



تولید فیلم کامپوزیتی زیست فعال نوین کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر و موسیلاژ عناب تقویت شده با

### پست بیوتیک های باسیلوس کوآگولانس IBRC-M 10807

هانیه نجفی<sup>۱</sup>، صابر امیری<sup>۲</sup>، امین خلیلی<sup>۳</sup>، لعیا رضازادباری<sup>۴\*</sup>

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی صبا، ارومیه، ایران.

۲-استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.

۴-دکتری تخصصی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

#### چکیده

#### اطلاعات مقاله

هدف از این پژوهش تولید فیلم کامپوزیتی زیست فعال نوین با استفاده از کنسانتره پروتئین آب پنیر و موسیلاژ عناب تقویت شده با پست بیوتیک باسیلوس کوآگولانس IBRC-M 10807 بود. برای این منظور چهار فیلم شامل فیلم کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC)، فیلم کنسانتره پروتئین آب پنیر حاوی پست بیوتیک باسیلوس کوآگولانس (WPC+PBs)، فیلم کنسانتره پروتئین آب پنیر و موسیلاژ عناب (MUC+WPC) و فیلم کنسانتره پروتئین آب پنیر و موسیلاژ عناب حاوی پست بیوتیک باسیلوس کوآگولانس (MUC+WPC+PBs) هر کدام در سه تکرار تولید و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ضد میکروبی، ضد اکسایشی و مکانیکی در قالب طرح کاملاً تصادفی و با روش تجزیه و تحلیل واریانس مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن پست بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب موجب افزایش معنی‌داری در رطوبت، حلالیت فیلم‌ها شد ( $P < 0/05$ ). افزودن پست بیوتیک‌ها باعث اثر بازدارندگی در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولی* می‌گردد ( $P < 0/05$ ). افزودن پست بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب سبب کاهش معنی‌دار در شاخص  $L^*$  نمونه‌های فیلم‌های تولید شده گردید ( $P < 0/05$ ). نتایج نشان داد شاخص‌های  $a$  و  $b$  با افزودن پست بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فیلم بیوکامپوزیتی زیست فعال تولید شده پتانسیل استفاده در بسته بندی مواد غذایی را دارد.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۴

کلمات کلیدی:

فیلم زیست تخریب پذیر،

پروتئین های شیر،

موسیلاژ،

پست بیوتیک‌ها.

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.251

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.19.2

\* مسئول مکاتبات:

l.rezazad@uma.ac.ir

## ۱- مقدمه

افزودن پروبیوتیک‌ها یکی از راه‌های افزایش ویژگی‌های عملگرها در فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌باشد. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده هستند که مصرف آن‌ها در مقادیر کافی، سبب ایجاد خواص سلامت بخش برای میزبان می‌شود [۶]. با توجه به اینکه استفاده مستقیم از پروبیوتیک‌ها در محصولات غذایی معایبی دارد از پُست‌بیوتیک‌ها می‌توان به عنوان جایگزین مناسبی جهت استفاده‌ی باکتری‌های زنده و متابولیت‌های آن‌ها به کاروند [۷]. پُست‌بیوتیک‌ها را می‌توان به عنوان اجزای عملکردی غیرزنده سلول‌های پروبیوتیکی نام برد که به طور معمول توسط باکتری‌های زنده در طی فرآیند تخمیر و یا در مقیاس آزمایشگاهی با روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلف تولید می‌شوند. پست بیوتیک‌ها شامل سلول‌های میکروبی غیرفعال شده، اجزای سلول (اسید تیکوئیک، موروپتیدهای مشتق شده از پتیدوگلیکان پروتئین‌های سطح سلول واگزوپلی‌ساکارید) و متابولیت‌های سلول (اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، آنزیم‌ها، باکتریوسین‌ها و اسیدهای آلی) که در زمان زنده بودن سلول‌های میکروبی ترشح شده یا پس از تجزیه شدن آن‌ها در محیط روده میزبان آزاد می‌شوند و چنانچه در مقدار کافی دریافت شوند، اثرات سلامت بخش از خود در میزبان برجای می‌گذارد [۸]. باسیلوس کوآگولانس<sup>۱</sup> یک باکتری گرم مثبت، بی‌هوازی اختیاری، غیرپاتژنیک، هاگ‌زا بوده و به علت تولید اسید لاکتیک بعنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرد و از نقطه نظر صنعتی بسیار مهم می‌باشد [۹].

از این رو هدف از پژوهش حاضر توسعه فیلم زیست‌تخریب‌پذیر کامپوزیتی کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و موسیلاژ عناب با کاربرد پُست‌بیوتیک‌های باسیلوس کوآگولانس IBRC-M 10807 به عنوان ترکیب ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی برای اولین بار و تعیین ویژگی‌های فیلم تولیدی است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد مورد استفاده

در این پژوهش میوه عناب خشک شده در بهار ۱۴۰۱ از عطاری واقع در شهر ارومیه خریداری و بعد از تایید در گروه علوم

فیلم‌های خوراکی از جمله بسته‌بندی‌های فعال زیست‌تخریب پذیر محسوب می‌شوند که به عنوان یکی از راه‌های اساسی کنترل تغییرات فیزیولوژیکی، میکروبی، فیزیکی، شیمیایی در مواد غذایی مطرح می‌باشند. این فیلم‌ها می‌توانند با کاهش دادن افت رطوبت، اکسیداسیون چربی و زوال رنگ و عمل به صورت یک حامل در انتقال مواد آنتی‌اکسیدان و ترکیبات ضد میکروبی منجر به نگهداری و بهبود کیفیت مواد غذایی تازه، منجمد و فرآورده‌های گوشتی فرآوری شوند [۱]. از پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، چربی‌ها و یا ترکیبی از این قبیل برای تهیه فیلم‌های زیست‌تخریب پذیر استفاده می‌شود [۲]. موسیلاژها پلیمرهای زیستی با وزن مولکولی بالا هستند که کاربرد وسیعی در زمینه‌های دارویی، صنعتی، بهداشتی و پزشکی دارند. همچنین از این مواد در صنایع غذایی به عنوان متوکسیله کننده، تغلیظ کننده و تثبیت کننده استفاده می‌شود. منبع اصلی سنتز این ترکیبات دانه‌ها بوده، اما در میوه، برگ، گل و سایر اندام‌های گیاهی نیز یافت می‌شوند [۳]. کنسانتره پروتئین آب‌پنیر ماده‌ای است که از جداسازی کافی مواد غیرپروتئینی از آب‌پنیر به دست می‌آید به گونه‌ای که محصول خشک شده نهایی، حاوی حداقل ۲۵٪ پروتئین باشد. کنسانتره پروتئین آب‌پنیر ممکن است با ویژگی‌های عملکردی گسترده‌ای تولید شود که این ویژگی‌ها می‌توانند جذابیت آن را به عنوان یک ترکیب غذایی زیاد کنند. این ویژگی‌های عملکردی به عنوان ویژگی‌شیمیایی- فیزیکی تعریف شده است که می‌تواند اثر بر رفتار پروتئین در سیستم غذایی در حین پروسس، انبارداری، آماده‌سازی و مصرف اثر بگذارد [۴].

