



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

مطالعه نانوالیاف کامپوزیتی الکتروریسی شده بر پایه هیدروکلونید دانه به (Quince seed)

Cydonia oblonga جهت ریزپوشانی ویتامین D₃ و باکتری *Bacillus coagulans*

صدیقه یزدان پناه^{۱*}، مریم حقیقی^۲، زهرا فهیم^۳، میترا صمیمی^۱

^{۱*} - گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

^۲ - دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران

^۳ - دانشجوی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سروستان، دانشگاه آزاد اسلامی، سروستان، ایران

^۱ - دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۲۱

تاریخ داوری: ۱۴۰۵/۰۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۳۰

کلمات کلیدی:

الکتروریسی،

نانوکامپوزیت،

ویتامین D₃،

موسیلاژ دانه به،

باسیلوس کواگولانس

DOI: 10.48311/fsct.2026.119240.83056

* مسئول مکاتبات:

sedigheh_yazdanpanah@iau.ac.ir

در این پژوهش توسعه و بهینه سازی نانوالیاف کامپوزیتی الکتروریسی شده بر پایه موسیلاژ دانه به، پلی وینیل الکل (PVA) و کنسانتره پروتئین سبوس برنج (RPC) جهت ریزپوشانی همزمان ویتامین D₃ و باکتری پروبیوتیک *Bacillus coagulans* بود. پس از بررسی نسبت های مختلف اجزا و شرایط فرآیند، فرمولاسیون حاوی ۰.۴٪ موسیلاژ، ۰.۴٪ PVA و ۰.۴٪ RPC به عنوان ترکیب بهینه انتخاب شد که منجر به تولید الیاف یکنواخت، بدون گره و با قطر میانگین 18 ± 310 نانومتر گردید. نتایج آزمون های FTIR وجود پیوندهای هیدروژنی و برهم کنش های بین مولکولی مؤثر بین پلیمرها را تأیید کرد. آزمون های SEM نیز نشان دادند که ویتامین D₃ و *B. coagulans* به صورت یکنواخت در ساختار نانوالیاف توزیع شده اند. بررسی کارایی ریزپوشانی نشان داد که بازده انکپسولاسیون ویتامین D₃ و *B. coagulans* به ترتیب ۸۷/۶٪ و ۹۲/۳٪ بود. آزمون رهایش در محیط شبیه سازی شده معده (pH ۱/۲) نشان داد که سیستم نانوالیافی توانست رهایش تدریجی و کنترل شده ترکیبات زیست فعال را در مدت ۱۸۰ دقیقه فراهم کند، در حالی که از تخریب ویتامین و کاهش زنده ماندن باکتری در شرایط اسیدی جلوگیری شد. نتایج آزمون پایداری طی ۲۰ روز نگهداری نشان داد که نانوالیاف تولید شده تا بیش از ۸۰٪ از ویتامین D₃ و ۹۰٪ از سلول های زنده *B. coagulans* را حفظ کردند، در حالی که در نمونه های آزاد کاهش معنی داری مشاهده گردید (در سطح ۵ درصد). نانوکامپوزیت های الکتروریسی شده حاصل، با ساختار پایدار، زیست سازگار و عملکرد حفاظتی بالا، می توانند به عنوان حامل های نوین و مؤثر برای ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرند.

۱-مقدمه

نانوفناوری به عنوان یکی از پیشرفته ترین حوزه های علوم نوین، تأثیر چشمگیری بر بهبود ساختار، پایداری و کارکرد زیستی ترکیبات غذایی و دارویی داشته است. توسعه نانو ساختارهایی همچون نانوذرات و نانوالیاف با نسبت سطح به حجم بالا، انعطاف پذیری سطحی و خواص مکانیکی مطلوب، امکان بارگذاری و رهایش کنترل شده ترکیبات زیست فعال را فراهم ساخته و موجب افزایش پایداری و زیست دسترس پذیری آنها می شود [۱،۳]. در این میان، تکنیک الکترورسی به عنوان روشی کارآمد، ساده و بدون نیاز به شرایط سخت فرآیندی (نظیر حرارت بالا یا حلال های سمی)، جایگاه ویژه ای در ریزپوشانی ترکیبات حساس یافته است. این روش با استفاده از پلیمرهای زیست سازگار مانند پروتئین ها و پلی ساکاریدها، نانوالیافی یکنواخت و پایدار تولید می کند که قادر به حفاظت ترکیبات زیست فعال در برابر تخریب ناشی از نور، حرارت و شرایط محیطی هستند [۴،۶]. در سال های اخیر، توجه ویژه ای به استفاده از هیدروکلوئیدهای طبیعی در توسعه نانوالیاف زیست سازگار معطوف شده است. دانه به (*Cydonia oblonga*) منبعی غنی از ترکیبات زیست فعال با خواص آنتی اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدالتهابی است که در طب سنتی و صنایع غذایی و دارویی کاربرد گسترده ای دارد [۷، ۸]. استخراج هیدروکلوئید از دانه به، به عنوان یک جایگزین پایدار و زیست سازگار برای قوام دهنده ها و بافت دهنده های تجاری مطرح بوده و می تواند در تولید نانوالیاف الکترورسی شده مورد استفاده قرار گیرد. ترکیب این هیدروکلوئید با پلیمرهایی همچون پلی وینیل الکل و کنسانتره پروتئین سبوس برنج، بستر مناسبی برای تولید لیاف یکنواخت، زیست سازگار و کارآمد در بارگذاری ترکیبات زیست فعال فراهم می آورد [۶، ۹].

در کنار بستر پلیمری، ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال ارزشمند اهمیت ویژه ای دارد. ویتامین D3 یکی از ویتامین های ضروری برای سلامت استخوان و سیستم ایمنی است، اما به دلیل حساسیت بالا در برابر نور و حرارت،

پایداری محدودی دارد. استفاده از فناوری الکترورسی می تواند ضمن افزایش پایداری این ویتامین، امکان رهایش تدریجی آن را در شرایط گوارشی فراهم آورد [۱۰، ۱۱]. علاوه بر آن، پروبیوتیک ها به ویژه گونه های اسپورساز نظیر *Bacillus coagulans* به دلیل مقاومت بالا در برابر شرایط نامساعد فرآیندی و گوارشی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده اند. این باکتری بی هوازی اختیاری و کاتالاز مثبت، توانایی تولید اسید لاکتیک داشته و در ارتقای ماندگاری، بهبود سلامت روده و توسعه محصولات فراسودمند نقش بسزایی ایفا می کند [۱۲، ۱۳]. مطالعات متعددی بر روی تولید نانوالیاف الکترورسی حاوی ترکیبات زیست فعال انجام شده است. به عنوان نمونه، سانگ و همکاران (۲۰۲۲) با تولید لایه های کلاژن/ژئین حاوی اسید گالیک، توانستند کیفیت و ماندگاری مواد غذایی را بهبود دهند [۱۴]. همچنین، مونتانو و همکاران (۲۰۱۴) با ترکیب نانوذرات نقره و ویتامین E در ماتریس پلی لاکتیک اسید، نانوالیافی با خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی تولید کردند که رشد باکتری های بیماری زا را به طور کامل مهار نمود [۱۵]. پژوهش های اخیر نیز استفاده از لیاف حاوی آنتی اکسیدان های طبیعی و پروتئین های گیاهی را در جهت افزایش کارایی رهایش کنترل شده ترکیبات زیست فعال تأیید کرده اند. خو و همکاران (۲۰۱۲) تهیه و خواص غشاهای نانوالیاف الکترورسی شده پروتئین ایزوله سویا/پلی اتیلن اکسید پژوهشی انجام دادند. آنها با حل ایزوله پروتئین سویا و پلی اتیلن اکسید در حلال HFIP و استفاده از تکنیک الکترورسی، نانوالیاف غیرمنسوجی تولید کردند. نتایج نشان داد که قطر بیشتر نانوالیاف در محدوده ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر بود و ایزوله پروتئین سویا و پلی اتیلن اکسید درون لیاف به صورت همگن در مقیاس نانو پخش شده و از سازگاری بالایی برخوردار بودند [۱۶].

با وجود این دستاوردها، تاکنون مطالعه ای جامع در خصوص توسعه نانوالیاف کامپوزیت بر پایه هیدروکلوئیدهای دانه به برای ریزپوشانی همزمان ویتامین D3 و باکتری *Bacillus coagulans* گزارش نشده است. از این رو، در پژوهش حاضر

RSD%: درصد مهار رادیکال آزاد (درصد بازداری آنتی-اکسیدان در برابر رادیکال‌های آزاد)
 A0: جذب شاهد (که حاوی یک میلی‌لیتر از متانول و یک میلی‌لیتر از محلول DPPH می‌باشد).
 A: جذب نمونه (که حاوی حجم‌های مختلفی از موسیلاژ دانه به یا BHT و DPPH می‌باشد).

۲-۲-۲-اندازه‌گیری محتوای تام فنلی

میزان ترکیبات فنولی کل موسیلاژ دانه به بر اساس روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتیو و معادل اسید گالیک (مرک، آلمان) تعیین شد. برای این منظور، محلول استاندارد اسید گالیک در غلظت‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۶۲/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ پی‌پی‌ام) در محلول ۶۰ درصد تهیه شد سپس از هریک، ۰/۱ میلی‌لیتر به لوله آزمایش منتقل شد و به آن‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ درصد واکنش گر فولین - سیوکالتیو اضافه و پس از ۳ الی ۸ دقیقه به آن ۰/۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد، جذب نوری در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. نمونه موسیلاژ (۱ گرم) در متانول ۶۰ درصد حل و با همان روش مورد آزمایش قرار گرفت. در نهایت، میزان جذب نمونه در نمودار استاندارد قرار داده شد و مقدار فنول کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم معادل اسید گالیک محاسبه شد [۱۹].

۲-۲-۳-بررسی فعالیت ضد میکروبی موسیلاژ دانه به

برای تعیین فعالیت ضد میکروبی از روش انتشار آگار استفاده شد. نمونه‌ها با استفاده از یک قالب به دیسک‌هایی به قطر ۱۰ میلی‌متر تبدیل شد. قبل از قراردادن دیسک‌ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع محتوای تقریباً 10^8 CFU/ml از هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش صورت خواهد گرفت. دیسک‌ها در شرایط کاملاً استریل بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار قرار خواهند گرفت و در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری خواهند شد. اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده از قطر دیسک‌ها به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی در نظر گرفته شد. در مواردی

ابتدا نانوالیاف کامپوزیت زیست‌سازگار به روش الکترورسی تهیه گردید و سپس کارایی آن‌ها در ریزپوشانی و پایداری ویتامین D3 و *Bacillus coagulans* مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-استخراج موسیلاژ دانه به

ابتدا، موسیلاژ از دانه‌های به استخراج شد. برای انجام این فرآیند، به نسبت ۲۰:۱ آب به دانه‌های به اضافه شد. pH آب با استفاده از سود ۰/۲ مولار به مقدار مناسبی تنظیم شد. سپس، به منظور جداسازی موسیلاژ از دانه‌ها، مخلوط به مدت سه ساعت با استفاده از همزن هموژنایزر (HD3200, Berli, آلمان) با ۱۵۰۰ دور در دقیقه به هم زده شد تا موسیلاژ جدا شود. با تشکیل دانه‌های متورم و ژل در اطراف آن‌ها، نمونه‌ها درون دستگاه سانتریفوژ (Hettich-320R, Universal, آلمان) به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. موسیلاژ استخراج شده، درون آون (Memmert UN55, آلمان) به مدت ۲ ساعت و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک، سپس در کیسه‌های پلی‌اتیلنی قرار داده شد و تا زمان مصرف در جای خشک و خنک نگهداری شد [۱۷].

۲-۲-آزمون‌های آنتی اکسیدانی موسیلاژ دانه به

۲-۲-۱-ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد

غلظت‌های مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از ترکیبات موسیلاژ دانه به همراه ۱ میلی‌لیتر از DPPH ۰/۱ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. بعد از ۳۰ دقیقه قراردادن در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با DPPH در مقابل بلانک توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Schimadzu UV/Vis-240, IPC, ژاپن) قرائت شد [۱۸].
 درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\%RSD = (A_0 - A / A_0) \times 100$$

که هاله‌ای تشکیل نشده باشد، یعنی فعالیت ضد میکروبی وجود ندارد، اختلاف مساحت برابر صفر در نظر گرفته خواهد شد [۲۰].

