



## اثر ریزپوشانی بر زنده مانی پروبیوتیک ها طی فرآیندهای چاپ سه بعدی و پخت خمیر کوکی بر پایه ضایعات قنادی

مهسا صیادی<sup>۱</sup>، زینب السادات ابراهیم زاده موسوی<sup>۲</sup>، سید هادی رضوی<sup>۳</sup>

۱- کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده منابع طبیعی و کشاورزی دانشگاه تهران

۲- استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده منابع طبیعی و کشاورزی دانشگاه تهران. پست الکترونی

۳- استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی و کشاورزیدانشگاه تهران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

زنده مانی پروبیوتیک‌ها طی فرایند تولید محصولات غذایی با چالش‌های مختلفی رو به رو می‌باشد. یکی از فرایندهای نوظهور تولید محصولات غذایی استفاده از چاپ سه‌بعدی بوده که تا کنون اثر این فرایند بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها چندان مورد مطالعه قرار نگرفته است. در این پژوهش اثر ریزپوشانی بر زنده مانی سلول‌ها طی فرایند چاپ سه بعدی و پخت کوکی (بر پایه ضایعات حاصل از فراورده‌های قنادی) بر زنده مانی سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا شرایط تولید دانک نیز با تغییر درصد محلول‌های آلژینات سدیم و کلسیم کلرید بهینه‌سازی گردید. سپس، اثر ریزپوشانی درصد‌های مختلف دانک (۵، ۱۰، ۲۰٪) بر سفتی بافت خمیر به عنوان فاکتور مهم در چاپ پذیری خمیر نیز بررسی شد. در نهایت میزان زنده مانی سلول‌ها طی فرایند چاپ و پخت (دمای C ۱۵۰ و C ۱۸۰ به مدت ۱۰ دقیقه) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج تصاویر تهیه شده نشان داد که با افزایش غلظت محلول سدیم آلژینات و کلسیم کلرید یکنواختی و کرویت دانک‌ها افزایش می‌یابد. کارایی درون‌پوشانی دانک بر پایه آلژینات در این روش بکار ۸۹/۴۱٪ بود. بهینه درصد دانک جهت برخورداری از ویژگی مطلوب چاپ پذیری خمیر و کوکی پخته شده ۵٪ (وزنی-وزنی) گزارش شد. ریزپوشانی باعث افزایش درصد زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها طی چاپ سه بعدی و پخت گردید. بدین صورت که درصد زنده مانی پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده (T2) بعد از چاپ سه بعدی و پخت (دمای C ۱۵۰) به ترتیب ۹۶/۸۶٪ و ۶۲/۵۸٪ بود. این در حالیست که درصد زنده مانی برای نمونه حاوی سلول‌های آزاد (T1) به ترتیب برابر با ۶۰/۷۷٪ و ۴۳/۰۵٪ اعلام شد. با این وجود هیچ سلول زنده پروبیوتیک در هر دوی شرایط آزاد و درون پوشانی در دمای دمای C ۱۸۰ مشاهده نشد.

### تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۹

### کلمات کلیدی:

پروبیوتیک،

کوکی،

ریزپوشانی،

زنده‌مانی،

چاپ سه بعدی

DOI: 10.22034/FSCT.20.136.186

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.136.14.2

\* مسئول مکاتبات:

[zeinab.mosavi@ut.ac.ir](mailto:zeinab.mosavi@ut.ac.ir)

## ۱- مقدمه

ریخته می شود که مشکلات اقتصادی و زیست محیطی را به همراه خواهد داشت [۴].

چاپ سه بعدی مواد غذایی ترکیبی از فناوری چاپ سه بعدی و فرآوری مواد غذایی است و از مواد قابل خوراک‌ی مثل پودر یا آب‌میوه جات و سبزیجات، نشاسته، گوشت، شکلات، جلبک و غیره به‌عنوان مواد اولیه جهت فرآیند چاپ کردن استفاده می‌کند [۵]. مهم‌ترین ویژگی‌ها در واقع مزیت چاپ سه بعدی، ایجاد ساختارهای پیچیده سه بعدی هست، اما در حوزه صنایع غذایی، پتانسیل ارائه تغذیه شخصی و انتخاب غذای شخصی می‌تواند اصلی‌ترین دلیلی باشد که فناوری چاپ سه بعدی به‌سرعت در حال پیشرفت هست [5] فناوری چاپ سه بعدی مواد غذایی می‌تواند فرمولاسیون غذا را برای پاسخ‌گویی به نیازهای فردی با ترجیحات چشایی، نیاهای غذایی و شرایط جسمی مختلف برآورده سازد. همچون کسانی که بیماری‌هایی چون دی‌سفاژی دارند [۶]. فناوری چاپ سه بعدی

بعدها همچنین برای تولید غذاهای سفارشی ۵ برای ورزشکاران، زنان باردار و ... مناسب باشد. این امر توسط حذف، کاهش یا تغییر در محتوای پروتئین، چربی، فیبر، سلولز، وی‌تامین و ... و با افزودن یا معرفی ترکیبات عملکردی چون آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها و پروبیوتیک‌ها برای ایجاد عملکردهای مطلوب، حاصل می‌شود [۷]. علی‌رغم مزیت بالقوه چاپ سه بعدی مواد غذایی در تأثیرات سلامتی و محیطی، تحقیقات کمی در مورد استفاده از

صنایع مواد غذایی، صنایع تجزیه‌پذیری اند که می‌توانند بر محیط، سلامتی جمعیت و توسعه پایدار ۱ تأثیر بگذارند [۱] بر اساس گزارش‌ها براساس گزارش سازمان جهانی خواربار و کشاورزی (FAO)، نزدیک به ۱٫۶ میلیارد تن مواد غذایی شامل سبزیجات تازه، میوه‌ها، گوشت، فرآورده‌های نانویی ۲ و محصولات لبنی، به‌سادگی در زنجیره‌های غذایی ۳ خارج شده و از دست می‌روند. بر اساس گزارش‌ها فائو از این ۱٫۳ میلیارد تن صنایع در دنیا سهم ایران ۲٫۷ درصد از آن یعنی ۳۵ میلیون تن در سال هست که بیشترین میزان صنایع مربوط به نان، میوه و سبزیجات و برنج است [۲]. در حال حاضر در کشور ما برخلاف کشورهای پیشرفته، صنایع نان یکی از مهم‌ترین فرآورده‌های غذایی دورریز است که از مرحله برداشت غلات تا تولید و مصرف نان حدود ۳۰ درصد تخمین زده شده به طوری که سالانه معادل ۳۰۰ میلیون دلار صنایع نان هدر می‌رود. در اصطلاح به کلیه صنایع نان‌های تولیدی، بیسکوئیت‌ها، کیک‌ها و کلوچه، شیرینی‌ها و ماکارونی و ... صنایع نان گفته می‌شود. صنایع نانویی ترکیبی از ترکیبات مختلفی سرشار از مواد مغذی است که می‌توان آن‌ها را در صنایع دیگری مورد استفاده قرارداد، اما در نهایت این صنایع با ارزش در محل‌ها دفن زباله قرار می‌گیرند [۳]. صنعت قنادی ۴ در دنیا سالیانه چندین تن صنایع تولید می‌کند. صنایع حاصل از قنادی ها منابع غنی از مواد مغذی یوده که می‌توان از آن در صنایع مختلف استفاده نمود و تولید و توسعه پایدار محصولات با ارزش افزوده بالا را سبب می‌شود. این درحالی است که صنایع قنادی به راحتی دور

1-Sustainable development

2-Bakery

3-Food supply chain

4-Confectionary industry

5-Customized foods

ضایعات مواد غذایی به عنوان مواد تشکیل دهنده برای چاپ سه بعدی مواد غذایی وجود دارد [۸].