عناب با نام علمی *Ziziphus jujuba* Miller میوه درختچه‌ای است به ارتفاع تا حدود ۱۰ متر که شاخه‌های فراهم و خارهای بلند یا کوتاه و خمیده دارد. میوه عناب کروی تا کمی کشیده و بیضوی، قرمز یا قهوه‌ای تیره با طعمی شیرین و یک دانه بیضی کشیده و نوک تیز است و در تابستان تا اوایل پاییز می‌رسد. در طب سنتی ایران به عنوان صاف کننده خون و نرم کننده سینه و رفع کننده التهاب و گرمی کاربرد دارد. این گیاه در شمال ایران رویش دارد همچنین در قفقاز، آسیای مرکزی، افغانستان، پاکستان و هند رشد می‌کند [۵].

<sup>1</sup>Bacillus coagulans

گلیسرول (بر اساس وزن محلول) به عنوان نرم کننده اضافه شد. سوسپانسیون تهیه شده با استفاده از همزن مغناطیسی (مدل L81، LABINCO، انگلستان) در ۱۱۵ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد هم زده شد و سپس فیلتر شد تا ذرات بزرگ جدا شدند. پس از آن، دمای محلول‌های فیلم تا دمای اتاق کاهش یافت. سپس پُست‌بیوتیک‌ها به محلول اضافه شده و محلول به مدت ۲۵ دقیقه با دستگاه همزن مغناطیسی همگن شد. در نهایت، محلول‌های فیلم به میزان ۴۵ گرم بر روی پلیت‌های ۱۲ سانتی‌متری ریخته شد و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند [۱۲].

## ۲-۵- اندازه گیری ضخامت

ضخامت فیلم‌های تولید شده با استفاده از میکرومتر دیجیتال (مدل ۶۵ IP، ساخت Mitutoyo ژاپن) در ۵ نقطه به طور تصادفی و با دقت  $0.1\text{mm}$  اندازه‌گیری شد، میانگین ضخامت هر فیلم در محاسبات ویژگی‌های مکانیکی و نفوذپذیری به بخار آب استفاده شد [13].

## ۲-۶- اندازه گیری رطوبت

برای اندازه‌گیری رطوبت فیلم ابتدا یک نمونه فیلم به ابعاد  $2\text{cm} \times 2\text{cm}$  از هر فیلم با وزن مشخص با ترازوی دیجیتالی با دقت  $0.001$  توزین گردید و سپس درون پلیت شیشه‌ای که از قبل به تعادل رطوبتی رسیده و توزین شده بود قرار گرفت. سپس به مدت ۲۴ ساعت در آن با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. نمونه‌ها همراه با پلیت پس از سرد شدن در دیسکاتور، مجدداً توزین گردید. سرانجام، رطوبت فیلم از معادله زیر بدست آمد [14].

$$\text{Moisture content} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

فرمول ۱:  $M_1$  وزن اولیه فیلم،  $M_2$  وزن نمونه پس از خشک شدن است.

## ۲-۷- اندازه گیری حلالیت

برای این منظور نمونه‌های فیلم به ابعاد  $2\text{cm} \times 2\text{cm}$  برش داده شد و در یک آن با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا نمونه به وزن ثابت برسد، سپس وزن نمونه با دقت  $0.001\text{g}$  اندازه‌گیری و به عنوان وزن خشک اولیه فیلم در

باغبانی دانشگاه ارومیه به آزمایشگاه دانشگاه غیرانتفاعی صبا جهت استخراج موسیلاژ منتقل شد. کنسانتره پروتئین آب پنیر (۸۰٪) از شرکت پگاه، تهران، ایران تهیه گردید. گلیسرول از شرکت Acros Organics آلمان تهیه و به عنوان نرم کننده در تمام فرمولاسیون‌ها استفاده شد. سایر مواد شیمیایی برای انجام آزمون‌ها شامل سولفات پتاسیم، سولفات کلسیم، منیزیم سولفات، منیزیم کلراید، کلسیم کلراید، سدیم کلراید، سدیم کربنات، گلوکز و لاکتوز از شرکت مرک، آلمان تهیه گردید. همچنین عصاره مخمر و پیتون واتر از شرکت کیولب، کانادا تهیه شد.

## ۲-۲- استخراج موسیلاژ

جهت استخراج موسیلاژ، عنب‌های خشک را در مرحله اول شسته و سپس خرد کرده و همراه با هسته در داخل آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت خیس شدند. سپس موسیلاژ را جدا کرده در داخل بشر بر روی استایر با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲/۵ ساعت قرار داده شد. برای عبور دادن از صافی از پارچه کتان استفاده شد. در نهایت موسیلاژ صاف شده را روی کاغذ فویل ریخته و در داخل آونبا دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد [11].

## ۲-۳- روش تولید متابولیت پست بیوتیک

### باسیلوس کوآگولانس

باکتری باسیلوس کوآگولانس IBRC-M 10807 در محیط کشت NYSM<sup>۱</sup> براث در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد، سپس این محیط کشت در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از برداشتن مایع رویی باقیمانده مواد توسط فیلتر سر سرنگی استریل ( $0.4\mu\text{m}$ ) فیلتر شده و به صورت انجمادی خشک شد و به عنوان پُست‌بیوتیک‌ها استفاده شدند [۷].

## ۲-۴- تولید فیلم موسیلاژ عنب، ایزوله پروتئین

### آب پنیر و پست بیوتیک

محلول‌های فیلم سازی با ترکیب ۳٪ (w/w) کنسانتره پروتئین آب پنیر و ۳٪ (w/w) موسیلاژ عنب (مطابق جدول ۱) در ۱۰۰mL آب مقطر تهیه شدند. محلول آبی حاوی ۵٪ (w/w)

2Nutrient Yeast Extract Salt Medium

می‌باشد.

## ۲-۹- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها

فعالیت ضد اکسایشی در فیلم‌های تولید شده با استفاده از DPPH<sup>o</sup> و بر اساس رنگبری محلول DPPH متانولی به عنوان واکنش‌گر انجام شد. به طور خلاصه، ۲۵mg از نمونه‌های فیلم در ۴mL آب مقطر مخلوط و به مدت ۲min همزده شد. سپس مخلوط حاصل را به مدت ۱۵min با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و ۲mL از عصاره استخراج شده از فیلم با ۱۰/۲mL از محلول متانولی DPPH (۱mm) ترکیب شد و ۲ min توسط ورتکس در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به خوبی همزده شد و نمونه‌ها به مدت یک ساعت در جای تاریک و دمای محیط نگهداری شد. در نهایت جذب نمونه‌ها در ۵۱۷nm با اسپکتروفوتومتر فرابنفش-مرئی قرائت گردید. درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH با معادله زیر محاسبه گشت [16].

$$\text{DPPH free radicals scavenging (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

فرمول ۴: A<sub>Control</sub> جذب محلول کنترل و A<sub>Sample</sub> جذب محلول نمونه است.

