup> و روش استاندارد ASTM-D 882 انجام گرفت (Anon, 1995). فیلم‌ها به شکل مستطیل به ابعاد ۱×۱۰ سانتی‌متر مربع بریده و در دسیکاتور در رطوبت ۵۰ درصد و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت رطوبت داده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد. حداقل ۳ تکرار برای هر فیلم در نظر گرفته شد. فاکتورهایی شامل استحکام کششی نهایی و کرنش در نقطه پارگی (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) از روی منحنی‌های نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمدند.

#### نفوذپذیری نسبت به بخار آب<sup>۲</sup> (WVP)

نفوذپذیری نسبت به بخار آب بر طبق استاندارد E96 از مجموعه استانداردهای ASTM اندازه‌گیری شد (Anon, 1995). ابتدا سل‌های دارای قطر و مساحت مشخص با نمک خشک کننده (کلرید کلسیم) پر شدند. پس از آن فیلم به صورت حلقوی بریده و در دهانه سل با

$$(3) \quad WVTR = \frac{\text{شیب منحنی}}{\text{مساحت دهانه سل}}$$

$$(4) \quad WVP = \frac{WVTR \times \text{ضخامت}}{\text{اختلاف فشار}}$$

1- Testometric

2- Water Vapor Permeability (WVP)

3-Water Vapor Transfer Rate (WVTR)

میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS (V.16) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

که در این دو رابطه، اختلاف فشار بر حسب پاسکال و ضخامت بر حسب متر است.

### مطالعه ریزساختار با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (SEM)

برای تهیه تصاویر میکروسکوپی از سطح فیلم‌ها، آنها را به کمک چسب دو طرفه روی پایه‌ای آلومینیومی چسباندیم. در آماده‌سازی نمونه‌ها برای تصویربرداری از مقطع عرضی، ابتدا نمونه‌ها را در نیتروژن مایع شکستیم. پس از آن از سمت مقابل قسمت شکسته شده به کمک چسب دوطرفه روی پایه‌ای آلومینیومی چسباندیم. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش‌دهنده به مدت پنج دقیقه با طلا پوشش داده شدند. با یک میکروسکوپ الکترونی در بزرگنمایی‌های متفاوت، از نمونه‌ها تصویربرداری شد.

