ارزیابی برخی خواص فیزیکی فیلم نانو بیوکامپوزیت بر پایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر و پلی‌دکستروز حاوی نانوفیبرسلولز و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و اثر آن بر ماندگاری گوشت گاو

ناصر کریمی[1]، آیناز علیزاده[2*]، هادی الماسی[3]، شهرام حنیفیان[4]

1- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
2- دانشیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
3- دانشیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
4- دانشیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

(تاریخ دریافت: 98/10/16 تاریخ پذیرش: 98/11/26)

چکیده

در حال حاضر تمایل بالایی به استفاده از سیستم‌های بسته‌بندی فعال زیستی به‌دلیل پتانسیل بالای آن‌ها برای بهبود ماندگاری محصولات‌غذایی و ارائه مزایای سلامتی‌بخش برای مصرف‌کنندگان وجود دارد. در همین راستا، با هدف تولید فیلم پروبیوتیک نانوبیوکامپوزیت برپایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر- پلی‌دکستروز حاوی نانوفیبرسلولز و باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و بررسی اثر ضدمیکروبی فیلم بر ماندگاری گوشت گاو، از غلظت‌های مختلف پلی‌دکستروز (0، 10 و 20 درصد وزنی/وزنی ایزوله پروتئین آب‌پنیر) و نانوفیبرسلولز (0، 2/5 و 5 درصد وزنی/وزنی ایزوله پروتئین آب‌پنیر) جهت آماده‌سازی فیلم استفاده گردید. اثر متغیرهای مورد نظر بر روی خواص فیزیکی فیلم (ضخامت، جذب رطوبت، زاویه تماس، رنگ) و اثر ضدمیکروبی فیلم بهینه بر افزایش ماندگاری گوشت گاو در مدت زمان نگهداری 8 روز در دمای 4 درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشانگر سازگاری مطلوب بین ماتریس پروتئین آب‌پنیر، نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز بود. استفاده از پلی‌دکستروز و نانوفیبرسلولز اثر معنی‌داری در افزایش ضخامت، زاویه تماس و تغییرات رنگی فیلم داشت و موجب کاهش جذب رطوبت فیلم گردید. همچنین نتایج پوشش‌دهی نمونه‌های گوشت با فیلم بهینه نیز نشانگر کاهش قابل توجه در میزان رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی، سرماگراها و کلی‌فرم‌ها در طی مدت زمان نگهداری در دمای 4 درجه سلسیوس بود. در نهایت نتایج به‌دست آمده نشان داد، کاربرد نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز در کنار باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در فیلم تولید شده از ایزوله پروتئین آب‌پنیر با ایجاد یک بسته‌بندی غذایی زیست فعال در مقایسه با نمونه گوشت بدون پوشش می‌تواند باعث بهبود ماندگاری گوشت گاو گردد.

کلید واژگان: ایزوله پروتئین آب‌پنیر، بسته‌بندی زیست‌فعال، پلی‌دکستروز، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، نانوفیبرسلولز.

* مسئول مکاتبات: a.alizadeh@iaut.ac.ir

1- مقدمه

در سال‌های اخیرصنعت بسته‌بندی موادغذایی به‌دلیل تقاضای مصرف‌کنندگان به محصولات غذایی سالم و نگرانی‌های زیست محیطی مورد توجه قرار گرفته‌است **[1]**. ماده اصلی بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر شامل انواع بیوپلیمرها نظیر پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، پروتئین‌ها و یا ترکیب این مواد می‌باشند [2]. در بین بیوپلیمرهای پروتئینی، ایزوله پروتئین آب‌پنیر (WPI)، به‌دلیل خواص ممانعتی مطلوب در برابر نفوذپذیری به اکسیژن، قیمت کم و فراوانی مورد توجه بالایی قرار گرفته است؛ علاوه براین، فیلم‌های حاصل از WPI انعطاف‌پذیر، بی‌رنگ، شفاف و بدون بو می‌باشند **[3]**. با این حال، برخی معایب فیلم‌های مبتنی بر WPI مانند استحکام کششی کم، سفتی ذاتی و خاصیت ضعیف ممانعتی به بخار آب، کاربرد این ترکیب در بسته‌بندی موادغذایی را محدود نموده است [4]. برای رهایی از این محدودیت، ترکیب پلیمرها با نانوتقویت‌کننده‌ها و تهیه نانوکامپوزیت‌ها پیشنهاد شده است. نانوفیبرسلولز یکی از نانوتقویت‌کننده‌ها به‌منظور ترکیب با اغلب بیوپلیمرها است که به‌صورت همگن در ماتریس پراکنده شده و باعث ایجاد خصوصیات ممانعتی، شفافیت مطلوب، خواص مکانیکی، حرارتی و سطح ویژه بالا و کنترل رهایش موادافزودنی می‌گردد [5 و 6]. اخیراً مطالعات متعددی در زمینه فیلم‌های نانوکامپوزیت مبتنی بر بیوپلیمر تقویت‌شده با نانوفیبرسلولز انجام شده است که نتایج حاصل نشانگر اثر قابل توجه نانوفیبرسلولز در بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های بسته‌بندی بود [7، 8 و 9]. بسته‌بندی زیست فعال یک فن‌آوری جدید جایگزین به‌منظور حفظ کیفیت و ایمنی محصولات غذایی است که اغلب با کاربرد ترکیبات فعال زیستی نظیر پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها در سیستم بسته‌بندی، اثرات مفیدی برای مصرف‌کنندگان محصولات-غذایی ایجاد می‌نمایند [10]. در این راستا، باکتری‌های اسید لاکتیک و متابولیت‌های آن‌ها درجهت بهبود ایمنی میکروبی و افزایش ماندگاری موادغذایی تحت عنوان نگهدارنده‌های زیستی معرفی شده‌اند [11]. باکتری‌های اسیدلاکتیک معمولاً به‌دلیل عملکردهای ضدمیکروبی ناشی از فعالیت پپتیدهای کوچک و مقاوم به حرارت به نام باکتریوسین به‌عنوان ارگانیسم‌های محافظ غذایی در نظر گرفته می‌شوند [12 و 13]. علاوه براین، کاربرد فیلم‌های خوراکی حاوی باکتری‌های لاکتیکی در ماتریس موادغذایی از نظر انتقال این باکتری‌ها به مصرف‌کنندگان و تولید مواد ضدمیکروبی و یا رقابت با میکروارگانیسم‌های عامل فساد و ایجاد پتانسیل ضدمیکروبی بالا حائز اهمیت است **[14]** که منجر به کاربرد این ترکیبات زیستی در تولید فیلم‌های زیست فعال شده است [10، 15، 16 و 17]. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* یکی از باکترهای لاکتیکی است که به‌دلیل تحمل بالا به pH پایین و خواص ضدمیکروبی از فعالیت پروبیوتیکی بالایی برخوردار است [18]. ترکیب پروبیوتیک‌ها با ترکیبات پری‌بیوتیک باعث افزایش پایداری سویه‌های پروبیوتیکی می‌گردد [14]. پری-بیوتیک‌ها ترکیبات تخمیری انتخابی می‌باشند که امکان تغییر در فعالیت و ترکیب میکروارگانیسم‌های میزبان را فراهم آورده و از این طریق موجب ایجاد فواید سلامتی‌بخش می‌گردند [12، 19 و 20]؛ که می‌توان به استفاده از پلی‌دکستروز، اینولین، گلوکز، الیگوفروکتوز و دکسترین گندم در بسته‌بندی‌های فعال زیستی اشاره نمود [11، 15 و 21]. امروزه استفاده از فیلم‌های زیست تخریب پذیر به‌منظور افزایش زمان نگهداری موادغذایی به‌دلیل رشد میکروبی بر سطح ماده‌غذایی و ایجاد فساد و کاهش کیفیت مورد توجه قرار گرفته است [18]. گوشت و فرآورده‌های گوشتی محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و خطرناک برای انسان می‌باشند، از این رو ایمنی محصولات گوشتی بسیار حائز اهمیت است. اصلی‌ترین مشکل گوشت قرمز، فساد سریع آن است که ممکن است در طول فرآیند و یا در محل فروش آلوده شود. همچنین گوشت قرمز به‌دلیل رطوبت، موادمغذی و pH بالا برای رشد