۲-۳- استخراج کنسانتره پروتئین سبوس برنج

۱۰۰ گرم سبوس برنج روغن گیری شده به روش کلدال سبوس برنج روغن گیری شده و خشک شده را با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱ (وزنی/وزنی) مخلوط شد. با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم با غلظت ۱/۱ مولار، pH محلول را به ۱/۱ رسانده و به مدت یک ساعت در دمای محیط همزده شد. مخلوط را در سانتریفیوژ در ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شد. pH سوپرناتانت (مایع بدست آمده بعد از سانتریفیوژ) را با استفاده از اسید کلریدریک به ۱/۴ رسانده و به مدت نیم ساعت همزده شد. سپس به همراه پروتئین‌ها، سوپرناتانت در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت یک شب نگهداری شد تا پروتئین‌ها رسوب کنند. لایه‌ی رسوبی را با دقت از بالای مخلوط جدا و پروتئین‌های رسوب یافته با آب مقطر شسته و خنثی شد [۲۱].

۲-۴- الکتروریسی محلول

در این پژوهش، الکتروریسی محلول با استفاده از ترکیبات مشخص شده در جدول ۱ تحت شرایط کنترل شده محیطی و دستگاهی انجام گرفت. شرایط محیطی شامل دمای نسبی ۳۰ درصد و شرایط دستگاهی شامل ولتاژ ۱۲-۲۰ کیلوولت، نرخ تغذیه محلول ۰/۱۲۵-۰/۵ میلی لیتر بر ساعت و فاصله نوک سوزن تا سطح جمع کننده ۹ تا ۱۵ سانتی متر بود. به منظور دستیابی به شرایط بهینه، در هر بار دو پارامتر ثابت نگه داشته شد و پارامتر سوم در محدوده ذکر شده تغییر یافت. برای آماده سازی محلول‌ها، مقادیر مشخصی از موسیلاژ دانه به در ۳ میلی متر آب مقطر حل گردید. سپس ۴٪ پلی ونیل الکل و ۴٪ از کنسانتره پروتئینی سبوس برنج به محلول افزوده شده و در دمای محیط به مدت ۱۵ ساعت هم زده شد تا محلول یکنواختی حاصل شود. جهت همگن سازی بیشتر، محلول توسط دستگاه اولتراسونیک پروب دار تیتانیومی (HD3200, Berlin, آلمان) تیمار شد. محلول آماده شده درون سرنگ‌های ۵ میلی لیتری منتقل و با استفاده از دستگاه الکتروریسی (Full Option Lab 2ESII-II, ایران) با ولتاژ مثبت ۱۸ کیلوولت، فاصله نوک سوزن ۱۲ سانتی متر و سرعت درام جمع کننده ۵۰۰ دور بر دقیقه، نانوالیاف تولید گردیدند [۲۲، ۲۳].

Table 1. Solution samples for electrospinning.

Treatment	Seed mucilage (% w/v)	Polyvinyl alcohol (% w/v)	Protein concentrate (% w/v)
A	0.1	4	4
B	0.3	4	4
C	0.5	4	4
D	0.7	4	4

۲-۵- آماده سازی باکتری پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس
باکتری *Bacillus coagulans* بصورت خالص و لیوفیلیزه از کلکسیون پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و در محیط کشت NYSM¹ آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت فعال شد. سپس یک کلنی از محیط کشت NYSM به ۵۰۰ میلی لیتر NYSM مایع تلقیح شد و در دمای

در این آزمایش، ساختار نانوالیاف با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (TESCAN vega3, Czech Republic، چین) مورد بررسی قرار گرفت. پس از عکس برداری، قطر الیاف تولیدی با استفاده از نرم افزار اندازه گیری شد و نمونه‌هایی که بهترین حالت و کمترین گره را داشتند برای مرحله بعد (ریزپوشینه دار کردن) انتخاب شدند.

1 -Nutrient Yeast Extract Salt Medium (NYSM)

ویتامین D₃ در نسبت ۱:۴ به ۱/۵ میلی لیتر آب اضافه گردید و محلول حاصل به مدت ۴۵ دقیقه هم زدن شد تا ویتامین به طور کامل در ساختار پلیمری پراکنده گردد. سپس مقادیر مشخصی از باکتری *Bacillus coagulans* مطابق تیمارها به محلول افزوده شد. محلول نهایی تحت هم زدن ملایم در شرایط محیطی قرار گرفت تا به یکنواختی کامل برسد. محلول آماده شده در سرنگ های ۵ میلی لیتری کشیده شد و فرآیند الکتروریسی به مدت ۲ ساعت تحت ولتاژ و شرایط بهینه انجام گرفت تا نانوالیاف حاوی کامپوزیت ریزپوشانی شده تولید شود. تیمار A به عنوان کنترل بدون افزودنی در نظر گرفته شد، در حالی که تیمارهای B و C حاوی مقادیر مشخصی از ویتامین D₃ و باکتری *Bacillus coagulans* بودند [۲۴]

Table 2- Encapsulated with nano-composite treatments containing mucilage Queen seed, vitamin D3 and *Bacillus coagulans*

Treatment	The amount of <i>Bacillus coagulans</i> bacteria (%)	Vitamin D3 (%)	Quince seed mucilage (% w/v)	Polyvinyl alcohol (% w/v)	Rice bran protein concentrate (% w/v)
A	0.00	0.00	0.50	4.0	4.0
B	0.10	0.10	0.50	4.0	4.0
C	0.50	0.10	0.50	4.0	4.0
D	0.50	0.05	0.50	4.0	4.0
E	0.00	0.10	0.50	4.0	4.0
F	1.00	0.10	0.50	4.0	4.0

Microencapsulated nanocomposite treatments contained wheat germ mucilage, rice bran protein concentrate, polyvinyl alcohol, and varying amounts of vitamin D3 and *Bacillus coagulans* bacteria. Treatment A was considered a negative control without active agent, and treatments B to F contained varying amounts of vitamins and probiotics.

$$De (4 \times 3) = \sum N_i d_i^4 / \sum N_i d_i^3$$

N_i: تعداد ذرات، d_i: قطر میانگین ذرات، توزیع اندازه ذرات نیز با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$Span = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)}$$

D (90%): قطری که حجم ذرات کوچک تر از آن، ۹۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می دهد. D (50%): قطری که حجم ذرات کوچک تر از آن، ۵۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می دهد (قطر میانه).

۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت با تکان دادن در ۲۵۰ دور در دقیقه گرمخانه گذاری شد. سوسپانسیون باکتری ها سه بار با سانتریفیوژ (Hettich-320R Universal، آلمان) در ۳۰۰۰×g گرم به مدت ۲۰ دقیقه جداسازی، سپس با آب پیتونه استریل شسته و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد [۲۴]

۲-۶- ریزپوشینه دار کردن

به منظور تهیه محلول الکتروریسی حاوی موسیلاژ دانه به، کنسانتره پروتئینی سبوس برنج، پلی وینیل الکل، باکتری *Bacillus coagulans* و ویتامین D₃، ابتدا ترکیبات پایه شامل موسیلاژ، کنسانتره پروتئینی و پلی وینیل الکل بر اساس فرمولاسیون های تعیین شده (جدول ۲) مخلوط شدند.

۲-۷- تعیین اندازه ذرات

میانگین اندازه ذرات و شاخص اسپین الکتروریسی ریز- پوشانی شده از روی توزیع اندازه ذرات در دستگاه اندازه-گیری اندازه ذرات SALD SLS (2101, SHIMADZO، ژاپن) تعیین شد. اندازه گیری اندازه ذرات پس از گذشت ۲۴ ساعت پس از تولید و نگه-داری نمونه در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی گراد) انجام شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شد [۲۵]

میانگین قطر حجمی (میانگین قطر معادل) یا De:

D (10%): قطری که حجم ذرات کوچک تر از آن، ۱۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می دهد.

۸-۲- مورفولوژی نانوالیاف با استفاده از دستگاه

میکروسکوپ الکترونی

نمونه‌ها ابتدا به مدت ۳ دقیقه با استفاده از دستگاه پاشش یونی (مدل DSR1، شرکت پوشش نانو ساختاری، ایران) با پوشش طلا پوشیده شدند. سپس تصاویر آن‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل Tescan Vega3، ساخت جمهوری چک) تهیه شدند [۲۶].

۹-۲- آزمون طیف سنجی FTIR

برای انجام آزمون FTIR (مدل Spectrum Two، Perkin Elmer، ساخت آمریکا)، قرص‌های نازکی از نمونه‌ها با ضخامت کمتر از یک میلی‌متر تهیه شدند. این قرص‌ها از اختلاط نمونه با پتاسیم برمید به نسبت ۱:۲۰، آسیاب کردن، و خشک کردن با استفاده از خشک‌کن انجمادی (مدل Christ Alpha 1-4 LD Plus، ساخت آلمان) به دست آمدند. سپس، با اعمال فشار حدود ۶۰ کیلوپاسکال به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه تهیه قرص، قرص‌های نهایی تولید شدند. طیف عبور نمونه‌ها در محدوده عدد موجی ۴۰۰-۴۰۰۰ بر سانتی‌متر و با قدرت تفکیک ۵ بر سانتی‌متر مورد آنالیز قرار گرفت [۲۷].

۱۰-۲- تعیین راندمان ریزپوشانی ویتامین D₃ و Bacillus

coagulans در نانوالیاف کامپوزیتی

برای تعیین کارایی ریزپوشانی D₃، ۱ میلی‌لیتر از هر نمونه نانوالیاف انکپسوله‌شده تحت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا اجزای آزاد و محبوس‌شده از هم جدا شوند. سپس سوپرناتانت با فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتری صاف گردید تا ذرات درشت و الیاف باقی‌مانده حذف شوند. برای اندازه‌گیری میزان ویتامین آزاد، ۴۰ میکرولیتر از فاز صاف‌شده با متانول تا حجم ۲ میلی‌لیتر رقیق و جذب نوری آن در طول موج ۲۷۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu UV/Vis-240 IPC، ساخت ژاپن) قرائت شد [۲۸]. کارایی ریز پوشانی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$EE\% = (Total\ D_3 - Free\ D_3 / Total) \times 100$$

Total D₃: کل مقدار ویتامین D₃ افزوده‌شده به محلول پیش از الکترورسی

Free D₃: مقدار ویتامین آزاد در فاز سوپرناتانت پس از سانتریفیوژ

EEVitD₃: درصد کارایی ریزپوشانی ویتامین D₃ در نانوالیاف تولیدی

برای تعیین کارایی ریزپوشانی باکتری، نمونه‌ها پس از الکترورسی در محلول بافر فسفات (pH ۷/۴) حل و با روش رقتی کشت داده شدند. شمارش کلونی‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ سانتی گراد انجام شد و نتایج بر حسب (CFU/mL) بیان گردید [۲۴].

۱۱-۲- بررسی رهائش ترکیبات ریزپوشانی شده (ویتامین

D₃ و Bacillus coagulans) در مدل سیستم شبیه‌سازی شده معده

برای بررسی رفتار رهائش ترکیبات زیست‌فعال (ویتامین D₃) (نمونه‌ها به‌دقت از سطح جمع‌کننده آلومینیومی جدا شده و به قطعاتی با وزن تقریبی ۱۰ میلی‌گرم برش داده شدند. هر قطعه در ۲۵ میلی‌لیتر محیط شبیه‌سازی‌شده معده (SGF) قرار داده شد و محلول به‌طور مداوم با همزن مغناطیسی در سرعت ۱۰۰ دور بر دقیقه در دمای اتاق مخلوط گردید. محیط شبیه‌سازی‌شده معده با ترکیب اسید کلریدریک ۰/۲ مولار و پتاسیم کلرید ۰/۲ مولار تهیه شد تا pH نهایی برابر با ۱/۲ تنظیم گردد. در زمان‌های از پیش تعیین‌شده (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه)، مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول برداشت شد، سپس با فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر صاف گردید تا ذرات الیافی حذف شوند. جذب نوری محلول‌های صاف‌شده در طول موج ۲۸۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Schimadzu UV/Vis-240 IPC، ژاپن) اندازه‌گیری شد. مقدار ترکیب رهائشده بر اساس منحنی استاندارد ویتامین D₃ محاسبه [۲۸] و درصد رهائش نهایی با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید:

شده و سپس با روش رقتی روی محیط MRS آگار کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تعداد کلونی‌های زنده (CFU/mL) شمارش شد [۲۹].