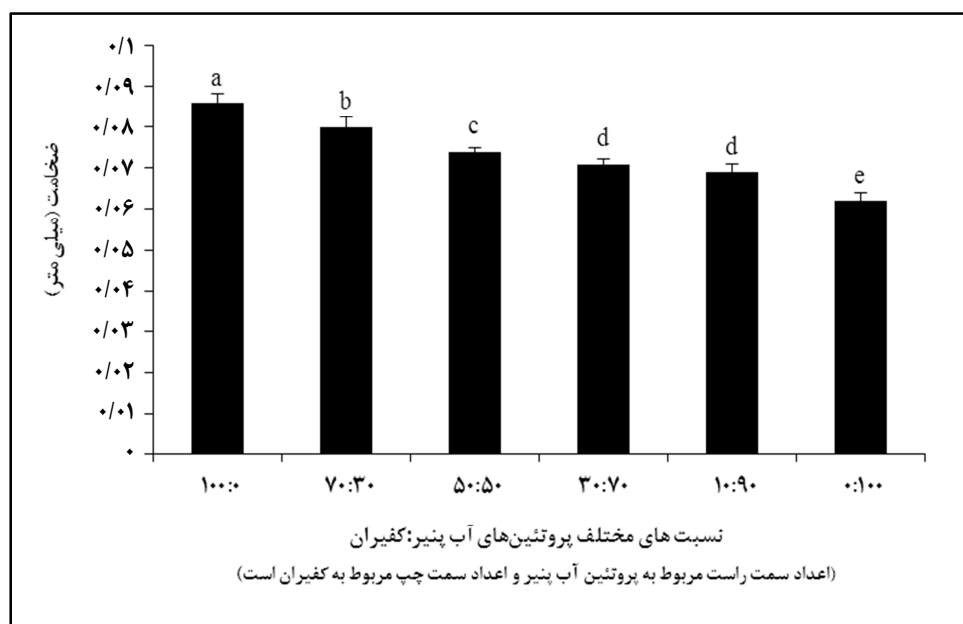
### نتایج و بحث

#### ضخامت

ضخامت فیلم‌های مرکب در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر، ضخامت فیلم از ۰/۰۸۶ به ۰/۰۶۲ میلی‌متر کاهش یافته است ( $P < 0/05$ ). کاهش در ضخامت فیلم‌های مرکب می‌تواند به دلیل تفاوت در اندازه مولکولی و ساختار این دو بیوپلیمر باشد؛ کفیران ساختار خطی و شاخه‌ای و وزن مولکولی  $10^7$  دالتون دارد ولی پروتئین‌های آب پنیر ساختار کروی دارند و بتالاکتوگلوبولین که ۸۵-۴۸ درصد از کل پروتئین‌های آب پنیر را شامل می‌شود، دارای وزن مولکولی ۱۸۳۰۰ دالتون است (Sawyer et al., 1999; Piermaria, 2008).

### تحلیل آماری

بر اساس طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) اختلاف بین نمونه‌های مختلف در سطح احتمال ۵ درصد تعیین و



شکل ۱- اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌های مرکب

## میزان رطوبت و انحلال پذیری

میزان رطوبت و انحلال پذیری فیلم‌های ترکیبی کفیران- پروتئین آب پنیر (جدول ۱) نشان می‌دهد که با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر از ۳۰ به ۹۰ درصد (حجمی/حجمی) میزان رطوبت از ۳۰/۸۰ به ۴۲/۸۷ درصد افزایش می‌یابد. بیوپلیمر کفیران و پروتئین‌های آب پنیر، هر دو، آبدوست هستند اما آبدوستی پروتئین آب پنیر بیشتر است که می‌تواند دلیلی برای افزایش میزان رطوبت باشد.

با اضافه کردن پروتئین آب پنیر، در همه سطوح انحلال پذیری فیلم‌های مرکب به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد ( $P < 0.05$ ). انحلال پذیری فیلم کفیران حدود ۳۱/۹۰ درصد است که این مقدار با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر تا ۷۰ و ۹۰ درصد (حجمی/حجمی) به ۵۳/۷۵ و ۶۷/۵۵ درصد رسیده است. این رفتار می‌تواند به دلیل آبدوستی بالای این

پروتئین و ساختار بازی باشد که با اضافه کردن پروتئین آب پنیر شکل می‌گیرد، ساختاری که سرانجام به تشکیل فیلم‌هایی با انحلال پذیری بالا می‌انجامد. در گزارش گانگا و همکاران (Gounga *et al.*, 2007) که از نسبت‌های متفاوت پروتئین‌های آب پنیر و پولولان در تهیه فیلم‌های مرکب خوراکی استفاده کرده‌اند، نیز روند مشابهی در میزان رطوبت و انحلال پذیری فیلم‌های ترکیبی، با افزایش پروتئین آب پنیر، مشاهده می‌شود. این نتایج با نتایج حاصل از بررسی‌های لانگسوکرک و همکارانش (Leuangasukrerak *et al.*, 2014) هم‌خوانی ندارد و عنوان شده است که در فیلم ترکیبی پروتئین آب پنیر- صمغ کونجک گلوکومانان<sup>۱</sup> با افزایش نسبت پروتئین آب پنیر در فرمول، انحلال پذیری در آب کاهش می‌یابد که دلیل آن را ساختار شیمیایی و آبدوستی بالای این پلی ساکارید، در مقایسه با پروتئین آب پنیر، گفته‌اند.