## ۲-۱۰- اندازه گیری اثر ضد میکروبی

ابتدا صفحه‌های دایره‌ای به قطر ۶cm از فیلم‌های تولید شده آماده شده و با استفاده از نور ماورابنفش به مدت ۲ دقیقه در زیر هود میکروبی استریل‌شده شدند. سپس از روش دیسک دیفیوژن آگار برای بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC 1431 و *اشریشیا کولی* PTCC 1763 استفاده شد. برای این منظور، یک سوسپانسیون ۱×۱۰<sup>۶</sup>CFU/mL از باکتری‌های فعال شده به طور مجزا در سطح محیط کشت مولر هیتون آگار پخش شد و در ادامه فیلم‌های دایره‌ای بر روی پلیت قرار داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و در نهایت قطر هاله‌های عدم رشد اندازه گیری شدند [۱۷].

## ۲-۱۱- اندازه گیری شاخص‌های رنگی

جهت تعیین رنگ نمونه‌های فیلم مطابق با روش قاسمی‌زاد و همکاران (۲۰۲۲) از دستگاه اسکنر (HP G3110, China)

نظر گرفته شد. نمونه‌های خشک شده در ۵۰mL آب مقطر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت تحت شرایط همزنی قرار داده شدند. محلول حاوی نمونه از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده و نمونه باقی مانده در آونی در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید و به عنوان وزن خشک نهایی توزین شد. میزان درصد حلالیت نمونه‌ها در آب از رابطه زیر بدست می‌آید:

$$WS = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100$$

فرمول ۲: WS درصد حلالیت در آب، W<sub>i</sub> وزن ماده خشک اولیه (گرم)، W<sub>f</sub> وزن ماده خشک نهایی (گرم) است [۱۵].

## ۲-۸- اندازه گیری نفوذ پذیری نسبت به بخار آب (WVP)

برای اندازه‌گیری نفوذپذیری بخار آب از ظرف‌های مخصوص به قطر ۲ cm و ارتفاع ۴/۵ cm مورد استفاده قرار گرفت. ۳ سولفات کلسیم در هر ظرف قرار داده شده، سپس ظرف‌ها توزین و در دستگاه خشک‌کن حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم (RH=۹۷٪) قرار گرفتند. وزن ظرف‌ها هر ۴ ساعت و به مدت ۲ روز اندازه‌گیری شد. منحنی افزایش وزن ظرف‌ها به مرور زمان رسم شده و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه شده، شیب خط مربوط تقسیم می‌شود هر ظرف برای کل سطح فیلم در معرض نسبت انتقال بخار آب (WVTR) به دست آمد. با تقسیم به اختلاف فشار بخار بین دو طرف فیلم، نفوذپذیری بخار آب بدست آمد. به دلیل وجود سولفات کلسیم در ظرف، فشاربخار داخل ظرف صفر در نظر گرفته شد. فشاربخار خارج از فیلم نیز با ضریب رطوبت نسبی داخل دستگاه خشک کننده (۹۷٪) و فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بدست آمد [۱۳].

$$WVP = \frac{S \times L}{\Delta P \times A \times 3600}$$

فرمول ۳: در این رابطه نفوذپذیری بخار آب، WVP (g.mm.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup>)، شیب خط S (g/h)، A (سطح (m<sup>2</sup>)) ضخامت L (m)، ΔP شیب فشار بخار آب جزئی دو طرف فیلم (Pa) و ۳۶۰۰ شماره ثابت برای تبدیل ساعت به ثانیه

3 water vapor permeability

4 Water Vapor Transmission Rate

$$\frac{\Delta L}{L_0} = \frac{\sqrt{D^2 + L_0^2} - L_0}{L_0}$$

فرمول ۵: در این رابطه  $D$  جابجایی نمونه و  $L_0$  طول لایه فیلم اولیه مربوط به شعاع اندازه‌گیری است.

## ۲-۱۳- تجزیه و تحلیل آماری

در پژوهش حاضر تولید نمونه های فیلم مطابق جدول زیر انجام می شود. همه آزمون ها، به جز آزمون های دستگاهی، در سه تکرار انجام خواهند شد و از طرح کاملا تصادفی بر پایه ی آنالیز واریانس یک طرفه استفاده خواهد شد. برای انجام آنالیز واریانس در سطح احتمال ۹۵٪ و بررسی اختلاف آماری بین میانگین ها از نرم افزار Minitab نسخه ۲۰ استفاده خواهد شد.

**Table 1** Bioactive composite film samples based on whey protein concentrate

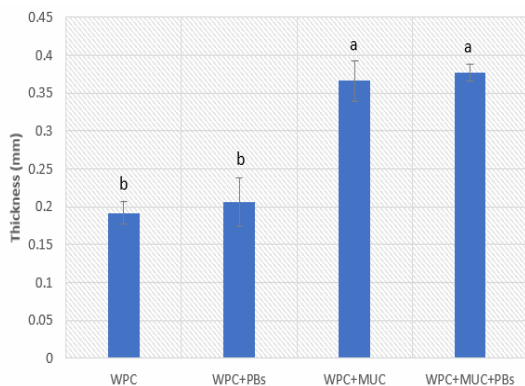
Sample	WPC (%)	Mucilage (%)	Postbiotics (%)
1 WPC	3	0	0
2 WPC+PBs	3	0	30
3 WPC+MUC	3	3	0
4 WPC+MUC+PBs	3	3	30

1: Whey Protein Concentrate

2: Whey Protein Concentrate film containing *B. coagulans* Postbiotics

3: Whey Protein Concentrate film and jujube Mucilage

4: Whey Protein Concentrate film and jujube Mucilage containing *B. coagulans* Postbiotics



**Fig 1** Thickness of produced bioactive films  
Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

همچنین دلیل احتمالی دیگر این افزایش در ضخامت می تواند ناشی از افزایش رطوبت فیلمها باشد. زیرا موسیلاژها ماهیت آبدوست دارند و موجب تورم در ساختار فیلم شده و سبب افزایش در ضخامت می شوند. Nisar و همکاران [۲۲] نیز به نتایج مشابهی دست یافتند، بطوریکه با افزایش غلظت پکتین ضخامت فیلم های تولیدی بر پایه پروتئین افزایش یافت. همچنین

استفاده شد. پارامترهای رنگی روشنایی ( $L$ )،  $a$  (زرد-آبی) و  $b$  (قرمز-سبز). تعیین شد. اندازه گیری ها با سه تکرار از هر فیلم انجام گرفت [18].

## ۲-۱۲- اندازه گیری خواص مکانیکی

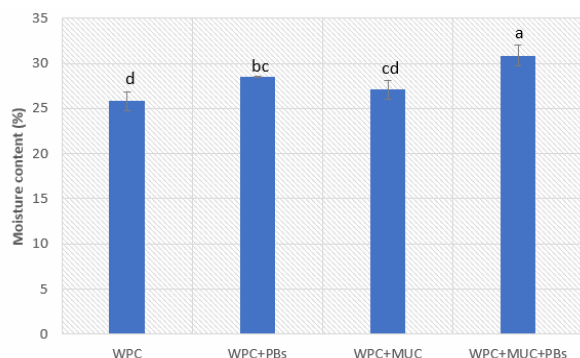
برای اندازه گیری خواص مکانیکی فیلم بهینه تولید شده، از دستگاه بافت سنج Bongshin مدل DBBP-20 ساخت کره با ظرفیت ۲۰ Kgf و با R.O. ( فشار معکوس) ۰/۳ mv/v استفاده شد. بدین منظور از هر نمونه فیلم بهینه، با استفاده از قالب دمبلی شکل دستگاه، نمونه هایی بریده شد و در دستگاه جهت سنجش مقاومت کششی آن قرار گرفت [۱۹].