در طی دهه گذشته گرایش به تولید محصولات غذایی عملگرای حاوی سلول های پروبیوتیک به دلایل اثرات مثبت فیزیولوژیکی و سلامتی بخش آنها رشد چشمگیری داشته است [۹]. پروبیوتیک ها می توانند با کاهش pH دهان و دهان در مقدار مناسب (106-107 CFU/g) مورد استفاده قرار بگیرند می توانند اثرات سلامتی بخش یاز جمله بهبود عملکرد دستگاه گوارش، سیستم های اکسیژن-حی و متابولیسم درشت مغذی هادرمی زبانی ایجاد کنند [۱۰، ۱۱]. در طی سالهای اخیر تحقیقاتی در خصوص استفاده از فناوری چاپ سه بعدی در تولید محصولات غذایی حاوی پروبیوتیک صورت گرفته است. نمونه ای از این محصولات شامل اسنک ها بر پایه غلات، سبزی زمینی، شکلات، میوه و سبزی [۱۲-۱۵] می باشد. زنده مانی پروبیوتیک ها طی فرایند تولید محصولات غذایی با چالش های مختلفی رو به رو می باشد. شرایط حاکم بر فرایند تولید مواد غذایی می تواند منجر به از دست رفتن زمان ماندگاری قابل توجهی از پروبیوتیک ها به دلیل صدمات سلولی ناشی از گرما، استرس مکانیکی، اسمزی و بسیاری از شرایط شود [۱۶].

به عنوان مثال، در صورت استفاده از چاپ سه بعدی در تولید محصولات تغذایی حاوی پروبیوتیک ها فاکتورهای متعددی بر زمان ماندگاری سلول ها نقش دارند. فاکتورهای چاپ مانند قطر نازل، دمای فرایند چاپ، مدت زمان نگه داری، سرعت اکستروژن، فشار اکستروژن و شرایط انبارداری بر زنده مانی سلول های پروبیوتیک اثر زیادی دارند

[۱۳]. چندی استراتژی در طول سالهای اخیر برای غلبه بر این موانع برای ایجاد حداکثر قابلیت زنده ماندن پروبیوتیک ها در هنگام فرآیندهای انبارداری محصول، توزیع در بازار و همچنین پس از مصرف در دستگاه گوارشی عنی شیوه معده و شرایط نمک های صفراوی روده، مورد بررسی قرار گرفته است. تولید میکروکپسول های حاوی پروبیوتیک به سه دسته اصلی اکستروژن، امولسیون و خشک کن پاششی تقسیم می شود که اکثر تحقیقات با استفاده از فناوری های اکستروژن یا امولسیون انجام می شود [۱۷]. روش اکستروژن معمولاً برای ریز پوشانی سلول های میکروبی به کار می رود اکستروژن یک روش فیزیکی است که در آن سلول های پروبیوتیک زنده در مواد هیدروکلوئیدی مانند آلژینات و کاراگینان قرار می گیرند این یک فرایند بسیار متداول است که بر اساس عبور اجباری محلول حاوی سلول های میکروبی از طریق نازل یا دهانه های کوچک با استفاده از دستگاه های تولید کننده قطرات مناسب انجام می شود [۱۶، ۱۸-۲۱].

هدف از این تحقیق تولید کوکی فراسودمند حاوی پروبیوتیک با استفاده از ضایعات حاصل از صنعت قنادی به شکل خمیر به عنوان حامل سلول های پروبیوتیک توسط چاپگر می باشد. افزون بر این زنده مانی سلول ها به صورت آزاد و ریز پوشانی شده حین فرایند چاپ و پخت نیز مورد ارزیابی قرار می گیرد.

## ۲. مواد و روش ها

۲.۱. لیست مواد و تجهیزات و دستگاه های مورد استفاده

قرار داده و پس از ۲۴ ساعت مجدداً یک میلی لیتر از محیط کشت را به محیط کشت مایع MRS تلقیح شد. در نهایت جداسازی باکتری ها پس از گذشت مدت زمان ۱۸ ساعت از تلقیح و هنگامی که در ابتدای مرحله سکون (انتهای مرحله لگاریتمی) قرار گرفتند، صورت گرفت [۲۲]. جهت جداسازی سوسپانسیون باکتری از محیط کشت، ابتدا محیط کشت حاوی میکروارگانیسم به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد در سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. در ادامه محیط کشت را خارج کرده و توده باکتری دو بار توسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شده و مجدداً سانتریفیوژ شد. در نهایت سوسپانسیون جدا شده توسط سرم فیزیولوژی رقت سازی شده و شمارش میکروارگانیسم انجام شد [۲۳].

### ۲.۳. ریزپوشانی میکروب با روش اکستروژن

فرآیند ریزپوشانی با استفاده از روش اکستروژن مطابق روش ست و همکاران [۲۴] صورت گرفت. به این منظور ابتدا ۰/۴ گرم پودر آلژینات سدیم را به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده و به مدت یک شبانه روز در دمای محیط تحت همزنی قرار گرفت. سپس محلول حاصل استریل شد و در یخچال با دمای ۴ °C نگهداری شد. در ادامه یک میلی لیتر سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده به محلول آلژینات سدیم اضافه شده و به طور کاملاً یکنواخت پراکنده شد. در ادامه محلول تهیه شده را توسط سرنگ استری<sup>ل</sup> به صورت قطره قطره به محلول ۳٪ کلسیم کلرید به عنوان محلول سخت کننده در حال همزنی ملایم اضافه شد. در نهایت بی زبوشش تهیه شده با هدف استفاده های بعدی، در ۴ °C نگهداری شدند.

Table 1. Materials used in study

Country	Manufacturer	Materials
USA	Sigma-Aldrich	Sodium Alginate
Germany	Merck	Calcium Chloride
Germany	Merck	Sodium Citrate
Iran	University of Tehran	Lactobacillus plantarum DSMZ 20174
Canada	Qlab	MRS Broth
Iran	-	Yazdi Cake

Table 2: Equipments used in study	The manufacturer and model of the device	Devices
Iran	Pars Khazar	Microwave
Germany	Heidolf MR3001 K	Magnetic Stirrer
Germany	Hettich Universal 320	Centrifuge
Germany	IKA genius	Vortex
Japan	AND	Accurate scale
USA	Brookfield	Texture Analyzer
Germany	Zeiss	SEM
Iran	---	Sieve (mesh 20)

### ۲.۲. تهیه و آماده سازی سلول های باکتریایی

لاکتوباسیلوس پلانتاروم<sup>DSMZ 20174</sup>، از آزمایشگاه گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران تهیه شد. فعال سازی باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم در محیط کشت MRS آگار در دمای 37 °C به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. سپس یک کلونی از محیط جامد MRS آگار به محیط مایع MRS اضافه شد و محیط کشت مورد نظر را در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت

## ۲.۴. بررسی کارایی ریزپوشانی

جهت ارزیابی میزان کارایی ریزپوشانی [۲۵] ابتدا ۱ گرم از ریزپوشش های تولید شده را به ۹ میلی لیتر محلول استریل سترات سدیم ۰/۱ مولارافزوده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای تحتهمزنی قرار داده تا دانکها به صورت کامل حل شده و باکتریها از ریزپوشش ها آزاد شوند. سپس رقت مناسبی از محلول حاصل تهیه شده و در محیط کشت MRS آگار کشت داده شد. در نهایت با هدف رشد میکروارگانیسم مورد نظر محیط کشتها را در دمای دمای °C ۳۷ به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گذاری شدند. میزان کارایی ریزپوشانی توسط معادله ۱ محاسبه شد:

$$\text{معادله ۱:} \quad \text{ریزپوشانی کارایی (\%)} = \frac{N_1}{N_0} \times 100$$

که در آن  $N_0$  = تعداد باکتری اولیه و  $N_1$  = تعداد باکتری پس از ریزپوشانی است.