جدول ۱- اندازه‌گیری انحلال پذیری و میزان رطوبت فیلم‌های مرکب

فیلم‌ها (پروتئین آب پنیر - کفیران)	انحلال پذیری در آب (درصد)	میزان رطوبت (درصد)
(۱۰۰ : ۰)	۳۱/۹۰ ± ۰/۶۱f	۲۸/۴۰ ± ۱/۱۷f
(۷۰ : ۳۰)	۳۴/۸۵ ± ۱/۰۵e	۳۰/۸۰ ± ۰/۲۹e
(۵۰ : ۵۰)	۴۰/۸۳ ± ۰/۶۸d	۳۴/۳۴ ± ۰/۶۳d
(۳۰ : ۷۰)	۵۳/۷۵ ± ۲/۲۳c	۳۸/۳۹ ± ۱/۳۷c
(۱۰ : ۹۰)	۶۷/۵۵ ± ۲/۶۳b	۴۲/۸۷ ± ۰/۶۳b
(۰ : ۱۰۰)	۷۹/۵۴ ± ۲/۰۶a	۴۹/۳۱ ± ۰/۲۴a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

## نفوذپذیری نسبت به بخار آب

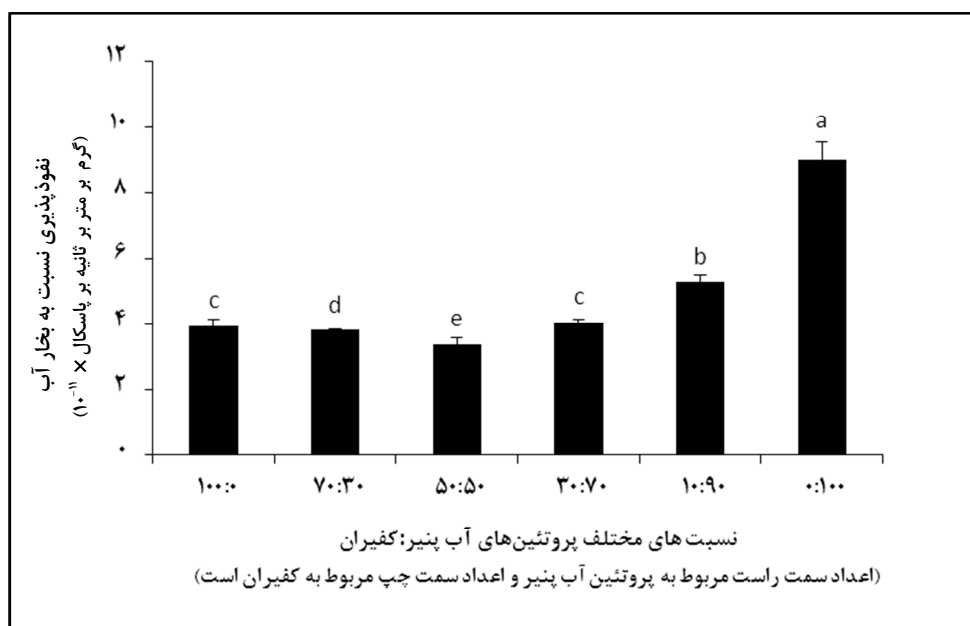
میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب نمونه‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که نفوذپذیری نسبت به بخار آب با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر از صفر تا ۵۰ درصد، کاهش و با زیاد شدن مقدار

پروتئین آب پنیر به‌طور معناداری افزایش می‌یابد ( $P < 0.05$ ). نفوذپذیری فیلم کفیران، حدود  $۳/۹۵ \times 10^{-11}$  گرم بر متر بر ثانیه بر پاسکال، با اضافه کردن پروتئین آب پنیر به میزان ۳۰ و ۵۰ درصد، به ترتیب به حدود  $۳/۸۱ \times 10^{-11}$  و  $۳/۳۹ \times 10^{-11}$  گرم بر متر بر ثانیه بر