## ۳-نتایج و بحث

### ۳-۱- ضخامت فیلمها

ضخامت فیلم های مورد استفاده برای بسته بندی مواد غذایی یکی از پارامترهای مهم است زیرا سایر ویژگی های فیلمها را تحت تاثیر قرار می دهد. گزارش شده است با کاهش ضخامت فیلم های مورد استفاده در بسته بندی، نفوذ پذیری به گازهای مختلف افزایش و مقاومت مکانیکی کاهش می یابد. ضخامت یک فیلم خوراکی یا زیست تخریب پذیر به روش تولید و شرایط خشک شدن آن بستگی دارد [۲۰]. شکل ۱ نتایج اندازه گیری ضخامت فیلم های زیست فعال تولید شده را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد با افزودن موسیلاژ عنباب به فیلم های بر پایه کنسائتره پروتئین های شیر ضخامت فیلمها به طور معنی داری افزایش می یابد ( $P < 0.05$ ). به طور کلی ضخامت فیلمها به مواد جامد محلول مورد استفاده در تهیه آن بستگی دارد. بنابراین دلیل این افزایش در ضخامت می تواند ناشی از افزایش محتوای ماده خشک باشد [۲۱].

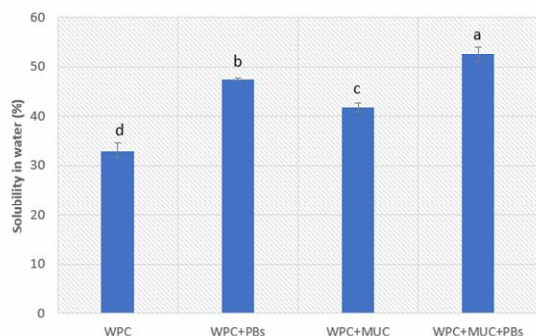
تحقیق مطابقت با نتیجه مطالعه کرمی مقدم و همکاران [28] تطابق دارد.



**Fig 2** Moisture content of produced bioactive films. Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

### ۳-۳-۳- حلالیت در آب فیلم‌ها

شکل ۳ میزان حلالیت فیلم‌های تولید شده را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب باعث افزایش معنی دار در حلالیت فیلم‌های بیوکامپوزیتی زیست فعال شده است ( $P < 0.05$ ). نتایج نشان داد فیلم بیوکامپوزیتی زیست فعال بر پایه کنسانتره پروتئین‌های شیر حاوی پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب بیشترین و فیلم تولید شده از کنسانتره پروتئین‌های شیر کمترین میزان حلالیت را دارند. افزودن ترکیبات آبدوست موجب افزایش حلالیت فیلم‌های زیست تخریب پذیر و خوراکی می‌شود. ثانی و همکاران [۲۷] گزارش کردند علت زیاد بودن حلالیت فیلم‌های حاصل در آب، به دلیل ماهیت آبدوستی ماکرومولکول هیدروژل می‌باشد که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد.



**Fig 3** Solubility in water of produced bioactive films. Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

نتایج پژوهش حاضر با نتایج Singh و همکاران [۲۳] نیز مطابقت دارد. شایان ذکر است میزان پست‌بیوتیک‌های مورد استفاده در تولید فیلم‌های زیست فعال افزایش معنی‌داری در ضخامت نداشت ( $P > 0.05$ ).

### ۳-۲- رطوبت فیلم‌ها

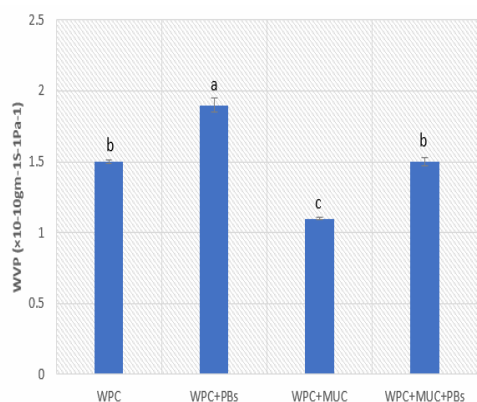
محتوای رطوبت یکی از ویژگی‌های مهم فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر و خوراکی به شمار می‌رود، زیرا بیانگر کارایی آن‌ها در حفاظت از مواد غذایی با فعالیت آبی بالا و یا مواد یخ زده می‌باشد [۲۴]. میزان رطوبت ویژگی است که نشان دهنده فضای اشغال شده توسط مولکول‌های آب در ساختار فیلم‌ها است. نوع، غلظت و شاخص‌های آبگریزی و آبدوستی بیوپلیمرها و ترکیبات زیست فعال میزان رطوبت فیلم را تحت تاثیر قرار می‌دهد، در نتیجه ترکیبات آبدوست موجب افزایش محتوای رطوبت فیلم‌های زیست تخریب پذیر و خوراکی و ترکیبات آبگریزی موجب کاهش آن می‌شوند [۲۵]. شکل ۲ نتایج اندازه‌گیری رطوبت فیلم‌های زیست فعال تولید شده را می‌دهد. نتایج نشان داد که افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب موجب افزایش معنی‌داری در رطوبت فیلم‌ها شد ( $P < 0.05$ ). فیلم بیوکامپوزیتی زیست فعال بر پایه کنسانتره پروتئین‌های شیر حاوی پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب بیشترین و فیلم تولید شده از کنسانتره پروتئین‌های شیر کمترین مقدار رطوبت را دارا بودند. دلیل افزایش محتوای رطوبت به وجود ترکیبات آبدوست مانند کربوهیدرات‌ها و پروئینی موجود در موسیلاژ عناب و آگزوپلی ساکاریدها و باکتریوسین‌های موجود در پست‌بیوتیک‌ها می‌باشد که موجب تورم در ماتریس پلیمری و در نتیجه منجر به افزایش رطوبت می‌گردد. Sani و همکاران [۲۶] فیلم نانوکامپوزیت نشاسته سیب زمینی و پکتین پوست سیب حاوی کپسول اسانس آویشن شیرازی و نانوذره زیرکونیوم اکسید را تولید کرده و گزارش کردند افزودن کپسول اسانس به دلیل ماهیت آبدوست ترکیبات موجود در دیواره کپسول سبب افزایش محتوای رطوبت نمونه‌های فیلم شد. این نتیجه با تحقیقی که ثانی و همکاران [۲۷] انجام دادند مطابقت دارد. وی نتیجه گرفت که با کاهش درصد هیدروژل در نانوکامپوزیت، میزان رطوبت کاهش یافت و با افزایش درصد هیدروژل مقدار رطوبت افزایش داشت. نتایج این



