مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هجدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، صفحات ۵۹-۵۱

استفاده از فاژ در فیلم‌های ژلاتین-پلولان علیه باکتری بیماری‌زای *سالمونلا*

اسما انتظاری[۱]، ناصر صداقت[۲]، گلشن شاکری[۳]

۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- نویسنده مسئول: استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. پست الکترونیکی: sedaghat@um.ac.ir

۳- محقق فلوشیپ، مؤسسه دولتی ارزیابی ریسک آلمان، برلین

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به پیدایش گونه‌های مقاوم باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها و عملکرد اختصاصی آن‌ها بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا که برای سلامت انسان خطرناک هستند، استفاده از باکتریوفاژها یک جایگزین مناسب می‌باشد. موضوع دیگر استفاده از پلیمرهایی است که زیست تخریب پذیر هستند و می‌توانند به جای ترکیبات نفتی مورد استفاده قرار گیرند. در این مطالعه، اثر افزودن ژلاتین و باکتریوفاژ بر خصوصیات فیلم پلولان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش اثر درصدهای مختلف ژلاتین (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ ٪) و محلول باکتریوفاژ بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ضد باکتریایی فیلم پلولان بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایشات نشان دادند که ورود باکتریوفاژ به فیلم ها بر ضخامت، تورم، نفوذ پذیری به بخارآب، مقاومت کششی و مدول یانگ تأثیر آماری معناداری نداشت، اما منجر به افزایش کشش پذیری در فیلم ها شد. هم چنین، شفافیت فیلم‌های خالص ژلاتین کاهش و پلولان افزایش یافت در حالی که، در فیلم‌های ترکیبی ژلاتین-پلولان نتایج متفاوتی مشاهده شد. اثر ضد باکتریایی فیلم‌های ژلاتین خالص و ترکیبی ژلاتین-پلولان بر علیه پاتوژن بیشتر از فیلم پلولان خالص بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان دادند که افزودن ژلاتین به فیلم پلولان می‌تواند به تثبیت بهتر باکتریوفاژها در فیلم پلولان کمک کند و در نتیجه اثر ضد باکتریایی در برابر *سالمونلا انتریتیدیس* بهتری به دست آورد.

واژگان کلیدی: زیست تخریب پذیر، فیلم خوراکی، باکتریوفاژ، ضد باکتریایی

• مقدمه

سالمونلا انتریکا یک عامل مهم در از بین رفتن مواد غذایی، اقتصاد، و سلامت انسان تلقی است. دو زیر گونه مهم آن *سالمونلا تایفی موریوم* و *انتریتیدیس* به عنوان عوامل مهم در شیوع بیماری‌های ناشی از مواد غذایی شناخته شده اند (۱). استفاده از بسته بندی‌های فعال دارای ترکیبات ضد میکروبی به منظور جلوگیری از رشد پاتوژن ها در سطح مواد غذایی به عنوان یک تکنولوژی هردل (Hurdle Technology) می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (۲). به کارگیری بسته بندی‌های حاوی ترکیبات ضد میکروبی به دلیل افزایش ایمنی و مدت ماندگاری مورد توجه قرار گرفته است. در سال‌های اخیر، توجه مصرف کنندگان به ترکیبات طبیعی به جای استفاده از مواد شیمیایی افزایش یافته است (۳). باکتریوفاژها ویروس اختصاصی باکتری ها هستند، و به عنوان بیوکنترل‌های اختصاصی علیه باکتری‌های بیماری زا در سیستم‌های غذایی مورد استفاده هستند (۴). فاژهای کوکتیل (ترکیبی از چند فاژ) می‌توانند به منظور غلبه بر محدودیت طیف میزبانی فاژ مورد استفاده قرار گیرند (۵). فاژهای تجاری مختلفی در بازار موجود هستند که از آن جمله می‌توان به فاژ سالمونلکس (SALMONELEX™) اشاره کرد (۶). سالمونلکس یک فاژ کوکتیل حاصل ترکیب دو فاژ Felix 0-1 و S16 است که بر علیه طیف وسیعی از گونه‌های باکتری *سالمونلا* استفاده می‌شود (۷).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]

پلولان یک اگزوپلی ساکارید است که توانایی خوبی در تشکیل فیلم دارد. فیلم‌های پلولان ویژگی‌های خوبی مانند شفافیت، بی بویی، بی مزه گی، بی رنگی، حلالیت در آب، و نفوذ پذیری پایین به اکسیژن و چربی دارد اما دارای قیمت بالایی است، بنابراین یک استراتژی ترکیب کردن با دیگر پلیمرهاست. مطالعات متعددی در مورد ترکیب پلی ساکاریدها با پروتئین ها در راستای بهبود عملکرد و کاهش هزینه‌های فیلم‌های تولیدی انجام شده ا ست. ژلاتین یک گزینه منا سب برای ترکیب با پلولان به لحاظ خصوصیات مکانیکی خوب، کاهش نفوذ پذیری، و قیمت مناسب است (۸). مطالعات مختلفی به لحاظ ا ستفاده از باکتریوفاژها در پو شش ها و فیلم ها به عنوان ترکیبات ضد میکروبی انجام شده ا ست، که برای مثال می‌توان به استفاده از آن ها در کنسانتره پروتئین آب پنیر، کربوک سی متیل سلولز، ژلاتین، و آلژینات سدیم ا شاره کرد (۱۱-۹).

در این پژوهش، فیلم های ضد باکتریایی ژلاتین-پلولان حاوی باکتریوفاژ به لحاظ خ صو صیات فیزیکو شیمیایی و ضد باکتریایی آن ها در برابر باکتری پاتوژن *سالمونلا انتریتیدیس* مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت. به علاوه، رهایش باکتریوفاژها از فیلم ها به محیط آبی در دو دمای ۴ درجه سلسیوس و دمای محیط بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

مواد

در این مطالعه ژلاتین، گلیسرول، و تریش-بیس از شرکت سیگما آلدریچ، پلولان از شرکت هایاشیبارای ژاپن خریداری شدند. مواد شیمیایی زایلوز لیزین دکسیکولات، تریپتون سوی براث و آگار از شرکت اکسوید انگلیس، منیزیوم سولفات ۷ آبه($Mgso_4.7H_2O$) از اوتووگ آلمان، و کلرید سدیم از شرکت لب کم اسپانیا تهیه شدند.