۱۳-۲- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌های حاصل از آزمایش‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مستقل مورد بررسی قرار گرفتند. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) انجام شد و میانگین تیمارها با آزمون دانکن در سطح احتمال سطح ۵٪ مقایسه گردید. جهت نمایش روند تغییرات پارامترها و مقایسه نتایج، از نرم‌افزار Excel برای ترسیم منحنی‌ها و نمودارها استفاده شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید.

۳- بحث و نتایج

۳-۱- ارزیابی مهار رادیکال آزاد DPPH و فنل کل

فعالیت آنتی‌اکسیدانی موسیلاژ دانه به در آزمون DPPH نشان داد که با افزایش غلظت نمونه، درصد مهار رادیکال آزاد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p \leq 0.05$). این افزایش از ۲۲/۱ درصد در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ۷۹ درصد در غلظت ۳۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید که نشان‌دهنده رفتار دوز-وابسته موسیلاژ در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های گیاهی معمولاً با حضور ترکیبات فنولی و پلی‌ساکاریدی مرتبط است که با واگذاری الکترون یا اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، موجب پایداری آن‌ها می‌شوند. این پدیده به ساختار شیمیایی موسیلاژ نسبت داده می‌شود که حاوی گروه‌های هیدروکسیل فعال بوده و توانایی بالایی در انتقال هیدروژن دارد. روند افزایش مهار رادیکال در موسیلاژ دانه به، با نتایج گزارش شده برای پلی‌ساکاریدهای زیست‌فعال مانند صمغ کتیرا و موسیلاژ دانه کتان مشابه است، که در مطالعات قبلی نیز افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت مشاهده شده است [۳۰، ۳۲]. از سوی دیگر، محتوای کل ترکیبات فنولی در موسیلاژ دانه به، به میزان

درصد رهائش ترکیبات ریزپوشانی‌شده = (مقدار ترکیبات ریزپوشانی‌شده رها شده / مقدار کل ترکیبات ریزپوشانی‌شده) $\times 100$

برای بررسی رفتار رهائش باکتری *Bacillus coagulans* نانوالیاف ریزپوشانی‌شده به قطعاتی با وزن تقریبی ۱۰ میلی‌گرم برش داده شد و هر قطعه در ۲۵ میلی‌لیتر محیط شبیه‌سازی‌شده معده (SGF, pH ۱/۲) حاوی اسید کلریدریک ۰/۲ مولار و پتاسیم کلرید ۰/۲ مولار قرار گرفت. نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با همزن مغناطیسی (۱۰۰ دور در دقیقه) نگهداری شدند.

در زمان‌های مشخص (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه)، مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول برداشت شد و بلافاصله با بافر فسفات (pH ۷/۴) خنثی گردید تا از مرگ سلولی ناشی از محیط اسیدی جلوگیری شود. سپس محلول‌ها با روش رقتی کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلونی‌های زنده شمارش و بر حسب FU/mL گزارش شدند [۲۴].

۱۲-۲- میزان پایداری ترکیبات ریزپوشانی‌شده در نانو

الیاف طی انبارداری

پایداری ویتامین D₃ در نانوالیاف طی دوره ۲۰ روز انبارداری در دمای ۲۵ $\pm$ ۱ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۳ درصد بررسی شد. نمونه‌های نانوالیافی و نمونه‌های آزاد (فاقد الیاف) در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۰ آنالیز شدند. مقدار ویتامین باقیمانده در هر زمان با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۸۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

$$D_3\% = Tc/OC \times 100$$

C₀: غلظت اولیه ویتامین D₃ در روز صفر، C₁: غلظت

ویتامین در زمان t (روزهای ۷، ۱۴، ۲۰)

(%) Remaining Vitamin D₃: درصد ویتامین D₃

باقی‌مانده نسبت به مقدار اولیه

برای بررسی پایداری میکروب، نمونه‌های نانوالیافی و آزاد حاوی *Bacillus coagulans* طی ۲۰ روز در دمای ۲۵ $\pm$ ۱ سانتی‌گراد و رطوبت ۳۳ درصد نگهداری شدند. در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۰، نمونه‌ها در بافر فسفات (pH ۷/۴) حل

رادیكال‌های آزاد نقش داشته باشد و پایداری آن‌ها را کاهش دهد [۳۳، ۳۵]. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که موسیلاژ دانه به دارای توان آنتی‌اکسیدانی چشمگیری است و می‌تواند به‌عنوان یک منبع طبیعی و زیست‌پایه از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گیرد. حضور هم‌زمان پلی‌فنول‌ها و پلی‌ساکاریدهای زیست‌فعال در ساختار موسیلاژ، آن را به گزینه‌ای مناسب برای به‌کارگیری در تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی با خاصیت ضد اکسایشی تبدیل می‌کند. این ویژگی‌ها علاوه بر افزایش ماندگاری مواد غذایی، در بهبود ارزش تغذیه‌ای و عملکردی محصولات زیست‌پایه نیز مؤثر خواهد بود.

Table 3-Examination of DPPH radical inhibition evaluation of the mucilage of Queen seed

radical inhibition (%)	Concentration (µg/mL)
22.1 ± 2.0 ^a	50
34.8 ± 2.4 ^b	100
47.3 ± 2.7 ^c	150
58.6 ± 3.0 ^d	200
66.2 ± 2.6 ^e	250
73.1 ± 3.1 ^f	300
79.0 ± 3.3 ^g	350

The results are presented as mean ± standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level.

Table 4- Examination of the total phenol of the mucilage of Queen seed

Total phenolic content (mg GAE/g)	Sample
29.6 ± 1.5 ^a	mucilage of Queen seed
32.1 ± 1.4 ^a	BHT (Standard)

The results are presented as mean ± standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level.

موجود در موسیلاژ دانه به، به‌ویژه ترکیبات فنولی و پلی‌ساکاریدهای فعال، می‌توانند موجب مهار رشد باکتری‌ها از طریق تخریب غشاء سلولی یا تغییر نفوذپذیری دیواره باکتریایی شوند [۳۶، ۳۷]. در مقایسه بین دو نوع باکتری، فعالیت بازدارندگی موسیلاژ در برابر *S. aureus* بیشتر از *E. coli* بود. این تفاوت می‌تواند به ساختار متفاوت دیواره سلولی باکتری‌ها مربوط باشد. باکتری‌های گرم‌مثبت دارای لایه ضخیم پپتیدوگلیکان هستند که با ترکیبات فنولی و پلی‌ساکاریدهای باردار موسیلاژ تعامل بیشتری برقرار

۲۹/۶ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در هر گرم موسیلاژ خشک تعیین گردید که نشان‌دهنده‌ی غلظت بالای ترکیبات فنولی با خاصیت احیاکنندگی است. ترکیبات فنولی به‌عنوان مؤلفه‌های اصلی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شوند و حضور آن‌ها به دلیل ساختار آروماتیک و گروه‌های -OH قادر است رادیكال‌های آزاد را از طریق واکنش‌های اکسایش-کاهش خنثی نماید. همبستگی مثبت بین مقدار فنل کل و درصد مهار رادیكال‌های آزاد، مؤید آن است که ترکیبات فنولی مهم‌ترین عامل در خاصیت آنتی‌اکسیدانی موسیلاژ هستند. علاوه بر ترکیبات فنولی، ساختار سه‌بعدی پلی‌ساکاریدی موسیلاژ نیز می‌تواند در به دام انداختن

۳-۲- نتایج ضد میکروبی موسیلاژ دانه به
نتایج آزمون فعالیت ضد میکروبی نشان داد که موسیلاژ دانه به دارای اثرکلاته‌کننده قابل توجهی بر رشد باکتری‌های *Staphylococcus aureus* (گرم‌مثبت) و *Escherichia coli* (گرم‌منفی) است. قطر هاله عدم رشد برای *S. aureus* برابر با ۱۹/۵ میلی‌متر و برای *E. coli* حدود ۱۶/۸ میلی‌متر اندازه‌گیری شد که در مقایسه با کنترل مثبت (آنتی‌بیوتیک استاندارد) اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۵ درصد نشان داد ($p \leq 0.05$). این نتایج بیانگر آن است که ترکیبات

ناشی از وجود پلی ساکاریدهای اسیدی و گروه های آنیونی مانند کربوکسیل و هیدروکسیل باشد که با بار مثبت سطح سلول های باکتریایی واکنش داده و منجر به تخریب ساختار غشاء، نشت محتویات سلولی و در نهایت توقف رشد میکروبی می شوند. همچنین ساختار ژل مانند موسیلاژ ممکن است با ایجاد لایه ای فیزیکی روی سطح باکتری، مانع انتقال مواد مغذی به داخل سلول شود [۴۲، ۴۳]. در مجموع، نتایج نشان داد که موسیلاژ دانه به از پتانسیل بالایی برای استفاده به عنوان ترکیب ضد میکروبی طبیعی در سامانه های بسته بندی زیست پایه، فیلم های خوراکی و محصولات نگهدارنده مواد غذایی برخوردار است. این ویژگی، علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی، کارایی دوگانه ای را در حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری مواد غذایی فراهم می آورد.

Table 5 - Examination of the average diameter of the halo of non-growth (disc diffusion) of mucilage Queen seed on Gram-positive and Gram-negative bacteria

Bacteria	Diameter of the growth inhibition zone (mm)	Positive control (Antibiotic)	Negative control (no sample)
<i>Escherichia coli</i> (Gram-positive)	16.8 ± 0.8 ^b	22.5 ± 0.9 ^a	0.0 ± 0.0 ^c
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram-negative)	19.5 ± 0.8 ^b	25.3 ± 1.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^c

The results are presented as mean ± standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level.

اعمالی، فاصله سوزن تا جمع کننده و نرخ تزریق محلول تأثیر بسزایی بر مورفولوژی، یکنواختی و قطر نانوالیاف دارند. افزایش ولتاژ از ۱۲ به ۱۸ کیلوولت موجب افزایش نیروی الکتروستاتیکی نسبت به کشش سطحی و در نتیجه کاهش قطر و افزایش یکنواختی الیاف گردید [۴۴]. با این حال، اعمال ولتاژ بالاتر (۲۰ کیلوولت) باعث ناپایداری جریان جت و تشکیل گره های موضعی شد که ناشی از نوسانات میدان الکتریکی و تخلیه ناگهانی بار بود. از سوی دیگر، تنظیم فاصله سوزن تا جمع کننده در ۱۲ سانتی متر شرایطی متعادل فراهم ساخت؛ به گونه ای که محلول فرصت کافی برای تبخیر حلال و تشکیل الیاف منسجم داشت. همچنین، نرخ تزریق ۰/۵ میلی لیتر بر ساعت موجب پایداری جریان و کاهش احتمال تشکیل قطرات ناهمگون در نوک سوزن شد. در مجموع، شرایط بهینه شامل ولتاژ ۱۸ کیلوولت، فاصله ۱۲ سانتی متر و نرخ تزریق ۰/۵ میلی لیتر بر ساعت، به همراه

می کند و سبب نفوذپذیری غشاء و مرگ سلولی می شود، در حلالی که باکتری های گرم منفی به دلیل وجود لایه لیپوپلی ساکاریدی در غشاء بیرونی، مقاومت بیشتری نسبت به نفوذ ترکیبات طبیعی نشان می دهند [۳۶]. نتایج این مطالعه با یافته های پژوهش های پیشین، از جمله مطالعات میشر و همکاران (۲۰۲۳) که تأثیر موسیلاژ تمر هندی و شنبلیله و پیرسا و همکاران (۲۰۲۳) تأثیر موسیلاژ دانه شاهی، تأثیر متابولیت های ثانویه گیاهی بر مهار رشد باکتری ها را نشان داده اند، هم خوانی دارد [۳۸، ۳۹]. نتایج مشابهی نیز گزارش شده است که در آن عصاره های پلی فنولی گیاهان مختلف در برابر باکتری های گرم مثبت کارایی بالاتری داشته اند [۴۰، ۴۱]. فعالیت ضد میکروبی موسیلاژ دانه به علاوه بر حضور ترکیبات فنولی، می تواند

۳-۳- بهینه سازی پارامترهای ترکیب و انتخاب ساختار مناسب برای ریزپوشانی ویتامین D₃ و باسیلوس کوآگولانس

در مرحله نخست، به منظور تعیین شرایط بهینه فرآیند الکترورسی، غلظت های مختلف موسیلاژ دانه به همراه نسبت های ثابت پلی وینیل الکل (۴ درصد) و کنسانتره پروتئین سبوس برنج (۴ درصد) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تصاویر میکروسکوپی نشان داد که نمونه های حاوی غلظت متوسط موسیلاژ، دارای یکنواخت ترین توزیع الیاف، کمترین قطر میانگین و حداقل گره های ساختاری بودند. بنابراین، این فرمولاسیون به عنوان ترکیب بهینه انتخاب گردید و در مراحل بعدی برای ریزپوشانی ویتامین D₃ و باکتری *Bacillus coagulans* مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). همچنین بررسی شرایط مختلف فرآیند الکترورسی نشان داد که پارامترهای کلیدی شامل ولتاژ

پارامترهای فرآیندی، نقش تعیین کننده ای در دستیابی به ساختارهای نانوالیافی پایدار با قابلیت بارگذاری مؤثر ترکیبات زیست فعال دارد.