### ۳-۴- نفوذپذیری نسبت به بخار آب

نفوذپذیری به بخار آب یک روش ساده اندازه‌گیری میزان نفوذ و عبور رطوبت به داخل یک ماده است. انتقال بخار آب از فیلم‌ها به دو فاکتور حلالیت و نفوذپذیری مولکول‌های آب در ماتریکس فیلم بستگی دارد [۲۹]. نفوذپذیری به بخار آب (WVP) یکی از پارامترهای مهم فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر به شمار می‌رود. نفوذپذیری فیلم به بخار آب تحت تاثیر عوامل متعددی مانند تحرک زنجیره‌های پلیمر، برهمکنش بین گروه‌های عملگرایی پلیمرها، یکپارچگی ساختار فیلم، نسبت گروه‌های آبدوست به آبگریز و نسبت ناحیه کریستالی به آمورف می‌باشد [۳۰-۳۳]. چون یکی از مهمترین کاربردهای بسته‌بندی در مواد غذایی به حداقل رساندن انتقال رطوبت بین غذا و اتمسفر اطراف می‌باشد، بنابراین نفوذپذیری مواد بسته‌بندی به بخار آب باید حداقل باشد [۳۴]. این پارامتر به منظور بررسی اثر ترکیبی گلیسرول، سوربیتول و روغن سیاه دانه بر روی خواص ممانعتی فیلم مورد آزمون مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود اثر افزودن پست‌بیوتیک‌ها موجب افزایش WVP می‌شود ( $P < 0.05$ ). در حالی که افزودن موسیلاژ عنب موجب کاهش WVP می‌گردد ( $P < 0.05$ ). این نتایج با نتایج بررسی جبرائیلی و همکاران [۳۵] مطابقت دارد. در این بررسی نفوذپذیری نسبت به بخار آب با افزایش غلظت هیدروژل افزایش یافت که علت این مسئله را به حضور بالای گروه‌های هیدروکسیل موجود در هیدروژل نسبت دادند که باعث افزایش فعل و انفعال با آب گردیده و انتقال بخار آب را در ساختمان فیلم تسهیل می‌کند. بر اساس مطالعات Higuchi [۳۶] و Aguiar قابلیت نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌ها وابسته به تعداد گروه‌های قطبی پلیمر می‌باشد که باعث جذب مولکول‌های آب به سمت گروه‌های قطبی و در نتیجه تسهیل انتقال آب می‌شود. هرچه نسبت ترکیبات آبگریز افزایش یابد این فاکتور افزایش خواهد یافت. فیلم‌های کازئینی کاملاً در آب محلول می‌باشند در حالی که آن‌ها، دارای محتوای اسیدآمینه غیرقطبی بالایی (۳۵-۴۵٪ از کل اسید آمینه) بوده و در دمای بالای ۲۰ درجه سانتی‌گراد می‌توانند تهیه شوند. وجود ساختار و ترتیب و ترکیب

اسید آمینه‌های کازئینی احتمال ایجاد پیوند هیدروژنی و باندهای الکتروستاتیک و نیروهای آبگریز در شکل‌گیری فیلم‌های خوراکی تهیه شده از کازئین موثر می‌باشند [۳۷]. فیلم‌های کازئینی واضح و شفاف بوده و ممانعت‌کنندگی بسیار بالایی نسبت به اکسیژن از خود نشان می‌دهند؛ اما نفوذپذیری به بخار آب آن‌ها زیاد می‌باشد [۳۸]. به طور کلی، به علت بالا بودن گروه‌های آب دوست در زنجیره‌های پلیمری فیلم‌های خوراکی کربوهیدراتی و پروتئینی، آن‌ها بازدارندگی کمی در برابر بخار آب دارند [۳۹].



**Fig 4** Water vapor permeability of produced bioactive films

Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

### ۳-۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

اثر ضد میکروبی فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد افزودن پست‌بیوتیک‌ها باعث اثر بازدارندگی در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شریشیا کولی* می‌گردد ( $P < 0.05$ ). دلیل این امر وجود ترکیبات مختلف با خاصیت ضد میکروبی در پست‌بیوتیک‌ها می‌باشد. Aguilera-Toalá و همکاران [۸] اثرات ضد میکروبی پست‌بیوتیک‌ها را به دلیل وجود متابولیت‌های با خاصیت ضدباکتریایی مانند باکتریوسین ارتباط می‌دهد. Smaoui و همکاران [۴۰] گزارش کردند که پست‌بیوتیک می‌تواند تکثیر میکروبی باکترهای هوازی و حتی بی‌هوازی اختیاری مانند *شریشیا کولی* را به تاخیر بیندازد. شایان ذکر است قطر هاله عدم رشد فیلم‌های زیست‌فعال حاوی پست‌بیوتیک‌ها در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شریشیا کولی* تفاوت

مقایسه با نمونه شاهد شد. شایان ذکر است افزودن موسیلاژ عنب تاثیر در اثر بازدارندگی در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولی ندارد ( $P > 0.05$ ).

معنی‌دار ندارد ( $P > 0.05$ ) و Yordshahi و همکاران [۷] بیان کردند که استفاده از پست‌بیوتیک در فیلم خوراکی زیست فعال سبب کاهش معنی‌دار جمعیت باکتری لیستریا مونوسیژنز در

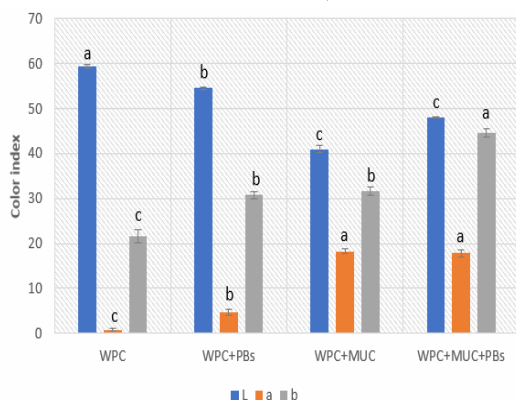
**Table 2** The inhibitory effect of produced films on the growth of *S. aureus* and *E. coli*

Samples	Zone of inhibition (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
S1 WPC	0.0±0.0	0.0±0.0
S2 WPC+PBs	13.5±0.5 <sup>Ab</sup>	15.6±0.4 <sup>Aa</sup>
S3 WPC+MUC	0.0±0.0	0.0±0.0
S4 WPC+MUC+PBs	13.8±0.5 <sup>Ab</sup>	16.1±0.8 <sup>Aa</sup>

Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

### ۷-۳ پارامترهای رنگی فیلم‌ها

مشخصات رنگی یکی از عوامل مهم فیلم‌های زیست تخریب پذیر و خوراکی است و به نوع ترکیبات مورد استفاده در تولید آنها بستگی دارد [۴۳]. شکل ۷ پارامترهای رنگی *L*، *a* و *b* فیلم‌های تولید شده را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عنب سبب کاهش معنی‌دار در شاخص *L* نمونه‌های فیلم‌های تولید شده گردید ( $P < 0.05$ ).