تیتراسیون فاژ سالمونلا

ابتدا فاژ تجاری سالمونلکس (میکروئوس، هلند) توسط SM (Saline Magnesium) بافر رقت سازی شد، سپس ۱۰۰ مایکرولیتر از کالچر *سالمونلا اینتریتیدیس*(SE 13) ۱۸ ساعته به تیوب های محیط تریپتون سوی براث TSB (Tryptone Soy Broth) حاوی ۰/۴٪ اگار منتقل کرده و بعد ۱۰۰ مایکرولیتر از هر رقت به آن ها ا ضافه شد و ورتکس گردیدند، سپس روی محیط تریپتون سوی آگار TSA (Tryptone Soy Agar) ریخته شدند و در نهایت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای مدت ۲۴ ساعت انکوبه و تعداد پلاک ها شمارش گردید (۱۲).

تهیه فیلم ژلاتین-پلولان حاوی باکتریوفاژ

۱۰ گرم از پودرهای ژلاتین و پلولان به صورت جداگانه به ۱۰۰ میلی لیتر آب اضافه شدند، سپس گلیسرول ۲۰٪ (وزنی/وزنی) براساس وزن بیو پلیمر افزوده گردید و برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سل سیوس تو سط هیتر هم زده شدند. در مرحله بعد، محلول فیلم های ژلاتین و پلولان به ترتیب با نسبت های ۰-۱۰۰، ۲۰-۸۰، ۴۰-۶۰، ۶۰-۴۰، و ۸۰-۲۰، و ۱۰۰-۰ ٪ با یکدیگر مخلوط شدند و برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سلسیوس هم مخلوط شدند تا محلول یکنواخت و همگنی به دست آید (۱۳). در نهایت محلول فاژ به محلول فیلم ها در دمای ۳۰ درجه سلسیوس ا ضافه و مدت ۵ دقیقه با سرعت پایین هم زده شدند، سپس محلول فیلم ها به روش کستینگ قالب ریزی شدند و در درجه حرارت اتاق طی ۲ روز خشک شدند. فیلم‌های تهیه شده قبل از انجام آزمایشات برای مدت ۴۸ ساعت مشروط (دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰ ٪) شدند. فیلم‌های بدون فاژ به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند.

ضخامت فیلم ها

ضخامت هریک از فیلم ها تو سط میکرومتر دیجیتال در ۵ نق طه مختلف از فیلم ها ان جام و م یانگین آن ها به عنوان ضخامت نهایی در نظر گرفته شد.

تورم

فیلم ها به ابعاد cm^2 ۱×۵ برش داده شده و وزن گردیدند (s_1) و در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق برای مدت ۵ دقیقه فرو برده شدند. فیلم ها از آب برداشته شده و روی کاغذ واتمن قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند و در نهایت وزن نهایی آن ها ثبت شد (s_2) و با توجه به فرمول زیر تورم محاسبه شد (۹):

$$\text{تورم (٪)} = (S2 - S1 / S1) \times 100$$

حلالیت در آب

به منظور بررسی حلالیت در آب از روش دهناد و همکاران (۲۰۱۴) با مقداری اصلاحات استفاده شد. فیلم‌های برش داده شده به ابعاد cm^2 ۵ ×۱ در آون با دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس برای مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و فیلم ها وزن گردیدند، سپس فیلم ها به صورت جداگانه در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق برای مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و وزن آن ها بعد از قرار گیری بر روی کاغذ واتمن ثبت شد. سپس مجدد فیلم ها در آون با دمای ۱۱۰ درجه برای مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و در نهایت وزن گردیدند و حلالیت در آب با توجه به

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]

فرمول زیر محاسبه شد (۱۴). W_1و W_2 به ترتیب وزن اولیه و وزن نهایی فیلم ها هستند.

$$\text{حلالیت (٪)} = (W_1 - W_2 / W_1) \times 100$$

نفوذ پذیری به بخار آب

ابتدا فیلم ها به دیسک هایی به قطر ۱/۵ سانتی متر برش داده شده و روی ظروف آلومینیومی که حاوی کلرید کلسیم بدون آب بودند، قرار گرفتند (رطوبت نسبی صفر)، سپس داخل دسیکاتور حاوی محلول کلرید سدیم اشباع شده (رطوبت نسبی ۷۰٪) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند، و طی بازه های زمانی مختلف تا ۲۴ ساعت وزن گردیدند. اختلاف فشار در دو طرف فیلم ۱۵۶۶/۱ پاسکال بود و نفوذ پذیری به بخار آب با توجه به فرمول زیر محاسبه شد (۱۵):

$$WVTR = Slope/A = \frac{\Delta m}{A\,\Delta t}$$

$$WVP = WVTR \times X / \Delta P$$

A نشان دهنده سطح فیلم (m^2)، $\Delta m/\Delta t$ نشان دهنده تغییر وزن در هر ساعت (g/h)، X نشان دهنده ضخامت (mm)، و ΔP اختلاف فشار نسبی(kpa) را نشان می‌دهند.

خصوصیات بافتی

خصوصیات مکانیکی فیلم ها توسط روش استاندارد ASTM D638 و دستگاه بافت سنج (AMETEK Measurement & Calibration Technologies Division, Largo, FL, USA) استفاده شد (۱۶). ابتدا فیلم ها به ابعاد ۵ × ۱ cm^2 برش داده شدند و بین دو فک دستگاه به فاصله ۶۵ میلی متر و سرعت ۱۰ میلی متر بر دقیقه قرار گرفتند. ضخامت فیلم ها در قسمت‌های مختلف به صورت تصادفی تو سط یک میکرومتر دیجیتال اندازه گیری شدند. آزمایشات در سه تکرار انجام شد. مقاومت کششی (TS)، مدول یانگ، و درصد ازدیاد طول(EAB) با توجه به فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$TS = F_{max}/A$$

$$EAB = \frac{\Delta L}{L} \times 100$$

F_{max} نشان دهنده حداکثر نیروی مورد نیاز برای شکست فیلم (N) و A نشان دهنده سطح اولیه (ضخامت × عرض، m^2). ΔL نشان دهنده اختلاف طول هنگام پاره شدن (mm)، و L هم نشان دهنده طول اولیه (mm) می‌باشند.