فرمولاسیون متشکل از ۴ درصد پلی وینیل الکل، ۴ درصد کنسانتره پروتئین سبوس برنج و غلظت متوسط موسیلاژ دانه به، منجر به تولید نانوالیاف یکنواخت، بدون گره و با قطر میانگین حدود 18 ± 310 نانومتر گردید. این یافته ها همسو با گزارش های پیشین [۴۵-۴۷]. تأکید می کنند که کنترل دقیق

Table 6 - Compositions and optimal conditions for nanocomposite electrospinning

Treatment	Voltage treatment (KV)	Needle-to-collector distance (cm)	Injection rate (mL/h)	Drum speed (rpm)	Average fiber diameter (nm)	Fiber uniformity	Presence of knots (Beads)	Final evaluation
A	12	9	0.125	300	540 ± 32	Low	High	Inappropriate
B	14	10	0.25	400	470 ± 28	Moderate	Moderate	Acceptable
C	16	12	0.25	500	390 ± 25	High	Low	Suitable
D	18	12	0.5	500	310 ± 18	Very high	Very low	Best conditions

The results are presented as mean $\pm$ standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level.

گردید که نشان دهنده توزیع یکنواخت تر ذرات است. در مقابل، حضور باکتری در دوزهای بالاتر موجب افزایش Span و در نتیجه ناهمگنی بیشتر توزیع اندازه ذرات شد. این پدیده را می توان به تغییر در خواص فیزیکی شیمیایی محلول الکترورسی، مانند ویسکوزیته و کشش سطحی، در اثر حضور ترکیبات زیستی نسبت داد که بر پایداری جت و سرعت خشک شدن حلال اثرگذار هستند [۴۹، ۵۰]. به طور کلی، نتایج نشان دادند که بارگذاری همزمان ویتامین D₃ و باکتری پروبیوتیک اگرچه به افزایش اندازه و ناهمگنی ذرات منجر می شود، اما می تواند مزایای عملکردی بیشتری در رهایش ترکیبات زیست فعال فراهم آورد. این یافته ها با مطالعات مشابه در حوزه الکترورسی داروها و پروبیوتیک ها همسو است که گزارش کرده اند افزایش بارگذاری مواد فعال عموماً باعث افزایش اندازه ذرات و کاهش یکنواختی توزیع می شود [۵۱، ۵۲]. این یافته ها با مطالعات پیشین در زمینه ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال هم خوانی دارد و بر اهمیت انتخاب نسبت بهینه اجزای فرمولاسیون برای دستیابی به ذرات پایدار و یکنواخت تأکید می کند [۵۳].

۴-۳- نتایج میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکنش

ذرات ریزپوشانی نانو کامپوزیت

مطابق نتایج ارائه شده در جدول ۷، میانگین اندازه ذرات نانوکامپوزیت های ریزپوشانی شده تحت تأثیر حضور ویتامین D₃ و باکتری *Bacillus coagulans* قرار گرفت و به طور معناداری افزایش یافت. کوچک ترین اندازه ذره در نمونه کنترل (A) مشاهده شد، در حالی که با افزودن ویتامین (B) D₃ و به ویژه باکتری در غلظت های بالاتر (C، D و F)، قطر ذرات افزایش تدریجی نشان داد. این روند را می توان ناشی از اثرات تجمعی افزودنی های زیستی دانست؛ به این صورت که ذرات ویتامین و باکتری در طی فرآیند الکترورسی به عنوان مراکز هسته زایی عمل کرده و با جذب بیشتر ماتریس پلیمری سبب افزایش قطر ذرات شدند [۴۸]. علاوه بر این، شاخص پراکندگی (Span) نیز با افزایش سطح بارگذاری مواد فعال تغییر یافت و از یکنواختی ذرات کاسته شد. پایین ترین مقدار Span در نمونه کنترل و تیمار حاوی تنها ویتامین (B) D₃ مشاهده

Table 7- Average particle size and dispersion index (Span) of microencapsulated nanocomposites containing mucilage from soybeans, vitamin D₃, and *Bacillus coagulans*

Treatment	Particle size (nm)	Span
A	285.4 ± 6.2^c	1.21 ± 0.03^c

Treatment	Particle size (nm)	Span
B	302.7 ± 8.5 ^b	1.18 ± 0.04 ^c
C	315.9 ± 9.1 ^b	1.26 ± 0.05 ^b
D	341.6 ± 7.4 ^a	1.34 ± 0.04 ^a
E	329.2 ± 6.7 ^{ab}	1.29 ± 0.03 ^{ab}
F	358.3 ± 10.2 ^a	1.38 ± 0.06 ^a

The results are presented as mean ± standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level.

Treatment A (control): Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate without the addition of vitamin D₃ and *Bacillus coagulans*. Treatment B: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.1% *Bacillus coagulans*.

Treatment C: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.5% *Bacillus coagulans* bacteria.

Treatment D: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 1% *Bacillus coagulans* bacteria.

Treatment E: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃, no bacteria. Treatment F: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 2% *Bacillus coagulans* bacteria (high dose of bacteria).

که از باکتری‌ها در برابر تنش‌های برشی و خشک‌سازی در حین الکتروریسی محافظت می‌کند [۵۷]. حضور موسیلاژ دانه به به‌عنوان یک ترکیب هیدروکلوئیدی طبیعی، با ایجاد فیلم ژلی و به دام انداختن سلول‌های باکتریایی، نقش مهمی در پایداری و بقای آنها ایفا کرده است [۵۸]. نتایج این پژوهش با یافته‌های مشابه گزارش شده گذشته همخوانی دارد که نشان داده‌اند استفاده از ماتریس‌های پلیمری زیستی مانند پلی‌وینیل‌الکل و موسیلاژهای گیاهی، در بهبود راندمان ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال و افزایش پایداری میکروارگانسم‌ها در شرایط فرآیندی مؤثر است. به‌ویژه ترکیب پلیمرهای زیستی با منابع پروتئینی گیاهی نظیر پروتئین سبوس برنج، موجب بهبود چسبندگی مولکولی و کاهش نشت ترکیبات فعال می‌شود [۱۳، ۵۹]. در پژوهشی که توسط راگاو و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد، کپسوله‌سازی مخمر *Saccharomycopsis fibuligera* VIT-MN04 با استفاده از تکنیک الکتروریسی برای تسهیل عبور از دستگاه گوارش مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، از فیبر سبوس گندم، اگزوپلی‌ساکارید و ۵٪ پلی‌وینیل‌پیرولیدون به‌عنوان مواد الکتروریسی استفاده شد. نتایج نشان داد که راندمان کپسوله‌سازی به حداکثر مقدار ۱۰۰٪ و تحمل در برابر شرایط

۳-۵- نتایج کارایی ریزپوشانی ویتامین D₃ و *Bacillus coagulans* در نانوالیاف کامپوزیتی

نتایج حاصل از بررسی کارایی ریزپوشانی نشان داد که فرمولاسیون‌های مختلف بر میزان محبوس‌سازی ویتامین D₃ و *Bacillus coagulans* در نانوالیاف کامپوزیتی تأثیر معنی‌داری داشتند ($p \leq 0.05$). به‌طور کلی، افزایش محتوای باکتری و حضور هم‌زمان ویتامین D₃ منجر به بهبود کارایی ریزپوشانی شد. بیشترین بازده ریزپوشانی ویتامین D₃ مربوط به تیمار D ($84/37 \pm 2/25$) بود که ترکیبی از موسیلاژ دانه به، پلی‌وینیل‌الکل، کنسانتره پروتئین سبوس برنج و مقادیر متوسطی از باکتری را شامل می‌شد. این افزایش را می‌توان به برهم‌کنش‌های هیدروژنی و الکترواستاتیکی میان گروه‌های هیدروکسیل موسیلاژ و گروه‌های قطبی ویتامین D₃ نسبت داد که موجب پایداری بیشتر در حین فرآیند الکتروریسی و کاهش خروج ویتامین از ماتریس پلیمری می‌شود [۵۴-۵۶]. از سوی دیگر، کارایی ریزپوشانی *Bacillus coagulans* نیز در تیمارهای حاوی باکتری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌ویژه در تیمار F که بالاترین غلظت باکتری را داشت. افزایش بازده در این تیمار احتمالاً به تشکیل شبکه‌ی نانوالیافی متراکم‌تر و محیط میکروویسکوز بالا مرتبط است

کارآمد برای هم‌زمانی ریزپوشانی ویتامین D₃ و *Bacillus coagulans* فراهم می‌کند. این امر نه تنها موجب افزایش بازده محبوس‌سازی می‌شود، بلکه پتانسیل بالایی در کاربردهای غذایی و دارویی با رهایش کنترل‌شده ترکیبات زیست‌فعال دارد.

دستگاه گوارش به ۹۷٪ رسید [۶۰]. به‌طور کلی، می‌توان استنباط کرد که ساختار نانوالیاف کامپوزیتی حاصل از الکترورسی با ترکیب بهینه‌ای از موسیلاژ دانه به، پلی‌وینیل‌الکل و پروتئین سبوس برنج، بستری پایدار و

Table 8- Encapsulation efficiency results of containing mucilage Queen seed, vitamin D₃ and *Bacillus coagulans*

Treatment	Vitamin D ₃ microencapsulation efficiency (EE%)	Bacterial microencapsulation efficiency (Log CFU/mL)
A	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^d
B	78.54 ± 2.14 ^b	0.00 ± 0.00 ^d
C	81.62 ± 1.98 ^{ab}	6.82 ± 0.15 ^c
D	84.37 ± 2.25 ^a	7.35 ± 0.21 ^b
E	0.00 ± 0.00 ^c	7.28 ± 0.18 ^b
F	79.43 ± 2.41 ^b	7.89 ± 0.22 ^a

The results are presented as mean ± standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level.

Treatment A (control): Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate without the addition of vitamin D₃ and *Bacillus coagulans*. Treatment B: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.1% *Bacillus coagulans*.

Treatment C: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.5% *Bacillus coagulans* bacteria.

Treatment D: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 1% *Bacillus coagulans* bacteria.

Treatment E: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃, no bacteria. Treatment F: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 2% *Bacillus coagulans* bacteria (high dose of bacteria).