نشاسته مومی - پروتئین آب پنیر در نسبت‌های مختلف (۱۰۰:۰، ۲۵:۷۵، ۵۰:۵۰، ۷۵:۲۵ و ۱۰۰:۰) بررسی و گفته شده است که میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌ها با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر روند کاهشی پیدا می‌کند. کمترین میزان نفوذپذیری برای فیلم‌های مرکب متیل سلولز - پروتئین آب پنیر، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز - پروتئین آب پنیر، نشاسته - پروتئین آب پنیر، در نسبت ۲۵:۷۵ و برای فیلم مرکب نشاسته مومی - پروتئین آب پنیر در نسبت ۵۰:۵۰ است. استحکام کششی فیلم‌های مرکب متیل سلولز- پروتئین آب پنیر، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز- پروتئین آب پنیر با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر کاهش می‌یابد که کمترین میزان استحکام کششی در نسبت ۲۵:۷۵ دیده شده، ولی استحکام کششی فیلم‌های مرکب نشاسته - پروتئین آب پنیر و نشاسته مومی- پروتئین آب پنیر با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر افزایش می‌یابد که بالاترین میزان استحکام کششی در نسبت ۲۵:۷۵ دیده می‌شود. واحدهای ساختاری نشاسته و سلولز هر دو یکسان و حاوی D-گلوکز است با این حال به دلیل تفاوت در نوع ساختار و پیوندهای گلیکوزیدی حاصل از این دو پلی ساکارید، فیلم‌های ساخته شده از این دو بیوپلیمر می‌توانند خصوصیات غیر متشابه داشته باشند (Yoo & Krochta, 2011).

پاسکال کاهش یافت ولی زمانی که مقدار پروتئین ذکر شده از ۵۰ درصد زیادتر شد میزان نفوذپذیری هم افزایش پیدا کرد. این نتایج نشان می‌دهد که با اضافه کردن پروتئین آب پنیر به محلول کفیران پیوندهای قوی هیدروژنی تشکیل می‌شود و در نتیجه واکنش‌های بین این دو بیوپلیمر، اثر بازدارندگی روی نفوذ مولکول‌های بخار آب ایجاد می‌کند که به کاهش نفوذپذیری منجر می‌شود. افزایش میزان نفوذپذیری، زمانی که مقدار پروتئین آب پنیر از ۵۰ درصد بالاتر می‌رود، می‌تواند به این دلیل باشد که این پروتئین در آن شرایط نمی‌تواند به خوبی در ماتریس کفیران پراکنده شود. علاوه بر این، آبدوستی بالای پروتئین آب پنیر، نسبت به کفیران، می‌تواند دلیل دیگری برای این امر باشد (Longares *et al.*, 2005). متدین و همکاران (Motedayen *et al.*, 2013) نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های مرکب خوراکی از کفیران - نشاسته را بررسی کرده‌اند. بررسی آنها نشان می‌دهد که کمترین میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب نسبت کفیران و نشاسته در سطح ۵۰:۵۰ است و با افزایش مقدار نشاسته، میزان نفوذپذیری افزایش می‌یابد. در مطالعات یو و کروچتا (Yoo & Krochta, 2011) نفوذپذیری نسبت به بخار آب و استحکام کششی فیلم‌های مرکب متیل سلولز - پروتئین آب پنیر، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز - پروتئین آب پنیر، نشاسته - پروتئین آب پنیر و





شکل ۲- اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های مرکب

### خواص مکانیکی

مقدار استحکام کششی نهایی (UTS) و درصد کشش تا نقطه پارگی (E%) فیلم‌های ترکیبی کفیران - پروتئین آب پنیر در جدول ۲ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر از صفر به ۵۰ درصد، استحکام کششی از ۵/۳۰ به ۶/۵۴ مگاپاسکال افزایش می‌یابد و پس از آن از ۵۰ درصد بالاتر، استحکام کششی کاهش پیدا می‌کند. افزایش استحکام کششی می‌تواند ناشی از شکل‌گیری پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی بین کفیران، پروتئین آب پنیر و نرم کننده باشد. کاهش مقاومت کششی با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر ممکن است به دلیل ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی، به جای پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی، باشد که منجر به تفکیک فاز بین کفیران و پروتئین آب پنیر می‌شود (Ferreira et al., 2009).

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است حداکثر کشش تا نقطه پارگی برای فیلم ترکیبی کفیران - پروتئین آب پنیر در سطح ۵۰:۵۰ است.