کدورت فیلم ها

به منظور بررسی کدورت فیلم ها از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) استفاده شد. ابتدا، فیلم ها به ابعاد ۱ × ۴ cm^2 برش داده شدند و در سل اسپکتروفتومتر قرار گرفتند، و سل خالی به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. با استفاده از فرمول زیرکدورت فیلم ها محاسبه گردید (۱۷):

$$\text{کدورت} = Abs_{600} / x$$

Abs_{600} = جذب در طول موج ۶۰۰ نانو متر

X = ضخامت فیلم (میلی متر)

ناحیه بازدارندگی فیلم ها

به منظور بررسی ناحیه بازدارندگی فیلم ها، ابتدا باکتری *سالمونلا اینتریتیدیس* در مرحله فاز لگاریتمی رشد تا رقت 10^4 (CFU/ml) در TSB رقیق شد و ۱۰۰ مایکرولیتر از آن با محیط تریپتون سوی براث حاوی ۰/۴ ٪ آگار مخلوط و روی تریپتون سوی براث دارای ۱/۵٪ آگار ریخته شد و صبر کرده تا در دمای محیط سفت شود. سپس، دیسک هایی از فیلم‌های حاوی باکتریوفاژ به قطر ۱۶ میلی متر بر روی آن ها قرار گرفت. دیسک‌های فیلم بدون باکتریوفاژ به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند (۱۸).

طرح آماری

آزمایشات براساس طرح کاملا تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل انجام شدند، و داده ها براساس روش تجزیه آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال آماری ۵٪ انجام شدند. آزمایشات در سه تکرار انجام گرفتند.

• یافته‌ها

خصوصیات فیزیکی

ضخامت، تورم، و حلالیت فیلم‌های با نسبت‌های مختلف ژلاتین-پلولان فاقد و حاوی باکتریوفاژ در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طور که نتایج نشان می‌دهند، افزودن ژلاتین به فیلم پلولان منجر به افزایش ضخامت و تورم شد، در حالی که، حلالیت کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). حلالیت فیلم ژلاتین در آب در دمای محیط ۲۹/۲۸٪ بود، در حالی که، یک پلی ساکارید مانند پلولان به طور کامل در آب حل شد. با توجه به حلالیت بالا در پلولان تورم در آن حاصل نشد. در فیلم‌های ترکیبی با افزایش غلظت پلولان حلالیت افزایش یافت.

افزودن باکتریوفاژ به فیلم‌های ژلاتین-پلولان تغییری را در ضخامت، تورم، و حلالیت فیلم ها منجر نشد ($p>۰/۰۵$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]

جدول ۱. مقایسه تغییرات ضخامت، تورم، و حلالیت فیلم‌های با نسبت‌های مختلف ژلاتین-پلولان فاقد و حاوی باکتریوفاژ

فیلم ها	ضخامت(mm)	تورم(%)	حلالیت (٪)
ژلاتین	۰/۱۱۲ ± ۰/۰۱^{AB}	۳۹۱/۷۵ ± ۳۱/۸۵^{A}	۲۹/۲۸ ± ۱/۰۱^{E}
ژلاتین+ فاژ	۰/۱۱۶ ± ۰/۰۰۵^{A}	۴۱۳/۰۹ ± ۲۸/۶۲^{A}	۳۲/۴۹ ± ۰/۲۳۳^{EF}
پلولان	۰/۸۹۹ ± ۰/۰۰۳^{C}	ب.آ*	۱۰۰ ± ۰/۰۰^{A}
پلولان + فاژ	۰/۰۸۹ ± ۰/۰۰۸^{C}	ب.آ*	۱۰۰ ± ۰/۰۰^{A}
۸۰ژلاتین:۲۰پلولان	۰/۱۱۳ ± ۰/۰۰۱^{AB}	۲۸۲/۳۲ ± ۵۷/۲۴^{B}	۲۴/۸۴ ± ۲/۱۴^{F}
۸۰ژلاتین:۲۰پلولان+ فاژ	۰/۱۱۲ ± ۰/۰۱^{AB}	۳۰۳/۰۲ ± ۹۸/۵۶^{B}	۲۶/۳۹ ± ۱/۴۱^{F}
۶۰ژلاتین:۴۰پلولان	۰/۱۱ ± ۰/۰۰۶^{AB}	۲۳۹/۴۷ ± ۲۴/۹۸^{B}	۵۳/۵۷ ± ۵/۰۴^{D}
۶۰ژلاتین:۴۰پلولان+ فاژ	۰/۱ ± ۰/۰۰۸^{B}	۲۲۵/۴۴ ± ۲۵/۸۸^{B}	۵۲/۴ ± ۱/۰۱^{D}
۴۰ژلاتین:۶۰پلولان	۰/۱۰۴ ± ۰/۰۰۱^{AB}	۴۹/۹۹ ± ۳۷/۴۴^{C}	۶۵/۶۶ ± ۲/۳۵^{C}
۴۰ژلاتین:۶۰پلولان+ فاژ	۰/۱۰۵ ± ۰/۰۰۱^{AB}	۵۰/۶ ± ۱۴/۹۹^{C}	۶۱/۸۱ ± ۲/۵۶^{C}
۲۰ژلاتین:۸۰پلولان	۰/۱۰۵ ± ۰/۰۰۳^{AB}	۴۷/۲۲ ± ۳۶/۰۵^{C}	۸۰/۴۸ ± ۱/۸۷^{B}
۲۰ژلاتین:۸۰پلولان+ فاژ	۰/۱۰۱ ± ۰/۰۰۰۷^{B}	۴۳/۰۵ ± ۲۶/۱۳^{C}	۷۹/۵۴ ± ۰/۸۴۸^{B}

مقادیر براساس میانگین±انحراف معیار گزارش شده است. حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار بین فیلم ها است ($p<۰/۰۵$).