## ۲.۵. بررسی اندازه ریزپوشش تولید شده

به منظور اندازه گیری اندازه ریزپوشش، ابتدا با استفاده از میکروسکوپ نوری از ریزپوشش تصویر برداری صورت گرفت. سپس اندازه دانکها با استفاده از نرم افزار ImageJ نسخه ۱.52a ارزیابی شد [۲۶].

## ۲.۶. بارگذاری سلولها و چاپ سه بعدی خمیر کوکی

۱ گرم از اریزپوشینه های تولید شده در ۹ گرم آب و ۱۰/۵ گرم پودر شیرینی (تهیه شده از ضایعات قنادی) مخلوط شده است و پس از بهینه سازی فرمولاسیون خمیر کوکی، شرایط چاپ سه بعدی خمیر مورد بهینه سازی قرار گرفت. شرایط بهینه پارامترهای مؤثر بر چاپ خمیر به صورت: سرعت پرینت برابر با ۲۰ میلیلیتر بر ثانیه، قطر خروجی نازل برابر با

۲ میلی متر، حجم سرنگ برابر با ۲۰ میلیلیتر، ارتفاع نازل ۱/۵ میلی متر، و ارتفاع لایه هانیز برابر با ۱/۵ میلی متر بود. تمام مپراحیها، از جمله طراحی دستگاه، نازل و شرایط کلید دستگاه در ایت تحقیق توسط تیم پژوهنده انجام شد. سپس خمیر حاوی سلول های پروبیوتیک توسط چاپ سه بعدی، چاپ شد. و در نهایت خمیر چاپ شده در دو دمای °C ۱۵۰ و °C ۱۸۰ به مدت ۱۰ دقیقه در آون خانگی پخته شد.

## ۲.۷. ارزیابی زنده مانگی سلول های پروبیوتیک محصول پس از فرآیند چاپ سه بعدی و پخت

[۲۷] ابتدا نمونه خمیر یا کوکی تهیه شده در شرایط استریل همگن شده و سپس یک گرم از نمونه توزین شده و در محلول سترات سدیم ۰/۱٪ پراکنده شد. سپس نمونه تا تخریب کامل ریزپوششها و آزاد شدن سلول های ریزپوشانی شده، تحت همزنی قرار گرفت. سپس نمونه مورد نظر را تا رقت مناسب رقیق کرده و در محیط MRS آگار به صورت اختلاطی کشت داده و شمارش صورت گرفت و نتایج بر حسب CFU/ml گزارش شد.

## ۲.۸. بررسی بافت محصول نهایی

به منظور ارزیابی خصوصیات بافتی نمونه ها، آزمون TPA با استفاده از دستگاه Brookfield انجام شد. ابتدا نمونه ها با قطر ۳ سانتی متر چاپ شده و سپس بر روی سکوی دستگاه قرار گرفته و پروب سیلندری با قطر 50 میلی متر به آرامی تا عمق ۵۰٪ نمونه در نمونه ها نفوذ کرد و مجدداً به سطح نمونه برگشت. این سیکل حرکتی در مجموع برای هر نمونه دوبار تکرار شد.

## ۲.۹. آنالیز آماری

و فشاری مقاوم تر هستند و ممکن است باعث بروز پاسخ ایمنی کمتری توسط بدن شوند [۲۸].

بهینه سازی تولید ریزپوشش با استفاده از روش یک فاکتور در زمان برای پارامترهای غلظت محلول آلژینات و غلظت محلول کلسیم کلرید مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین داده ها (حداقل به تکرار برای هر آزمون) با استفاده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۸، تحت روش آنالیز یک طرفه واریانس و با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

## ۳.۱.۱. اثر غلظت محلول آلژینات سدیم بر خصوصیات

## ریزپوشش

به منظور بررسی اثر غلظت محلول آلژینات سدیم بر خصوصیات ریزپوششها، محلول هایی با غلظت های ۲ تا ۴٪ (وزنی/حجمی) تهیه شد و سپس به درون سرنگ انتقال یافت و با فشار دست و قطره قطره از سرنگ خارج و به درون ظرف حاوی محلول کلسیم کلرید ۲٪ (وزنی/حجمی) ریخته شد. انتخاب غلظت های ۲ تا ۴٪ (وزنی/حجمی) در این تحقیق به دلیل این امر بود که به منظور تشکیل ریزپوشش، ویسکوزیته ی محلول سدیم آلژینات می بایست از ۶۰ میلی پاسکال بیشتر باشد [۲۹]. میانگین اندازه ریزپوشش تشکیل شده در اثر تغییر غلظت محلول آلژینات در جدول (۱) آورده شده است. همانطور که در جدول مشاهده می شود، با افزایش غلظت محلول آلژینات، اندازه ی ریزپوشش ها به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) افزایش پیدا کرد. عوامل متعددی از جمله فاصله ی نازل تا سطح محلول ژل کننده، خصوصیات آلژینات استفاده شده، غلظت محلول کلسیم کلرید و غلظت محلول آلژینات سدیم می توانند بر اندازه، شکل و یکنواختی ریزپوشش ها تاثیر گذار باشند [۳۰، ۳۱]. همچنین گزارش شده که با افزایش بی رویه ی غلظت آلژینات، ویسکوزیته افزایش یافته، و در نتیجه محلول آلژینات به سختی قابلیت پمپ شدن از سرنگ را خواهد داشت و ریزپوشش های کروی حاصل نمی شوند [۳۲، ۳۳]. نظر به این که تمامی عوامل از جمله غلظت محلول ژل کننده (کلسیم کلرید) در این آزمون یکسان در نظر گرفته شد، می توان تغییر در اندازه و یکنواختی ریزپوشش های تشکیل شده را تنها به غلظت محلول سدیم آلژینات

## ۳. نتایج

## ۳.۱. بهینه سازی شرایط تولید ریزپوشش

به منظور تولید ریزپوشش با اندازه و شکل های یکسان، شرایط تولید ریزپوشش ها مورد بهینه سازی قرار گرفت. در همین راستا، اثر دو پارامتر غلظت سدیم آلژینات و غلظت محلول کلسیم کلرید بر روی خصوصیات ریزپوشش ها مورد بررسی قرار گرفت. در این خصوص باید گفت که هدف از بهینه سازی، دستیابی به ریزپوشش کروی و ریز و با اندازه های حدود ۲ میلی متر بود، چرا که اندازه ی نازل دستگاه چاپگر سه بعدی مورد استفاده در این تحقیق حدوداً برابر با ۲ میلی متر بود. افزایش اندازه دانک ها به بیش از ۲ میلی متر باعث گرفتگی دستگاه و اختلال در فرآیند چاپ سه بعدی می شد. به علاوه، کنترل اندازه دانک های یکی از پارامترهای مهم به منظور کاربرد آنها برای تثبیت و ریزپوشانی سلول های زنده به شمار می رود. افزایش اندازه ریزپوشش منجر به محدودیت در انتشار مواد مغذی به درون دانک ها می شود. به طور دقیق تر، ورود مواد مغذی مانند اکسیژن به داخل دانک ها منجر به مرگ سلول در نتیجه متابولیسم سلول های مجاور و تولید متابولیت های رقابتی می شود. به علاوه، دانک های کوچک تر در برابر تنش ها برشی

خود در برابر نیروهای کششی در برخورد با سطح حمام ژل هستند [33].

