

## بررسی خواص کاربردی فیلم مرکب خوراکی بر پایه ترکیب پروتئین آب پنیر - پولولان

محبوبه حسن نیا کلایی، فرامرز خدائیان\*، رضوان پوراحمد و ایمان شهابی قهفرخی\*\*

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

پيام‌نگار: khodaiyan@ut.ac.ir

\*\* به ترتیب: دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین- پیشوا؛ دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران؛ دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین- پیشوا؛ و استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه زنجان  
تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۳۱

### چکیده

پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها منابع خوبی در تهیه فیلم‌ها با پوشش‌های خوراکی هستند. در این پژوهش، از ترکیب پروتئین آب پنیر و پولولان به نسبت‌های مختلف (۷۰:۳۰، ۵۰:۵۰ و ۳۰:۷۰) استفاده شد و فیلم‌ها از طریق روش قالب‌ریزی تهیه شدند. خواص مکانیکی (مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول) و خواص فیزیکی (میزان رطوبت، انحلال‌پذیری، نفوذپذیری نسبت به بخار آب، ضخامت و تغییرات رنگ) فیلم‌ها بررسی شد. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که در نسبت ۵۰:۵۰ پروتئین آب پنیر - پولولان، میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب و انحلال‌پذیری در آب کاهش می‌یابد و در کنار آن مقاومت کششی و تغییرات رنگی به بیشترین میزان می‌رسد. مقدار رطوبت در نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد. با افزایش میزان پولولان، درصد ازدیاد طول فیلم‌ها افزایش و با افزایش میزان پولولان ضخامت فیلم‌ها کاهش می‌یابد. تصاویر تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی، ساختاری یکنواخت بدون تفکیک فازی را در فیلم‌های مرکب نشان می‌دهد که بیانگر سازگاری این دو بیوپلیمر با هم است.

### واژه‌های کلیدی

پروتئین آب پنیر، پولولان، فیلم مرکب

### مقدمه

آب تا حدودی جلوگیری می‌کنند و می‌توان از آنها به عنوان حامل افزودنی‌های غذایی، از جمله عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، و نیز برای بهبود یکپارچگی ساختار غذاها استفاده کرد (Sothornvit *et al.*, 2009; Karami-Moghaddam *et al.*, 2014). بیوپلیمرها از جمله پلی ساکاریدها، پروتئین‌ها، لیپیدها و ترکیبات با هم را می‌توان برای بسته‌بندی مواد غذایی به کار برد که جدا از خواص مثبت آنها باید به فراوانی منابع و زیست‌تخریب‌پذیر بودن آنها اشاره کرد.

امروزه بخش مهمی از مواد به کار رفته در بسته‌بندی مواد غذایی از مشتقات نفتی است که غیر قابل تجزیه و باعث آلودگی‌های زیست محیطی در جهان هستند. یکی از راهکارهای پیشنهادی برای مقابله با این مشکل، استفاده از فیلم‌های خوراکی به عنوان جایگزین پلیمرهای غیر قابل تجزیه نفتی است (Sothornvit *et al.*, 2009).

نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی به طور نسبی انتقال رطوبت را کنترل می‌کنند، مهاجرت روغن و چربی را به تأخیر می‌اندازند، از جذب

خواص فیزیکی و مکانیکی مطلوبی خواهند داشت (Vilaseca *et al.*, 2007). بیوپلیمرهایی مانند پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها می‌توانند ماتریس پشتیبانی کننده را برای اکثر فیلم‌های مرکب فراهم کنند و در مقایسه با گازها معمولاً خاصیت ممانعت‌کنندگی خوبی ارائه می‌دهند (Gennadios, 2002). ترکیب پروتئین یا پلی‌ساکارید تاثیری قابل توجه روی خصوصیات فیلم‌های خوراکی دارد (Ciesla *et al.*, 2006).

در این خصوص تحقیقاتی دربارهٔ تولید فیلم‌های بیوپلیمری بر پایهٔ ترکیب پولولان-کازئینات و پولولان - پروتئین برنج (Shih, 1996; Kristo & Biliaderis, 2006) و همچنین فیلم مرکب پروتئین آب‌پنیر - سدیم کازئینات (Longares *et al.*, 2005) و پروتئین آب‌پنیر - ژلاتین (Jiang *et al.*, 2010)، پروتئین آب‌پنیر- مونو گلیسرید (Bolghaysi *et al.*, 2008) صورت گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های مرکب پروتئین آب‌پنیر- پولولان است.

### مواد و روش‌ها

پولولان از شرکت هایاشی‌بارا<sup>۱</sup> ژاپن، پروتئین آب‌پنیر از شرکت آرلا<sup>۲</sup> بلژیک، نیترات کلسیم، سولفات کلسیم و کلرید کلسیم گلیسرول از شرکت مرک<sup>۳</sup> آلمان، خریداری شد.