*ب.آ: بدون آنالیز

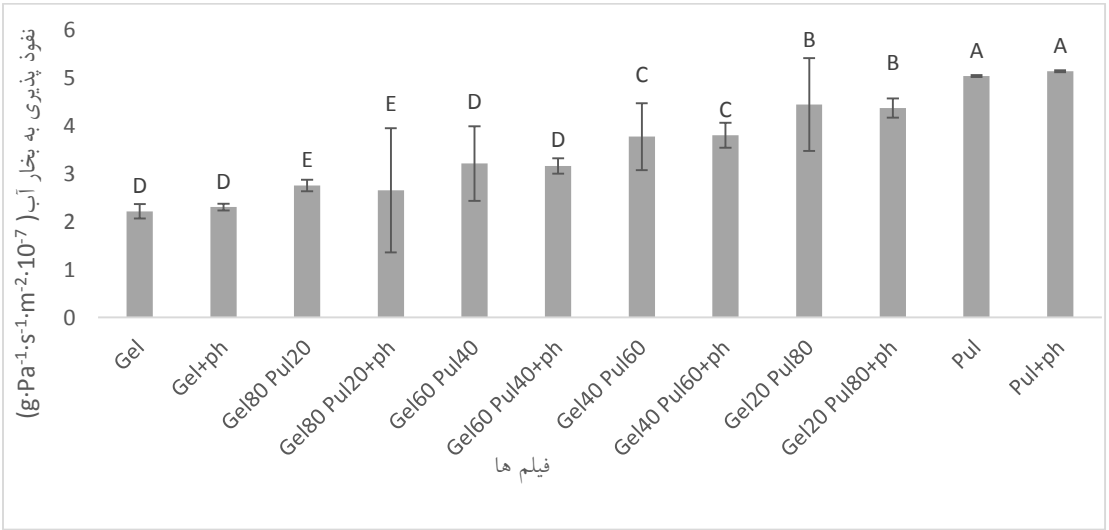
نفوذ پذیری به بخار آب

همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌کنید، افزودن باکتریوفاژ به فیلم ها تغییر معنی‌داری در نفوذ پذیری به بخار آب ایجاد نکرد ($p>۰/۰۵$)، در حالی که، افزودن ژلاتین به فیلم پلولان نفوذپذیری به بخار آب را تغییر داد ($p<۰/۰۵$). بیشترین و کم ترین نفوذپذیری به بخار آب به ترتیب مربوط به فیلم‌های پلولان و ژلاتین خالص بود.

خصوصیات مکانیکی

افزودن ژلاتین به فیلم پلولان مقاومت کششی و مدول یانگ را افزایش داد به طوری که، فیلم ژلاتین خالص بیشترین مقاومت کششی و مدول یانگ، و کم ترین کشش پذیری را در بین فیلم ها داشت اما بالاترین کشش پذیری مربوط به فیلم پلولان خالص بود (شکل ۲). هم چنان که درصد ژلاتین در فیلم افزایش می‌یافت مقاومت کششی و مدول یانگ افزایش داشتند، اما کشش پذیری کاهش یافت.

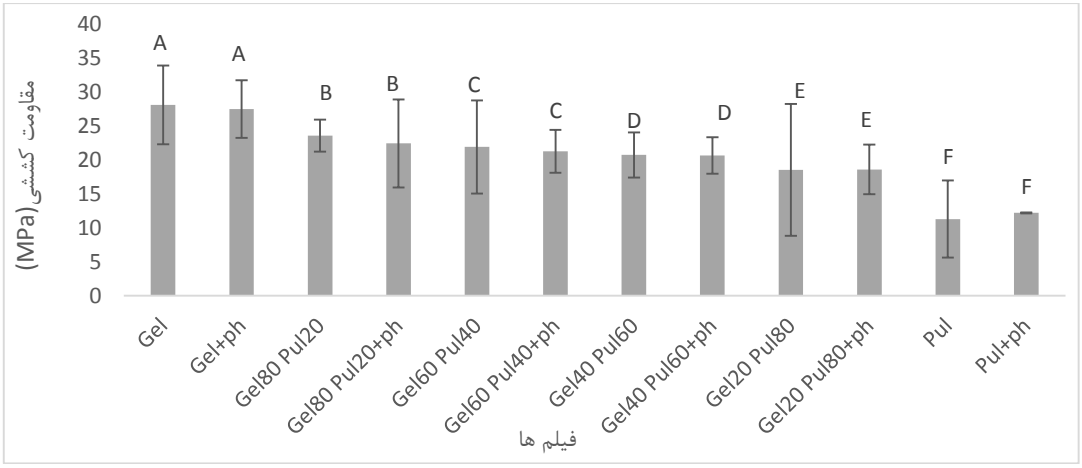
ورود باکتریوفاژها به فیلم ها منجر به افزایش کشش پذیری شد ($p<۰/۰۵$)، اما تغییری را در استحکام و مدول یانگ فیلم ها سبب نشد ($p>۰/۰۵$).



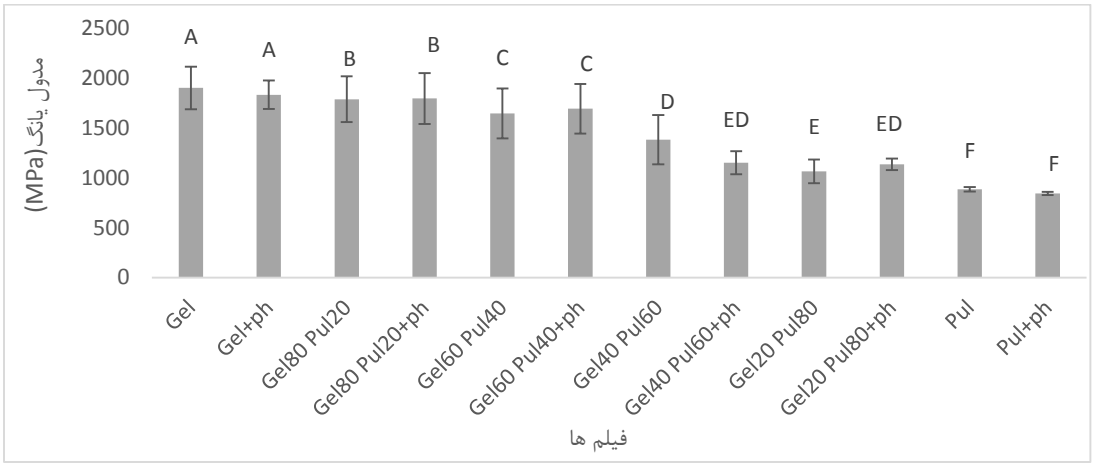
شکل ۱. مقایسه نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های ژلاتین-پلولان فاقد و حاوی باکتریوفاژ