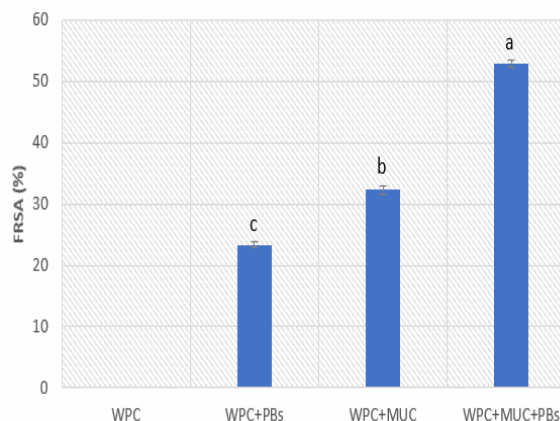


**Fig 7** Color parameters of produced bioactive films. Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

نتایج نشان داد شاخص‌های *a* و *b* با افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عنب به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). دلیل این امر ناشی از رنگ تیره پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عنب است. ترکیبات گیاهی به دلیل دارا بودن رنگ‌های با شدت زیاد، معمولاً باعث کاهش روشنایی فیلم‌های زیست فعال می‌شوند. Pelissari و همکاران [۴۴] نتایج مشابه این پژوهش را گزارش کرده و نشان دادند با افزودن آرد موز به ساختار فیلم‌های خوراکی موجب افزایش در مقدار قرمزی فیلم‌های تولیدی شد.

### ۶-۳ خواص ضداکسایشی فیلم‌ها

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از روش‌های مرسوم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی است [۴۱]. شکل ۶ میزان فعالیت ضداکسایشی در نمونه‌های فیلم تولید شده را نشان می‌دهد. افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عنب سبب افزایش معنی‌دار در مقدار فعالیت ضداکسایشی فیلم‌های تولید شده گردید ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقدار فعالیت ضداکسایشی در فیلم بیوکامپوزیتی زیست فعال کنسانتره پروتئین‌های شیر حاوی پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عنب بود و فیلم کنسانتره پروتئین‌های شیر فاقد فعالیت ضداکسایشی بود. دلیل افزایش در فعالیت ضداکسایشی با افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عنب را می‌توان به ترکیبات زیست فعال موجود در آنها نسبت داد. Amiri و همکاران [۴۲] و [۱۱] فعالیت ضداکسایشی برای موسیلاژ ریشه ختمی و دانه شنبلله گزارش کردند.



**Fig 6** Antioxidant activity of produced bioactive films. Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).



فیلم می‌تواند تحمل کند [۴۵]. جدول ۳ خواص مکانیکی فیلم‌های تولید شده را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد استحکام کششی تفاوت معنی‌داری در فیلم‌های تهیه شده نداشت ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان استحکام کششی مربوط به نمونه فیلم کنسانتره پروتئین‌های شیر و موسیلاژ عناب مشاهده شد که می‌تواند به علت برهمکنش بین ترکیبات پروتئینی و پلی ساکاریدی باشد. کمترین میزان استحکام کششی در نمونه‌های حاوی پست‌بیوتیک‌ها مشاهده شد، زیرا حضور پست‌بیوتیک‌ها سبب به هم خوردن تراکم ساختاری و کاهش مقاومت نمونه‌های فیلم در برابر کشش شد. گزارش شده افزودن ترکیبات ضد میکروبی به پلیمرهای مختلف به علت ایجاد تغییرات در سطح مولکولی سبب تغییر خواص مکانیکی فیلم‌های تولید شده از این پلیمرها می‌شود. این تغییرات به علت تخریب ماتریکس فیلم در اغلب موارد، درجهت کاهش مقاومت فیلم‌ها در برابر کشش می‌باشد. مطابق نتایج پارامترهای افزایش طول در نقطه شکست با افزودن موسیلاژ عناب و پست‌بیوتیک‌ها به ترتیب کاهش و افزایش داشت. همچنین مدول یانگ با افزودن موسیلاژ عناب و پست‌بیوتیک‌ها به ترتیب افزایش و کاهش داشت. به طور کلی با کاهش مقاومت کششی، افزایش طول بیشتر می‌شود. نتایج مشابه توسط Kavooosi و همکاران [۲۵] ارائه شده است، به طوری که با افزایش درصد تیمول در فیلم‌های بر پایه ژلاتین، مقاومت کششی و مدول یانگ فیلم‌ها کاهش یافت. Hosseini و همکاران [۲۰] نشان دادند که با افزایش درصد اسانس پونه کوهی در فیلم‌های بر پایه ژلاتین و کیتوزان، مقاومت کششی و مدول یانگ فیلم‌ها کاهش یافت.

این تغییرات در رنگ فیلم‌های بیوکامپوزیت زیست فعال تولید شده احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فنولیک بالا در موسیلاژ عناب و رنگ محیط کشت حاوی پست‌بیوتیک‌ها است که موجب کاهش شفافیت و افزایش زردی فیلم‌ها گردید.

### ۳-۸- خواص مکانیکی فیلم‌ها

خواص مکانیکی فیلم‌ها، میزان مقاومت پلیمر تولید شده برای بسته‌بندی و نگهداری مواد غذایی از آسیب‌های وارده در طول حمل و نقل را نشان می‌دهد. آزمون کشش یکی از رایج‌ترین آزمون‌ها برای ارزیابی خواص مکانیکی فیلم‌های خوراکی می‌باشد؛ اگرچه گاهی آزمون‌های دیگری مانند آزمون سوراخ کردن نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقاومت کششی و میزان کشش در نقطه پارگی دو ویژگی مهم در مواد بسته‌بندی هستند. در واقع، در طول آزمون کشش، میزان تنش قابل تحمل نهایی فیلم سنجیده می‌شود. بررسی خواص مختلف مکانیکی فیلم‌ها از جنبه نیاز پلیمرهای خوراکی به داشتن استحکام و کشسانی مطلوب و همچنین عاری بودن از نقص‌هایی نظیر حفره و شکستگی‌های ریز مهم است. استحکام کششی (TS) و کشش‌پذیری تا نقطه پارگی (EB) شاخصه‌های سودمندی در پیش بینی توانایی فیلم‌های خوراکی در حفظ یکپارچگی در هنگام استفاده به عنوان بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشند که شاخص‌های کلیدی استحکام و انعطاف‌پذیری فیلم‌ها هستند. به طور کلی ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های خوراکی تحت تأثیر چند عوامل از جمله برهم‌کنش‌های بین ترکیبات سازنده فیلم، شرایط دمایی، فیزیکی و شیمیایی است [۴۳]. کشش‌پذیری تا نقطه شکست به صورت حداکثر افزایش طول فیلم قبل از پاره شدن تعریف می‌شود و مقاومت به کشش یا استحکام کششی بیانگر حداکثر استرس کششی است که

**Table 3** The results of the mechanical properties of the produced films

Samples	Tensile strength (Mpa)	Elongation at break (%)	Elastic modulus (Mpa)
S1 WPC	11.1±0.8 <sup>b</sup>	30.2±5.1 <sup>b</sup>	1.6±0.2 <sup>b</sup>
S2 WPC+PBs	3.9±0.6 <sup>d</sup>	49.5±3.3 <sup>a</sup>	0.9±0.1 <sup>c</sup>
S3 WPC+MUC	70.0±0.1 <sup>a</sup>	16.6±2.4 <sup>c</sup>	2.6±0.2 <sup>a</sup>
S4 WPC+MUC+PBs	6.5±0.2 <sup>c</sup>	46.0±2.5 <sup>a</sup>	1.0±0.2 <sup>c</sup>

Different Latin letters indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

کنسانتره پروتئین‌های شیر به همراه موسیلاژ عناب امکان پذیر است. همچنین پست‌بیوتیک‌های باسیلوس کوآگولانس به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی جدید قابلیت استفاده در فیلم‌های