### تهیه فیلم پروتئین آب‌پنیر - پولولان

فیلم‌های پروتئین آب‌پنیر - پولولان با استفاده از روش قالب‌گیری تهیه شدند. به منظور آماده‌سازی محلول ۵ درصد (وزنی - حجمی) پولولان در آب مقطر تهیه گردید. محلول ۵ درصد پروتئین آب‌پنیر نیز در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه همراه با هم‌زدن مداوم توسط مگنت تهیه شد. به منظور تهیه فیلم مرکب

پولولان، پلی‌ساکاریدی است با منشأ میکروبی و انحلال‌پذیر در آب که از گونه‌های *Aureobasidium pullulans* تولید می‌شود و از واحدهای مالتوتریوز با پیوندهای خطی  $\alpha$ -D-گلوکان تشکیل و از طریق پیوندهای (۶ و ۱) به هم متصل شده‌اند. این پلی‌ساکارید خوراکی است و فیلم‌های شفاف، انعطاف‌پذیر، بدون رنگ، بدون بو، و غیرقابل نفوذ نسبت به روغن و اکسیژن تولید می‌کند (Yuen, 1974).

آب‌پنیر محصول فرعی کارخانه‌های پنیرسازی است که از شیر، بعد از منعقدشدن کازئین، به دست می‌آید. و به دو شکل تجاری عرضه می‌شود، یکی کنسانتره پروتئین آب‌پنیر که حاوی ۸۰-۲۵ درصد پروتئین است و دیگری ایزوله پروتئین آب‌پنیر که بیش از ۸۰ درصد پروتئین دارد (Kinsella & Whitehead, 1989). استفاده از پروتئین آب‌پنیر در تولید فیلم به دلیل ارزش تغذیه‌ای بسیار بالای آب‌پنیر، استفاده بهینه از ضایعات کارخانه‌های پنیرسازی و کاهش مشکلات زیست‌محیطی راهکاری مطلوب به نظر می‌رسد. ایزولهٔ پروتئین آب‌پنیر را با تبادل یونی و اولترافیلتراسیون یا میکروفیلتراسیون و اولترافیلتراسیون تولید می‌کنند (Kokoszka *et al.*, 2010). پروتئین آب‌پنیر فیلم‌هایی شفاف مانعی خوب در برابر اکسیژن با خصوصیات مکانیکی مناسب تولید می‌کند (Sothornvit & Krochta, 2000, 2005) و کیفیت و عمر نگهداری مواد غذایی را افزایش می‌دهد (Krochta & De Mulder-Johnston, 1997).

به طور کلی، تولید فیلم‌های خوراکی با استفاده از تنها یک نوع بیوپلیمر، خصوصیات مطلوبی را در بعضی از زمینه‌ها از خود نشان می‌دهد ولی در بعضی زمینه‌ها نیز ضعیف خواهد بود. یکی از راه‌های بهبود خواص فیلم‌های خوراکی، ترکیب بیوپلیمرها با یکدیگر و تولید بیوفیلم‌های مرکب است. اگر عناصر فیلم‌های بیوپلیمری مرکب، از نظر ساختاری با هم سازگار باشند، آن فیلم‌ها

1- Hayashibara

2- Arla Food Ingredient

3- Merck

این ترتیب درون ویال‌ها رطوبت نسبی صفر درصد و بیرون ویال‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس آب‌نمک اشباع رطوبت نسبی ۷۵ درصد ایجاد می‌کنند و تغییر وزن ویال‌ها طی زمان، اندازه‌گیری شد و با رسم کردن منحنی تغییرات زمان - وزن، شیب هر خط بر اساس رگرسیون خطی تعیین شد. آهنگ عبور بخار آب با استفاده از رابطه ۱ و میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب به کمک رابطه ۲ محاسبه شد.

$$WVTR = \frac{S}{A} \quad (1)$$

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{\Delta P} \quad (2)$$

که در آن،

$S$  = شیب مدل رگرسیون خطی؛  $A$  = مساحت ویال (مترمربع)؛  $WVTR$  = آهنگ عبور بخار آب (گرم بر ثانیه)؛  $X$  = ضخامت فیلم (میلی‌متر)؛ و  $\Delta P$  = اختلاف فشار جزئی در دو طرف سطح فیلم (۱۷۵۳/۵۵ پاسکال) است.

### اندازه‌گیری رطوبت فیلم

برای تعیین میزان رطوبت، نمونه فیلم‌ها در ابتدا وزن و پس از آن در آن ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت برای رسیدن به وزن ثابت قرار داده شد. میزان رطوبت فیلم از رابطه زیر به دست آمد.

$$\text{رطوبت (درصد)} = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \times 100 \quad (3)$$

که در آن،

$m_1$  = وزن نمونه اولیه؛ و  $m_2$  = وزن نمونه خشک است.

### اندازه‌گیری انحلال‌پذیری در آب

نمونه‌های فیلم پس از وزن شدن درون ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۶ ساعت همراه با هم‌زدن آرام در دمای

پروتئین آب‌پنیر - پولولان، هر بار حجم مشخصی از محلول فوق با سه نسبت ۳۰:۷۰، ۵۰:۵۰، ۷۰:۳۰ با هم مخلوط شدند و گلیسرول به عنوان نرم‌کننده به مقدار ۴۰ درصد نسبت به کل ماده جامد اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه هم‌زده شد. محلول در قالب تفلونی ریخته شد و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک و سپس جدا شد. به منظور یکنواخت شدن خصوصیات رطوبتی، فیلم‌ها در دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات کلسیم به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس آماده شدند. از آنجایی که نسبت صفر به ۱۰۰ پروتئین آب‌پنیر - پولولان، فیلمی بسیار کشسان تولید می‌کند و نسبت صفر به ۱۰۰ پولولان - پروتئین آب‌پنیر، شکنندگی نامناسبی دارد، بنابراین خصوصیات فیزیکی و مکانیکی این فیلم‌ها مورد بررسی قرار نگرفت.