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

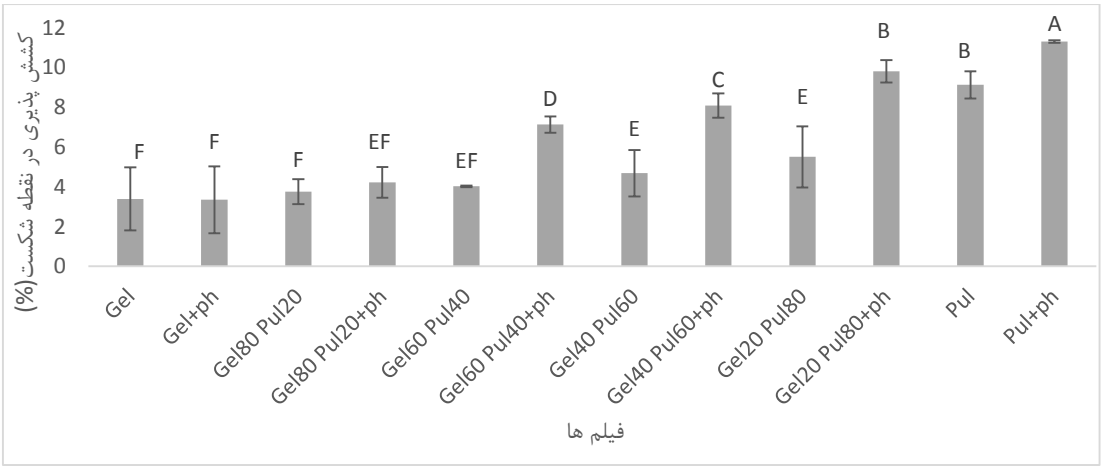
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۲. مقایسه مقاومت کششی (الف)، مدول یانگ (ب)، و کشش پذیری (ج) در فیلم‌های ژلاتین-پلولان فاقد و حاوی باکتریوفاژ.

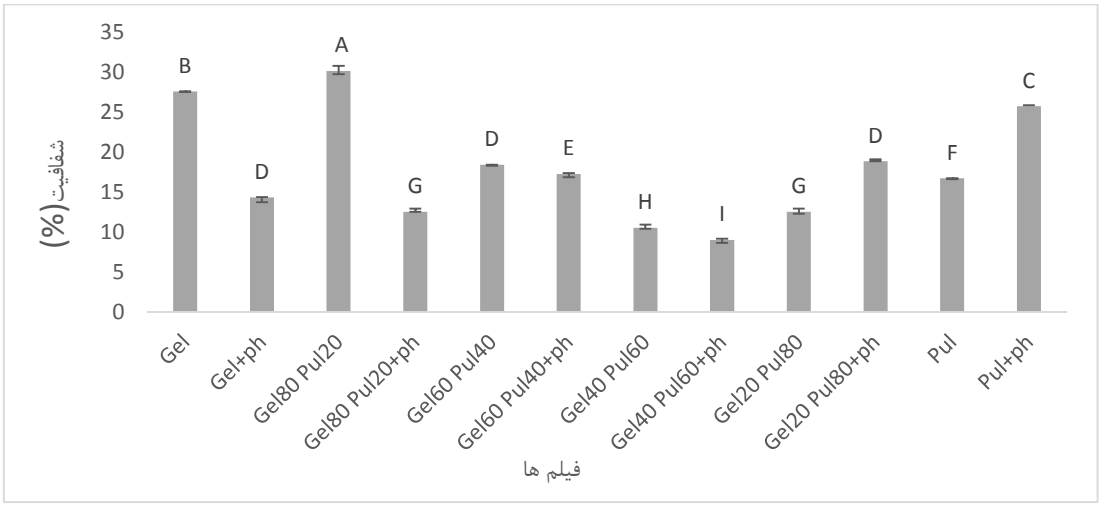
شفافیت فیلم ها

همان طور که در شـــکل ۳ مشـــاهده می‌کنید، فیلم ۴۰ژلاتین-۶۰پلولان کم ترین شـــفافیت در بین فیلم‌های فاقد باکتریوفاژ نشان داد که می‌تواند به سطح خشن بالاتر در آن مربوط باشد، در حالی که، فیلم ۸۰ ژلاتین-۲۰پلولان بیشترین شفافیت (۰/۶۳ ± ۳۰/۱۴ ٪) را داشت.

ورود باکتریوفاژ به فیلم های ژلاتین خالص، ۸۰ ژلاتین-۲۰پلولان، ۶۰ ژلاتین-۴۰پلولان، و ۴۰ ژلاتین-۶۰پلولان منجر به کاهش شفافیت شد در حالی که، در فیلم‌های پلولان خالص و ۸۰ پلولان-۲۰ژلاتین شفافیت افزایش یافت.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]



شکل ۳. مقایسه شفافیت فیلم‌های با نسبت‌های مختلف ژلاتین-پلولان فاقد و حاوی باکتریوفاژ

جدول ۲. ناحیه بازدارندگی (بر حسب سانتی متر) فیلم‌های ژلاتین-پلولان حاوی باکتریوفاژ در طی ۵ هفته

فیلم ها	هفته اول	هفته سوم	هفته پنجم
ژلاتین+فاژ	۲/۸۵ ± ۰/۰۷^{AB}	۲/۱۷ ±۰/۱۴^{B}	۲/۵۷ ±۰/۴۸^{AB}
۸۰ژلاتین:۲۰پلولان+فاژ	۲/۶۶ ± ۰/۰۷^{AB}	۲/۹۶ ± ۰/۱۹^{A}	۲/۶۵ ± ۰/۱۹^{AB}
۶۰ژلاتین:۴۰پلولان+فاژ	۲/۷۳ ± ۰/۲۶^{AB}	۲/۵۴ ±۰/۰۴^{AB}	۲/۸۷ ± ۰/۱۷^{AB}
۴۰ژلاتین:۶۰پلولان+فاژ	۲/۴۹ ± ۰/۵۴^{AB}	۲/۶ ±۰/۲۸^{AB}	۲/۲۶ ± ۰/۰۴^{AB}
۲۰ژلاتین:۸۰پلولان+فاژ	۲/۵۹ ±۰/۷^{AB}	۲/۶۳ ±۰/۵۲^{AB}	۲/۳۷ ± ۰/۲۴^{AB}
پلولان+فاژ	۰/۹۱ ± ۰/۰۱^{C}	۰/۳۸ ±۰/۰۴^{D}	۰ ± ۰/۰۰^{E}

مقادیر براساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنادار بین فیلم ها است ($p<۰/۰۵$).