**Table 1. Investigation of the effect of alginate solution concentration on the average size of beads (concentration of 2% w / w calcium chloride)**

	Alginate concentration (% by weight / volume)		
	2	3	4
Average particle size (mm)	2.030±0.014 <sup>a</sup>	2.150±0.015 <sup>b</sup>	2.257±0.021 <sup>c</sup>

**Different letters in each row show a significant difference at the 95% level (p < 0.05).**

نسبت داد. با افزایش غلظت محلول آلژینات، ویسکوزیته‌ی محلول افزایش یافت که این افزایش به نوبه‌ی خود باعث افزایش اندازه قطره خارج شده از نازل و در نهایت افزایش اندازه ریزپوشش‌ها شد. در پژوهش انجام شده توسط کاور و همکاران گزارش شد که افزایش غلظت محلول سدیم آلژینات از ۱٪ به ۳٪ (وزنی/حجمی) منجر به افزایش اندازه‌ی ریزپوشش‌های تولیدی شد [۳۴]

در خصوص یکنواختی شکل ریزپوشش‌ها نیز باید گفت که با افزایش غلظت محلول آلژینات، ریزپوشش‌ها گردتر و یکنواخت‌تر شدند. تغییر شکل در ریزپوشش‌های تولید شده از محلول آلژینات با غلظت ۲٪ در مقایسه با دانک‌های تولید شده از محلول با غلظت ۴٪ بیشتر بود (شکل ۱). این پدیده اثر کشش سطحی بر یکنواختی ریزپوشش‌ها را نشان می‌دهد. با افزایش غلظت آلژینات در محلول، کشش سطحی کاهش بیشتری خواهد داشت. کاهش کشش سطحی منجر خواهد شد که قطره رها شده از نوک نازل، قبل از برخورد به سطح محلول ژل‌کننده، راحت‌تر بتواند شکل کروی به خود بگیرد [۳۲]. همچنین در محلول‌های رقیق‌تر به نسبت انواع غلیظ‌تر، امکان پخش‌شوندگی و تغییر شکل قطرات هنگام برخورد به سطح محلول ژل‌کننده افزایش می‌یابد [39]. افزایش ویسکوزیته سبب می‌شود که قطره هنگام برخورد، از خود رفتار یک جسم کروی جامد را بروز دهد که این رفتار منجر به مقاومت بیشتر نسبت به تغییر شکل می‌گردد. هنگامی که قطره وارد محلول ژل می‌شود، نیروهای ویسکوز<sup>۱</sup> درون قطره برای حفظ شکل قطره کروی عمل می‌کنند در حالی که نیروهای کششی<sup>۲</sup> که از محلول اطراف بر روی سطح قطره اعمال می‌شود، تمایل دارند که قطره محلول آلژینات (دانک) را مختل کند. قطرات محلول آلژینات با ویسکوزیته کم کمتر قادر به حفظ شکل کروی

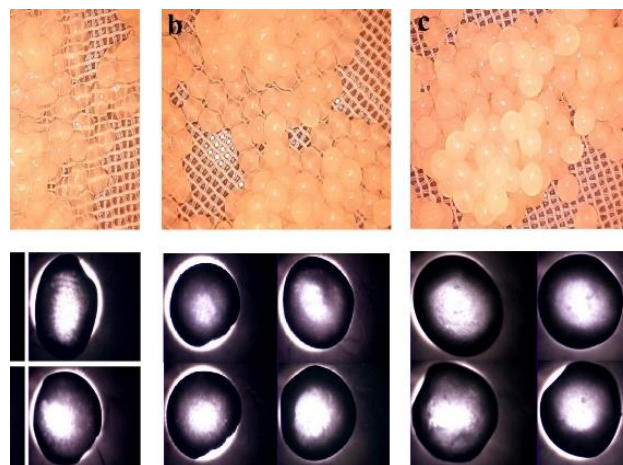
1-Viscous forces

2-Drag forces

کلسیم کلرید، منجر افزایش عوامل کراس لینک کننده می-گردد، لذا قطره به محض ورود به محلول کلسیم کلرید تبدیل به ژل می شود. در ادامه، به دلیل کوچک بودن اندازه ریزپوشش ها سرعت دسترسی یون های کلسیم به مرکز ریزپوشش ها افزایش یافته و در نهایت اکثر نواحی که قابلیت ایجاد پیوند یونی را دارند توسط یون کلسیم اشغال می شوند. این پدیده به معنی ژلاسیون کامل دانک ها می باشد. با افزایش میزان ژلاسیون، میزان خروج آب یا همان پدیده سیتریزس و همچنین سفتی ریزپوشش افزایش می یابد، و لذا ریزپوشش ها ایجاد شده، اندازه ی کوچکتری خواهد داشت [۳۷]. در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده از بخش بهینه سازی تولید دانک ها، به منظور حداکثر سازی کارایی درون پوشانیو درعین حال، حصول ریزپوشش های ریز با شکل یکنواخت، دانک ها با استفاده از محلول ۴٪ (وزنی/حجمی) سدیم آلژینات و در غلظت ۳٪ (وزنی/حجمی) محلول ژل کننده کلسیم کلرید تولید شدند. از ریزپوشش های تولید شده به منظور بررسی کارایی درون پوشانی و همچنین کاربرد در فرمولاسیون کوکی استفاده شد.

**Table 2. Investigation of the effect of calcium chloride solution concentration on the average size of the beads (4% w / w Sodium alginate concentration)**

	Calcium chloride concentration (% by weight / volume)		
	1	2	3
Average particle size (mm)	2.375±0.053 <sup>a</sup>	2.257±0.046 <sup>b</sup>	2.06±0.021 <sup>c</sup>



**Figure 1. Effect of alginate concentration on the properties of beads. Microscopic image of produced beads with a concentration of 2% Sodium alginate (w / w (a), 3% (b), 4% (c))**