### تعیین خصوصیات مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم‌ها با استفاده از دستگاه اینسترون (Testometric-M350-10CT, England) بر اساس استاندارد ASTM D882 ارزیابی شد (Anon, 2001). فیلم‌ها با نسبت‌های ۷۰:۳۰، ۵۰:۵۰ و ۳۰:۷۰ در سه تکرار به شکل مستطیل با ابعاد ۱۰×۱ سانتی‌متر بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۱۰ میلی‌متر بر دقیقه انتخاب و میزان مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول محاسبه شد.

### نفوذپذیری نسبت به بخار آب

نفوذپذیری نسبت به بخار آب با استفاده از روش اصلاح شده شماره استاندارد ASTM E96 اندازه‌گیری شد (Anon, 1995). برای اجرای این آزمایش درون ویال‌های شیشه‌ای کلرید کلسیم بدون آب ریخته و فیلم‌های آماده شده روی در ویال‌های شیشه‌ای قرار داده شد؛ با استفاده از پارافیلیم، ویال‌های شیشه‌ای درزبندی شدند. ویال‌ها درون دسیکاتور حاوی آب نمک اشباع قرار داده شدند. به

### مطالعه ریزساختار فیلم

از نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی<sup>۱</sup> تصویربرداری شد. ابتدا نمونه در نیتروژن مایع شکسته پس از چسباندن بر روی پایه آلومینیومی در دستگاه پوشش دهنده با طلا به مدت ۵ دقیقه پوشش داده شد. سپس از سطح و مقطع عرضی فیلم‌ها تصویربرداری شد.

### روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

اختلاف بین تیمارهای مختلف براساس طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار (SPSS Ver. 20) آنالیز آماری انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه و بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

#### ضخامت

شکل ۱ اثر نسبت‌های متفاوت پولولان - پروتئین آب‌پنیر را بر ضخامت فیلم مرکب پروتئین آب‌پنیر- پولولان را نشان می‌دهد. ضخامت فیلم در تیمار ۷۰ درصد آب‌پنیر و ۳۰ درصد پولولان (۳۰P) درصد ۷۰W: (۷۰ درصد)، ۰/۰۸ میلی‌متر است. با افزایش میزان پولولان تا ۷۰ درصد (۷۰P) درصد ۳۰W: (۳۰ درصد)، ضخامت فیلم به ۰/۰۵ کاهش می‌یابد. کاهش در ضخامت می‌تواند به دلیل تفاوت در اندازه مولکولی و ساختار این بیوپلیمر باشد، وزن مولکولی پولولان ۱۴۰۰۰ - ۱۰۰۰۰ و وزن مولکولی بتالاکتوگلوبولین که ۸۵-۴۸ درصد از کل پروتئین‌های آب‌پنیر را شامل می‌شود ۱۸۳۰۰ دالتون است (Yuen, 1974; Sawyer et al., 1999).

۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. آنگاه فیلم‌های باقیمانده پس از جمع آوری در آون ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت به وزن ثابت رسانیده و مجدداً وزن شدند درصد انحلال‌پذیری فیلم‌ها در آب از رابطه ۴ به دست آمد.

$$\text{انحلال‌پذیری (درصد)} = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \times 100 \quad (4)$$

که در آن،

$m_1$  = وزن نمونه اولیه؛ و  $m_2$  = وزن نمونه حل نشده در آب است.

### خصوصیات رنگی

رنگ نمونه‌ها با دستگاه هانترلب (Minolta CR 300 Series, Japan) ارزیابی شد. میزان رنگ بر اساس پارامتر هانتر برحسب L (روشنایی- تیرگی)، a (قرمز- سبز)، b (زرد-آبی) تعیین شد. مقدار تغییر رنگ ( $\Delta E$ )، مقدار فاکتور سفیدی (WI) و فاکتور زردی (YI) به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۵، ۶ و ۷ محاسبه شد.

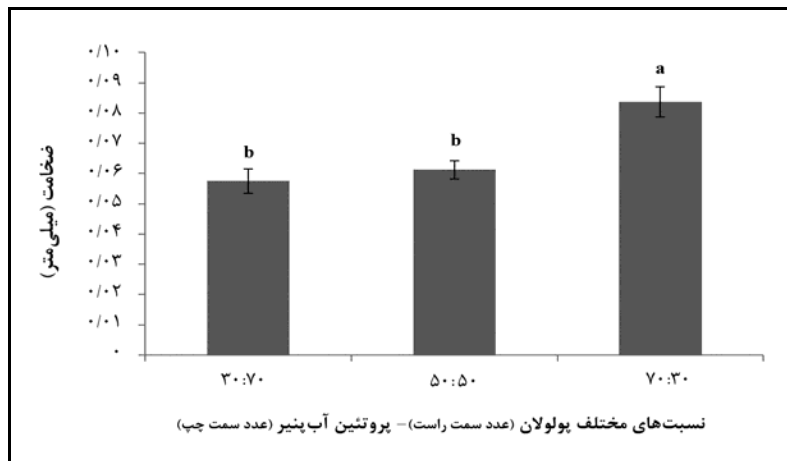
$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (5)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad (6)$$

$$YI = (142.86 \times b) / L \quad (7)$$

که در آن،

$a$ ،  $b$  و  $L$  = فاکتورهای رنگی نمونه؛ و  $a^*$ ،  $b^*$  و  $L^*$  = فاکتورهای رنگی صفحه استاندارد سفید است.