ناحیه بازدارندگی

جدول ۲ ناحیه بازدارندگی فیلم های ژلاتین، پلولان، و ژلاتین-پلولان را در طی ۵ هفته نشان می‌دهد. ناحیه بازدارندگی تمام فیلم های فاقد فاژ صفر بود. در بین تمام فیلم‌های حاوی باکتریوفاژ، فیلم پلولان خالص کم ترین ناحیه باز دارندگی را داشت، و این ناحیه بازدارندگی در طول زمان کاهش یافت، به طوری که در هفته پنجم، ناحیه بازدارندگی به صفر رسید اما در فیلم‌های دیگر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

• بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

تغییرات ضخامت، تورم، و حلالیت فیلم ها در جدول ۱ نشان داده شده است. ضخامت‌های متفاوت بین فیلم‌های ژلاتین و پلولان می‌تواند مربوط به اندازه ذرات مختلف باشد، نتایج کووالکیک و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که اندازه ذرات در فیلم ژلاتین بیشتر از پلولان است. هم چنین، آن ها بیان کردند که حضور پلولان ماده خشک را کاهش می‌دهد که منجر به کاهش ضخامت در فیلم پلولان می شود، که در توافق با مطالعات خدائی و همکاران (۲۰۲۰) است، آن ها مشاهده کردند که افزودن تراگاکانت به ژلاتین و صمغ فارسی ضخامت را کاهش داد. ژلاتین برای افزایش حلالیت به دمای بیشتر از ۳۵-۳۰ درجه سلسیوس نیاز دارد، که دلیل آن دمای دناتوراسیون بالا و باندهای اندهیدرو موجود در شبکه ساختمانی هیدروژل است (۱۹). گروه‌های هیدروکسیل آزاد موجود در پلولان می‌توانند باندهای هیدروژنی با مولکول‌های آب تشکیل دهند، که در نتیجه منجر به افزایش حلالیت در پلولان می شود، که ساختار آمورف در پلولان را نشان می‌دهد (۲۰). ژلاتین ماهیت هیدروفیلیک دارد و تخلخل در شبکه ساختاری آن منجر به جذب آب و نفوذ آن به ساختار ژلاتین شده و تورم را افزایش می‌دهد (۲۱). افزودن فاژ به فیلم‌های آلژینات و کنسانتره آب پنیر-پلولان تغییری را تورم، حلالیت، و ضخامت فیلم ها ایجاد نکرد (۹، ۲).

با توجه به نتایج شکل ۱ که نفوذ پذیری به بخار آب را در فیلم‌های ژلاتین-پلولان فاقد و حاوی باکتریوفاژ نشان می‌دهد، یک دلیل تفاوت نفوذ پذیری به بخارآب در فیلم‌های ژلاتین و پلولان می‌تواند به خاطر تفاوت ضخامت در فیلم ها باشد، خصوصیات فیلم ها مانند نفوذپذیری به بخار آب و ویژگی‌های مکانیکی آن ها را تحت تأثیر قرار دهد (۲۲). دلیل دیگر مربوط

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]

به تفاوت ساختار است که ابتدا آب به ساختار آمورف انتشار می یابد(پلولان) در حالی که، در ژلاتین با ساختار نیمه کریستالی(فشردگی بیشتر) نفوذ پذیری را کاهش می‌دهد (۲۳). در یک تحقیق، نتایج نشان دادند که استفاده از ژلاتین در فیلم لاکتات کیتوزان نفوذپذیری به بخار آب را کاهش داد، که با نتایج ما مطابقت دارد (۲۴). به علاوه، نتایج مطالعات نشان داد ند که ورود فاژ به فیلم ژلاتین تغییری را در نفوذپذیری به بخار آب ایجاد نکرد (۲۵).

شکل ۲ ویژگی‌های بافتی فیلم ها را نشان می‌دهد، ژلاتین دارای ساختار نیمه کریستالی است که بخش کریستالی آن با تشکیل پیوندهای کووالانسی دوگانه باعث افزایش استحکام در فیلم می‌شود (۲۶)، هم چنین، ساختار مارپیچ سه گانه در ژلاتین انعطاف پذیری را کاهش می‌دهد (۲۲)، اما پلولان با دارا بودن ساختار آمورف (اتصالات گلی کوزیدی α-۱←۶) دارای حلالیت و انعطاف پذیری بالایی می باشد (۲۷). در یک پژوهش، اثر افزودن ژلاتین به پلی ساکاریدهایی از قبیل صمغ عربی، متیل سلولز، نشاسته اصلاح شده، و پلی ساکاریدهای محلول در آب سویا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن ها نشان داد که استحکام و مدول یانگ افزایش و کشش پذیری کاهش یافت (۱۹).

ورود باکتریوفاژ به فیلم ها کشش پذیری را در فیلم ها افزایش داد که این افزایش کشش پذیری می‌تواند به بر هم کنش‌های بین باکتریوفاژ و فیلم مربوط باشد. در یک تحقیق، ورود فاژ به فیلم ژلاتین تغییری در ویژگی‌های مکانیکی فیلم مشاهده نشد (۲۵)، در حالی که در مطالعه ای دیگر ورود فاژ JN01 به فیلم ژلاتین منجر به کاهش استحکام و اندکی افزایش در کشش پذیری فیلم ها شد (۱۱).

فیلم ۴۰ ژلاتین-۶۰ پلولان در فیلم های فاقد باکتریوفاژ پایین ترین شفافیت را نشان داد (شکل ۳) که می‌تواند به سطح خشن بالاتر در آن مربوط باشد. شفافیت فیلم ها با ضخامت، توزیع یکنواخت، و مرفولوژی فیلم ها در ارتباط است که بر پراکندگی نور اثر گذار است (۲۲).

