



## بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدباکتری فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی بر پایه نشاسته حاوی نانوذرات فلزی نقره، اکسید روی و اکسید مس

نیلوفر پورنصیر<sup>۱</sup>، سید جمال الدین پیغمبردوست<sup>۲\*</sup>، سید هادی پیغمبردوست<sup>۳</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه تبریز
۲. استادیار، گروه مهندسی پلیمر، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه تبریز
۳. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: 95/5/26، تاریخ پذیرش: 95/8/8)

### چکیده

در این پژوهش، فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی نشاسته-نانوذرات تکی نقره (Ag)، اکسید روی (ZnO) و اکسید مس (CuO) به روش قالب‌ریزی از محلول تهیه شده است. خواص کششی، انحلال‌پذیری در آب، جذب اشعه ماوراء بنفش و خواص ضد میکروبی این فیلم‌های حاوی نانوذرات تکی با هم مقایسه شده است. نتایج بررسی‌ها نشان داد، فیلم نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات اکسید روی به مقدار 3 درصد وزنی نشاسته، بهترین عملکرد را در کاهش انحلال‌پذیری در آب از خود نشان داده است. آنالیز طیف‌سنجی اشعه ماوراء بنفش (UV-Vis) نیز نشان داد که فیلم حاوی نانوذرات اکسید روی دارای بیش‌ترین میزان جذب اشعه فرابنفش می‌باشد. هم‌چنین طی آنالیز ضد میکروبی انجام شده مشاهده گردید که فیلم نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات نقره در برابر باکتری اشرشیاکلی و فیلم دارای نانوذرات اکسید مس در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حساسیت بیش‌تری از خود نشان می‌دهند. خاصیت ضد میکروبی فیلم حاوی نانوذرات نقره در سطح 2 درصد وزنی در برابر باکتری اشرشیاکلی حدود 94 درصد و در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حدود 83 درصد می‌باشد. در نهایت نتایج حاصل از آنالیز استحکام مکانیکی این فیلم‌ها حاکی از آن است که فیلم نانوبیوکامپوزیتی نشاسته-نانوذرات اکسید روی دارای استحکام کششی بیش‌تری از فیلم‌های نشاسته-نانوذرات نقره و نشاسته-نانوذرات اکسید مس می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نشاسته، بسته‌بندی مواد غذایی، نانوذرات فلزی، نانوبیوکامپوزیت، خاصیت ضدباکتری.

\* نویسنده مسئول: [j.peighamardoust@tabrizu.ac.ir](mailto:j.peighamardoust@tabrizu.ac.ir)