میکروب‌های بیماری‌زا مناسب بوده و می‌تواند به سرعت از نظر میکروبی آلوده شده و باعث کاهش ماندگاری و به خطر افتادن سلامت مصرف‌کنندگان شود؛ بدین منظور افزایش ماندگاری گوشت مورد توجه است [22]. طبق بررسی‌های انجام پذیرفته، تاکنون مطالعه‌ای در مورد استفاده از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، پلی‌دکستروز و نانوفیبرسلولز در تولید نانوکامپوزیت زیستی مبتنی بر WPI و اثر آن در افزایش ماندگاری گوشت گاو انجام نگرفته است. لذا هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات فیزیکی فیلم نانوکامپوزیت ایزوله پروتئین آب‌پنیر-پلی‌دکستروز حاوی نانوفیبرسلولز و باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و ارزیابی اثر ضدمیکروبی آن در ماندگاری گوشت گاو می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد مورد استفاده در تهیه فیلم

در این تحقیق از ایزوله پروتئین آب‌پنیر (با میزان پروتئین 92/16 درصد از Sachsenmilch Lepperrsdorf، آلمان) پلی‌دکستروز (با وزن موکلولی 2000 از Danisco، دانمارک)، گلیسرول (مرک، آلمان)، نانوفیبرسلولز (با متوسط قطر 35 نانومتر و میانگین طول 5 میکرومتر با خلوص 99 درصد، از شرکت نانو نوین پلی‌مر، ایران)، محیط کشت MRS broth[1] و MRS agar (از شرکت مرک، آلمان) و سویه باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (PTCC 1058، از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) در تهیه فیلم‌ها استفاده گردید.

2-2- روش آماده‌سازی فیلم

مطابق طرح ارائه شده در جدول 1، جهت آماده‌سازی نمونه‌های فیلم، ایزوله پروتئین آب‌پنیر با نسبت 5 درصد (وزنی/حجمی)، در آب مقطر حل گردید و به مدت 1 ساعت (با سرعت 180 دور در دقیقه) هم‌زده شد. pH محلول با استفاده از سود 0/1 نرمال در مقدار 8 تنظیم گردید. سپس محلول در 90 درجه سلسیوس به مدت 30 دقیقه حرارت داده شده و دمای آن تا رسیدن به دمای محیط کاهش داده شد. نانوفیبرسلولز در آب مقطر با نسبت‌های مختلف (2/5 و 5 درصد وزنی/وزنی ایزوله پروتئین آب‌پنیر) به مدت 2 ساعت در 30 درجه سلسیوس پراکنده شد و به مدت 40 دقیقه تحت تیمار فراصوت با قدرت 40 کیلوهرتز قرار گرفت. علاوه براین، پلی‌دکستروز در آب مقطر در نسبت‌های مختلف (10 و 20 درصد وزنی/وزنی ایزوله پروتئین آب‌پنیر) در 30 درجه سلسیوس حل شد و به‌همراه نانوفیبرسلولز به محلول اولیه ایزوله پروتئین آب‌پنیر اضافه گردید. محلول نهایی نمونه‌های فیلم در 25 درجه سلسیوس همزده شده (به مدت 10 دقیقه در 1000 دور در دقیقه) و در ادامه گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به مقدار 10 درصد ماده خشک به مخلوط آماده شده اضافه گردید. محلول نمونه‌های فیلم تحت تیمار فراصوت به مدت 30 دقیقه هوازدایی شدند [3]. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در محیط کشت MRS broth به‌مدت 24 ساعت در 37 درجه سلسیوس کشت داده شد. سلول‌های باکتریایی با سانتریفیوژ با شدت 6000 × g به مدت 10 دقیقه رسوب داده شدند و جمعیت باکتری از طریق کشت در محیط MRS agar (24 ساعت، 37 درجه سلسیوس) برآورد شد. نمونه‌های فیلم بعد از تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (تا رسیدن به مقدار نهایی $CFU/mL10^9$) در پلیت‌های پلی‌استایرن در دمای 25 درجه سلسیوس به مدت 48 ساعت خشک گردیدند [11]. نمونه‌های فیلم قبل از انجام آزمون‌ها در دسیکاتور با رطوبت نسبی 50 درصد و دمای 25 درجه سلسیوس به مدت 48 ساعت مشروط‌سازی شدند.

1 De Man, Rogosa and Sharpe broth

Table 1 The fabricated WPI-based bioactive film samples

Samples	CNF (% w/v)	Polydextrose (% w/v)	*L. plantarum* (CFU/mL)
WPI	-	-	10^9
WPI/CNF2.5%	2.5	-	10^9
WPI/CNF5%	5	-	10^9
WPI/PD10%	-	10	10^9
WPI/PD20%	-	20	10^9
WPI/CNF2.5%/PD10%	2.5	10	10^9
WPI/CNF2.5%/PD20%	2.5	20	10^9
WPI/CNF5%/PD10%	5	10	10^9
WPI/CNF5%/PD20%	5	20	10^9

WPI: whey protein isolate, CNF: cellulose nanofiber, PD: polydextrose.