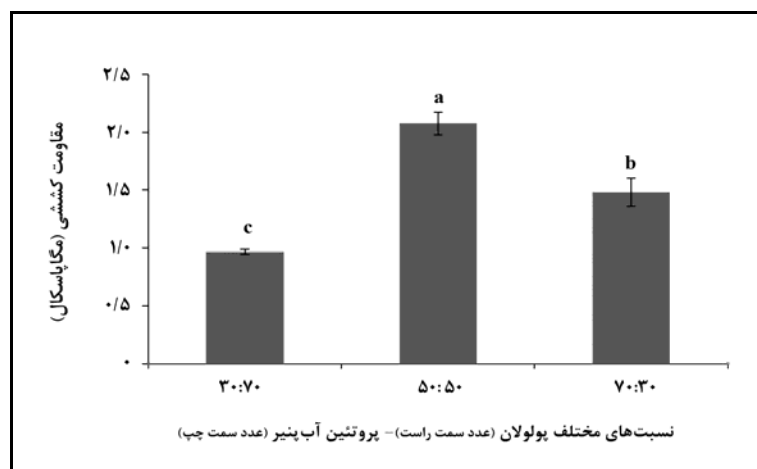


شکل ۱- اثر نسبت های پولولان- پروتئین آب پنیر بر ضخامت فیلم (میانگین های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.)

شکل گیری پیوند هیدروژنی بین مولکول پروتئین آب پنیر و پولولان باشد ولی قبل و بعد از آن، به دلیل متناسب نبودن بین نسبت پروتئین و کربوهیدرات، این مقدار کاهش می یابد. پروتئین آب پنیر سرشار از آمینو اسیدهای سولفوری است (McHugh & Krochta, 1994b). برخی از محققان اعتقاد دارند که وجود اتصالات دی سولفیدی در فیلم های پروتئینی می تواند یکی از عوامل مؤثر در مقاومت کششی فیلم های پروتئینی باشد (Perez – Gago *et al.*, 1999).

### خصوصیات مکانیکی

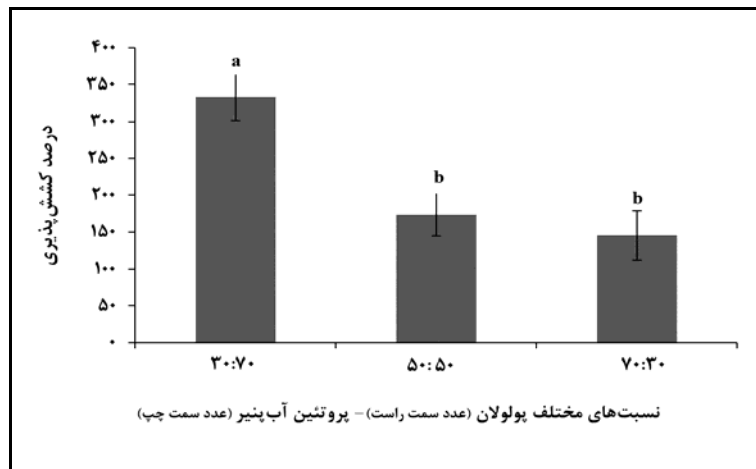
اثر نسبت های پولولان - پروتئین آب پنیر بر مقاومت کششی و درصد کشش پذیری فیلم ها در شکل های ۲ و ۳ آمده است. مقاومت کشش با افزایش مقدار پروتئین آب پنیر تا ۵۰ درصد (۵۰P: ۵۰W درصد) افزایش می یابد ولی پس از آن در غلظت ۷۰ درصد پروتئین آب پنیر، مجدداً کاهش می یابد. افزایش مقاومت کششی در نسبت مساوی از پروتئین آب پنیر- پولولان (۵۰P: ۵۰W درصد) ممکن است به دلیل



شکل ۲- اثر نسبت های پولولان - پروتئین آب پنیر بر مقاومت کششی فیلم (میانگین های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.)

می‌یابد (Yuen, 1974; Shingel, 2004). افزایش مقاومت کششی و کاهش درصد کشش پذیری در سایر بیوپلیمرها نیز گزارش شده است؛ این خصوصیات در ارتباط با نوع پلیمر و روش اصلاحی مورد استفاده است (Shahabi-Ghahfarokhi *et al.*, 2015; Zolfi *et al.*, 2014, 2015).

مقدار کشش پذیری نمونه‌ها با کاهش نسبت پولولان به صورت خطی کاهش می‌یابد. این موضوع به دلیل حضور اتصالات گلیکوزیدی  $\alpha$  (۶ و ۱) است. به دلیل وجود پیوندهای داخل مولکولی در ساختار پولولان، پیوندهای گلیکوزیدی سبب افزایش تحرک مولکولی زنجیره‌ها می‌شود و انعطاف پذیری فیلم‌ها، با افزایش پولولان افزایش