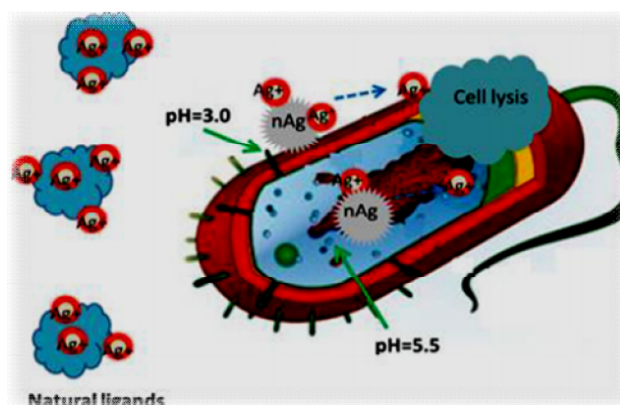
## ۱- مقدمه

تولید نانوکامپوزیت‌ها است [7]. مواد نانوکامپوزیتی به آن دسته از موادی اطلاق می‌شود که فاز تقویت‌کننده آن دارای ابعاد در مقیاس یک تا صد نانومتر باشد. تقویت‌کننده‌های نانومتری به دلیل ابعاد بسیار کوچک و سطح بسیار بالا در مقایسه با تقویت‌کننده‌های معمولی در سطح بارگذاری کم‌تر، باعث بهبود خواص مورد نظر می‌شود [8]. نانو پرکننده‌های زیادی به منظور تهیه نانوکامپوزیت‌ها به کار گرفته می‌شوند که از آن جمله می‌توان به نانوذرات فلزی مانند نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و نقره اشاره کرد [9]. اکسید روی ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی بسیاری مانند پایداری شیمیایی، سازگاری با محیط زیست، پایداری زیاد در برابر نور، قیمت ارزان، ظاهر سفید و مقاومت به اشعه فرابنفش دارد. اگر چه نحوه عملکرد ضد میکروبی عنصر روی به خوبی روشن نیست، اما برخی از مطالعات چند مکانیسم مختلف بیان کرده‌اند:

- 1- القاء گونه‌های اکسیژن فعال مانند پراکسید هیدروژن،
- 2- ایجاد آسیب در غشاء سلول توسط نیروهای الکترواستاتیک و
- 3- انتشار یون‌های روی که می‌تواند مسئول فعالیت‌های ضد میکروبی با اتصال به غشاء و اختلال در فرایندهای غشایی باشد [10].

مس به دلیل این‌که برخلاف فلزات ضد میکروبی دیگر طیف گسترده‌ای از فعالیت‌ها را علیه باکتری و قارچ نشان می‌دهد، مورد توجه ویژه می‌باشد. کارایی مس بستگی به شرایط محیطی، غلظت یون مس و نوع میکرواورگانیزم دارد. وقتی مس در حالت اکسیدی است ( $\text{Cu}^{2+}$ ) علیه سلول‌های میکروبی بسیار مؤثر بوده که از طریق واکنش با نوکلئیک‌اسیدها، بخش‌های فعال آنزیم و ترکیب غشاء سلول باعث مرگ سلول میکروبی می‌شود [11]. نقره یک فلز نجیب با هدایت حرارتی و الکتریکی بالا است. خنثی بودن از نظر شیمیایی به اکسیژن و بسیاری از گازها و مواد شیمیایی دیگر، حساسیت به طول موج‌های نور مرئی، اشعه ایکس و اشعه گاما در طیف الکترومغناطیس و هم‌چنین خاصیت ضد میکروبی از ویژگی‌های نقره است [12]. در بین عناصر ضد میکروبی معدنی، یون‌های نقره و ترکیبات بر پایه نقره در سطح بالایی از رشد میکروبی جلوگیری می‌کنند و اثر میکروبی‌کشی قوی روی گونه‌های زیادی از باکتری‌ها از خود نشان می‌دهند [13]. سه مکانیسم که بیش‌تر برای