پروتئین آب پنیر دارای گروه هیدروکسیل آزاد است که می‌تواند با بیوپلیمر کفیران پیوند هیدروژنی برقرار کند و ضمن افزایش استحکام کششی باعث افزایش انعطاف‌پذیری فیلم شود. با این حال در نسبت ۳۰:۷۰ از کفیران به پروتئین آب پنیر، درصد کشش کاهش یافته است. از اینجا می‌توان نتیجه گرفت که مقدار بالای پروتئین آب پنیر باعث تضعیف ساختار پلیمر و باعث کاهش درصد کشش فیلم‌ها شده است. به نظر می‌رسد که در سطوح پایین، پروتئین آب پنیر می‌تواند انعطاف‌پذیری فیلم را بهبود بخشد بی‌آنکه استحکام کششی کاهش پیدا کند. این نتایج با بررسی‌های اسس و همکاران (Osés et al., 2009) در زمینه تولید فیلم‌های مرکب خوراکی از پروتئین‌های آب پنیر و صمغ مسکویت<sup>۱</sup> همخوانی دارد. در این بررسی معلوم گردید که با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر از صفر تا ۵۰ درصد، ضمن افزایش استحکام کششی، درصد کشش تا نقطه پارگی نیز افزایش و در ادامه با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر درصد کشش تا نقطه پارگی کاهش می‌یابد. در بررسی‌های قنبرزاده و

می‌دهند. بریندل و کروچتا (Brindle & Krochta, 2008) برای تهیه فیلم‌های مرکب از نسبت‌های مختلف پروتئین‌های آب پنیر - هیدروکسی پروپیل متیل سلولز استفاده و مشخص کرده‌اند که فیلم‌های مرکب نسبت به فیلم ساخته شده از پروتئین‌های آب پنیر تنش کششی بالاتری دارند و نسبت ۷۵:۲۵ بالاترین میزان تنش کششی را به دست می‌دهد.

همکاران (Ghanbarzadeh *et al.*, 2008) روی خواص مکانیکی و بازدارندگی فیلم‌های ساخته شده از مخلوط پروتئین‌های آب پنیر و زئین، مشخص شده است که این نوع فیلم‌ها در مقایسه با فیلم‌های ساخته شده از پروتئین‌های آب پنیر، تنش کششی بالایی دارند. از طرفی فیلم‌های مرکب خواص بازدارندگی بالاتری را در مقایسه با فیلم‌های ساخته شده از پروتئین‌های آب پنیر نشان