### ۳،۱،۲. اثر غلظت کلسیم کلرید بر خصوصیات دانک ها

یکی از خصوصیات بارز آلژینات ها، توانایی تشکیل ژل در حضور یون ها چند ظرفیتی (خصوصاً دو ظرفیتی) می باشد [۳۵]. از مکانیسم تشکیل ژل در آلژینات ها به عنوان مدل جعبه تخم مرغی<sup>۱</sup> یاد می شود. شکل گیری ژل های آلژینات در اثر حضور یون عمدتاً توسط برهمکنش های الکترواستاتیک بین گروه های کربوکسیل با بار منفی در مولکول های آلژینات و کاتیون های دارای بار مثبت تشکیل می شوند که منجر به تشکیل کمپلکس های پلی الکترولیتمی گردد [۳۶]. نتایج مربوط به اندازه ریزپوشش ها تشکیل شده در اثر تغییر غلظت محلول کلسیم کلرید در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود اندازه ریزپوشش ها با افزایش غلظت محلول کلسیم کلرید به طور معنی داری ( $p < 0/05$ ) کاهش می یابد. به علاوه، ریزپوشش های تشکیل شده، با افزایش غلظت کلسیم کلرید یکنواخت تر و کروی تر شده اند (شکل ۲). در این خصوص باید گفت که افزایش غلظت

1- Egg-box model



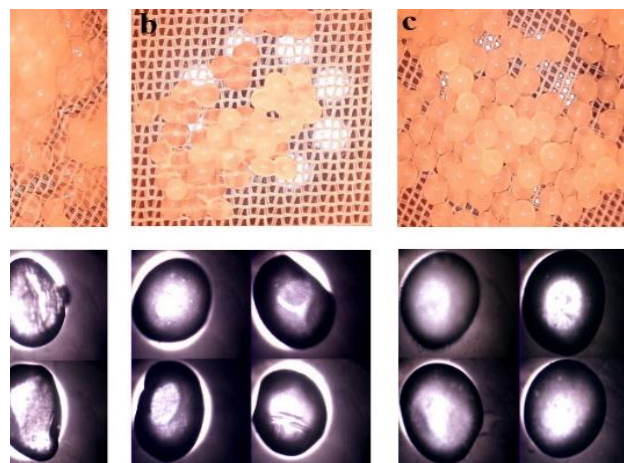
روش اکستروژن برابر با  $324 \pm 0.81/0.6$  بوده است. در مطالعه دیدگر که به منظور درون پوشانی لاکتوباسیلوس پلاتناروم در هیدروژل بر پایه هیبرید پروتئین آلژینات-سویا صورت گرفت، میزان کارایی ریزپوشانی بین ۹۰-۹۲ درصد گزارش شد [۳۸]. همچنین برای تهیه گزارش کردند که کارایی درون پوشانی ریزپوشانی لاکتوباسیلوس پلاتناروم، لاکتوباسیلوس سیریتوری و لاکتوباسیلوس سلهوتیکوس به ترتیب برابر با  $52\%/5$ ،  $30\%/7$  و  $21\%/2$  بوده است. همچنین آن‌ها گزارش کردند که حضور کلسیم کلرید به عنوان عامل تشکیل ریزپوشش در بازه ۱ تا ۵٪ (وزنی/حجمی)، منجر به توقف رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلاتناروم می‌گردد که این اثر در غلظت ۵٪ به حداکثر خود می‌رسد. همچنین محققان اظهار داشتند که افزایش غلظت کلسیم کلرید به ۱۰٪ باعث ایجاد اثر کشندگی و در نتیجه کاهش زنده‌مانی باکتری شد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که آلژینات می‌تواند به عنوان یک ماده‌ی دیواره‌ی مناسب، به منظور درون پوشانی باکتری عمل کند. [۳۹].

### ۳.۳. آزمون آنالیز پروفایل بافتی

به منظور بررسی سفتی نمونه‌های کوکی پس از پخت آزمون آنالیز پروفایل بافتی بر روی نمونه‌های کوکی پس از پخت به مدت ۱۰ دقیقه در دو دمای ۱۵۰° و ۱۸۰°C صورت گرفت. باید اظهار داشت که سفتی نمونه‌های کوکی در بازه ۱۰/۱۶ تا ۰۴/۳۰ نیوتن بود. وارقه‌س۱ و همکاران بود که سفتی نمونه‌های کوکی چاپ شده توسط چاپگر سه بعدی را بین ۲/۴۵ تا ۱۷/۶۵ نیوتن گزارش کردند [۴۰]. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، با افزایش دمای پخت کوکی‌ها، سفتی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. در دمای فر

Different letters in each row show a significant difference at the 95% level

( $p < 0.05$ ).



**Figure 2.** Effect of alginate concentration on the properties of beads. Microscopic image of bead produced with different concentrations of calcium chloride: 1% (a), 3% (b) and 4% (c)

### ۳.۲. بارگذاری باکتری درون ریزپوشش‌ها

کارایی درون پوشانی به صورت درصد ماده هسته درون پوشانی شده توسط ماده‌ی دیواره در مقایسه با میزان کل آن ماده در فرآیند درون پوشانی تعریف می‌شود. به منظور بررسی کارایی ریزپوشانی، مقدار  $10^{15}$  CFU/ml باکتری در ۱۰ میلی لیتر محلول تشکیل دهنده‌ی ریزپوشش تلقیح شد. انتظار می‌رود در حالت ایده‌آل،  $10^{12}$  CFU/ml در هر گرم از ریزپوشش یافت شود. نتایج نشان داد که در هر گرم از این ریزپوشش‌ها مقدار  $0.33 \times 10^{13}$  CFU/gr باکتری وجود داشت. این امر بدین معنی است که کارایی ریزپوشانی ریزپوشش‌های آلژینات در این روش برابر با ۸۹/۴۱٪ بوده است. در مطالعه‌ی انجام شده توسط ست و همکاران، کارایی ریزپوشانی باکتری‌های استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در ریزپوشش‌های آلژینات به

**T2: Samples containing microencapsulated probiotic cells****۳،۴. بررسی زنده مانی باکتری ها پس از فرآیند چاپ سه بعدی**

به منظور بررسی اثر محافظت کنندگی ریزپوشش ها با بر زنده مانی باکتری در فرمولاسیون کوکی، شمارش باکتری ها برای نمونه های T<sub>1</sub> (حاوی سلول های آزاد پروبیوتیک) و T<sub>2</sub> (حاوی سلول های ریزپوشانی شده) صورت گرفت. نتایج حاصل نشان داد که ریزپوشانی باکتری با آلژینات سدیم، به طور موفقیت آمیز و معنی داری ( $p < 0.05$ ) باعث افزایش زنده مانی باکتری ها در خمیر پس از چاپ سه بعدی شد. زنده مانی برای نمونه های T<sub>1</sub> و T<sub>2</sub> به ترتیب برابر با  $77/60 \pm 1/78$  و  $96/86 \pm 0/96$  بود (شکل ۳ و ۴). یکی از دلایل اصلی انجام فرآیند ریزپوشانی پروبیوتیک ها، محافظت از این میکروارگانیسم ها در مواجهه با شرایط نامطلوب محیطی است. این شرایط نامطلوب مجموعه ای از عوامل از جمله اسیدیته بالا، نمک های صفاوی و آنزیم ها است [۴۲]. با این حال، یکی از مهمترین شرایطی که اغلب نادیده گرفته می شود، شرایط فرآیندی مواد غذایی است. یکی از این شرایط، تنش های مکانیکی بالایی است که گاهی در فراوری مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند. در این پژوهش از دستگاه چاپگر سه بعدی و روش اکستروژن به منظور چاپ خمیر فرموله شده استفاده شد. یکی از خصوصیات این گونه فرآیندها، اعمال فشار و در نتیجه افزایش تنش برشی در نازل است. فشار وارد شده به خمیر هنگام فرآیند چاپ، و همچنین تفاوت در اندازه نازل نسبت به اندازه مخزن، منجر به افزایش تنش برشی می گردد. افزایش تنش برشی در نازل هنگام فرآیند چاپ می تواند منجر به آسیب رسانی به غشاء سلول و کاهش زنده مانی پس از چاپ شود. به طور معمول در اثر اعمال تنش، سلول ها بتدا سعی در آداپته کردن خود با شرایط محیطی می کنند و در صورتی که در انجام این کار ناموفق باشند،

پخت بالاتر، ویسکوزیته خمیر به سرعت تحت اثر ژلاتینه شدن نشاسته و انعقاد پروتئین افزایش میابد. دمای بالاتر فر همچنین منجر به فرار زودهنگام گازها و بخارات از خمیر شده که منجر به متراکم تر شدن و سفت تر شدن کوکی ها می شود [۴۱].