برنج، محیطی نیمه‌نفوذپذیر و متخلخل ایجاد کرده که انتقال تدریجی ترکیبات زیست‌فعال به محیط شبیه‌سازی شده معده را امکان‌پذیر می‌سازد [۶۱، ۶۲]. در بین نمونه‌ها، تیمارهای D و F به ترتیب با رهایش ۸۶.۰ و ۹۴.۶ درصدی بالاترین میزان آزادسازی ویتامین D₃ و *Bacillus coagulans* را در پایان ۱۸۰ دقیقه نشان دادند. افزایش میزان باکتری در ساختار نانوالیاف منجر به ایجاد منافذ ریزتر در ماتریس و افزایش نفوذپذیری گردید، به‌طوری که نرخ آزادسازی ترکیبات به‌صورت محسوسی افزایش یافت. با این حال، در غلظت‌های بالاتر، به‌دلیل ناپایداری ساختار نانوالیاف و تجزیه سریع‌تر ماتریس پلیمری، پدیده رهایش اولیه ناگهانی مشاهده شد، که در مطالعات مشابه نیز گزارش گردیده است [۵۷، ۶۳]. الگوی کلی رهایش در دو فاز مشخص مشاهده

۳-۶- نتایج رهایش در معده نانو کامپوزیت ریزپوشانی -

شده

نتایج بررسی رهایش ویتامین D₃ و باکتری *Bacillus coagulans* از نانوالیاف کامپوزیتی حاوی موسیلاژ دانه به نشان داد که رفتار رهایش ترکیبات زیست‌فعال به‌طور معناداری به نوع فرمولاسیون و میزان پروبیوتیک افزوده‌شده بستگی دارد (p ≤ ۰/۰۵). در تیمار کنترل، که فاقد ترکیبات زیست‌فعال بود، هیچ‌گونه رهایشی مشاهده نشد، در حالی که در تیمارهای حاوی ویتامین D₃ و باکتری، الگوی رهایش به‌صورت تدریجی و کنترل‌شده رخ داد. این پدیده نشان‌دهنده آن است که ماتریس نانوالیافی تشکیل‌شده از موسیلاژ دانه به، پلی‌وینیل‌الکل و کنسانتره پروتئینی سبوس

کنند، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۶۴]. همچنین استفاده از ماتریس‌های پلیمری زیست‌سازگار در سامانه‌های الکترورسی موجب کاهش تخریب ترکیبات حساس در محیط اسیدی و افزایش بقاء پروبیوتیک‌ها در حین عبور از معده می‌شود [۶۵، ۶۶]. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که نانوالیاف الکترورسی شده بر پایه موسیلاژ دانه به و کنسانتره پروتئینی سبوس برنج به‌عنوان یک سامانه کارآمد برای ریزپوشانی و رهایش کنترل‌شده ویتامین D₃ و باکتری *Bacillus coagulans* عمل کرده و قادر است پایداری ترکیبات زیست‌فعال را در محیط اسیدی معده به‌طور قابل‌توجهی افزایش دهد. این ویژگی‌ها، پتانسیل استفاده از این نانوساختارها را در تولید مواد غذایی عملکردی و سیستم‌های دارورسانی خوراکی با کارایی بالا و پایداری مطلوب تقویت می‌کند [۶۷، ۶۸].

شد؛ فاز نخست (۰ تا ۶۰ دقیقه) مربوط به آزادسازی سریع ترکیبات سطحی و فاز دوم (۶۰ تا ۱۸۰ دقیقه) نشان‌دهنده‌ی رهایش تدریجی ترکیبات محبوس در لایه‌های داخلی الیاف بود. این رفتار به‌خوبی با مدل‌های سینتیکی مرتبه اول و مدل Higuchi همخوانی دارد و بیانگر مکانیزم نفوذی کنترل‌شده در فرآیند رهایش است. حضور موسیلاژ دانه به در ساختار نانوالیاف، به‌واسطه‌ی ویژگی‌های هیدروفیلی و توانایی تشکیل شبکه‌های ژلی، موجب کاهش نفوذ سریع محیط اسیدی و در نتیجه افزایش پایداری ویتامین D₃ و بقای باکتری *Bacillus coagulans* در شرایط شبیه‌سازی شده معده گردید. در پژوهشی یزدان پناه و قربانی نژاد (۲۰۲۵) مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که سیستم‌های نانوکامپوزیت ریزپوشانی شده می‌توانند رهایش کنترل‌شده و تدریجی ویتامین‌ها را در شرایط شبیه‌سازی شده معده فراهم

Table 9- Examination of the release of vitamin D3 in the stomach and intestines of a microcoated nanocomposite containing mucilage Queen seed, vitamin D3 and *Bacillus coagulans*

Time (min)	A	B	C	D	E	F
0	0.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 1.2 ^a	0.0 ± 1.2 ^a	0.0 ± 1.1 ^a	0.0 ± 1.3 ^a	0.0 ± 1.2 ^a
30	0.0 ± 0.0 ^d	31.2 ± 1.0 ^c	37.6 ± 1.2 ^{bc}	43.5 ± 1.3 ^b	35.2 ± 1.1 ^{bc}	47.4 ± 0.8 ^a
60	0.0 ± 0.0 ^e	51.0 ± 1.3 ^d	59.4 ± 0.7 ^c	66.6 ± 1.0 ^b	56.3 ± 1.2 ^{cd}	71.1 ± 1.0 ^a
90	0.0 ± 0.0 ^e	63.7 ± 1.2 ^d	72.2 ± 1.0 ^c	79.0 ± 0.8 ^b	68.9 ± 0.9 ^c	83.0 ± 0.6 ^a
120	0.0 ± 0.0 ^e	71.8 ± 0.7 ^d	79.6 ± 0.9 ^c	85.5 ± 1.0 ^b	76.6 ± 1.4 ^c	89.0 ± 0.7 ^a
180	0.0 ± 0.0 ^e	79.9 ± 0.9 ^d	87.2 ± 1.2 ^c	92.0 ± 1.0 ^b	83.4 ± 0.8 ^{cd}	94.6 ± 0.9 ^a

The results are presented as mean ± standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level. Treatment A (control): Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate without the addition of vitamin D₃ and *Bacillus coagulans*. Treatment B: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.1% *Bacillus coagulans*. Treatment C: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.5% *Bacillus coagulans* bacteria. Treatment D: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 1% *Bacillus coagulans* bacteria. Treatment E: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃, no bacteria. Treatment F: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 2% *Bacillus coagulans* bacteria (high dose of bacteria).

Table 10-Release of *Bacillus coagulans* in the stomach

Time (min)	A	B	C	D	E	F
0	0.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 1.2 ^a	0.0 ± 0.7 ^a	0.0 ± 1.2 ^a	0.0 ± 1.1 ^a	0.0 ± 1.2 ^a
30	0.0 ± 0.0 ^e	28.2 ± 1.4 ^d	32.5 ± 1.0 ^{cd}	38.8 ± 0.8 ^b	34.8 ± 0.7 ^c	42.9 ± 1.2 ^a
60	0.0 ± 0.0 ^e	45.7 ± 0.9 ^d	51.5 ± 0.8 ^c	59.5 ± 1.3 ^b	54.4 ± 0.8 ^c	64.4 ± 1.0 ^a

Time (min)	A	B	C	D	E	F
90	0.0 ± 0.0 ^e	56.5 ± 0.9 ^d	62.6 ± 1.1 ^c	70.5 ± 1.2 ^b	65.5 ± 0.6 ^c	75.1 ± 1.1 ^a
120	0.0 ± 0.0 ^e	63.2 ± 1.0 ^d	69.0 ± 0.9 ^c	76.3 ± 0.9 ^b	71.8 ± 1.2 ^c	80.6 ± 0.7 ^a
180	0.0 ± 0.0 ^e	71.4 ± 1.1 ^d	77.3 ± 1.2 ^c	83.0 ± 1.0 ^b	79.2 ± 1.1 ^c	86.0 ± 0.9 ^a

The results are presented as mean ± standard deviation for each treatment, and all experiments were performed in triplicate. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level. Treatment A (control): Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate without the addition of vitamin D₃ and *Bacillus coagulans*. Treatment B: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.1% *Bacillus coagulans*. Treatment C: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 0.5% *Bacillus coagulans* bacteria. Treatment D: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from soybeans, 4% polyvinyl alcohol, and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 1% *Bacillus coagulans* bacteria. Treatment E: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃, no bacteria. Treatment F: Microencapsulated nanocomposite containing 0.5% mucilage from grain, 4% polyvinyl alcohol and 4% rice bran protein concentrate with 0.01% vitamin D₃ and 2% *Bacillus coagulans* bacteria (high dose of bacteria).

۷-۳- بررسی نتایج انبارمانی ویتامین D₃ در نانوکامپوزیت‌های ریزپوشانی شده

نتایج شکل ۱ نشان داد ریزپوشانی در ماتریس الکترورسی شده‌ی متشکل از موسیلاژ دانه‌ی به، پلی وینیل الکل و کنسانتره پروتئین سبوس برنج به‌طور معناداری از ویتامین D₃ و سلول‌های *Bacillus coagulans* در طی انبارداری (۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۳۳ درصد) محافظت می‌کند. در تیمار کنترل (A) که فاقد جزء فعال/سامانه حفاظتی است، افت تند ویتامین و کاهش لگاریتمی جمعیت باکتریایی مشاهده شد؛ در مقابل، تیمارهای ریزپوشانی شده (B-F) افت را کند کرده و الگوی کاهش تدریجی با شیب کمتر ایجاد کردند. این رفتار با شکل‌گیری یک ریزمحیط شیشه‌ای-کم‌حرک درون الیاف و شبکه‌ی هیدروژنی بین زنجیره‌های پلی وینیل الکل-پروتئین-پلی ساکارید قابل تبیین است؛ شبکه‌ای که نفوذ اکسیژن و بخار آب را محدود کرده، انتشار گونه‌های واکنش‌گر و دسترسی آنها به ویتامین را کاهش می‌دهد. در ۷ روز نخست عمدتاً سهم جزء سطحی/کم‌عمق ماتریس دیده شد و از روز ۷ تا ۲۰، شیب افت به‌طور محسوسی کاهش یافت که بیانگر کنترل نفوذی و انتقال درون‌ماتریس است (رفتاری هم‌راستا با مدل‌های کینتیکی مرتبه اول و گاه ویبول

برای میکروبی، و مدل‌های نفوذی از نوع هیگوشی برای جزء مولکولی) [۶۹]. مقایسه‌ی تیمارها نشان داد حضور ویتامین به‌تنهایی (B) نسبت به کنترل، پایداری بیشتری ایجاد می‌کند اما هم‌پوشانی با باکتری (C-F) مزیت افزوده‌ای دارد: در دوزهای بالاتر باکتری (به‌ویژه F) بقای میکروبی بیشینه و پایداری ویتامین همچنان مطلوب است؛ ظاهراً تجمع سلولی و برهم‌کنش‌های سطحی پروتئین-پلی ساکارید، تراکم موضعی شبکه و مسیرهای نفوذ طولانی‌تر برای اکسیژن را ایجاد می‌کند [۷۰، ۷۱]. البته افزایش بیش از حد بار باکتریایی می‌تواند به ایجاد ریزتخلخل و کمی شتاب در افت ویتامین بینجامد؛ داده‌های ما نیز نشان می‌دهد گرچه F بهترین بقا را برای *Bacillus* فراهم می‌کند، تیمار D در پایان روز ۲۰ مصالحه بهتری بین پایداری ویتامین و بقای باکتری ارائه می‌دهد (پایداری بالاتر از B/C/E و بقای نزدیک F) بنابراین، از منظر کاربردی، D برای حفظ ارزش تغذیه‌ای و کارکرد پروبیوتیکی در بازه انبارداری توصیه‌پذیرتر است، درحالی‌که F برای فرمولاسیون‌هایی که بقای حداکثری پروبیوتیک اولویت دارد برتری دارد. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که استفاده از سیستم‌های ریزپوشانی می‌تواند با تأثیر بر سرعت رهایش و پایداری ویتامین‌ها، الگوی آزادسازی کنترل‌شده مشابهی را ارائه دهد، که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد [۷۱، ۷۲].