2-3- آماده‌سازی نمونه گوشت

گوشت ماهیچه گاو مورد استفاده در آزمون، از بازار محلی خریداری گردید. برای این منظور ابتدا بخش‌های پیوندی متصل به گوشت جدا شده و به‌وسیله یک چاقوی تیز به قطعات 5×5 سانتی‌متر بریده شد. در ادامه با توجه به نتایج مشترک تحقیقات انجام پذیرفته و اثر مثبت نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز در زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم [23]*، نمونه گوشت با فیلم بهینه WPI/CNF5%/PD20% پوشش داده شد و به‌منظور بررسی اثر ضدمیکروبی فیلم بر گوشت در دمای 4 درجه سلسیوس به مدت 8 روز نگهداری گردید [22].

2-4- روش‌آزمون

2-4-1- آزمون ضخامت فیلم

ضخامت فیلم‌ها در 6 نقطه به صورت تصادفی توسط میکرومتر دیجیتالی با دقت 0/01 mm (Mituto, Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد و میانگین مقادیر اندازه‌گیری شده به‌عنوان ضخامت فیلم‌ها گزارش گردید [**24**].

2-4-2- جذب رطوبت فیلم

در آزمون میزان رطوبت جذب شده توسط فیلم‌ها، نمونه‌های فیلم خشک شده (20×20 میلی‌متر)، در رطوبت نسبی صفر درصد (در دسیکاتور حاوی $CaSO_4$) مشروط‌سازی شده و بعد از 24 ساعت توزین گردیدند. در ادامه نمونه‌ها به دسیکاتور حاوی محلول $Ca(NO_3)_2$، به‌منظور رسیدن به رطوبت نسبی 55-50 درصد در دمای 25-20 درجه سلسیوس انتقال داده شدند. توزین نمونه‌ها در فواصل زمانی مشخص تا رسیدن به وزن ثابت ادامه یافت. در نهایت میزان جذب رطوبت فیلم‌ها مطابق معادله زیر تعیین گردید:

$$\text{Moisture absorption} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

W_0: وزن اولیه نمونه‌ها، Wt: وزن نمونه‌ها در رطوبت نسبی 55 درصد بعد از گذشت زمان t [24]

2-4-3- زاویه تماس آب

زاویه تماس قطره آب طبق روش فتحی و همکاران (2018)، اندازه‌گیری گردید. برای این منظور قطره‌ای از آب مقطر (5 میکرولیتر) بر روی نمونه‌های فیلم قرار گرفت و در ادامه زاویه تماس آب با فیلم توسط دوربین عکاسی (Microsoft, LifeCam, H5D-00013, zoom 24×) عکس‌برداری گردید و توسط نرم افزار Image.J 1.48 تعیین شد [1].

2-4-4- رنگ

میزان رنگ نمونه‌های فیلم نانوکامپوزیت به‌وسیله عکس‌برداری از نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌ها جهت عکس‌برداری دیجیتالی در داخل محفظه‌ای معین با شدت نور و فاصله لنز ثابت تا نمونه قرار گرفتند. زاویه بین لنز دوربین (Yashika EZ F8035, Japan) و منبع نور ثابت و حدود 45 درجه بود. نور داخل محفظه دارای قدرت نور مشابه نور روز D65 بود. تعیین فاکتورها L^*, a^*, b^* در سه نقطه از هر نمونه توسط نرم‌افزار فتوشاپ انجام گرفت. همچنین عکس‌برداری از رنگ-های استاندارد Ral در همان محفظه با شرایط مشابه انجام پذیرفت و فاکتورهای L^*, a^*, b^* آن‌ها تعیین گشت. با توجه به فاکتورهای L^*, a^*, b^*، استانداردهای Ral و استانداردهای واقعی، منحنی استاندارد رسم و معادله آن به‌دست آمد؛ سپس اعداد میانگین نمونه‌های فیلم نانوکامپوزیت در معادله خط استاندارد قرار داده شد تا اعداد واقعی به‌دست آید. همچنین ΔE، شاخص میزان تغییر رنگ نسبت به نمونه شاهد، میزان سفیدی WI و میزان زردی نمونه ها YI به صورت زیر محاسبه شد [25].

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

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

$$YI = \frac{142.86 \times b^*}{L^*}$$

که در آن ΔL^* ، Δa^* و Δb^* به ترتیب شامل تفاوت بین شاخص‌های رنگی رال کالر استاندارد با شاخص‌های رنگی نمونه‌های فیلم نانوکامپوزیت می‌باشد [25].

2-4-5- اثر فیلم بر ماندگاری گوشت گاو

نمونه‌های گوشت به قطعات 5×5 سانتی‌متر بریده شده و برای تولید و مقایسه سه نوع بسته‌بندی به ترتیب نمونه کنترل (گوشت فاقد روکش)، نمونه گوشت روکش‌دار شده با فیلم بهینه ایزوله پروتئین آب‌پنیر بدون تلقیح *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و نمونه گوشت روکش‌دار شده با فیلم بهینه بر پایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* استفاده گردیدند. برای تولید این نمونه‌ها، قطعات گوشت داخل فیلم قرار گرفته و در دمای 4 درجه سلسیوس به مدت هشت روز نگهداری شدند. در ادامه آزمون‌های میکروبی (شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی، باکتری‌های سرمادوست و کلی‌فرم) در روزهای دوم، چهارم، ششم، هشتم بر روی نمونه‌های نگهداری شده در شرایط یخچالی انجام پذیرفت [22].

2-4-6- آنالیز آماری

آزمون‌های فیزیکی فیلم نانوکامپوزیت و آزمون‌های میکروبی گوشت پوشش داده شده با فیلم، هرکدام در سه تکرار انجام پذیرفت. برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و آزمون دانکن در سطح احتمال 5% ($p<0/05$) استفاده شد. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری، IBM Corporation IBM SPSS 22(Armonk, NY, USA) استفاده شد.