جدول ۲- اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌های مرکب

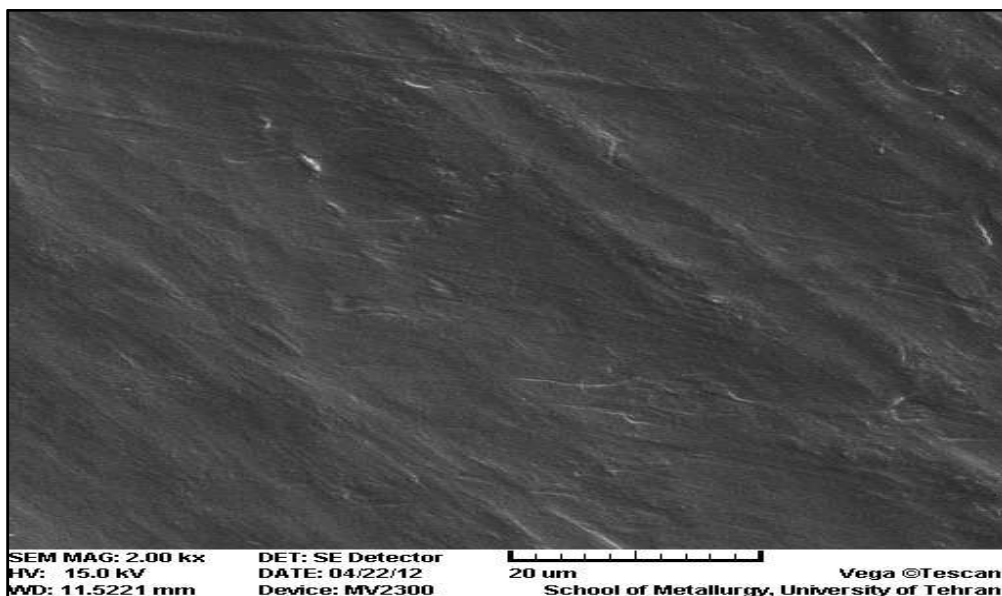
کشش تا نقطه پارگی (درصد)	استحکام کششی (مگاپاسکال)	فیلم‌ها (پروتئین آب پنیر - کفیران)
۶۰/۳۹±۰/۷۰c	۵/۳۰±۰/۵۴b	(۱۰۰ : ۰)
۷۴/۹۲±۲/۴۱b	۶/۳۲±۰/۶۰a	(۷۰ : ۳۰)
۸۳/۷۹±۱/۱۱a	۶/۵۴±۰/۶۲a	(۵۰ : ۵۰)
۶۴/۷۱±۲/۲۰c	۴/۳۱±۰/۶۵c	(۳۰ : ۷۰)
۳۳/۹۴±۰/۴۷d	۳/۵۷±۰/۳۷c	(۱۰ : ۹۰)
۲۰/۹۴±۰/۳۱e	۳/۴۱±۰/۷۷c	(۰ : ۱۰۰)

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

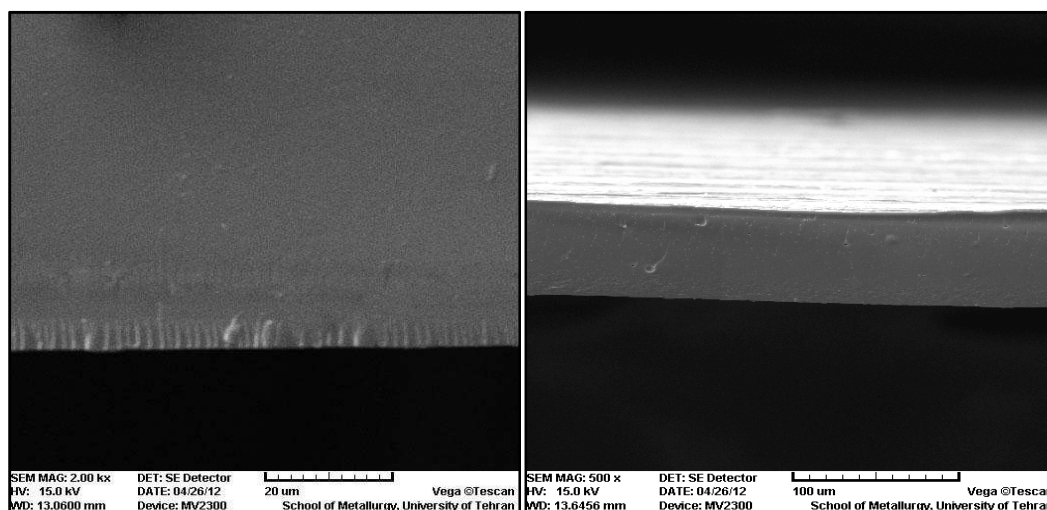
## ریزساختار فیلم

منسجم‌اند و جداسازی فاز در آنها مشاهده نشد، اگرچه با افزایش نسبت پروتئین آب پنیر، مورفولوژی فیلم‌ها تغییر می‌کند. شکل‌های ۳ و ۴ به ترتیب میکروگراف‌هایی از سطح بیرونی (سطح رویی) و مقطع عرضی نمونه‌ای از فیلمی را نشان می‌دهد که با نسبت ۵۰:۵۰ از کفیران و پروتئین آب پنیر تهیه شده است.