ورود باکتریوفاژ به فیلم های ژلاتین، پلولان، و ترکیب ژلاتین-پلولان نتایج مختلفی را در شفافیت فیلم ها داشت که می‌تواند متأثر از بر هم کنش های بین پلی مرها (ژلاتین و پلولان) با محلول باکتریوفاژ باشد. در یک مطالعه ، افزودن باکتریوفاژ به پلیمرهای کازئینات سدیم، آلژینات سدیم + ژلاتین، و پلی وینیل الکل تغییری در کدورت فیلم ها نداشت (۲۸). هم چنین در مطالعه دیگری، افزودن غلظت های بالای باکتریوفاژ در مقایسه با غلظت‌های پایین به فیلم ژلاتین اندکی شفافیت را کاهش داد، اما این تفاوت به اندازه کافی زیاد نبود که اثر قابل توجهی داشته باشد (۲۵).

ناحیه بازدارندگی

فیلم پلولان به دلیل غلظت پایین تر باکتریوفاژهای موجود در آن که ناشی از اثر استری آن می‌باشد(جدول ۲)، کم ترین باز دارندگی را داشت (۲۰). فاژ Felix 0-1 می‌تواند باندهایی با گیرنده‌های N-استیل گلوگزآمین‌های قرار گرفته در ترمینال زنجیره‌های پلی ساکاریدی تشکیل دهد، که روی مرکز سطح خارجی لیپوپلی ساکارید است و فاژ S16 باندهایی با غشاء خارجی پروتئین C تشکیل می‌دهد، که در نهایت منجر به لیز شدن و مرگ سلول باکتری می شود. N-استیل گلوگزآمین و پروتئین C ترکیبات متداول باقی مانده روی سطح غشاء باکتری *سالمونلا* هستند (۱۲). نتایج یک پژوهش نشان دادند که فیلم های ترکیبی پروتئین آب پنیر-پلولان ناحیه بازدارندگی داشتند و در طی ۶۰ روز اثر ضد باکتریایی کاهش یافت، هم چنین، در فیلم‌های پروتئین آب پنیر و پلولان خالص ناحیه بازدارندگی مشاهده نشد (۲۰).

نتیجه گیری

در این پژوهش، باکتریوفاژ سالمونلکس در فیلم‌های بر پایه ژلاتین، پلولان خالص، و فیلم‌های ترکیبی ژلاتین-پلولان مورد استفاده گرفت و خصوصیات فیزیکوشیمیایی و اثر ضد باکتری آن ها در برابر باکتری *سالمونلا* بررسی شد. مطالعه حاضر نشان داد که تثبیت باکتریوفاژها در فیلم‌های ژلاتین خالص و ترکیب ژلاتین-پلولان موفقیت آمیز بود در حالی که، در فیلم پلولان خالص به دلیل اثرات استری آن با کاهش تعداد باکتریوفاژها همراه بود که منجر به کاهش اثر ضد باکتریایی در فیلم پلولان خالص در مقایسه با دیگر فیلم ها شد. به طور کلی، ورود باکتریوفاژ استحکام کششی و مدول یانگ را در فیلم ها تحت تأثیر قرار نداد اما منجر به افزایش کشش پذیری در فیلم ها شد. به علاوه، ورود باکتریوفاژ به فیلم ها با توجه به ماهیت هر پلیمر دارای اثرات مختلفی بر شفافیت بود. لذا، مطالعات بیشتری به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی و رهایش این فیلم ها بر روی ماتریس های مختلف غذایی در شرایط نگه داری مختلف مورد نیاز است. هم چنین، با توجه به قیمت مواد به کار رفته در تولید این فیلم‌های ضد باکتریایی بایستی بهینه ترین مقدار از هر یک از اجزاء تشکیل دهنده فیلم ضد باکتریایی را مورد مطالعه و بررسی قرار داد.

سپاسگزاری: این پژوهش با کد ۳/۵۲۶۱۴ با حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشگاه کوردوبای اسپانیا انجام شده است، بدین وسیله از حمایت آنان تقدیر و تشکر می‌گردد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]

• References

1. Shakeri, G., Hammerl, J.A., Jamshidi, A., Ghazvini, K., Rohde, M., Szabo, I., et al. The lytic siphophage vB_StyS-LmqsSP1 reduces the number of Salmonella enterica serovar Typhimurium isolates on chicken skin. Applied and Enviromental Microbiology. 2021;87(24):e01424-21.

2. Kashiri, M., Maghsoudlo, Y., Khomeiri, M., Behrooz, R. Evaluation antibacterial activity of Zataria multiflora Boiss. essential oil and Zein bioactive film. Journal of Food Science & Technology. 2016;12(50):184-95.

3. Sezer, B., Tayyarcan, E.K., Boyaci, I.H. The use of bacteriophage-based edible coatings for the biocontrol of Salmonella in strawberries. Food Control. 2022;135(108812).

4. Sillankorva, S.M., Oliveira, H., Azeredo, A.J. Bacteriophages and their role in food safety. International Journal of Microbiology. 2012;2012:13.

5. O'Flynn, G., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Coffey, A. Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of Escherichia coli O157:H7. Applied and Enviromental Microbiology. 2004;70(6):3417–24.

6. Anany, H., Brovko, L.Y., El-Arabi, T., Griffiths, M.W. Bacteriophage as Antimicrobials in Food Products: History, Biology and Applications. Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality: Woodhead publishing in Food Science, Technology and Nutrition; 2014. p. 75.

7.Yeh, Y., Moura, F.H.D., Broek, K.V.D., Mello, A.S.D. Effect of ultraviolet light, organic acids, and bacteriophage on Salmonella populations in ground beef. Meat Science. 2018;139: 44-8.

8. Zhang, C., Gao, D., Ma, Y., Zhao, A.X. Effect of gelatin addition on properties of pullulan films. Journal of Food Science. 2013;78(6):C805-C10.

9. Alves, D., Marques, A., Milho, C., Costa, M.J., Pastrana, L.M., Cerqueira, M.A., et al. Bacteriophage ϕIBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage. International Journal of Food Microbiology. 2019;291(16):121-7.

10. Kamali, S., Yavarmanesh, M., Najafi, M.B.H., Koocheki, A. Poly (lactic acid) and whey protein/pullulan composite bilayer film containing phage A511 as an anti-Listerial packaging for chicken breast at refrigerated temperatures. LWT- Food Science and Technology. 2022b;170:114085.