3- نتایج و بحث

3-1- ضخامت فیلم

ضخامت فاکتور مهمی در تعیین خصوصیات مکانیکی، نفوذپذیری به بخارآب و شفافیت فیلم می‌باشد [3]. جدول 2 ضخامت فیلم‌های نانوکامپوزیت تولید شده را نشانگر است. طبق نتایج به‌دست آمده، ضخامت نمونه‌های فیلم با افزودن نانوفیبرسلولز افزایش یافت؛ این درحالی است که اثر افزودن 2/5 درصد نانوفیبرسلولز در افزایش ضخامت فیلم بیشتر از مقدار 5 درصد آن بود ($P<0/05$). علاوه‌براین با افزودن 20 درصد پلی‌دکستروز، ضخامت فیلم‌ها به‌طور قابل توجهی افزایش یافت ($P<0/05$)؛ این در حالی است که افزودن مقدار 10 درصد از این ترکیب تفاوت معنی‌داری در مقدار ضخامت فیلم‌های تولید شده نسبت به فیلم WPI ایجاد ننمود ($P>0/05$)؛ بنابراین کمترین و بیشترین ضخامت به ترتیب مربوط به نمونه WPI (0/10±0/002 میلی‌متر) و WPI/CNF2.5%/PD20% (0/17±0/003میلی‌متر) بود. طبق نتایج مطالعات پیشین، افزایش ضخامت در اثر افزودن نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز، می‌تواند به قرارگیری این پرکننده‌ها در لایه‌های مختلف ماتریس WPI و افزایش ماده جامد فیلم مرتبط باشد [**26**]. به‌طوری‌که نتایج به‌دست آمده با یافته‌های مطالعات آزردو و همکاران (2009)، در رابطه با اثر نانوفیبرسلولز در افزایش مواد جامد فیلم و در نتیجه افزایش ضخامت فیلم خوراکی حاصل از پوره انبه و تقویت شده با نانوفیبرسلولز [27] و آمانکاو (2013)، در رابطه با افزایش ضخامت فیلم‌های کیتوزان حاوی عصاره چای سبز و عصاره انگور مطابقت داشت [28].

Table 2 Thickness of WPI-based bioactive film samples.

Samples	Thickness (mm)
WPI	0.10 ± 0.002^{f}
WPI/CNF2.5%	0.14 ± 0.003^{c}
WPI/CNF5%	0.13 ± 0.004^{d}
WPI/PD10%	0.10 ± 0.004^{f}
WPI/PD20%	0.14 ± 0.003^{c}
WPI/CNF2.5%/PD10%	0.12 ± 0.002^{e}
WPI/CNF2.5%/PD20%	0.17 ± 0.003^{a}
WPI/CNF5%/PD10%	0.13 ± 0.004^{d}
WPI/CNF5%/PD20%	0.15 ± 0.003^{b}

Data are expressed as mean ± standard deviation (n=3) and different letters show significant difference at the 5% level in Duncan's test ($p < 0.05$); WPI: whey protein isolate, CNF: cellulose nanofiber, PD: polydextrose.

2-3- جذب رطوبت

خصوصیات ممانعتی آب نمونه‌های فیلم با اندازه‌گیری جذب رطوبت و زاویه تماس آب مطابق جدول 3 اندازه‌گیری شده است. نتایج جذب رطوبت نشان داد که افزودن جداگانه نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز، به‌طور قابل توجهی درصد جذب رطوبت فیلم را کاهش داد (P<0/05). به‌علاوه درصد رطوبت جذب شده با افزایش غلظت پلی‌دکستروز از 10 تا 20 درصد، کاهش قابل توجهی نشان داد (P<0/05)؛ در حالی که اثر افزودن 2/5 درصد نانو فیبرسلولز نسبت به مقدار 5 درصدی آن در کاهش رطوبت جذب شده موثرتر بود. مطابق نتایج به‌دست آمده؛ بیشترین درصد رطوبت جذب شده مربوط به نمونه WPI (3/26±31/77 درصد) و کمترین میزان رطوبت جذب‌شده در بین نمونه‌های حاوی ترکیب نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز مربوط به نمونهWPI/CNF2.5%/PD20% (2/97±28/47 درصد) بعد از گذشت مدت زمان 72 ساعت بود. این نتایج را می‌توان با ایجاد برهمکنش‌های قوی نظیر پیوندهای هیدروژنی بین نانوفیبرسلولز، پلی‌دکستروز و زنجیره WPI مرتبط دانست که منجر به بهبود چسبندگی سطحی بین مولکولی و افزایش مقاومت در برابر آب گردید؛ به‌طوری‌که قنبری و همکاران(2018)، گزارش نمودند که افزودن نانوفیبرسلولز در فیلم‌های مبتنی بر نشاسته، مقاومت به رطوبت را بهبود بخشید که این پدیده را به‌علت تعاملات بین گروه‌های آب‌دوست نشاسته و نانوفیبرسلولز مرتبط دانسته‌اند [5]. علاوه بر این نتایج حاصل از پژوهش‌های انجام پذیرفته در این رابطه نشانگر آن است که ترکیب نانوفیبرسلولز در ماتریس کیتوزان موجب کاهش جذب رطوبت به‌علت ایجاد پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی بین نانوفیبرسلولز و کیتوزان گردید [29] همچنین سوریانگو و همکاران (2009)، در مطالعه خود به این نتیجه دست یافتند که نانوفیبرسلولز به‌دلیل دارا بودن ساختار رشته‌ای و نسبت طول به ضخامت بالاتر در حالت اختلاط با بیوپلیمرها، از امکان تشکیل پیوندهای بین رشته‌ای بیشتری برخوردار بود که بدین ترتیب، با ایجاد شبکه سه بعدی درهم تنیده موجب مقاومت نسبت به جذب رطوبت شده و با ایجاد مسیر پرپیچ و خم، مسیرهای نفوذ مولکول‌های آب را کاهش داد [30]. نتایج به‌دست آمده مطابق با یافته‌های تحقیق حاضر می‌باشد.

Table 3 Water absorbtion and water contact angle of WPI-based bioactive film samples.

Samples	Moisture absorption (%)	Water contact angle (°)
WPI	31.77 ± 3.26^{a}	7.79 ± 0.20^{d}
WPI/CNF2.5%	27.94 ± 2.99^{d}	17.52 ± 0.77^{c}
WPI/CNF5%	28.77 ± 3.42^{c}	17.31 ± 0.56^{c}
WPI/PD10%	29.94 ± 2.93^{b}	22.87 ± 1.50^{a}
WPI/PD20%	28.97 ± 3.09^{c}	21.35 ± 1.38^{a}
WPI/CNF2.5%/PD10%	31.11 ± 3.31^{a}	16.31 ± 0.97^{c}
WPI/CNF2.5%/PD20%	28.47 ± 2.97^{cd}	20.63 ± 3.05^{ab}
WPI/CNF5%/PD10%	30.57 ± 3.42^{a}	17.60 ± 1.51^{c}
WPI/CNF5%/PD20%	30.31 ± 2.98^{a}	18.52 ± 0.50^{bc}

Data are expressed as mean ± standard deviation (n=3) and different letters show significant difference at the 5% level in Duncan's test ($p < 0.05$); WPI: whey protein isolate, CNF: cellulose nanofiber, PD: polydextrose.