در تلاش برای مطالعه تغییرات ریزساختاری در فیلم‌ها، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به منظور تجسم توپوگرافی سطح و مقطع عرضی فیلم‌های آماده شده از کفیران - پروتئین آب پنیر به کار گرفته شد. به‌طور کلی فیلم‌های مرکب حاصل شده از کفیران و پروتئین آب پنیر صاف و



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی از سطح رویی فیلم کفیران - پروتئین آب پنیر (نسبت ۵۰:۵۰)



شکل ۴- تصویر میکروسکوپ الکترونی از سطح مقطع فیلم کفیران - پروتئین آب پنیر (نسبت ۵۰:۵۰)

## نتیجه‌گیری

فیلم‌های حاصل است؛ بدین معنا که بین نسبت‌های مختلف پروتئین آب پنیر و کفیران، نسبت ۵۰:۵۰ (حجمی / حجمی) فیلم‌هایی با انعطاف‌پذیری و استحکام کششی بالا و در مقابل، نفوذپذیری پایین نسبت به بخار آب به دست می‌دهد. تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی سطوح صاف و منسجم فیلم‌های حاصل را نشان می‌دهد. بنابراین با مشاهده تغییرات ایجاد شده در

نتایج حاصل از تحقیق حاضر قابلیت تولید فیلم‌های خوراکی ترکیبی کفیران و پروتئین آب پنیر را به عنوان راهکاری برای رفع مشکلات زیستی ناشی از آب پنیر مازاد کارخانه‌های شیر و همچنین به‌کارگیری پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر به‌جای پلیمرهای مصنوعی (در موارد ممکن) نشان می‌دهد. اما آنچه مهم‌تر می‌نماید، تعیین خواص

فیلم‌ها با سطوح مختلف کفیران و ایزوله پروتئین آب پنیر، نتیجه‌گیری می‌شود که ترکیبات و فرمولاسیون متفاوت اجزای تشکیل دهنده فیلم می‌تواند فیلم‌هایی با خواص فیزیکی و مکانیکی متفاوت ایجاد کند و به دنبال آن می‌توان نفوذپذیری آنها را تغییر داد و با بررسی‌های بیشتر از آنها برای بسته‌بندی مواد غذایی استفاده کرد ولی این کار نیاز به تحقیقات بیشتر روی این فیلم‌ها دارد. توصیه می‌شود فیلم‌های ترکیبی حاوی پروتئین آب پنیر با سایر بیوپلیمرها از گروه لیپیدها و پلی ساکاریدها و فیلم‌های ترکیبی حاوی کفیران با سایر بیوپلیمرها تولید و توسعه داده شوند تا از آن طریق ویژگی‌های جدید و مورد نیاز صنایع غذایی به‌دست آید.

## مراجع

- Anker, M., Berntsen, J., Hermansson, A. M and Stading, M. 2001. Improved water vapor barrier of whey protein film by addition of an acetylated monoglyceride. *Innov. Food Sci. Emer. Technol.* 3, 81-92.
- Anon. 1995. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials American Society for Testing and Materials. E96 M. Annual Book of Standards. American Society for Testing and Materials (ASTM).
- Brindle, L. P. and Krochta, J. M. 2008. Physical properties of whey protein-hydroxypropylmethylcellulose blend edible films. *Food Eng. Physic. Properties.* 73, 446-454.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A. and Voilley, A. 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 38, 299-313.
- Ferreira, O. C., Nunes, A. C., Delgadillo, I. and Lopes-da-Silva, A. J. 2009. Characterization of chitosan-whey protein films at acid pH. *Food Res. Int.* 42, 807-813.
- Ghanbarzadeh, B. and Oromiehi, R. A. 2008. Biodegradable biocomposite films based on whey protein and zein: Barrier, mechanical properties and AFM analysis. *Int. J. Biol. Macromol.* 43, 209-215.
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehi, A. and Yarmand, M. S. 2011a. Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *Food Chem.* 27, 1496-1502.
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehi, A. and Yarmand, M. S., 2011b. Characterization of edible emulsified films with low affinity to water based on kefir and oleic acid. *Int. J. Biol. Macromol.* 49, 378-384.
- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, B. and Guilbert, S. 1994. Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapour permeability and other physical properties. *Food Sci. Technol.* 29, 39-50.
- Gounga, M. H., Xu, Sh. Y. and Wang, Zh. 2007. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *J. Food Eng.* 83, 521-530.
- Leuangskrer, M., Phupoksakul, T., Tananuwong, K., Borompichaichartkul, Ch. and Janjarasskul, T. 2014. Properties of konjac glucomannane whey protein isolate blendfilms. *LWT - Food Sci. Technol.* 59, 94-100.