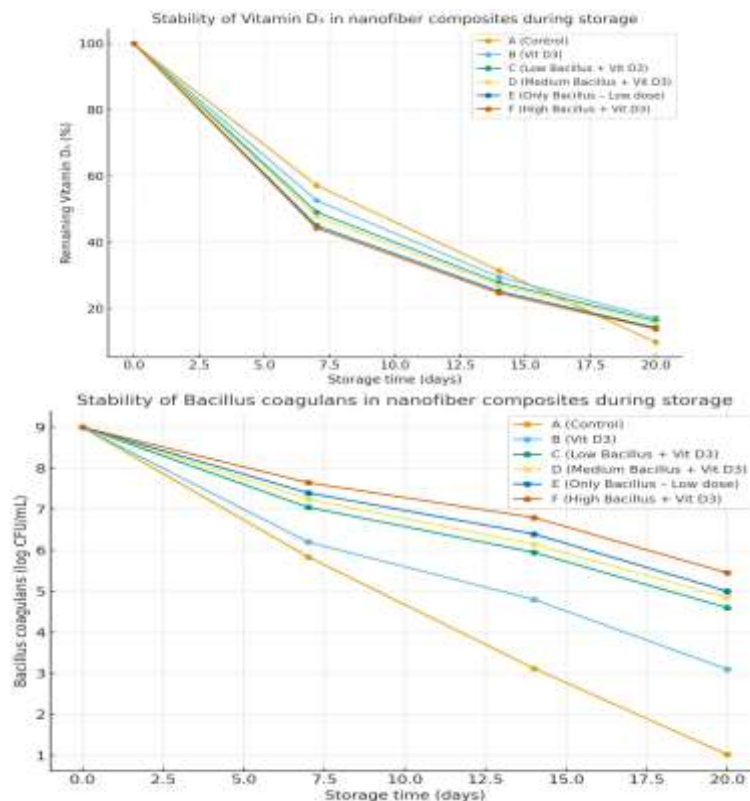


Figure 1- Storage results of vitamin D₃ of nanocomposite containing mucilage Queen seed, vitamin D₃ and *Bacillus coagulans*

(۲۰۲۰) در زمینه نانپوشانی ویتامین‌های محلول در چربی مطابقت دارد. با افزایش میزان باکتری پروبیوتیک (نمونه‌های D و F)، قطر متوسط الیاف افزایش یافته (حدود ۳۵۰ تا ۳۷۰ نانومتر) و تجمعات موضعی و برآمدگی‌هایی بر سطح الیاف ظاهر شد. این تغییرات به حضور سلول‌های *Bacillus coagulans* در درون شبکه‌ی پلیمری نسبت داده می‌شود که منجر به تغییر در پایداری جریان جت الکتروریسی و ایجاد ناهمگنی در الیاف شده است [۷۶، ۷۷]. مشاهدات مشابهی نیز گزارش شده که حضور میکروارگانیسم‌ها در ساختار نانوالیاف سبب ایجاد زبری سطحی و تجمعات میکروسکوپی می‌شود [۵۳، ۵۶]. در نمونه E (حاوی تنها باکتری پروبیوتیک بدون ویتامین D₃)، بیشترین ناهمگنی مشاهده شد، به گونه‌ای که الیاف دارای قطرهای متفاوت و ساختار نسبتاً نامنظم بودند. این وضعیت بیانگر اثر مستقیم غلظت بالای میکروب بر پایداری جت و تشکیل گره در فرآیند الکتروریسی است. در مجموع، نتایج تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد که افزودن ویتامین D₃ و *Bacillus coagulans* بر ویژگی‌های مورفولوژیکی نانوالیاف تأثیر معنی‌داری دارد،

۸-۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روشی نانوالیاف الکتروریسی‌شده (شکل ۲) تفاوت‌های آشکاری را در ساختار سطحی نمونه‌های مختلف (A تا F) نشان داد. نمونه کنترل (A) که شامل ماتریس پلیمری پایه (پلی‌وینیل الکل + کنسانتره پروتئین سبوس برنج + موسیلاژ دانه به) بود، دارای الیاف یکنواخت، صاف، بدون گره و با قطر میانگین کمتر از ۳۰۰ نانومتر بود که نشان‌دهنده‌ی شرایط بهینه فرآیند الکتروریسی است. در نمونه‌های حاوی ویتامین D₃ (B) و نمونه‌های دارای غلظت پایین پروبیوتیک (C)، سطح الیاف عمدتاً صاف و پیوسته باقی ماند، هرچند زبری‌های جزئی و برآمدگی‌های موضعی مشاهده شد [۷۳، ۷۴]. این ناصافی‌ها ناشی از حضور ترکیبات زیست‌فعال درون ماتریس الیاف است. وجود ویتامین D₃ هرچند در تصاویر به صورت مستقیم قابل مشاهده نیست، اما تغییرات در چگالی و بافت سطحی الیاف تأییدکننده‌ی نفوذ ویتامین درون ساختار پلیمری است [۷۵] یافته‌ای که با نتایج ژانگ و همکاران

شوند. نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که نانوالیاف تولیدشده با نسبت ۵۰/۵۰ *Plantago major* و پلی وینیل الکل دارای قطر متوسط ۲۵۰ نانومتر هستند. این اندازه قطر نشان دهنده تأثیر بهینه سازی پارامترها و ترکیب محلول پلیمری بر تولید نانوالیاف یکنواخت و با قطر کنترل شده است [۷۹] نتایج به دست آمده در این تحقیق، هم راستا با مطالعات پیشین نشان داد که افزایش ویسکوزیته و هدایت الکتریکی محلول تا حدودی می تواند به تولید نانوالیاف با قطر یکنواخت در محدوده نانومتری کمک کند، درحالی که تغییر نامطلوب پارامترها ممکن است منجر به افزایش قطر یا نقص در ساختار نانوالیاف شود.

به طوری که موجب افزایش قطر، زبری سطح و تشکیل تجمعات موضعی شد. با این حال، ترکیب بهینه (نمونه D) که حاوی مقادیر متوسطی از هر دو ترکیب زیست فعال بود، الیافی همگن و پایدار با توزیع یکنواخت را ایجاد کرد که برای ریزپوشانی دوگانه ترکیبات زیستی مناسب ترین ساختار را فراهم نمود [۷۸]. مطالعات انجام شده توسط گلکار و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تولید و مشخصه یابی نانوالیاف الکترورسی شده از موسیلاژ دانه *Plantago major* و پلی وینیل الکل پرداختند. در این پژوهش، موسیلاژ به عنوان یک پلیمر طبیعی و پلی وینیل الکل به عنوان عامل افزایش دهنده غیرسمی ترکیب شدند تا نانوالیاف الکترورسی شده تولید

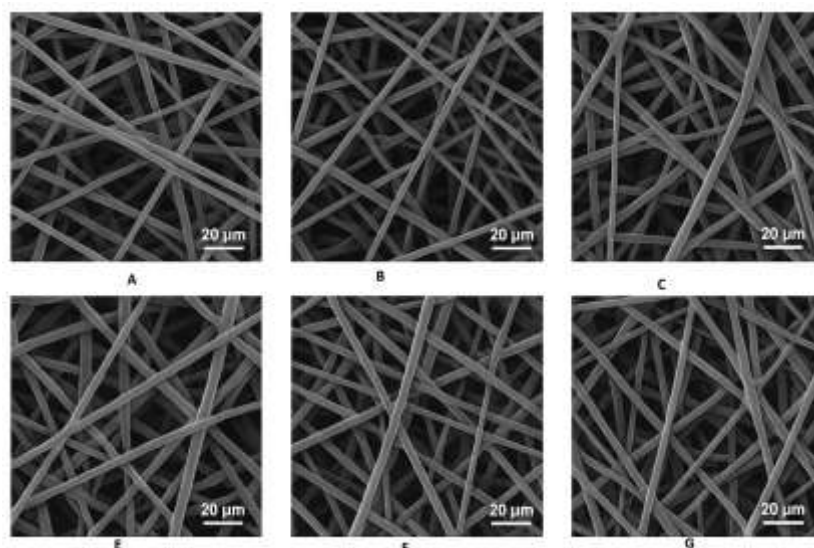


Figure 2- Morphology of nanofibers produced after microencapsulation containing mucilage to seeds, vitamin D3, and *Bacillus coagulans*

حاوی ویتامین و باکتری تقویت شدند که به افزایش سهم زنجیره های لیپوفیلی ناشی از این ترکیبات نسبت داده می شود [۸۰]. در محدوده ۱۶۵۰-۱۵۴۰ بر سانتی متر نیز باندهای آمید I و II مربوط به پروتئین سبوس برنج قابل مشاهده بود که تغییرات ظریف شدت و موقعیت آن ها نشان دهنده ی بازآرایی پیوندهای هیدروژنی و الکترواستاتیکی در ماتریس الیاف است. باند قوی ۱۰۵۰ بر سانتی متر که مربوط به ارتعاشات C-O/C-O-C موسیلاژ است در تیمارهای حاوی باکتری (F تا C) تقویت و پهن تر شد که این پدیده ناشی از حضور پلی ساکاریدها و قندهای دیواره ی سلولی باکتری است. مهم تر از همه، عدم ظهور باندهای جدید واکنشی نشان

۳-۹-۳ نتایج FTIR

طیف های FTIR مربوط به تیمارهای مختلف (A تا F) (شکل ۳) نشان دادند که الگوی جذبی مشخصی برای باندهای اصلی وجود دارد. باند پهن در محدوده ۳۶۰۰-۳۲۰۰ cm^{-1} مربوط به ارتعاش های کششی O-H/N-H است که در تیمارهای B تا F نسبت به کنترل (A) اندکی کاهش شدت و جابه جایی به سمت اعداد موج پایین تر داشت. این تغییر ناشی از افزایش پیوندهای هیدروژنی بین گروه های هیدروکسیل موسیلاژ و پلیمر با ویتامین D3 و اجزای سلولی *Bacillus coagulans* است. باندهای کششی C-H در محدوده ۲۹۲۰ و ۲۸۵۰ بر سانتی متر در تیمارهای

می‌تواند با رهایش سریع‌تر ترکیبات همبستگی داشته باشد. بنابراین FTIR نه‌تنها صحت موفقیت‌آمیز بودن بارگذاری دوگانه ویتامین D₃ و *Bacillus coagulans* را تأیید می‌کند، بلکه نشان می‌دهد انتخاب سطح مناسب ترکیبات (مشابه تیمار D) می‌تواند منجر به بهینه‌ترین ترکیب از نظر پایداری شیمیایی، رهایش کنترل‌شده و حفظ فعالیت زیستی شود [۷۲، ۸۲].

می‌دهد که فرآیند ریزپوشانی عمدتاً بر اساس برهم‌کنش‌های فیزیکی پایدار (پیوند هیدروژنی و نیروهای واندروالس) انجام شده و تغییرات شیمیایی مخرب رخ نداده است [۱۹، ۸۱]. به طور اختصاصی، تیمار D (ویتامین + باکتری در سطح متوسط) متعادل‌ترین تغییرات را نشان داد و به نظر می‌رسد از نظر سازگاری شیمیایی و پایداری ساختار بهترین شرایط را فراهم کرده است. تیمار F (دوز بالای باکتری + ویتامین) بیشترین پهن‌شدگی باندها و تغییرات شدت را نشان داد که به معنی شبکه‌ی بسیار هیدروژنی و ناهمگن‌تر است و

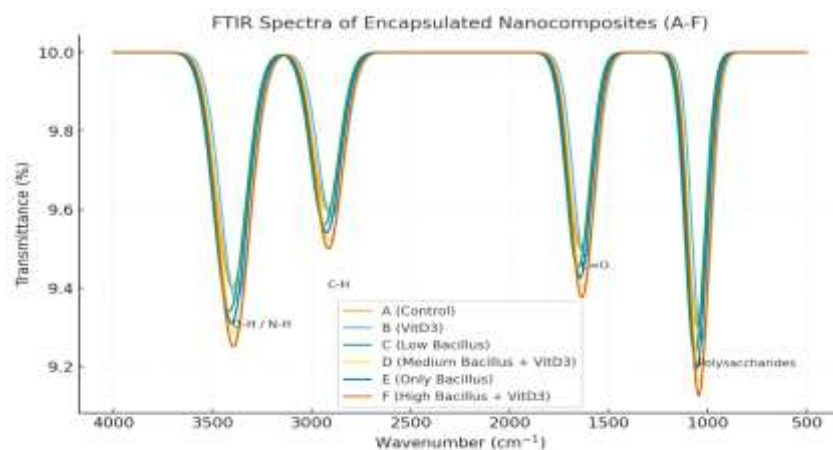


Figure 3- FTIR spectra of different treatments (A to F) containing mucilage to seeds, vitamin D₃, and *Bacillus coagulans*

حاوی غلظت متوسط موسیلاژ و نسبت متعادل پروتئین/پلی‌وینیل‌الکل (تیمار C) بهترین پایداری و کنترل رهایش را دارا بودند. این ویژگی به دلیل تشکیل پیوندهای هیدروژنی میان ویتامین D₃ و زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی، و همچنین نقش حفاظتی لایه پروتئینی در برابر شرایط اسیدی بود. از سوی دیگر، پایداری ذخیره‌سازی نمونه‌های نانوالیاف طی ۲۰ روز نشان داد که ترکیب موسیلاژ دانه به نه‌تنها از تخریب ویتامین D₃ جلوگیری می‌کند، بلکه موجب حفظ زنده‌مانی بالای *Bacillus coagulans* در مقایسه با نمونه‌های آزاد شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی موسیلاژ، همراه با ساختار نانوالیافی بهینه، نقش مؤثری در حفاظت ترکیبات زیست‌فعال ایفا نمود. در مجموع، نتایج بیانگر آن است که نانوالیاف الکترورسی‌شده بر پایه موسیلاژ دانه به، پلی‌وینیل‌الکل و پروتئین سبوس برنج، به‌عنوان یک سامانه زیست‌سازگار، مؤثر و پایدار، قابلیت بالایی برای ریزپوشانی

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از ترکیب موسیلاژ دانه به (به‌عنوان یک پلی‌ساکارید طبیعی با خاصیت زیست‌سازگاری بالا)، پلی‌وینیل‌الکل و کنسانتره پروتئین سبوس برنج در فرآیند الکترورسی منجر به تشکیل نانوالیاف کامپوزیتی یکنواخت، پایدار و بدون گره شد. بررسی‌های FTIR و میکروسکوپ الکترونی روبشی حاکی از برهم‌کنش‌های هیدروژنی قوی میان گروه‌های عاملی پلیمرهای به‌کاررفته بود که موجب بهبود استحکام شبکه و افزایش پایداری ساختار نهایی گردید. ریزپوشانی همزمان ویتامین D₃ و *Bacillus coagulans* در ماتریس نانوالیاف منجر به افزایش چشمگیر راندمان انکپسولاسیون و کنترل آزادسازی ترکیبات زیست‌فعال گردید. آزمون‌های رهایش در محیط شبیه‌سازی‌شده معده نشان دادند که فرمولاسیون‌های

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافع یا منافعی رقابتی در ارتباط با انتشار این مقاله ندارند.