### ۴- نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر مشخص کرد تولید فیلم بیوکامپوزیتی برپایه

- Miller) during three edible maturity stages. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 56-62.
- [6] Amiri, S., Nezamdoost-Sani, N., Mostashari, P., McClements, D. J., Marszałek, K., & Mousavi Khaneghah, A. (2022). Effect of the molecular structure and mechanical properties of plant-based hydrogels in food systems to deliver probiotics: an updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-27.
- [7] Amiri, S., Rezazadeh-Bari, M., Alizadeh-Khaledabad, M., Rezaei-Mokarram, R., & Sowti-Khiabani, M. (2021). Fermentation optimization for co-production of postbiotics by *Bifidobacterium lactis* BB12 in cheese whey. *Waste and Biomass Valorization*, 12(11), 5869-5884.
- [8] Amiri, S., & Kazemi, S. (2022). Concept and potential applications of postbiotics in the food industry. *Journal of food science and technology (Iran)*, 19(126), 87-101.
- [9] Farajinejad, Z., Mohtarami, F., Pirouzifard, M., Amiri, S., & Hamishehkar, H. (2022). Evaluation of the effect of sourdough of whole wheat flour containing fructooligosaccharide and *Bacillus coagulans* IBRC-M 10807 on bulk bread. *Journal of food science and technology (Iran)*, 19(125), 255-268.
- [10] Alizadeh Behbahani, B., and Shahidi, F. (2019). Evaluation of the microbial, chemical and sensory characteristics of mutton coated with farnjameshk mucilage in combination with zenian essential oil to increase the nutritional value at refrigerator temperature. *Iran Food Science and Industry Research*, 16(4 (sequential 64)), 383-394. [in farsi]
- [11] Amiri, S., Nabizadeh, F., & Rezazad Bari, L. (2022). A novel source of food hydrocolloids from *Trigonella elliptica* seeds: extraction of mucilage and comprehensive characterization. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(15), 7144-7154.
- [12] Pirsā, S., Sani, I. K., & Mirtalebi, S. S. (2022). Nano-biocomposite based color sensors: investigation of structure, function, and applications in intelligent food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 31, 100789.
- [13] Rasul, N. H., Asdagh, A., Pirsā, S., Ghazanfarirad, N., & Sani, I. K. (2022). Development of antimicrobial/antioxidant nanocomposite film based on fish skin gelatin and chickpea protein isolated containing Microencapsulated *Nigella sativa* essential oil
- زیست فعال را دارد. نتایج نشان داد افزودن موسیلاژ عناب به فیلم‌های بر پایه کنسانتره پروتئین‌های شیر ضخامت فیلم‌ها به طور معنی داری افزایش یافت ولی افزودن پست‌بیوتیک‌ها به تولید فیلم‌های زیست فعال افزایش معنی داری در ضخامت نداشت. فیلم بیوکامپوزیتی زیست فعال بر پایه کنسانتره پروتئین‌های شیر حاوی پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب بیشترین و فیلم تولید شده از کنسانتره پروتئین‌های شیر کمترین مقدار رطوبت را دارا بودند. افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب باعث افزایش معنی دار در حلالیت فیلم‌های بیوکامپوزیتی زیست فعال شد. افزودن پست‌بیوتیک‌ها موجب افزایش WVP شد، در حالی که افزودن موسیلاژ عناب موجب کاهش WVP گردید. افزودن پست‌بیوتیک‌ها و موسیلاژ عناب سبب افزایش معنی دار در مقدار فعالیت ضد اکسایشی فیلم‌های تولید شده گردید. نتایج نشان داد افزودن موسیلاژ عناب و پست‌بیوتیک‌ها موجب بهبود خواص مکانیکی فیلم‌های تهیه شده شد. به طور کلی این پژوهش قابلیت استفاده از موسیلاژ عناب و پست‌بیوتیک‌ها را در تولید بیوکامپوزیت زیست فعال نشان داد.

## ۵- منابع

- [1] Meydanju, N., Pirsā, S., & Farzi, J. (2022). Biodegradable film based on lemon peel powder containing xanthan gum and TiO<sub>2</sub>-Ag nanoparticles: Investigation of physicochemical and antibacterial properties. *Polymer Testing*, 106, 107445.
- [2] Pirsā, S., & Hafezi, K. (2022). Hydrocolloids: Structure, preparation method, and application in food industry. *Food Chemistry*, 133967.
- [3] Zhao, C., Zheng, R., Shi, X., & Wang, L. (2021). Soil microbes and seed mucilage promote growth of the desert ephemeral plant *Nepeta micrantha* under different water conditions. *Flora*, 280, 151845.
- [4] Amiri, S., Teymorlouei, M. J., Bari, M. R., & Khaledabad, M. A. (2021). Development of *Lactobacillus acidophilus* LA5-loaded whey protein isolate/lactose bionanocomposite powder by electrospraying: A strategy for entrapment. *Food Bioscience*, 43, 101222.
- [5] Wang, B., Huang, Q., Venkitasamy, C., Chai, H., Gao, H., Cheng, N., ... & Pan, Z. (2016). Changes in phenolic compounds and their antioxidant capacities in jujube (*Ziziphus jujuba*