- Longares, A., Monohan, F. J., O’Riordan, E. D. and O’Sullivan, M. 2005. Physical properties of edible films made from mixtures of sodium caseinate and WPI. *Int. Dairy J.* 15, 1255-1260.
- Motedayen, A. A., Khodaiyan, F. and Salehi, E. A. 2013. Development and characterisation of composite films made of kefir and starch. *Food Chem.* 136, 1231–1238.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. A. and Hosseini, S. M. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chem.* 122, 161-166.
- Oses, J., M, Fabregat-Vázquez., R, Pedroza-Islas., Tomás, A S. and Cruz-Orea, A. 2009. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. *J. Food Eng.* 92, 56-62.
- Piermaria, J. M. 2008. Gelling properties of kefir, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. *Food Hydrocolloids.* 22, 1520-1527.
- Piermaria, J. A., Pinotti, A., Garcia, M. A. and Abraham, A. G. 2009. Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food Hydrocolloids.* 23, 684-690.
- Piermaria, J., Bosch, A., Pinotti, A., Yantorno, O., Alejandra Garcia, M. and Graciela Abraham, A. 2011. Kefiran films plasticized with sugars and polyols: water vapor barrier and mechanical properties in relation to their microstructure analyzed by ATR/FT-IR spectroscopy. *Food Hydrocolloids.* 25, 1261-1269.
- Sawyer, L., Kontopidis, G. and Wu, S. Y. 1999. Beta-lactoglobulin – a three-dimensional perspective. *Int. J. Food Sci. Technol.* 34, 409–418 .
- Tharanathan, R. N., 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Food Sci. Technol* , 14, 71-78.
- Vilaseca, F., Mendez, J. A., Pelach, A., Llop, M., Canigueral, N., Girones, J., Turon, X., and Mutje, P., 2007. Composite materials derived from biodegradable starch polymer and jute strands. *Process Biochemistry*, 42, 329-334.
- Yoo, Z. and Krochta, J. M. 2011. Whey protein–polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. *J. Sci. Food Agric.* 91, 2628–2636.
- Zhou, J. J., Wang, S. Y. and Gunasekaran, S. 2009. Preparation and characterization of whey protein film Incorporated with TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *J. Food Sci.* 74, 50-55.

## **Physicochemical and Mechanical Properties of Edible Film Containing Kefiran-Whey Protein**

**M. Zolfi, F. Khodaiyan<sup>\*</sup>, S. M. Ebrahimzadeh Mousavi and M. Hashemi**

<sup>\*</sup> Corresponding Author: Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tehran, P. O. Box: 31587-77871, Karaj, Iran. Email: khodaiyan@ut.ac.ir

Received: 23 October 2013, Accepted: 27 September 2014

This study prepared new edible composite film by blending kefiran with whey protein. The film-forming solutions used different ratios of kefiran to whey protein (70/30, 50/50, 30/70, 10/90) and were cast at room temperature. The effects of the addition of whey protein on the physical, mechanical and water-vapor permeability (WVP) properties of the film were investigated. It was found that an increase in whey protein content from 0% to 50% (v/v) decreased WVP; however, further addition of whey protein increased WVP. This increase in whey protein content increased the tensile strength and extensibility of the composite film; however, these mechanical properties decreased at higher whey protein contents. Electron scanning micrography of the composite film showed it was homogeneous with no sign of phase separation between components. It was observed that these two film-forming components were compatible and that an interaction existed between them.

**Keywords:** Edible Composite Films, Kefiran-Whey Protein, Mechanical Properties