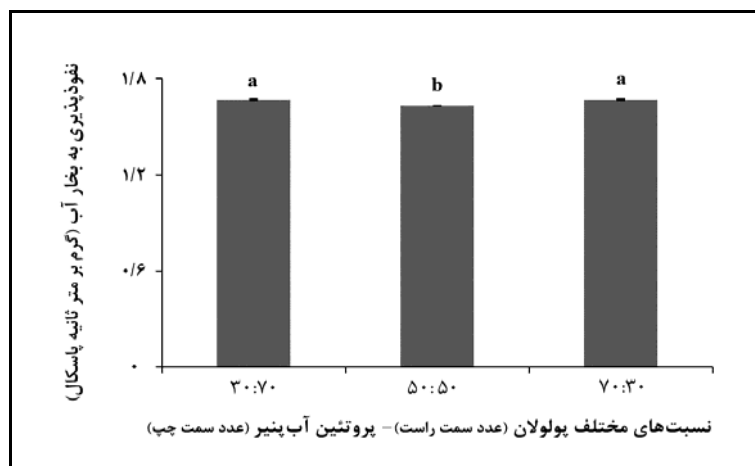
شکل ۳- اثر نسبت‌های پولولان - پروتئین آب پنیر بر درصد کشش پذیری فیلم

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

$10^{-10} \times 1/63$  گرم بر متر ثانیه پاسکال می‌رسد. ولی افزودن پروتئین آب پنیر تا ۷۰ درصد موجب افزایش مجدد این فاکتور تا  $10^{-10} \times 1/67$  گرم بر متر ثانیه پاسکال می‌شود. نفوذپذیری نسبت به بخار آب به انتشار مولکول‌ها در ساختار فیلم‌ها بستگی دارد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که متناسب بودن نسبت بین پروتئین آب پنیر و پولولان موجب افزایش پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی بین پولولان و پروتئین آب پنیر و کاهش انتشار مولکول‌های بخار آب در فیلم می‌شود (Wu *et al.*, 2013). پولولان دارای گروه‌های هیدروکسیل زیادی است و سبب افزایش خصوصیات هیدروفیلیک فیلم‌ها می‌شود و خصوصیات ممانعتی فیلم‌ها را کاهش می‌دهد (Perez-Gago *et al.*, 1999).

### نفوذپذیری نسبت به بخار آب

آب از عوامل مهم در فساد مواد غذایی است اما از سوی دیگر در برخی از مواد غذایی مانند میوه‌ها و سبزی‌ها از دست رفتن آب سبب کاهش کیفیت می‌شود لذا نفوذپذیری نسبت به بخار آب از ویژگی‌های مهم در فیلم‌های خوراکی به شمار می‌رود. اثر نسبت‌های پولولان - پروتئین آب پنیر بر نفوذپذیری نسبت به بخار آب در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که در نسبت ۳۰ درصد پروتئین آب پنیر نفوذپذیری نسبت به بخار آب  $10^{-10} \times 1/67$  گرم بر متر ثانیه پاسکال است. با افزایش میزان پروتئین آب پنیر تا ۵۰ درصد، نفوذپذیری نسبت به بخار آب به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش می‌یابد و به میزان

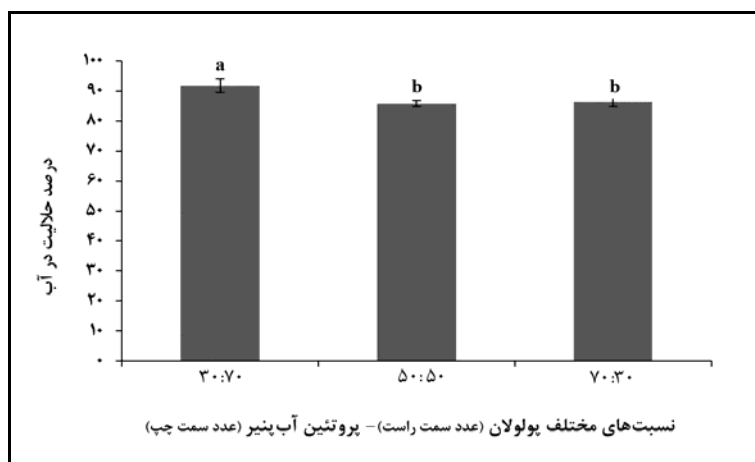


شکل ۴- اثر نسبت‌های پولولان - پروتئین آب پنیر بر نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب (میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

انحلال‌پذیری در آب (Gounga *et al.*, 2007). با افزایش پروتئین آب پنیر تا ۵۰ درصد و ۷۰ درصد انحلال‌پذیری در آب به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش می‌یابد و به ترتیب به ۸۵/۷۹ و ۸۶/۳۳ می‌رسد. کاهش انحلال‌پذیری در اثر افزودن پروتئین آب پنیر به دلیل دانسیته بالا و پیوندهای دی‌سولفیدی درون مولکولی در اثر عملیات حرارتی است (McHuge *et al.*, 1993; McHuge & Krochta, 1994a). کاهش انحلال‌پذیری با افزودن پروتئین آب پنیر در فیلم‌های کامپوزیت پروتئین آب پنیر-ژلاتین، انحلال‌پذیری گزارش شده است (Jiang *et al.*, 2010).