11. Li, Y-X., Zhong, C., Zhang, H-Z., Zhao, Y-Y., Shu, M., Wu, G-P. Effectiveness of bacteriophage JN01 incorporated in gelatin filmwith protocatechuic acid on biocontrol of Escherichia coli O157:H7 in beef. International Journal of Food Science and Technology 2022;57:3503–14.

12. Yeh, Y., Purushothaman, P., Gupta, N., Ragnone, M., Verma, S.C., Mello, A.S.D. Bacteriophage Application on Red Meats and Poultry: Effects on salmonella population in final ground products. Meat Science. 2017;127:30-4.

13. Kowalczyk, D., Kordowska-Wiater, M., Karas, M., Zięba, E., Mężyńska, M., Wiącek, A.E. Release kinetics and antimicrobial properties of the potassium sorbate-loaded edible films made from pullulan, gelatin and their blends. Food Hydrocolloids. 2020;101:105539.

14. Dehnad, D., Emam-Djomeh, Z., Mirzaei, H., Jafari, S-M., Dadashi, S. Optimization of physical and mechanical properties for chitosan–nanocellulose biocomposites. Carbohydrate Polymers. 2014;105(25):222-8.

15. ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of material. ASTM International. West Conshohocken, PA, USA1995. p. 14.

16. ASTM. Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. ASTM International. West Conshohocken: PA, USA; 2014. p. 1–15.

17. Roy, S., Rhim, J.W. Gelatin/cellulose nanofber‑based functional flms added with mushroom‑mediated sulfur nanoparticles for active packaging applications. Journal of Nanostructure in Chemistry. 2022;12:979–90.

18. Gouvea, D.M., Mendonça, R.C.S., Soto, M.L., Cruz, R.S. Acetate cellulose film with bacteriophages for potential antimicrobial use in food packaging. LWT - Food Science and Technology. 2015;63(1):85-91.

19. Kamali, S., Yavarmanesh. M., Najafi, M.B.H., Koocheki, A. Development of whey protein concentrate / pullulan composite films containing bacteriophage A511: Functional properties and anti-Listerial effects during storage. Food Packaging and Shelf Life. 2022a;33:100902-17.

20. Łupina, K., Kowalczyk, D., Zięba, E, Kazimierczak, W., Mężyńska, M., Basiura-Cembala, M., .et al. Edible films made from blends of gelatin and polysaccharide-based emulsifiers - A comparative study. Food Hydrocolloids. 2019;96:555-67.

21. Jahani, S., Shakiba, A., Azami, M. Functional properties, antibacterial and antioxidant activites of zataria multiflora encapsulated in gelatin nanofilms. Journal of Microbiology, Biotechnology, and Food Sciences. 2014;4(2):88-92.

22. Kowalczyk, D., Skrzypek, T., Basiura-Cembala, M., Łupina, K., Męzynska, M. The effect of potassium sorbate on the physicochemical properties of edible films based on pullulan, gelatin and their blends. Food Hydrocolloids. 2020;105:105837.

23. Jenkins, M., Stamboulis, A. Durability and reliability of medical polymers. Cambridge: Elsevier Science; 2012.

24. Kowalczyka, D., Kordowska-Wiater, M., Nowak, J., Baraniak, B. Characterization of films based on chitosan lactate and its blends with oxidized starch and gelatin. International Journal of Biological Macromolecules. 2015;77:350-9.

25.Weng, S., Lopez, A., Saez-Orviz, S., Marcet, I., García, P., Rendueles, M., et al. Effectiveness of bacteriophages incorporated in gelatine films against Staphylococcus aureus. Food Control. 2021;121:1-10.

26. Jr, W.D.C., Rethwisch, D.G. Deformation and strengthening mechanisms. In: Jr WDC, Rethwisch DG, editors. Fundamentals of materials science and engineering: An integrated approach. 5th ed: John Wiley & Sons, Inc.; 2011. p. 260-308.

27. Farris, S., Unalan, I.U., Introzzi, L., Fuentes-Alventosa, J.M., A.Cozzolino, C. Pullulan-based films and coatings for food packaging: present applications, emerging opportunities, and future challenges. journal of applied polymer science. 2014;131(13):40539.

28. Dicastillo, C.L.D., Settier-Ramírez, L., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P., Carballo, A.G.L. Development of biodegradable films loaded with phages with antilisterial properties. Polymers. 2021;13(3):327.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]

Use of Bacteriophages in Gelatin-pullulan Films against *Salmonella* Pathogen

Entezari A[1], Sedaghat N[2], Shakeri G[3]*

1- Ph.D. student, Department of Food science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Mashhad, Iran.

*2- *Corresponding author: Full professor, Department of Food science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Mashhad, Iran. Email: sedaghat@um.ac.ir*

3- Fellowship researcher, German Federal Institute for Risk Assessment (BfR), Department of Chemicals and Product Safety, Berlin, German.

Received 2 May, 2023 **Accepted 9 Aug, 2023**

Background and Objective: Use of bacteriophages is an appropriate alternative due to the emergence of resistant bacterial species against antibiotics and their specific performance against pathogenic bacteria that are dangerous for human health. Furthermore, use of compounds that are biodegradable and do not harm the environment can help. In this study, effects of gelatin and bacteriophages on the characteristics of pullulan films were investigated.

Materials and Methods: To achieve anti-bacterial films, various percentages of gelatin (0, 20, 40, 60, 80 and 100%) and bacteriophage solutions were used in pullulan films.

Results: Results of the experiments showed that the introduction of bacteriophages into the films included no significant effects on the physical characteristics, tensile strength and Young modulus but increased elasticity of the films. Moreover, transparency of the pure gelatin films decreased and transparency of the pullulan increased, while various results were observed in mixed gelatin-pullulan films. Antibacterial effects of the pure gelatin and gelatin-pullulan composite films against the pathogen were higher than those of pure pullulan films.

Conclusion: Results of this study showed that adding gelatin to pullulan films could help stabilize bacteriophages in pullulan films and thus achieve better anti-bacterial effects against *Salmonella enteritidis*.

Keywords: Biodegradable, Edible film, Bacteriophage, Anti-bacterial

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.6.7]