3-3-زاویه تماس آب

تعیین خصوصیات کشش سطحی از طریق اندازه‌گیری زاویه تماس می‌تواند یک معیار مناسب برای تعیین میزان حساسیت به رطوبت فیلم‌های بیوپلیمری باشد. زاویه تماس، نیروهای غیرکووالانسی بین مایع و لایه اول مواد را اندازه‌گیری می‌کند. درصورتی‌که بین دوفاز تعامل قوی برقرار باشد، قطره آب بر روی سطح ماده پخش می‌شود و آن را تر می‌کند. افزایش زاویه تماس قطره آب با فیلم، نشان‌دهنده افزایش خصوصیات آب-گریزی سطح فیلم‌ها می‌باشد [31]. مطابق جدول 3، نتایج بررسی زاویه تماس آب، نشانگر آن بود که افزودن نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز به‌طور قابل توجهی مقادیر زاویه

تماس را افزایش داد (P<0/05). در بین نمونه‌های حاوی ترکیب نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز، نمونه WPI/CNF2.5%/PD20% (20/63±3/05 درجه)، بیشترین میزان زاویه تماس را نشان داد (P<0/05). افزایش میزان آب‌گریزی سطحی در این نمونه را می‌توان به کاهش گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار فیلم، به‌علت تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین پلی‌دکستروز، نانوفیبرسلولز و WPI **[31]** و همچنین میزان تبلور بالای نانوفیبرسلولز و انتقال این ویژگی به ماتریس فیلم مرتبط دانست [8].

3-4- رنگ فیلم

خصوصیات رنگی به‌دلیل اثرگذاری بر ظاهر کلی و پذیرش مصرف‌کننده از اهمیت بالایی برخوردار است [25]. نتایج شاخص‌های رنگی (L^*, a^*, b^*, ΔE, WI, YI) در جدول 4 خلاصه شده است. طبق نتایج به‌دست آمده، فیلم حاصل از ایزوله پروتئین آب‌پنیر از روشنایی مطلوبی برخوردار بود؛ به‌طوری‌که مطابق نتایج پریرا و همکاران (2016)، پروتئین آب‌پنیر پلیمر موثری در تولید فیلم‌های شفاف، بدون مزه، بو، رنگ و انعطاف‌پذیر است [17]. مطابق نتایج به‌دست آمده در غلظت بالای نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز میزان L^* و WI نمونه‌های فیلم روند نزولی داشت که این اثر با ترکیب نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز جبران گردید. به‌طوری‌که شاخص L^* نمونه‌های حاوی ترکیب نانوفیبرسلولز و پلی-دکستروز با مقادیر این شاخص در فیلم WPI تفاوت معنی-داری نداشت (P>0/05). با این حال شاخص سفیدی نمونه-های حاوی ترکیب نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز به‌طور قابل توجهی کمتر از میزان این شاخص در نمونه فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین آب پنیر بود (P<0/05). مطالعات قبلی انجام گرفته در این زمینه نتایج مشابهی در رابطه با کاهش میزان سفیدی و روشنایی فیلم‌های حاصل از نشاسته موز [9] و کیتوزان ترکیب شده با نانوفیبرسلولز را گزارش نمودند [32].

علاوه بر این تفاوت معنی‌داری با افزودن نانوفیبر سلولز در مقادیر شاخص a^* مشاهده نگردید (P>0/05)، این در حالی است که افزودن 20 درصد پلی‌دکستروز منجر به افزایش معنی‌دار شاخص a^* شد (P<0/05). شاخص b^* و زردی نمونه‌های فیلم با افزودن نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز روند افزایشی نشان دادند؛ به‌طوری‌که در بین نمونه‌های حاوی ترکیب نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز بیشترین میزان شاخص b^* (36/73±0/92) و شاخص زردی (88/44±2/25) مربوط به نمونه WPI/CNF5%/PD20% بود؛ این امر با یافته‌های وکولیس و همکاران (2014)، در رابطه با اثر افزودن پری-بیوتیک‌هایی نظیر پلی‌دکستروز و اینولین در فیلم و افزایش شاخص‌های a^* و b^* مطابقت داشت [11]. طبق نتایج به‌دست آمده؛ افزودن نانو فیبرسلولز و پلی‌دکستروز، به‌طور قابل توجهی میزان تغییرات رنگی را افزایش داد و میزان تغییرات رنگی نمونه‌های فیلم با افزایش میزان غلظت این ترکیبات روند صعودی داشت؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان تغییرات رنگی مربوط به نمونه WPI/CNF5%/PD20% (17/85±0/23) بود. این نتایج می‌توانند به دلیل افزایش مختصات رنگ‌سنجی و کاهش مقدار شاخص روشنایی از طریق افزودن نانوفیبرسلولز و پلی‌دکستروز عنوان گردند. در این رابطه تیبولا و همکاران (2019)، گزارش نمودند که افزایش نانوفیبرسلولز میزان تغییرات رنگی فیلم‌های تولید شده از نشاسته موز را افزایش داد که این امر به علت افزایش شاخص‌های a^* و b^* و کاهش شاخص L^* بود [9]. همچنین پیرماریا و همکاران (2015)، در مطالعه خود در رابطه با فیلم کفیران حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی به این نتیجه دست یافتند که میزان تغییرات رنگی با افزایش میزان ماده جامد در فیلم افزایش یافت که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت [13].

Table 4 Color parameters of WPI-based bioactive film samples.