#### انحلال‌پذیری در آب

انحلال‌پذیری پایین فیلم از لحاظ فرایند و نگهداری مواد غذایی حائز اهمیت است و انحلال‌پذیری زیاد برای مواد غذایی خشک غیر قابل حل در آب اهمیت دارد (Guilbert & Biquet, 1989). نتایج حاصل از انحلال‌پذیری در آب فیلم پروتئین آب پنیر- پولولان در آب در شکل ۵ نشان داده شده است. انحلال‌پذیری فیلم حاوی ۷۰ درصد پولولان، ۹۱/۶۵ درصد است. این ویژگی بسیار بالا که این فیلم به دلیل خصوصیات هیدروفیلی و هیگروسکوپیک پولولان است. این فیلم سریعاً در آب متلاشی می‌شود

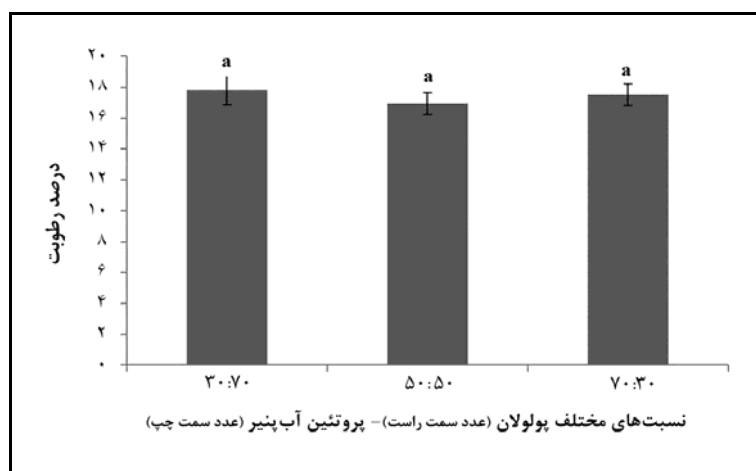


شکل ۵- اثر نسبت‌های پولولان - پروتئین آب پنیر بر درصد خالیت فیلم (میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

## میزان رطوبت

پولولان تأثیر معنی‌داری در میزان رطوبت ندارد. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که فرایند مخلوط کردن تاثیر قابل توجهی در کل حجم اشغال شده توسط مولکول‌های آب ندارد. نتیجه مشابهی در مورد فیلم کامپوزیت پروتئین آب‌پنیر- ژلاتین مشاهده شده است (Jiang *et al.*, 2010).

میزان رطوبت پارامتری است که به کل حجم اشغال شده توسط مولکول‌های آب در ریزساختار بستگی دارد (Li *et al.*, 2011). شکل ۶ اثر نسبت‌های متفاوت پولولان- پروتئین آب‌پنیر بر میزان رطوبت را نشان می‌دهد. نسبت‌های متفاوت پروتئین آب‌پنیر و



شکل ۶- اثر نسبت‌های پولولان - پروتئین آب‌پنیر بر درصد رطوبت فیلم

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

است ولی زردی طبیعی خود پروتئین آب‌پنیر باعث شده که در فیلم حاوی ۷۰ درصد پروتئین آب‌پنیر مقدار زردی بیشتر از زردی فیلم حاوی ۳۰ درصد پروتئین آب‌پنیر باشد. همچنین، اندیس زردی و تغییرات رنگ در نسبت (۵۰:۵۰) به دلیل واکنش میلارد به ترتیب بیشترین مقدار ۴/۹۲ و ۹/۱۵ است و در هر سه نسبت تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) مشاهده شده است. اندیس سفیدی در فیلم‌های حاوی ۳۰ درصد پولولان ۸۹/۱۴ است و با افزایش میزان پولولان اندیس سفیدی افزایش می‌یابد زیرا پولولان در مقایسه با پروتئین آب‌پنیر فیلم‌های شفاف‌تری تولید می‌کند.

## تغییرات رنگ

رنگ فیلم یک ویژگی مهم در پذیرش محصول به وسیله مصرف‌کننده است. خصوصیات رنگ در نسبت‌های متفاوت پولولان- پروتئین آب‌پنیر در جدول ۱ نشان داده شده است. پارامتر  $a$  تفاوت معنی‌دار ( $P > 0.05$ ) در سه نسبت نداشته است. پارامتر  $b$  در نسبت (۵۰:۵۰) افزایش می‌یابد که دلیل آن واکنش قهوه‌ای شدن میلارد بین گروه‌های آمین پروتئین و گروه‌های کربونیل کربوهیدرات است (Wu *et al.*, 2013). به علت آنکه در این واکنش به ازای هر یک گروه آمین یک گروه کربونیل نیاز است، لذا مقدار زردی در نسبت (۵۰:۵۰) بیشترین میزان



جدول ۱- خصوصیات رنگی فیلم‌های کامپوزیت پروتئین آب پنیر-پولولان با نسبت‌های مختلف

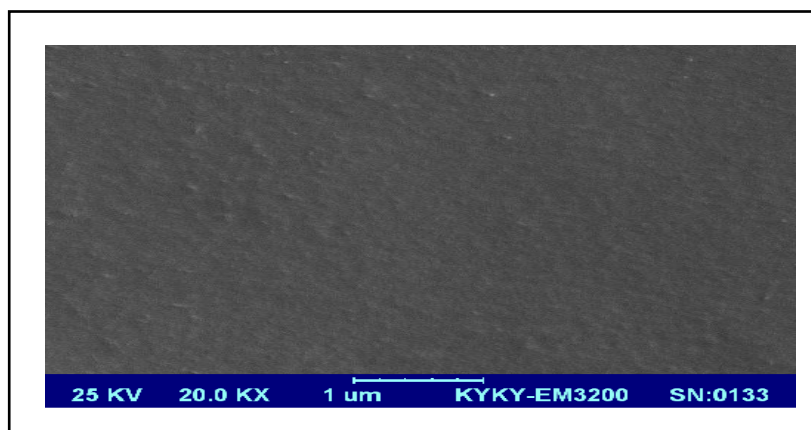
L	A	B	$\Delta E$	YL	WI	پولولان- پروتئین آب پنیر
89/38 ± 0/96 a	-0/46 ± 0/51 a	1/69 ± 0/48 c	6/76 ± 1/69 b	2/70 ± 0/78 c	89/22 ± 0/99 a *	(30-70)
89/38 ± 0/86 a	-0/15 ± 0/37 a	3/07 ± 0/64 a	9/15 ± 0/99 a	4/92 ± 0/58 a	88/92 ± 0/92 a	(50-50)
89/38 ± 1/04 a	-0/3 ± 0/48 a	2/15 ± 0/37 b	7/72 ± 1/15 b	3/44 ± 1/04 b	89/14 ± 1/00 a	(70-30)