در خصوص اثر افزودن ریزپوشش ها باید گفت که با افزودن شدن دانک به فرمولاسیون کوکی، سفتی کوکی ها پس از پخت در هر دو دما نسبت به نمونه ی شاهد افزایش یافت. افزودن ریزپوشش به فرمولاسیون منجر به افزایش ویسکوزیته خمیر شد. افزایش ویسکوزیته ی خمیر، در هنگام چاپ سه بعدی منجر به افزایش یکنواختی مخلوط و خروج آن به صورت هموزن از دستگاه می شود. یکنواختی مخلوط هنگام خروج از نازل، می تواند باعث افزایش چگالی چاپ خمیر گردد که خود سبب کاهش تخلخل نسبت به نمونه های بدون ریزپوشش می شود.

**Table 3: The effect of temperature and microencapsules on the firmness of baked cookies**

Firmness(N)	Cooking Temperature C	C °180	
		°150 Ba ± ۳/۸۱	Ab ± ۴/۸۵
T <sub>1</sub>		۱۶/۱۰	۲۶/۸۸
T <sub>2</sub>		Ba ± ۴/۲۸ ۱۹/۰۱	Ab ± ۴/۰۳ ۳۰/۰۴

Different letters in each row show a significant difference at the 95% level ( $p < 0.05$ ).

**T1: Samples containing free probiotic cells**

تنش باعث مرگ سلول‌ها می‌شود. با این‌حال باید گفت نمونه‌ی شاهد از میزان زنده‌مانی بالایی برخوردار بود. در توجیه زنده‌مانی بالای باکتری‌ها در نمونه‌ی شاهد، باید گفت که ثابت شده استفاده از فرآیند اکستروژن در فشارهای پایین می‌تواند آسیب به سلول‌ها را تا حدی کاهش دهد [۴۳]. با این حال تفاوت معنی‌داری میان نمونه‌های  $T_1$  و  $T_2$  مشاهده شد. افزایش زنده‌مانی باکتری‌ها در نمونه  $T_2$  به دلیل اثر محافظت‌کنندگی ریزپوشش بر روی میکروارگانیسم بود.

### ۳.۵. بررسی زنده‌مانی باکتری‌ها پس از فرآیند پخت

استفاده از پروبیوتیک‌ها در صنعت نانوازی و قنادی، به علت شرایط دمایی بالا، چالش بزرگی برای محققین می‌باشد. دمای بیش از حد منجر به تغییر در ساختارهای ها، مانند پروتئین و اسید نوکلئیک سلول‌ماکرومولکول شکند، که باکتری‌یابیده و پیوند بین واحدهای مونومری را می‌در نهایت باعث از بین رفتن مونومرها و مرگ باکتری‌ها می‌شود [۴۳]. در مطالعه‌ی ای که توسط لو ژانگ و همکارانش صورت گرفت و از نان به عنوان حاملی برای پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتروم) در دماهای مختلف استفاده شد، که در تمامی شرایط پخت مقدار پروبیوتیک‌ها به اندازه ۴-۵ لگاریتم کاهش پیدا کردند [۴۴]. نتایج نشان دادند که محتوای رطوبت موجود در نمونه‌ها عامل مهمی در میزان ها طی فرآیند حرارتی می‌باشد به این کاهش پروبیوتیک صورت که کمتر بودن میزان رطوبت در پوسته نان سبب افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نسبت به مغز نان شده است که دارای رطوبت بیشتری می‌باشد. نتایج حاصل از شمارش  $150^{\circ}$  و  $C$  باکتری‌ها قبل و پس از پخت در دو دمای  $180^{\circ}$ ، در  $180^{\circ}C$  نشان داد که پس از پخت در دمای  $C$  هیچکدام از نمونه‌ها باکتری‌ها زنده باقی نماندند (شکل ۳ و

۴). با این حال، شمارش باکتری‌ها در کوکی‌های پخت‌شده  $150^{\circ}$  در نمونه‌های حاوی سلول‌های  $C$  در دمای ریزپوشیده شده و مقایسه نتایج با تعداد سلول‌های نمونه‌ی شاهد پس از پخت نشان‌دهنده‌ی کارایی ریزپوشانی در حفظ زنده‌مانی باکتری‌ها بود. همانطور که شکل ۳ و ۴ مشخص شده است، زنده‌مانی باکتری‌ها پس از پخت در  $150^{\circ}$  و به مدت ۱۰ دقیقه، برای نمونه‌های  $C$  دمای به ترتیب برابر با  $3/72 \pm 43/05$  و  $2/23 \pm 62/58$   $T_1$  و  $T_2$  (عباس زاده  $p$  بود که تفاوت میان آن‌ها معنی‌دار بود  $(p < 0/05)$  و همکاران در پژوهشی از دانک‌های آلزینات پوشانده شده با کیتوزان به منظور درون‌پوشانی لاکتوباسیلوس رامنوسوز  $55^{\circ}$ ،  $60^{\circ}C$  استفاده کردند و اثر تیمار حرارتی در سه دمای  $65^{\circ}$  و  $65^{\circ}$  را بر زنده‌مانی باکتری مذکور مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اثر محافظتی پوشش، در دماهای بالاتر بیشتر بود. آنها بیان داشتند که درون‌پوشانی با استفاده از ها را افزایش دهد و آلزیناتی‌تواند مقاومت حرارتی باکتری این اثر در غلظت‌های بالاتر آلزینات افزایش می‌یابد [۴۵]. های دینگ و همکاران گزارش کردند که باکتری پروبیوتیک درون‌پوشانی شده با آلزینات در طول فرآیند  $65^{\circ}$  به مدت ۳۰ دقیقه، باعث کاهش  $4^{\circ}C$  حرارتی در دمای لگاریتمی باکتری‌ها شد، در حالی که این کاهش برای حالت درون‌پوشانی نشده برابر با  $6/7$  لگاریتم بود [۴۶]. علاوه بر این، توسط تو و همکاران نشان داده شد که میزان باکتری لاکتوباسیلوس /سیدوفیلوس آزاد پس از قرار گرفتن در  $60^{\circ}$  به مدت ۳۰ دقیقه، حدود  $5^{\circ}C$  معرض دمای سیکل‌لگاریتمی کاهش یافت، در حالی که این کاهش در حالت درون‌پوشانی شده برابر با  $2$  سیکل لگاریتمی بود [۲۹]. مالمو و همکاران در تحقیق برای بررسی اثر درون‌پوشانی لاکتوباسیلوس رویتری در آلزینات و ترکیب آلزینات و کیتوزان، نشان دادند که میزان زنده‌مانی پس از پخت در سופله‌ی شکلاتی برابر با  $7\%$  و  $10\%$  جمعیت اولیه باکتری تلقیح شده بود، در حالی که با تلقیح باکتری به