Samples	L*	a*	b*	WI	YI	ΔE
WPI	60.46 ± 0.11^{ab}	-9.33 ± 0.41^{b}	20.46 ± 0.30^{d}	54.51 ± 0.16^{a}	48.35 ± 0.74^{f}	00.00 ± 0.00^{e}
WPI/CNF2.5%	60.46 ± 0.90^{ab}	-9.13 ± 0.30^{b}	21.46 ± 1.51^{d}	54.08 ± 1.40^{a}	50.75 ± 4.29^{f}	1.48 ± 1.54^{d}
WPI/CNF5%	58.13 ± 0.98^{d}	-8.80 ± 0.34^{b}	38.13 ± 0.90^{a}	42.68 ± 0.87^{e}	93.72 ± 2.67^{a}	16.47 ± 0.53^{a}
WPI/PD10%	60.40 ± 0.91^{ab}	-9.33 ± 0.80^{b}	24.20 ± 0.52^{c}	52.65 ± 0.52^{b}	57.23 ± 0.66^{e}	3.92 ± 0.42^{c}
WPI/PD20%	58.46 ± 0.30^{cd}	-6.80 ± 0.91^{a}	29.80 ± 1.63^{b}	48.41 ± 1.21^{c}	72.82 ± 4.22^{c}	9.95 ± 1.37^{b}
WPI/CNF2.5%/PD10%	60.20 ± 0.20^{ab}	-9.80 ± 0.52^{b}	23.60 ± 0.20^{c}	52.70 ± 0.07^{b}	56.00 ± 0.28^{e}	3.23 ± 0.31^{cd}
WPI/CNF2.5%/PD20%	61.13 ± 0.80^{a}	-6.46 ± 1.50^{a}	28.40 ± 1.38^{b}	51.39 ± 0.40^{b}	66.35 ± 2.62^{d}	8.54 ± 2.17^{b}
WPI/CNF5%/PD10%	59.86 ± 0.11^{b}	-9.26 ± 0.57^{b}	24.13 ± 0.11^{c}	52.25 ± 0.14^{b}	57.58 ± 0.24^{e}	3.73 ± 0.40^{c}
WPI/CNF5%/PD20%	59.33 ± 0.50^{bc}	-7.13 ± 0.64^{a}	36.73 ± 0.92^{a}	44.73 ± 0.69^{d}	88.44 ± 2.25^{b}	17.85 ± 1.23^{a}

Data are expressed as mean ± standard deviation (n=3) and different letters show significant difference at the 5% level in Duncan's test ($p < 0.05$); WPI: whey protein isolate, CNF: cellulose nanofiber, PD: polydextrose, ΔE: total color difference, WI: whiteness index, and YI: yellowness index.

3-5- اثرات ضدمیکروبی فیلم بر گوشت گاو

به‌منظور بررسی قابلیت فیلم پروبیوتیک نانوکامپوزیت برپایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر برای استفاده به‌عنوان یک پوشش کنترل کننده فساد میکروبی، تغییرات رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی، سرمادوست‌ها وکلی‌فرم در گوشت گاو مورد بررسی قرار گرفت (جدول 5). از فیلم WPI/CNF5%/PD20% در دوحالت حاوی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و بدون این باکتری پروبیوتیک برای پوشش‌دهی گوشت گاو استفاده گردید. با مقایسه نتایج به‌دست آمده با نمونه گوشت بدون پوشش، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از باکتری لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در ترکیب فیلم خوراکی موجب کاهش در رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی، سرماگراها و کلی‌فرم‌ها در طی مدت زمان نگهداری نسبت به نمونه گوشت بدون پوشش در دمای 4 درجه سلسیوس گردید که اثر آن تا روز ششم نگهداری قابل توجه بود ($P<0/05$). همچنین علی‌رغم اینکه پوشش‌های بدون باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[2] نیز تا روز ششم نگهداری منجر به کاهش معنی‌دار رشد میکروارگانیسم‌های مورد آزمون نسبت به نمونه گوشت بدون پوشش شدند؛ ولی میزان این کاهش نسبت به نمونه‌های پوشش‌دار شده با فیلم حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* کمتر بود. این امر می‌تواند به‌علت حضور باکتری اسیدلاکتیک و رقابت با میکروارگانیسم‌های عامل فساد و همچنین تولید متابولیت‌هایی نظیر اسیدهای آلی (اسید لاکتیک و استیک)، هیدروژن پراکسید، اتانول، دی‌استیل، استالدئید و سایر ترکیبات با وزن مولکولی پایین توسط باکتری پروبیوتیک و مهاجرت این ترکیبات از فیلم به محصول در تماس باشد که منجر به ایجاد خواص ضدمیکروبی می‌گردد [12]. نتایج به‌دست آمده با مطالعات انجام پذیرفته توسط تاپیا و همکاران (2007)، در رابطه با بهبود ماندگاری سیب و پاپایا با استفاده از فیلم خوراکی ژلان و آلژینات حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*[3] [33]، بریتو و فونتز (2011)، در رابطه با بهبود ماندگاری ماهی سالمون با استفاده از فیلم آلژینات حاوی *کارنوباکتریوم مالتراماتیکوم*، لوپز و همکاران (2012)، در رابطه با تلقیح *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[4] *و بیفیدوباکتریوم* در فیلم ژلاتین و اثر آن در کاهش بار میکروبی ماهی مطابقت داشت [34]. دراین رابطه گیالاماس و همکاران (2010)، در مطالعه خود در مورد تولید فیلم سدیم کازئینات تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس ساکئی*[5] و اثر آن در نمونه گوشتی که قبلاً با *لیستریا مونوسیتوجنز*[6] تلقیح شده بود؛ به این نتیجه دست یافتند که بعد از تماس فیلم با محصول نگهداری شده، مقدار *لاکتوباسیلوس ساکئی* به سرعت افزایش یافت و مقدار باکتری پاتوژن *لیستریا مونوسیتوجنز* کاهش قابل توجهی نشان داد [**35**]. همچنین مطابق نتایج محمدی و همکاران (2011)، فیلم‌های حاصل از پروتئین آب‌پنیر دارای اثر مثبت بر زنده‌مانی میکروارگانیسم-های پروبیوتیک در طی مدت زمان نگهداری بودند که این امر به‌دلیل ارائه موادمغذی به سلول‌های باکتری، کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء محیط درکنار افزایش ظرفیت بافری عنوان گردید [17].