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.  
\* میانگین ± انحراف معیار

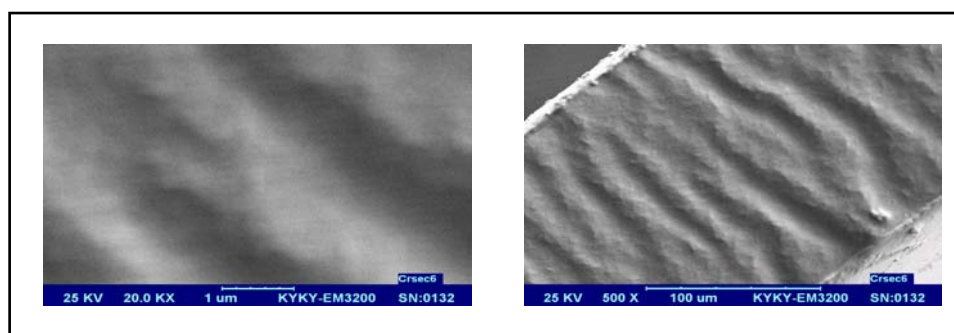
### ریزساختار فیلم

آنها رخ نداده است (شکل ۷) و مشخص شد که سازگاری خوبی بین دو ترکیب پروتئین آب پنیر و پولولان در فیلم‌های مرکب وجود دارد. شکل‌های ۷ و ۸ به ترتیب میکروگراف سطح و مقطع عرضی را برای فیلم با نسبت ۵۰:۵۰ از پروتئین آب پنیر- پولولان به عنوان نمونه نشان می‌دهد.

برای بررسی تغییرات ریزساختار و تغییرات توپوگرافی سطح و مقطع عرضی فیلم‌های تولیدی، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. مشخص شد که فیلم‌های ترکیبی پروتئین آب پنیر- پولولان صاف و متراکم‌اند و تفکیک فازی در



شکل ۷- میکروگراف سطح فیلم مرکب پولولان - پروتئین آب پنیر (۵۰:۵۰)



شکل ۸- میکروگراف مقطع عرضی فیلم مرکب پولولان - پروتئین آب پنیر (۵۰:۵۰)

## نتیجه گیری

در سال‌های اخیر تولید فیلم‌های خوراکی مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق، از ترکیب پروتئین آب‌پنیر و پولولان فیلم‌های مرکب تهیه و اثر نسبت‌های مختلف (۷۰:۳۰، ۵۰:۵۰ و ۳۰:۷۰) بررسی شد. در نسبت (۵۰:۵۰) پروتئین آب‌پنیر-پولولان، مشخص شد که مقاومت کششی و همچنین خصوصیات نفوذپذیری نسبت به بخار آب، انحلال‌پذیری در آب افزایش می‌یابد و در این نسبت رنگ فیلم‌های تهیه شده زردتر است. با افزایش پولولان، ضخامت فیلم‌ها کاهش و انعطاف پذیری فیلم‌ها افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که نسبت مساوی از پولولان و پروتئین آب‌پنیر دارای فعل و انفعالات مناسبی با یکدیگر است و می‌تواند فیلم مناسب‌تری تولید کند.

## قدر دانی

این پژوهش در قالب طرح شماره ۷۳۱۴۸۷۲/۱/۰۲ با استفاده از اعتبارات دانشگاه تهران اجرا شده است. همچنین، از همکاری ویژه دانشگاه آزاد اسلامی واحد وارمین-پیشوا سپاسگزاری می‌شود.

## مراجع

- Anon. 2001. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Standard D882. Annual Book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials (ASTM).
- Anon. 1995. Standard Test Methods for Water Vapor Transition of Material, E 95 – 96. Annual Book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials (ASTM).
- Bolghaysi, S., Azizi, M. H., Zohorian, G. and Hadiyan, Z. 2008. Evaluation physical properties whey protein and monoglyceride edible film and the effect of coating on moisture loss and sensory characteristic of fresh mutton. Iranian J. Food Technol. 3, 83-93. (in Farsi)
- Ciesla, K., Salmieri, S. and Lacroix, M. 2006. Modification of the properties of milk protein films by gamma radiation and polysaccharide addition. J. Sci. Food Agric. 86, 908-914.
- Gennadios, A. 2002. Soft gelation capsules. In: Protein based Films and Coatings (A. Gennadios, Ed.). 393-443.
- Gounga, M. E., Xu, S. Y. and Wang, Z. 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.
- Guilbert, S. G. and Biquet, B. 1989. Les films et enrobages comestibles. In: Bureau, G. and Multon, J. J. (Eds.) L'emballage des denre ´es alimentaires de grande consommation (320–350). Lavoisier, Paris: Tech.
- Jiang, Y., Li, Y., Chai, Z. and Leng, X. 2010. Study of physical properties of whey protein isolate and gelatin composite films. J. Agric.Food Chem. 58, 5100-5108.
- Karami-Moghaddam, A., Emam Jomeh, Z. and Yasini -Ardakani, S. A. 2014. Effect of Pomegranate Peel Extract on the Antibacterial and Mechanical Properties of Sodium Caseinate Film. Iranian J. Biosys. Eng. 45, 121-130. (in Farsi)
- Kinsella, J. E. and Whitehead, D. M. 1989. Proteins in whey: chemical, physical, and functional properties. Adv. Food Nut. Res. 33, 343-348.
- Kokoszka, S., Debeaufort, F., Lenart, A. and Voilley, A. 2010. Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. Inter. Dairy J. 20, 53-60.