### the process in sample T2 (Sample containing microencapsulated cells)

#### ۴. نتیجه گیری

در این پژوهش، ضایعات شیرینی به عنوان ماده اولیه برای تولید محصول حاوی پروبیوتیک توسط فناوری چاپ سه بعدی مورد استفاده قرار گرفت. پروبیوتیک مورد نظر (لاکتوباسیلوس پلانتراروم) توسط روش اکستروژن و آلژینات سدیم ریزپوشانی شدند و سپس در فرمولاسیون خمیر کوکی مورد استفاده قرار گرفتند. بررسی شرایط چاپ خمیر و پخت نشان داد که استفاده از ضایعات فرآورده های قنادی گزینه مناسبی برای فرمولاسیون و تولید محصولات فراسودمند به کمک چاپ سه بعدی می باشد. با این وجود تحقیقات بیشتری جهت بررسی شرایط فرایند از جمله دما، زمان، سایز نازل، نیروی وارد شده هنگام چاپ و غیره جهت بهبود زنده مانی پروبیوتیک ها لازم می باشد. همچنین استفاده از سایر ترکیبات به عنوان ماده دیواره برای ریزپوشانی پروبیوتیک ها و مقایسه با روش بکارگرفته شده می تواند در بهبودی حداکثری سلول ها طی فرایند چاپ و پخت کمک شایانی بکند.

صورت درون پوشانی نشده، میزان جمعیت باکتریایی به ۱٪ کاهش یافته بود [۴۱].

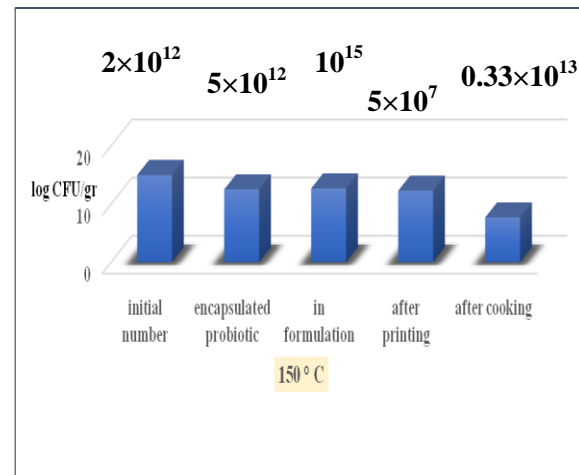


Figure 3. Density of probiotics at different stages of the process in sample T1 (Sample containing free probiotic cells)

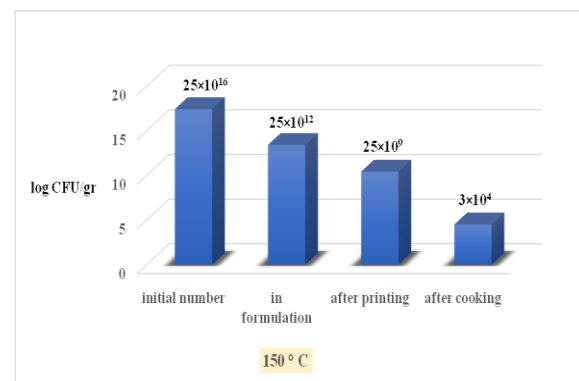


Figure 4. Cell density of probiotics at different stages of

#### ۵- منابع

- [1] Ferronato N, Torretta V. Waste mismanagement in developing countries: A review of global issues. *International journal of environmental research and public health*. 2019;16(6):1060.
- [2] Sepaskhah A. A Menu of Solutions to the Food Security Challenge in Iran. *Strategic Research Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*. 2016;1(1):23-34.
- [3] Nazari H, Ghalami Z. Effect of quality attributes of bakery's yeast on bread waste production (A case study in Zanjan, Iran). *Journal of food science and technology (Iran)*. 2016;13(58):31-45.
- [4] Govindaraju M, Sathasivam KV, Marimuthu K. Waste to wealth: value recovery from bakery wastes. *Sustainability*. 2021;13(5):2835.
- [5] Jiang H, Zheng L, Zou Y, Tong Z, Han S, Wang S. 3D food printing: Main components selection by considering rheological properties. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2019;59(14):2335-47.
- [6] Cohen DL, Lipton JI, Cutler M, Coulter D, Vesco A, Lipson H, editors. *Hydrocolloid printing: a novel platform for customized food production*. 2009 International Solid Freeform Fabrication Symposium; 2009: University of Texas at Austin.

- [7] Dankar I, Haddarah A, Omar FE, Sepulcre F, Pujolà M. 3D printing technology: The new era for food customization and elaboration. *Trends in food science & technology*. 2018;75:231-42.
- [8] Leo CH, Lee CP, Foo SY, Tan JCW, Tan JD, Ong ES, et al. 3D printed nutritious snacks from orange peel waste. *Materials Today: Proceedings*. 2022.
- [9] Ashaolu TJ. Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;130:110625.
- [10] Muzzafar A, Sharma V. Microencapsulation of probiotics for incorporation in cream biscuits. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018;12(3):2193-201.
- [11] Syiemlieh I, Morya S. Dairy and non-dairy based probiotics: A review. *Pharma Innov J*. 2022;11:2956-64.
- [12] Zhang L, Lou Y, Schutyser MAI. 3D printing of cereal-based food structures containing probiotics. *Food Structure*. 2018;18:14-22.
- [13] Liu Z, Bhandari B, Zhang M. Incorporation of probiotics (*Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*) into 3D printed mashed potatoes: Effects of variables on the viability. *Food Research International*. 2020;128:108795.
- [14] Yuan Y, Yin M, Zhai Q, Chen M. The encapsulation strategy to improve the survival of probiotics for food application: From rough multicellular to single-cell surface engineering and microbial mediation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;1-17.
- [15] Godoi FC, Prakash S, Bhandari BR. 3D printing of plant-based foods. *Engineering Plant-Based Food Systems: Elsevier*; 2023. p. 301-14.
- [16] Bustos P, Borquez R. Influence of Osmotic Stress and Encapsulating Materials on the Stability of Autochthonous *Lactobacillus plantarum* after Spray Drying. *Drying Technology*. 2013;31:57.
- [17] Khoshdouni Farahani Z, Mousavi M, Seyedain Ardebili M, Bakhoda H. The influence of sodium alginate and sodium alginate/WPI as coating material on microcapsules of Jujube extract produced by spray dryer. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2022;46(12):e17175.
- [18] Panjanapongchai S, Chavapradit C, Anal AK. Microencapsulation of Probiotics and its Potential Industrial Applications. *Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: Technological Advancements Towards Safety and Industrial Applications*. 2022:213-32.
- [19] Dianawati D, Mishra V, Shah NP. Stability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* during storage at room temperature at low aw. *Food Research International*. 2013;50(1):259-65.
- [20] Dantas A, Verruck S, de Liz GR, Hernandez E, Prudencio ES. Lactose-free skim milk and prebiotics as carrier agents of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulation: physicochemical properties, survival during storage and in vitro gastrointestinal condition behaviour. *International Journal of Food Science & Technology*. 2021;56(5):2132-45.
- [21] Burgain J, Gaiani C, Linder M, Scher J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of food engineering*. 2011;104(4):467-83.
- [22] Yousefi H, Soleimanian-Zad S, Shahedi Bagh Khandan M. Microencapsulation of Probiotics by Emulsion Method for Production of Probiotic Bread. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2017;11(4):99-106.
- [23] Milani E, Naïimi H, Mortazavi SA, Arash K. The effect of simulated conditions of the stomach and intestine on the survival of microencapsulated probiotic bacteria *Lactobacillus casei* (*Lactobacillus casei*) in Masti Synbiotic ice cream". *The Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 2012;8(2):-.
- [24] Schutyser M, Houlder S, de Wit M, Buijsse C, Alting A. Fused deposition modelling of sodium caseinate dispersions. *Journal of Food Engineering*. 2018;220:49-55.
- [25] Song H, Yu W, Liu X, Ma X. Improved probiotic viability in stress environments with post-culture of alginate-chitosan microencapsulated low density cells. *Carbohydrate polymers*. 2014;108:10-6.
- [26] Farahani ZK, Mousavi M, Ardebili SMS, Bakhoda H. Modification of sodium alginate by octenyl succinic anhydride to fabricate beads for encapsulating jujube extract. *Current Research in Food Science*. 2022;5:157-66.
- [27] Zhang L, Lou Y, Schutyser MA. 3D printing of cereal-based food structures containing probiotics. *Food structure*. 2018;18:14-22.
- [28] Arslan-Tontul S, Erbas M, Gorgulu A. The use of probiotic-loaded single- and double-layered microcapsules in cake production. *Probiotics and antimicrobial proteins*. 2019;11(3):840-9.
- [29] Teoh PL, Mirhosseini SH, Mustafa S, Manap MYA. Tolerance of free and encapsulated probiotics towards heat treatment and high sodium concentration. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 2011;9(1):69-73.
- [30] Malmo C, La Stora A, Mauriello G. Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 cells coated in alginate beads with chitosan by spray drying to use as a probiotic cell in a chocolate soufflé. *Food and Bioprocess Technology*. 2013;6(3):795-805.