2 Lactobacillus plantarum

3 Bifidobacterium lactis
4 Lactobacillus acidophilus
5 Lactobacillus sakei
6 Listeria monocytogenes

Table 5 Variation in population of different bacterial groups during cold storage

Treatment	Microbial Group	Storage time (day)				
		2th	4th	6th	8th	10th
Meat covered with film containing *Lactobacillus plantarum*	Aerobic mesophilic bacteria	3.50±0.17^{cd}	5.00±0.12^{c}	5.90±0.20^{e}	8.25±0.19^{bc}	9.09±0.09^{abc}
	Psychrotrophic bacteria	3.21±0.10^{d}	4.15±0.44^{d}	4.94±0.22^{f}	7.33±0.42^{e}	8.83±0.29^{c}
	Coliform bacteria	2.54±0.11^{d}	4.24±0.24^{d}	5.09±0.11^{f}	7.69±0.13^{de}	8.95±0.08^{bc}
Meat covered with film without *Lactobacillus plantarum*	Aerobic mesophilic bacteria	4.72±0.28^{ab}	6.06±0.06^{b}	7.2±0.24^{cd}	9.00±0.09^{a}	9.23±0.12^{abc}
	Psychrotrophic bacteria	4.21±0.29^{bc}	5.35±0.20^{c}	6.91±0.20^{d}	8.64±0.50^{ab}	9.14±0.29^{abc}
	Coliform bacteria	3.06±0.16^{d}	4.88±0.23^{c}	5.97±0.07^{e}	7.27±0.11^{e}	9.05±0.12^{abc}
Meat without coating	Aerobic mesophilic bacteria	5.70±0.18^{a}	6.95±0.12^{a}	8.58±0.24^{a}	8.94±0.21^{a}	9.41±0.02^{a}
	Psychrotrophic bacteria	5.26±0.79^{a}	6.49±0.20^{ab}	8.04±0.11^{b}	8.83±0.35^{a}	9.31±0.18^{ab}
	Coliform bacteria	5.06±0.74^{ab}	6.20±0.21^{b}	7.51±0.18^{c}	8.46±0.28^{abc}	9.27±0.11^{ab}

Data are expressed as mean ± standard deviation (n=3) and different letters show significant difference at the 5% level in Duncan's test ($p < 0.05$).

4- نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد فیلم‌های نانوکامپوزیت برپایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر-پلی‌دکستروز حاوی نانوفیبرسلولز و باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از خصوصیات فیزیکی و ضدمیکروبی مطلوبی برخوردار بودند. به‌طورکلی نتایج نشانگر آن بود که استفاده از پلی‌دکستروز و نانوفیبرسلولز موجب افزایش ضخامت فیلم، زاویه تماس و تغییرات رنگی و کاهش جذب رطوبت فیلم گردید. همچنین نتایج پوشش‌دهی نمونه‌های گوشت با فیلم بهینه نیز نشانگر کاهش قابل توجه در میزان رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی، سرماگراها و کلی‌فرم‌ها در طی مدت زمان نگهداری در مقایسه با نمونه گوشت بدون پوشش بود.

5- تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

6- منابع

[1] Fathi, N., Almasi, H., & Pirouzifard, M. K. (2018). Effect of ultraviolet radiation on morphological and physicochemical properties of sesame protein isolate based edible films. Food Hydrocoll. 85:136–143.

[2] Amjadi, S., Emaminia, S., Heyat Davudian, S., Pourmohammad, S., Hamishehkar, H., & Roufegarinejad, L. (2019). Preparation and characterization of gelatin-based nanocomposite containing chitosan nanofiber and ZnO nanoparticles. Carbohydr Polymer. 216:376–384.

[3] Azevedo, V. M., Dias, M. V., Borges, S. V., Costa, A. L. R., Silva, E. K., Medeiros, É. A. A., & Soares, N. de F. F. (2015). Development of whey protein isolate bio-nanocomposites: Effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. Food Hydrocoll. 48:179–188.

[4] Oymaci, P., & Altinkaya, S. A. (2016). Improvement of barrier and mechanical properties of whey protein isolate based food packaging films by incorporation of zein nanoparticles as a novel bionanocomposite. Food Hydrocoll. 54:1–9.

[5] Ghanbari, A., Tabarsa, T., Ashori, A., Shakeri, A., & Mashkour, M. (2018). Preparation and characterization of thermoplastic starch and cellulose nanofibers as green nanocomposites: Extrusion processing. Int J Biol Macromol. 112:442–447.

[6] Kassab, Z., Aziz, F., Hannache, H., Ben Youcef, H., & El Achaby, M .(2019). Improved mechanical properties of k-carrageenan-based nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals. Int J Biol Macromol. 123:1248–1256.

[7] Niu, X., Liu, Y., Song, Y., Han, J., & Pan, H. (2018). Rosin modified cellulose nanofiber as a reinforcing and co-antimicrobial agents in polylactic acid /chitosan composite film for food packaging. Carbohydr Polym. 183:102–109.

[8] Shabanpour, B., Kazemi, M., Ojagh, S. M., & Pourashouri, P. (2018). Bacterial cellulose nanofibers as reinforce in edible fish

Martino, M. E, et al .(2018). Qualification of tropical fruit-derived Lactobacillus plantarum strains as potential probiotics acting on blood glucose and total cholesterol levels in Wistar rats. Food Res Int. 1-39.

[19] Kazemalilou, S., & Alizadeh, A. (2017). Optimization of sugar replacement with date syrup in prebiotic chocolate milk using response surface methodology. Korean J Food Sci Anim Resour. 37:449–455.

[20] Alizadeh, A., Oskuyi, A. S., Amjadi, S. (2019). The optimization of prebiotic sucrose-free mango nectar by response surface methodology: The effect of stevia and inulin on physicochemical and rheological properties. Food Sci Technol Int. 25:243–251.

[21] Silva, E. K., Zabot, G. L., Cazarin, C. B. B., Maróstica, M. R., & Meireles, M. A. A. (2016). Biopolymer-prebiotic carbohydrate blends and their effects on the retention of bioactive compounds and maintenance of antioxidant activity. Carbohydr Polym. 144:149–158.

[22] Karami Moghadam, A., & Emam Djomeh, Z. (2017). Antimicrobial activity of caseinate – based edible film incorporated with pomegranate peel extract on minced meat. J Food Sci Technol. 62:323–330.

[23] Karimi, N., Alizadeh, A., Almasi, H., & Hanifian, S. (2019). Preparation and characterization of whey protein isolate/polydextrose-basednanocomposite film incorporated with cellulose nanofiber and L. plantarum: A newprobiotic active packaging system. Food Science and Technology. 1-41.

[24] Ghadetaj, A., Almas,i H., & Mehryar, L. (2018). Development and characterization of whey protein isolate active films containing nanoemulsions of Grammosciadium ptrocarpum Bioss. essential oil. Food Packag Shelf Life. 16:31–40.

[25] Amjadi, S., Emaminia, S., Nazari, M., Davudian, S. H., Roufegarinejad, L., & Hamishehkar, H. (2019). Application of Reinforced ZnO Nanoparticle-Incorporated Gelatin Bionanocomposite Film with Chitosan Nanofiber for Packaging of Chicken Fillet and Cheese as Food Models. Food Bioprocess Technol. 12:1205–1219.

[26] Alizadeh Sani, M., Ehsani, A., & Hashemi, M. (2017). Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO2 nanoparticle/rosemary essential oil myofibrillar protein nanocomposite films. Int J Biol Macromol. 117:742–751.