- whey-protein-coated paper. *Transactions of the ASAE*, 42(5), 1375.
- [22] Nisar, T., Wang, Z. C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., & Guo, Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International journal of biological macromolecules*, 106, 670-680.
- [23] Singh, G., Maurya, S., DeLampasona, M. P., & Catalan, C. A. (2007). A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and chemical toxicology*, 45(9), 1650-1661.
- [24] Bourtoom, T., & Chinnan, M. S. (2008). Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *LWT-Food science and Technology*, 41(9), 1633-1641.
- [25] Kavosi, G., Dadfar, S. M. M., & Purfard, A. M. (2013). Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing. *Journal of Food Science*, 78(2), E244-E250.
- [26] Sani, I. K., Geshlaghi, S. P., Pirsa, S., & Asdagh, A. (2021). Composite film based on potato starch/apple peel pectin/ZrO<sub>2</sub> nanoparticles/microencapsulated Zataria multiflora essential oil; investigation of physicochemical properties and use in quail meat packaging. *Food Hydrocolloids*, 117, 106719.
- [27] Sani, I. K., Marand, S. A., Alizadeh, M., Amiri, S., & Asdagh, A. (2021). Thermal, mechanical, microstructural and inhibitory characteristics of sodium caseinate based bioactive films reinforced by ZnONPs/encapsulated Melissa officinalis essential oil. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31(1), 261-271.
- [28] Kerami Moghadam A., Imam Juma, Z. and Yasini Ardakani, S.A. (2013). Investigating the physical, inhibitory and antimicrobial properties of sodium caseinate film containing pomegranate peel extract. *Biosystem Engineering of Iran*, Volume 45, Number 2, Fall and Winter 2013, pp. 121-130. [in farsi]
- [29] Marandi, M. S., Pirsa, S., Amiri, S., & Fazeli, M. (2022). Production of biodegradable films of zein containing mentha asiatica essential oil and copper oxide nanoparticles: investigation of and copper sulfide nanoparticles for extending minced meat shelf life. *Materials Research Express*, 9(2), 025306.
- [14] Sani, Iraj Karimi, and Mohammad Alizadeh. "Isolated mung bean protein-pectin nanocomposite film containing true cardamom extract microencapsulation/CeO<sub>2</sub> nanoparticles/graphite carbon quantum dots: Investigating fluorescence, photocatalytic and antimicrobial properties." *Food Packaging and Shelf Life* 33 (2022): 100912.
- [15] Sadeghnezhad, Z., Amiri, S., Rezazadeh-Bari, M., & Almasi, H. (2020). Physical and morphological characteristics of edible composite film of sodium caseinate/pectin/zedo gum containing poulk (*Stachys schtschegleevii*) extract: optimizing bioactivity and physicochemical properties. *Journal of Packaging Technology and Research*, 4(2), 187-203.
- [16] Gholam-Zhiyan, A., Amiri, S., Rezazadeh-Bari, M., & Pirsa, S. (2021). Stability of *Bacillus coagulans* IBRC-M 10807 and *Lactobacillus plantarum* PTCC 1058 in milk proteins concentrate (MPC)-based edible film. *Journal of Packaging Technology and Research*, 5(1), 11-22.
- [17] Daei, S., Mohtarami, F., & Pirsa, S. (2022). A biodegradable film based on carrageenan gum/*Plantago psyllium* mucilage/red beet extract: physicochemical properties, biodegradability and water absorption kinetic. *Polymer Bulletin*, 1-22.
- [18] Ghasemizad, S., Pirsa, S., Amiri, S., & Abdosatari, P. (2022). Optimization and Characterization of Bioactive Biocomposite Film Based on Orange Peel Incorporated with Gum Arabic Reinforced by Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles. *Journal of Polymers and the Environment*, 30(6), 2493-2506.
- [19] Ghamari, M. A., Amiri, S., Rezazadeh-Bari, M., & Rezazad-Bari, L. (2022). Physical, mechanical, and antimicrobial properties of active edible film based on milk proteins incorporated with *Nigella sativa* essential oil. *Polymer Bulletin*, 79(2), 1097-1117.
- [20] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Farahmandghavi, F. (2015). Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and products*, 67, 403-413.
- [21] Han, J. H., & Krochta, J. M. (1999). Wetting properties and water vapor permeability of

- food science*, 67(3), 1073-1079.
- [39] Parris, N., & Coffin, D. R. (1997). Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic zein films. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(5), 1596-1599.
- [40] Smaoui, S., Elleuch, L., Ben Salah, R., Najah, S., Chakchouk-Mtibaa, A., Sellem, I., ... & Mellouli, L. (2014). Efficient role of BacTN635 on the safety properties, sensory attributes, and texture profile of raw minced meat beef and chicken breast. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(2), 218-225.
- [41] Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- [42] Amiri, S., RoshaniSaray, F., Rezazad-Bari, L., & Pirsa, S. (2021). Optimization of extraction and characterization of physicochemical, structural, thermal, and antioxidant properties of mucilage from Hollyhock's root: a functional heteropolysaccharide. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), 2889-2903.
- [43] Asdagh, A., Karimi Sani, I., Pirsa, S., Amiri, S., Shariatifar, N., Eghbaljoo-Gharehgheshlaghi, H., ... & Taniyan, A. (2021). Production and characterization of nanocomposite film based on whey protein isolated/copper oxide nanoparticles containing coconut essential oil and paprika extract. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(1), 335-349.
- [44] Pelissari, F. M., Andrade-Mahecha, M. M., do Amaral Sobral, P. J., & Menegalli, F. C. (2013). Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 681-690.
- [45] Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., & Tharanathan, R. N. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1113-1122.
- physicochemical, antimicrobial, and antioxidant properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 30(10), 4114-4129.
- [30] Souza, B. W., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2010). The use of electric fields for edible coatings and films development and production: A review. *Food Engineering Reviews*, 2(4), 244-255.
- [31] Sun, Y., Chang, H., Kabatek, M., Song, Y. Y., Wang, Z., Jantz, M., ... & Hoffmann, A. (2013). Damping in yttrium iron garnet nanoscale films capped by platinum. *Physical review letters*, 111(10), 106601.
- [32] Martins, J. T., Cerqueira, M. A., & Vicente, A. A. (2012). Influence of  $\alpha$ -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. *Food hydrocolloids*, 27(1), 220-227.
- [33] Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Entezami, A. A. (2010). Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. *Innovative food science & emerging technologies*, 11(4), 697-702.
- [34] Zhou, J. J., Wang, S. Y., & Gunasekaran, S. (2009). Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Journal of food science*, 74(7), N50-N56.
- [35] Jabraili, A., Pirsa, S., Pirouzifard, M. K., & Amiri, S. (2021). Biodegradable nanocomposite film based on gluten/silica/calcium chloride: physicochemical properties and bioactive compounds extraction capacity. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2557-2571.
- [36] Higuchi, T., & Aguiar, A. (1959). A study of permeability to water vapor of fats, waxes, and other enteric coating materials. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific ed.)*, 48(10), 574-583.
- [37] Avena-Bustillos, R. J., & Krochta, J. M. (1993). Water vapor permeability of caseinate - based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. *Journal of food science*, 58(4), 904-907.
- [38] Chick, J., & Hernandez, R. J. (2002). Physical, thermal, and barrier characterization of casein - wax - based edible films. *Journal of*



## Production of novel composite bioactive film of whey protein concentrate and Jujube mucilage reinforced by postbiotics of *Bacillus coagulans* IBRC-M 10807

Najafi, H. <sup>1</sup>, Amiri, S. <sup>2</sup>, Khalili, A. <sup>3</sup>, Rezazad Bari, L. <sup>4\*</sup>

1. M.Sc. student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Saba Institute of Higher Education, Urmia, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
3. M.Sc., Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Ph.D., Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.

### ABSTRACT

The aim of this study was to produce a new bioactive composite film using whey protein concentrate and jujube mucilage reinforced with postbiotics of *Bacillus coagulans* IBRC-M 10807. For this purpose, four films including whey protein concentrate film (WPC), whey protein concentrate film containing *B. coagulans* postbiotics (WPC+PBs), whey protein concentrate film and jujube mucilage (WPC+MUC), and whey protein concentrate film and jujube mucilage containing *B. coagulans* postbiotics (WPC+PBs+MUC) each in three replicates of production and their physicochemical, antimicrobial, antioxidant and mechanical, were compared in the form of a completely random design and with the analysis of variance method. The results showed that the addition of postbiotics and jujube mucilage caused a significant increase in the moisture and solubility of the films ( $P < 0.05$ ). Adding postbiotics causes an inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria ( $P < 0.05$ ). The addition of postbiotics and jujube mucilage caused a significant decrease in the *L* index of the produced film samples ( $P < 0.05$ ). The results showed that the *a* and *b* indexes increased significantly with the addition of postbiotics and jujube mucilage ( $P < 0.05$ ). The results of the present study showed that the produced bioactive biocomposite film has the potential to be used in food packaging.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 12/ 02  
Accepted 2023/ 01/ 14

#### Keywords:

Biodegradable film,  
Milk proteins,  
Mucilage,  
Postbiotics.

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.251  
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.19.2

\*Corresponding Author E-Mail:  
l.rezazad@uma.ac.ir