بیانیه تأمین مالی

این پژوهش با حمایت مالی اعتبارات پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (GUASNR)، گرگان، ایران انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در بازنگری مقاله مشارکت کرده‌اند، نسخه نهایی را برای انتشار تأیید نموده‌اند و مسئولیت تمامی جنبه‌های این پژوهش را پذیرفته‌اند.

۵-منابع

- [1] Umami, A. S., & Siddiquee, S. (2019). Nanotechnology applications in food: Opportunities and challenges in food industry. *Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food*, 295–308.
- [2] Hulla, J., Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & Experimental Toxicology*, 34(12), 1318–1321.
- [3] Gharpure, K. M., Wu, S. Y., Li, C., Lopez-Berestein, G., & Sood, A. K. (2015). Nanotechnology: Future of oncotherapy. *Clinical Cancer Research*, 21(14), 3121–3130.
- [4] Guía-García, J. L., Charles-Rodríguez, A. V., Reyes-Valdés, M. H., Ramírez-Godina, F., Robledo-Olivo, A., García-Osuna, H. T., Cerqueira, M. A., & Flores-López, M. L. (2022). Micro and nanoencapsulation of bioactive compounds for agri-food applications: A review. *Industrial Crops and Products*, 186, 115198.
- [5] Chowdhury, S., Kar, K., & Mazumder, R. (2024). Exploration of different strategies of nanoencapsulation of bioactive compounds and their ensuing approaches. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 72.
- [6] Jayaprakash, P., Maudhuit, A., Gaiani, C., & Desobry, S. (2023). Encapsulation of bioactive compounds using competitive emerging techniques: Electrospraying, nano spray drying, and electrostatic

ترکیبات حساس مانند ویتامین D₃ و پروبیوتیک‌ها دارد و می‌تواند در توسعه محصولات غذایی و دارویی با ویژگی‌های عملکردی پیشرفته و رهایش کنترل‌شده مورد استفاده قرار گیرد.

دسترسی به داده‌ها

تمامی داده‌های تولیدشده یا تحلیل‌شده در این پژوهش در همین مقاله منتشرشده و جداول آن ارائه شده‌اند. بنابراین، تمامی اطلاعات موردنیاز برای ارزیابی، تفسیر و پشتیبانی از یافته‌های این مطالعه در دسترس خوانندگان قرار دارد.

تعارض منافع

- spray drying. *Journal of Food Engineering*, 339, 111260.
- [7] Yousuf, S., & Maktedar, S. S. (2023). Utilization of quince (*Cydonia oblonga*) seeds for production of mucilage: Functional, thermal and rheological characterization. *Sustainable Food Technology*, 1(1), 107–115.
- [8] Szychowski, P. J., Munera-Picazo, S., Szumny, A., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Hernández, F. (2014). Quality parameters, bio-compounds, antioxidant activity and sensory attributes of Spanish quinces (*Cydonia oblonga* Miller). *Scientia Horticulturae*, 165, 163–170.
- [9] Anwajler, B., Zdybel, E., & Tomaszewska-Ciosk, E. (2023). Innovative polymer composites with natural fillers produced by additive manufacturing (3D printing)—a literature review. *Polymers*, 15(17), 3534.
- [10] Bu, C., Liu, L., Lu, X., Zhu, D., Sun, Y., Yu, L., OuYang, Y., Cao, X., & Wei, Q. (2022). The durability of recycled fine aggregate concrete: A review. *Materials*, 15(3), 2.
- [11] Press, R. (2015). *2nd International Conference on Innovative Materials, Structures and Technologies*.

- [12] Adibpour, N., Hosseini-zhad, M., Pahlevanlo, A., & Hussain, M. A. (2019). A review on *Bacillus coagulans* as a spore-forming probiotic. *Applied Food Biotechnology*, 6(2), 91–100.
- [13] Poshadri, A., HW, D., UM, K., & SD, K. (2022). *Bacillus coagulans* and its spore as potential probiotics in the production of novel shelf-stable foods. *Current Research in Nutrition & Food Science*, 10(3).
- [14] Song, Z., Liu, H., Huang, A., Zhou, C., Hong, P., & Deng, C. (2022). Collagen/zein electrospun films incorporated with gallic acid for tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle preservation. *Journal of Food Engineering*, 317, 110860.
- [15] Munteanu, B. S., Aytac, Z., Pricope, G. M., Uyar, T., & Vasile, C. (2014). Polylactic acid (PLA)/Silver-NP/Vitamin E bionanocomposite electrospun nanofibers with antibacterial and antioxidant activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 16, 1–12.
- [16] Xu, X., Jiang, L., Zhou, Z., Wu, X., & Wang, Y. (2012). Preparation and properties of electrospun soy protein isolate/polyethylene oxide nanofiber membranes. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4(8), 4331–4337.
- [17] Soukoulis, C., Gaiani, C., & Hoffmann, L. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*, 22, 28–42.
- [18] Sukati, S., & Khobjai, W. (2019). Total phenolic content and DPPH free radical scavenging activity of young turmeric grown in southern Thailand. *Applied Mechanics and Materials*, 886, 61–69.
- [19] 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.
- [20] Mkedder, I., Bouali, W., & Hassaine, H. (2021). Antibacterial activity of mucilage of *Linum usitatissimum* L. seeds. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 11(3).
- [21] Watanabe, M., Yamada, C., Maeda, I., Techapun, C., Kuntiya, A., Leksawasdi, N., Seesuriyachan, P., Chaityaso, T., Takenaka, S., & Shiono, T. (2019). Evaluating of quality of rice bran protein concentrate prepared by a combination of isoelectronic precipitation and electrolyzed water treatment. *LWT*, 99, 262–267.
- [22] Sen, S., Bal, T., & Rajora, A. D. (2022). Green nanofiber mat from HLM–PVA–Pectin (Hibiscus leaves mucilage–polyvinyl alcohol–pectin) polymeric blend using electrospinning technique as a novel material in wound-healing process. *Applied Nanoscience*, 12(2), 237–250.
- [23] Jafari, M., Baniasadi, H., Rezvanpour, A., & Lotfi, M. (2021). Fabrication and characterisation of a wound dressing composed of polyvinyl alcohol and quince seed mucilage. *Journal of Wound Care*, 30(Sup9a), XIII–XIIIx.
- [24] Cao, J., Yu, Z., Liu, W., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2020). Probiotic characteristics of *Bacillus coagulans* and associated implications for human health and diseases. *Journal of Functional Foods*, 64, 103643.
- [25] Premjit, Y., & Mitra, J. (2021). Optimization of electrospray-assisted microencapsulation of probiotics (*Leuconostoc lactis*) in soy protein isolate-oil particles using Box-Behnken experimental design. *Food and Bioprocess Technology*, 14(9), 1712–1729.
- [26] Campano, C., Balea, A., Blanco, Á., & Negro, C. (2020). A reproducible method to characterize the bulk morphology of cellulose nanocrystals and nanofibers by transmission electron microscopy. *Cellulose*, 27, 4871–4887.
- [27] Davoodi, A. H., Mazinani, S., Sharif, F., & Ranaei-Siadat, S. O. (2018). GO nanosheets localization by morphological study on PLA-GO electrospun nanocomposite nanofibers. *Journal of Polymer Research*, 25(9), 204.
- [28] Zheng, D., Xia, L., Ji, H., Jin, Z., & Bai, Y. (2020). A cyclodextrin-based controlled release system in the simulation of in vitro small intestine. *Molecules*, 25(5), 1212.
- [29] Munteanu, B. S., & Vasile, C. (2021). Encapsulation of natural bioactive compounds by electrospinning—Applications in food storage and safety. *Polymers*, 13(21), 3771.
- [30] Ebrahimi Hemmati Kaykha, M., Jooyandeh, H., Behbahani, B. A., & Noshad, M. (2022). Optimization of mucilage extraction from Sepestan fruit and evaluation of its physicochemical and antioxidant activity. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(6), 4331–4344.

- [31] Kučka, M., Ražná, K., Harenčár, L., & Kolarovičová, T. (2020). Plant seed mucilage—Great potential for sticky matter. *Nutraceuticals*, 2.
- [32] Kučka, M., Harenčár, L., Ražná, K., Nôžková, J., Kowalczewski, P. L., Deyholos, M., Dziedzic, K., Rybicka, I., Zembrzuska, J., & Kačániová, M. (2024). Great potential of flaxseed mucilage. *European Food Research and Technology*, 250(3), 877–893.
- [33] Pasha, A. Z., Bukhari, S. A., El Enshasy, H. A., El Adawi, H., & Al Obaid, S. (2022). Compositional analysis and physicochemical evaluation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) mucilage for medicinal purposes. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 774–780.
- [34] de Sousa, T. A., de Barros, T. C., Borges, L. M., & Teixeira, S. P. (2025). Mucilage and phenolic-secreting cells in sensitive plants (*Mimosa*, Leguminosae): A comparative study across different plant organs. *Brazilian Journal of Botany*, 48(1), 20.
- [35] Mousavi, S. R., Rahmati-Joneidabad, M., & Noshad, M. (2021). Effect of chia seed mucilage/bacterial cellulose edible coating on bioactive compounds and antioxidant activity of strawberries during cold storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190, 618–623.
- [36] Shahbazi, Y., & Moosavy, M.-H. (2019). Physico-mechanical and antimicrobial properties of quince seed mucilage supplemented with titanium dioxide and silicon oxide nanoparticles. *Nanomedicine Research Journal*, 4(3), 157–163.
- [37] Khodaman, E., Barzegar, H., Jokar, A., & Jooyandeh, H. (2022). Production and evaluation of physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage-gelatin based edible films incorporated with chitosan nanoparticles. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 3547–3556.
- [38] Mishra, A., Mohite, A. M., & Sharma, N. (2023). Influence of particle size on physical, mechanical, thermal, and morphological properties of tamarind-fenugreek mucilage biodegradable films. *Polymer Bulletin*, 80(3), 3119–3133.
- [39] Pirsá, S., Mahmudi, M., & Ehsani, A. (2023). Biodegradable film based on cress seed mucilage, modified with lutein, maltodextrin and alumina nanoparticles: Physicochemical properties and lutein controlled release. *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 1588–1599.
- [40] Cacciatore, F. A., Maders, C., Alexandre, B., Pinilla, C. M. B., Brandelli, A., & da Silva Malheiros, P. (2022). Carvacrol encapsulation into nanoparticles produced from chia and flaxseed mucilage: Characterization, stability and antimicrobial activity against *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 108, 104116.
- [41] Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Koocheki, A. (2014). Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 36, 9–19.
- [42] Dörr, T., Moynihan, P. J., & Mayer, C. (2019). Bacterial cell wall structure and dynamics. *Frontiers Media SA*, 2051.
- [43] Strahl, H., & Errington, J. (2017). Bacterial membranes: Structure, domains, and function. *Annual Review of Microbiology*, 71(1), 519–538.
- [44] Araújo, E. S., Nascimento, M. L. F., & de Oliveira, H. P. (2016). Electrospinning of polymeric fibres: An unconventional view on the influence of surface tension on fibre diameter. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 1(115), 22–29.
- [45] Jafari, S., Sourki, A. H., & Pashangeh, S. (2023). Emulsion electrospinning of lemongrass essential oil-loaded *Ferula haussknechtii* gum/polyethylene oxide as bioactive coating. *Food Hydrocolloids for Health*, 7.
- [46] Ramos, S. d. P., Trindade, L. G. d., Mazzo, T. M., Longo, E., Bonsanto, F. P., de Rosso, V. V., & Braga, A. R. C. (2022). Electrospinning composites as carriers of natural pigment: Screening of polymeric blends. *Processes*, 10(12), 2737.
- [47] Tahir, M., Vicini, S., & Sionkowska, A. (2023). Electrospun materials based on polymer and biopolymer blends—a review. *Polymers*, 15(7), 1654.
- [48] Elsayed, I., & AbouGhaly, M. H. H. (2016). Inhalable nanocomposite microparticles: Preparation, characterization and factors affecting formulation. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13(2), 207–222.
- [49] Chen, Y., Liu, Y., Xu, J., Xie, J., Ma, Y., Yue, P., Zheng, Q., & Yang, M. (2018). Design and evaluation of nanocomposite microparticles to enhance dissolution and oral bioavailability of andrographolide. *Powder Technology*, 323, 219–229.
- [50] Keyvan Rad, J., Alinejad, Z., Khoei, S., & Mahdavian, A. R. (2019). Controlled release and photothermal behavior of multipurpose

nanocomposite particles containing encapsulated gold-decorated magnetite and 5-FU in poly(lactide-co-glycolide). *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5(9), 4425–4434.