[9] Tibolla, H., Pelissari, F. M., Martins, J. T., Lanzoni, E. M., Vicente, A. A., Menegalli, F. C., & Cunha, R. L. (2019). Banana starch nanocomposite with cellulose nanofibers isolated from banana peel by enzymatic treatment: In vitro cytotoxicity assessment. Carbohydr Polym .207:169–179.

[10] Soukoulis, C., Singh, P., Macnaughtan, W., Parmenter, C., & Fisk, I. D. (2016). Compositional and physicochemical factors governing the viability of Lactobacillus rhamnosus GG embedded in starch-protein based edible films. Food Hydrocoll. 52: 876–887.

[11] Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Yonekura, L., Parmenter, C., & Fisk, I. D. (2014). Stability of Lactobacillus rhamnosus GG in prebiotic edible films. Food Chem. 159:302–308.

[12] Espitia, P. J. P., Batista, R. A., Azeredo, H. M. C., & Otoni, C. G. (2016). Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. Food Res Int. 90:42–52.

[13] Piermaria, J., Diosma, G., Aquino, C., Garrote, G., & Abraham, A. (2015). Edible kefiran films as vehicle for probiotic mi.croorganisms. Innov Food Sci Emerg Technol. 32:193–199.

[14] Pavli, F., Tassou ,C., Nychas, G. J. E., & Chorianopoulos, N. (2018). Probiotic incorporation in edible films and coatings: Bioactive solution for functional foods. Int J Mol Sci. 19:1–17.

[15] Bambace, M. F., Alvarez, M. V., & Moreira, M. D. R. (2019). Novel functional blueberries: Fructo-oligosaccharides and probiotic lactobacilli incorporated into alginate edible coatings. Food Res Int. 122:653–660.

[16] Ebrahimi, B., Mohammadi, R., Rouhi, M., Mortazavian, A. M., Shojaee-Aliabadi, S., & Koushki, M. R. (2018). Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. LWT - Food Sci Technol. 87:54–60.

[17] Odila Pereira, J., Soares, J., Sousa, S., Madureira, A. R., Gomes, A., & Pintado, M. (2016). Edible films as carrier for lactic acid bacteria. LWT - Food Sci Technol. 73: 543-550.

[18] Da Costa, W. K. A., Brandão, L. R.,

carboxymethyl cellulose biocomposite films as influenced by copper oxide nanoparticles (CuONPs). Food Packag Shelf Life. 17:196–204.

[32] Jahed, E., Khaledabad, M. A., Bari, M. R., & Almasi, H. (2017). Effect of cellulose and lignocellulose nanofibers on the properties of Origanum vulgare ssp. gracile essential oil-loaded chitosan films. React Funct Polym. 117:70–80.

[33] Tapia, M., Rojas-Grau, M. A., Rodrigguez, F. J., Ramirez, J., Carmona, A., & Martin-Belloso, O. (2007). Alginate- and Gellan-Based Edible Films for Probiotic Coatings on Fresh-Cut Fruits. Journal of Food Science. 72:190–196.

[34] López De Lacey, A. M., López-Caballero, M. E., Gómez-Estaca, J., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2012). Functionality of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum incorporated to edible coatings and films. Innov Food Sci Emerg Technol. 16:277–282.

[35] Gialamas, H., Zinoviadou, K. G., Biliaderis, C. G., & Koutsoumanis, K. P. (2010). Development of a novel bioactive packaging based on the incorporation of Lactobacillus sakei into sodium-caseinate films for controlling Listeria monocytogenes in foods. FRIN. 43:2402–2408.

nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. Int J Food Microbiol. 251:8–14.

[27] Azeredo, H. M. C., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena-Bustils, R. J., & McHugh, T. H. (2009). Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. J Food Sci. 74:31–35

[28] Amankwaah, C. (2013). Incorporation of selected plant extracts into edible chitosan films and the effect on the antiviral, antibacterial and mechanical properties of the material. Ohio State University. Pp:148.

[29] Soni, B., Hassan, E. B., Schilling, M. W., & Mahmoud, B. (2016). Transparent bionanocomposite films based on chitosan and TEMPO-oxidized cellulose nanofibers with enhanced mechanical and barrier properties. Carbohydr Polym. 151:779–789.

[30] Baradaran Safa, M. R., & Almasi, H. (2016). Investigation of the physical and antimicrobial properties of sodium alginate – agar based bionanocomposite film containing nanosilver and cellulose nanofiber. J Food Res. 26:601–613.

[31] Hasheminya, S. M., Rezaei Mokarram, R., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., & Kafil, H. S. (2018). Physicochemical, mechanical, optical, microstructural and antimicrobial properties of novel kefiran-

Investigating of some physical properties of whey protein isolate – polydextrose based nanobiocomposite film containing cellulose nanofiber and *Lactobacillus plantarum* and its effect on beef shelf-life

Karimi, N. [1], Alizadeh, A. [2*], Almasi, H. [3], Hanifian, SH. [4]

1. Ph.D Student Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran.
4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

(Received: 2020/01/06 Accepted: 2020/02/15)

There is a growing interest in bioactive packaging systems due to their potential for the extended shelf life of food products. In this way, to produce probiotic nanocomposite whey protein isolate-polydextrose film containing cellulose nanofiber and *Lactobacillus plantarum* probiotic bacteria and evaluation of its antimicrobial effect on beef shelf life during storage time, different concentrations of polydextrose (0, 10 and 20 wt / wt% whey protein isolate) and cellulose nanofiber (0, 2.5 and 5 wt / wt% whey protein isolate) were used for film preparation. Effect of variables on physical properties of the film (thickness, moisture absorption, water contact angle, and color properties) and effect of optimal film antimicrobial properties on enhancing the beef shelf-life during 8-day storage time in refrigerated conditions was examined. The results showed compatibility between the protein matrix of whey protein isolate, cellulose nanofiber and polydextrose. The use of polydextrose and cellulose nanofiber had a significant effect on increasing the film thickness, water contact angle, color changes and decreased the moisture absorption of the film. The results of covering the meat samples with the optimum film indicated a significant decrease in the growth of aerobic mesophilic bacteria, psychrotrophic and coliform bacteria during storage time. Finally, the results showed that the application of cellulose nanofiber and polydextrose in the film produced from whey protein isolate could improve the shelf-life of beef compared to the uncovered meat sample by creating a bioactive food packaging.

Keywords: Bioactive packaging, Cellulose nanofiber, *Lactobacillus plantarum* , Polydextrose, Whey protein isolate.

* Corresponding Author E-Mail Address: a.alizadeh@iaut.ac.ir