- [31] Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International dairy journal*. 2004;14(8):737-43.
- [32] Li ZQ, Hou LD, Li Z, Zheng W, Li L, editors. Study on shape optimization of calcium-alginate beads. *Advanced Materials Research*; 2013: Trans Tech Publ.
- [33] Seifert DB, Phillips JA. Production of small, monodispersed alginate beads for cell immobilization. *Biotechnology progress*. 1997;13(5):562-8.
- [34] Kaur N, Singh B, Sharma S. Hydrogels for potential food application: Effect of sodium alginate and calcium chloride on physical and morphological properties. *The Pharma Innovation Journal*. 2018;7(7):142-8.
- [35] Hu C, Lu W, Mata A, Nishinari K, Fang Y. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;177:578-88.
- [36] Liu X, Yu W, Zhang Y, Xue W, Yu W, Xiong Y, et al. Characterization of structure and diffusion behaviour of Ca-alginate beads prepared with external or internal calcium sources. *Journal of microencapsulation*. 2002;19(6):775-82.
- [37] Ramdhan T, Ching SH, Prakash S, Bhandari B. Time dependent gelling properties of cuboid alginate gels made by external gelation method: Effects of alginate-CaCl<sub>2</sub> solution ratios and pH. *Food hydrocolloids*. 2019;90:232-40.
- [38] Praepanitchai O-A, Noomhorm A, Anal AK. Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing conditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice. *BioMed research international*. 2019;2019.
- [39] Petraitytė S, Šipailienė A. Enhancing encapsulation efficiency of alginate capsules containing lactic acid bacteria by using different divalent cross-linkers sources. *Lwt*. 2019;110:307-15.
- [40] Varghese C, Wolodko J, Chen L, Doschak M, Srivastav PP, Roopesh M. Influence of selected product and process parameters on microstructure, rheological, and textural properties of 3D printed cookies. *Foods*. 2020;9(7):907.
- [41] Panghal A, Chhikara N, Khatkar B. Effect of processing parameters and principal ingredients on quality of sugar snap cookies: a response surface approach. *Journal of food science and technology*. 2018;55(8):3127-34.
- [42] Călinoiu L-F, Ștefănescu BE, Pop ID, Muntean L, Vodnar DC. Chitosan coating applications in probiotic microencapsulation. *Coatings*. 2019;9(3):194.
- [43] Nair K, Gandhi M, Khalil S, Yan KC, Marcolongo M, Barbee K, et al. Characterization of cell viability during bioprinting processes. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*. 2009;4(8):1168-77.
- [44] Zhang L, Taal MA, Boom RM, Chen XD, Schutyser MA. Effect of baking conditions and storage on the viability of *Lactobacillus plantarum* supplemented to bread. *LWT*. 2018;87:318-25.
- [45] Gandomi H, Abbaszadeh S, Misaghi A, Bokaie S, Noori N. Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*. 2016;69:365-71.
- [46] Ding W, Shah NP. Effect of various encapsulating materials on the stability of probiotic bacteria. *Journal of food science*. 2009;74(2):M100-M7.



## Effect of microencapsulation on probiotic viability in 3D printed cookies based on confectionary's waste

Mahsa Sayadi<sup>1</sup>, Zeinab Ebrahimzadeh Mousavi\*<sup>2</sup>, SeyedHadiRazavi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Alumni student, of Food Science and Engineering, College of Natural Resources and Agriculture, University of Tehran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, College of Natural Resources and Agriculture, University of Tehran.

<sup>3</sup>Professor, Department of Food Industry, College of Agriculture and Natural Resources and Agriculture, University of Tehran.

### ABSTRACT

The survival of probiotics in food products face various challenges during the production process. One of the emerging processes in the production of food products is 3D printing. The effect of this process on the viability of probiotics has not been studied so far. In this research, the effect of micro-encapsulation on cell viability during the process of 3D printing and cookie baking (based on waste from confectionery products) was investigated. First, the conditions for the production of micro-capsules were optimized by modulating the percentage of sodium alginate and calcium chloride solutions. Then, the effect of micro-encapsulation with different concentrations of micro-capsules (10, 5, 0% w/w) on the firmness of the dough texture was also investigated as an important factor in the printability of the dough. Finally, the cell viability was evaluated during the printing and baking process (150°C and 180°C for 10 minutes). The results of the microscopic images showed that with the increase in the concentration of sodium alginate and calcium chloride solution, the uniformity and sphericity of the micro-capsule increases. The efficiency of alginate-based micro-encapsulation in this method was 89.41%. The optimal concentration of micro-capsules in order to have the desired printability of baked dough, was reported as 5% w/w. Microencapsulation increased the survival rate of probiotics during 3D printing and baking. The survival percentage of microencapsulated probiotics (T2) after 3D printing and baking (150°C temperature) was 96.86% and 62.58%, respectively. Meanwhile, the survival percentage for the sample containing free cells (T1) was reported 60.77% and 43.05%, respectively. However, no viable probiotic cells were observed in both free and encapsulated cells conditions at 180°C.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received: 2023/5/16

Accepted: 2023/5/30

#### Keywords:

Probiotics,

Cookies,

Microencapsulation,

Survival,

3D printing

**DOI:** 10.22034/FSCT.20.136.186

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1402.20.136.14.2

\*Corresponding Author E-Mail:

[zeinab.mosavi@ut.ac.ir](mailto:zeinab.mosavi@ut.ac.ir)