- Kristo, E. and Biliaderis, C. G. 2006. Water sorption and thermomechanical properties of water/sorbitol-plasticized composite biopolymer films: Caseinate–pullulan bilayers and blends. *Food Hydrocol.* 20, 1057-1071.
- Krochta, J. M. and De Mulder-Johnston, C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and Opportunities. *Food Technol.* 51, 61-74.
- Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G. and Leng, X. 2011. Fabrication and characterization of  $TiO_2$ /whey protein isolate film. *Food Hydrocol.* 25, 1098-1104.
- Longares, A., Monahan, F. J., O’Riordan, E. D. and O’Sullivan, M. 2005. Physical properties of edible films made from mixtures of sodium caseinate and WPI. *Inter. Dairy J.* 15, 1255-1260.
- McHugh, T. H. and Krochta, J. M. 1994a. Milk protein based edible films and coatings. *Food Technol.* 48, 97-103.
- McHugh, T. H. and krochta, J. M. 1994b. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *J. Food Sci.* 52, 416-419.
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R. D. and Krochta, J. M. 1993. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* 58, 899-903.
- Perez – Gago, M. B., Nadaud, P. and Krochta, J. M. 1999. Water vapor permeability, Solubility and tensile properties of heat – denatured versus native whey protein films. *J. Food Sci.* 64, 1034-1037.
- Sawyer, L., Kontopidis, G. and Wu, S. Y. 1999. Beta-lactoglobulin – a threedimensional perspective. *Inter. J. Food Sci. Technol.* 34, 409-418.
- Shahabi-Ghahfarrokhi, I., Khodaiyan, F., Mousavi, M. and Yousefi, H. 2015. Effect of  $\gamma$ -irradiation on the physical and mechanical properties of kefiran biopolymer film. *Inter. J. Biol. Macromol.* 74, 343-350.
- Shih, F. F. 1996. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. *Cereal Chem.* 73, 406-409.
- Shingel, K. 2004. Current knowledge on biosynthesis, biological activity, and chemical modification of the exopolysaccharide, pullulan. *Carbohydr. Res.* 339, 447-460.
- Sothornvit, R. and Krochta, J. M. 2005. Plasticizers in edible films and coatings. In: Han, J. H. (Ed.) *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Academic Press, London, UK. 403-433.
- Sothornvit, R. and Krochta, J. M. 2000. Oxygen permeability and mechanical properties of films from hydrolyzed whey protein. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3913-3916.
- Sothornvit, R., Rhim, J. W. and Hong, S. I. 2009. Effect of nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films. *J. Food Eng.* 91, 468-473.
- 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. Biochem.* 42, 329-334.
- Wu, J., Zhong, F., Li, Y., Shoemaker, C. F. and Xia, W. 2013. Preparation and characterization of pullulan-chitosan and pullulan – carboxymethyl chitosan blended films. *Food Hydrocol.* 30, 82-91.
- Yuen, S. 1974. Pullulan and its applications. *Process Biochem.* 9, 7-9.
- Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M. and Hashemi, M. 2015. Characterization of the new biodegradable WPI/clay nanocomposite films based on kefiran exopolysaccharide. *Food Sci. Technol.* 52, 3485-3493.
- Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M. and Hashemi, M. 2014. Development and characterization of the kefiran-whey proteinisolate- $TiO_2$  nanocomposite films. *Inter. J. Biol. Macromol.* 65, 340-345.

## **Functional Properties of Composite Edible Film Based Made with Whey Protein-Pullulan**

**M. Hassannia-Kolaei, F. Khodaiyan<sup>\*</sup>, R. Pourahmad and I. Shahabi-Ghahfarokhi**

<sup>\*</sup> Corresponding Author: Associate Professor, Department of Food Science, Engineering and Technology, University of Tehran, P. O. Box: 4111, Karaj, Iran. Email: khodaiyan@ut.ac.ir  
Received: 9 August 2014, Accepted: 22 August 2015

Proteins and polysaccharides are suitable sources for the production of edible film. In this research, whey protein isolate was combined with pullulan at different ratios (30:70, 50:50, 70:30). The film was prepared using the casting method. The mechanical properties (tensile strength, elongation at break) and physical properties (moisture content, solubility in water, water vapor permeability, thickness, total color difference) of the film were evaluated. The results showed that water vapor permeability decreased solubility in water for the film with the 50:50 ratio. The tensile strength and total color difference was highest at this concentration. There was no significant change in moisture content. An increase in pullulan increased elongation at break and decreased thickness. Scanning electron micrography of the film showed a homogeneous structure of the composite film without signs of phase separation between film edges. This indicates that the two components were compatible.

**Keywords:** Edible Film, Pullulan, Whey Protein Isolate