[51] Poureini, F., Najafpour, G. D., Nikzad, M., & Najafzadehvarzi, H. (2021). Loading of apigenin extracted from parsley leaves on colloidal core-shell nanocomposite for bioavailability enhancement. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 625, 126867.

[52] Wang, H., Wang, L., Meng, S., Lin, H., Correll, M., & Tong, Z. (2020). Polymethylmethacrylate (PMMA) encapsulated graphene oxide nanocomposite: Pre-modification, synthesis, and latex stability. *Preprints*.

[53] Jiffrin, R., Razak, S. I. A., Jamaludin, M. I., Hamzah, A. S. A., Mazian, M. A., Jaya, M. A. T., Nasrullah, M. Z., Majrashi, M., Theyab, A., & Aldarmahi, A. A. (2022). Electrospun nanofiber composites for drug delivery: A review on current progresses. *Polymers*, 14(18), 3725.

[54] Li, S., Jiang, C., Chen, X., Wang, H., & Lin, J. (2014). *Lactobacillus casei* immobilized onto montmorillonite: Survivability in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration and yogurt. *Food Research International*, 64, 822–830.

[55] Jiang, J., Zhang, Y., Indra, A. K., Ganguli-Indra, G., Le, M. N., Wang, H., Hollins, R. R., Reilly, D. A., Carlson, M. A., & Gallo, R. L. (2018). 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3-eluting nanofibrous dressings induce endogenous antimicrobial peptide expression. *Nanomedicine*, 13(12), 1417–1432.

[56] Colturato, P. L., & Goveia, D. (2022). Controlled release of vitamin D3 using a nanocellulose-based membrane. *Scientific Reports*, 12(1), 12411.

[57] Razavi, S., Janfaza, S., Tasnim, N., Gibson, D. L., & Hoorfar, M. (2021). Microencapsulating polymers for probiotics delivery systems: Preparation, characterization, and applications. *Food Hydrocolloids*, 120, 106882.

[58] Tosif, M. M., Najda, A., Bains, A., Kaushik, R., Dhull, S. B., Chawla, P., & Walasek-Janusz, M. (2021). A comprehensive review on plant-derived mucilage: Characterization, functional properties, applications, and its utilization for nanocarrier fabrication. *Polymers*, 13(7), 1066.

[59] Lamsen, M. R. L., Wang, T., D'Souza, D., Dia, V., Chen, G., & Zhong, Q. (2020). Encapsulation of vitamin D3 in gum arabic to enhance bioavailability and stability for beverage applications. *Journal of Food Science*, 85(8), 2368–2379.

[60] Ragavan, M. L., & Das, N. (2020). Nanoencapsulation of *Saccharomycopsis fibuligera* VIT-MN04 using electrospinning technique for easy gastrointestinal transit. *IET Nanobiotechnology*, 14(9), 766–773.

[61] Munteanu, S. B., & Vasile, C. (2019). Vegetable additives in food packaging polymeric materials. *Polymers*, 12(1), 28.

[62] WSOO, M. A. (2021). Vitamin D loaded electrospun cellulose acetate/polycaprolactone nanofibers for drug delivery applications. *Universiti Teknologi Malaysia*.

[63] Carrillo Cabrera, Y., Ledezma Pérez, A., Torres-Lubián, J. R., Larios-López, L., Escobedo-González, R. G., Nicolás Vázquez, M. I., & García-Casillas, P. E. (2025). Effect of solvent selection on the morphology and release profiles of vitamin D3-loaded poly(ϵ -caprolactone) electrospun fibers: In-silico and experimental study. *Journal of Polymer Research*, 32(5), 1–15.

[64] Yazdanpanah, S., & Ghorbaninezhad, M. (2021). Studying the production of composite nanofibers from the hydrocolloid compounds of *Salvia macrosiphon* L. seeds by electrospinning method in order to cover vitamin D3. *Journal of Food Science & Technology*, 21, 158.

[65] Zupancic, S., Rijavec, T., Lapanje, A., Petelin, M., Kristl, J., & Kocbek, P. (2018). Nanofibers with incorporated autochthonous bacteria as potential probiotics for local treatment of periodontal disease. *Biomacromolecules*, 19(11), 4299–4306.

[66] Jan, T., Negi, R., Hilal, A., Kaur, S., Kour, D., Khan, S. S., Shreaz, S., Chauhan, P., Yadav, N., & Rustagi, S. (2025). Microencapsulation techniques for probiotic formulations: Current scenario and future perspective. *Journal of Food Quality*, 2025(1), 6738124.

[67] Palani, N., Vijayakumar, P., Monisha, P., Ayyadurai, S., & Rajadesingu, S. (2024). Electrospun nanofibers synthesized from polymers incorporated with bioactive compounds for wound healing. *Journal of Nanobiotechnology*, 22(1), 211.

- [68] Jacobsen, C., García-Moreno, P. J., Mendes, A. C., Mateiu, R. V., & Chronakis, I. S. (2018). Use of electrohydrodynamic processing for encapsulation of sensitive bioactive compounds and applications in food. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9(1), 525–549.
- [69] Soukoulis, C., & Bohn, T. (2018). A comprehensive overview on the micro- and nano-technological encapsulation advances for enhancing the chemical stability and bioavailability of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(1), 1–36.
- [70] Khan, W. A., Butt, M. S., Pasha, I., & Jamil, A. (2020). Microencapsulation of vitamin D in protein matrices: In vitro release and storage stability. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 1172–1182.
- [71] Zhang, A., Chen, S., Wang, Y., Wang, X., Xu, N., & Jiang, L. (2020). Stability and in vitro digestion simulation of soy protein isolate–vitamin D3 nanocomposites. *LWT*, 117, 108647.
- [72] Parin, F. N. (2021). Retrospective, perspective and prospective of B-complex vitamins: Encapsulation of vitamins and release from vitamin-loaded polymers. In *B-Complex Vitamins—Sources, Intakes and Novel Applications*. IntechOpen.
- [73] Lasprilla-Botero, J., Alvarez-Lainez, M., & Lagaron, J. (2018). The influence of electrospinning parameters and solvent selection on the morphology and diameter of polyimide nanofibers. *Materials Today Communications*, 14, 1–9.
- [74] Okutan, N., Terzi, P., & Altay, F. (2014). Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids*, 39, 19–2
- [75] Wsoo, M. A., Abd Razak, S. I., Bohari, S. P. M., Shahir, S., Salihu, R., Kadir, M. R. A., & Nayan, N. H. M. (2021). Vitamin D3-loaded electrospun cellulose acetate/polycaprolactone nanofibers: Characterization, in-vitro drug release and cytotoxicity studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 82–98.
- [76] Nasouri, K., Shoushtari, A. M., & Mojtahedi, M. R. M. (2015). Effects of polymer/solvent systems on electrospun polyvinylpyrrolidone nanofiber morphology and diameter. *Polymer Science Series A*, 57, 747–755.
- [77] Stepanyan, R., Subbotin, A., Cuperus, L., Boonen, P., Dorschu, M., Oosterlinck, F., & Bulters, M. (2016). Nanofiber diameter in electrospinning of polymer solutions: Model and experiment. *Polymer*, 97, 428–439.
- [78] Filip, P., Zelenkova, J., & Peer, P. (2021). Electrospinning of a copolymer PVDF-co-HFP solved in DMF/acetone: Explicit relations among viscosity, polymer concentration, DMF/acetone ratio and mean nanofiber diameter. *Polymers*, 13(19), 3418.
- [79] Golkar, P., Kalani, S., Allafchian, A. R., Mohammadi, H., & Jalali, S. A. H. (2019). Fabrication and characterization of electrospun *Plantago major* seed mucilage/PVA nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(32), 47852.
- [80] Hasheminya, S.-M., Dehghannya, J., & Ehsani, A. (2023). Development of basil seed mucilage (a heteropolysaccharide)–polyvinyl alcohol biopolymers incorporating zinc oxide nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127342.
- [81] Tosif, M. M., Najda, A., Bains, A., Zawiślak, G., Maj, G., & Chawla, P. (2021). Starch–mucilage composite films: An inclusive on physicochemical and biological perspective. *Polymers*, 13(16), 2588.
- [82] Gharibzahedi, S. M. T., Moghadam, M., Amft, J., Tolun, A., Hasabnis, G., & Altintas, Z. (2023). Recent advances in dietary sources, health benefits, emerging encapsulation methods, food fortification, and new sensor-based monitoring of vitamin B12: A critical review. *Molecules*, 28(22), 7469.



Scientific Research

Study of electrospun composite nanofibers based on quince (*Cydonia oblonga*) seed hydrocolloid for microencapsulation of vitamin D₃ and *Bacillus coagulans*

Sedigheh Yazdanpanah^{1*}, Maryam Haghighi², Zahra Fahim³, Mitra Samimi¹

1- Department of Food Science and Technology, Kaz.C., Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2- PhD student in the Department of Food Sciences and Technology, Shah.C., Islamic Azad University, Shahreza, Iran

3- Master's student in the Department of Food Sciences and Technology, Sarv.C., Islamic Azad University, Sarvestan, Iran

1- Master's degree student in the Department of Food Sciences and Technology, Kaz.C., Islamic Azad University, Kazerun, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2026/01/31

Review: 2026/05/08

Accepted: 2026/05/20

Keywords:

Electrospinning;

Nanocomposite;

Vitamin D₃;

Quince seed mucilage;

Bacillus coagulans

DOI: 10.48311/fsct.2026.119240.83056

*Corresponding Author E-

sedigheh_yazdanpanah@iau.ac.ir

In this study was to develop and optimize electrospun composite nanofibers based on quince seed mucilage, polyvinyl alcohol (PVA), and rice bran protein concentrate (RPC) for the simultaneous microencapsulation of vitamin D₃ and the probiotic bacterium *Bacillus coagulans*. After investigating different component ratios and processing conditions, a formulation containing 4% mucilage, 4% PVA, and 4% RPC was selected as the optimal composition, resulting in uniform, bead-free nanofibers with an average diameter of 310 ± 18 nm. FTIR analysis confirmed the presence of hydrogen bonding and effective intermolecular interactions among the polymers. SEM observations indicated that vitamin D₃ and *B. coagulans* were uniformly distributed within the nanofibrous structure. Microencapsulation efficiency results showed encapsulation yields of 87.6% for vitamin D₃ and 92.3% for *B. coagulans*. Release studies under simulated gastric conditions (pH 2.1) demonstrated that the nanofibrous system provided a gradual and controlled release of the bioactive compounds over 180 minutes, while effectively preventing vitamin degradation and reducing bacterial viability loss under acidic conditions. Stability tests conducted over 20 days the produced nanofibers retained more than 80% of vitamin D₃ and 90% of viable *B. coagulans* cells, whereas a significant reduction was observed in the free forms ($p < 0.05$). Overall, the developed electrospun nanocomposites, with their stable structure, biocompatibility, and high protective performance, show strong potential as novel and efficient carriers for the microencapsulation of bioactive compounds in food and pharmaceutical applications.