بخش بسته‌بندی یک صنعت جهانی است که حدود دو درصد از تولید ناخالص ملی کشورهای توسعه یافته را به خود اختصاص داده است، که اروپا یک سوم آن را شامل می‌شود [1]. نکات اولیه در بسته‌بندی‌ها، ایزوله کردن ماده غذایی از محیط خارجی و محافظت از آن در برابر فساد ناشی از فعالیت میکرواورگانیزم، رطوبت، گازها، گرد و غبار، بو و نیروهای مکانیکی می‌باشد، زیرا قرار گرفتن در معرض این عوامل باعث کاهش عمر مفید مواد غذایی می‌شود. هم‌چنین عوامل بیماری‌زای ناشی از میکرواورگانیزم‌ها هم بر سلامتی مصرف‌کنندگان مؤثر می‌باشد [2]. بخش مهمی از مواد بسته‌بندی تولید شده در دنیا مربوط به پوشش‌دهی مواد غذایی می‌باشد که از جمله آن‌ها فیلم‌ها هستند که یکی از انواع مواد بسته‌بندی به‌شمار می‌روند [3]. پلاستیک‌های مشتق شده از ترکیبات نفتی به دلیل قابلیت دسترسی در مقادیر بالا، قیمت پایین، وزن کم و خصوصیات عملکردی مناسب (قابلیت انبساط، مقاومت به پارگی، خواص بازدارندگی و مقاومت حرارتی بالا) در صنعت بسته‌بندی مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما یکی از بزرگ‌ترین مشکلات این مواد، غیرقابل تجزیه بودن و ایجاد آلودگی در محیط زیست می‌باشد [4]. از این رو جایگزینی مواد نفتی با مواد زیست تخریب‌پذیر باعث تسهیل از بین بردن زباله‌ها و هم‌چنین حفظ و نگهداری مواد ارزشمند نفتی برای نسل‌های آینده می‌شود [5]. نشاسته یکی از این زیست پلیمرهاست که به دلایلی مانند زیست تخریب‌پذیری بالا، فراوانی در طبیعت، قیمت ارزان و سهولت آماده‌سازی و تولید فیلم‌های آن، مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. با وجود این، پلیمر زیستی نشاسته دارای معایبی است که استفاده خالص از آن را در تولید فیلم و دیگر مواد بسته‌بندی محدود می‌سازد. این معایب عبارت از خاصیت آبدوستی شدید نشاسته و مقاومت ضعیف فیلم آن در برابر رطوبت، داشتن خواص مکانیکی به‌نسبت ضعیف به دلیل آبدوستی بالای نشاسته و تضعیف خواص مکانیکی فیلم در شرایطی مانند رطوبت نسبی بالا است [3، 6]. راهکارهای مختلفی برای بهبود ویژگی‌های بازدارندگی و مکانیکی فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر بر پایه نشاسته وجود دارد که یکی از جدیدترین آن‌ها اختلاط نشاسته با نانوپرکننده‌ها و



شکل (1) شماتیک مکانیسم ضد میکروبی نانوذرات نقره بر سلول باکتری [14]

جدول (1) مواد مورد نیاز در تهیه فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی ضد میکروبی

خاصیت شیمیایی						مواد
اندازه نانو ذرات (nm)	سطح مخصوص (m <sup>2</sup> /gr)	دمای جوش (°C)	چگالی (gr/cm <sup>3</sup> )	جرم مولی (gr/mol)	فرمول شیمیایی	
-	-	-	1/5	متغیر	[C <sub>6</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> ] <sub>n</sub>	نشاسته تاپیوکا
20-30	30-35	2360	5/606	81/408	ZnO	اکسید روی
35	80	2000	6/513	79/545	CuO	اکسید مس
<50	10/4	3924	10/49	107/806	Ag	نقره
-	-	290	1/26	92/09	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	گلیسرول

جدیدی برای مقابله با این میکروب‌ها مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد. استفاده از تکنولوژی نانو و به دنبال آن تولید و به کارگیری نانوذرات یکی از روش‌های نوین برای نگهداری مواد غذایی و حفظ ایمنی و سلامت آن‌ها می‌باشد. در این تحقیق به بررسی خواص ضد میکروبی فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی تهیه شده با استفاده از بیوپلیمر نشاسته و نانوذرات فلزی دارای خاصیت ضد میکروبی پرداخته شده است. هدف از انجام تحقیق حاضر تهیه فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی دارای خاصیت ضد میکروبی است که در جهت کاهش و کنترل آلودگی و فساد مواد غذایی داخل بسته‌بندی باشد.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد

مواد مورد استفاده در این تحقیق در استانداردهای آزمایشگاهی بوده و از شرکت‌های معتبری نظیر مرک آلمان تهیه شده‌اند (جدول 1). نانوذرات مورد استفاده نقره، اکسید روی و اکسید

فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره پیشنهاد شده است، مطابق با شکل (1) عبارتند از:

- رها شدن تدریجی یون‌های نقره و قطع تولید ATP و رونویسی DNA
- آسیب مستقیم نانوذرات نقره به غشاء سلول
- تولید گونه‌های فعال اکسیژن توسط نانوذرات نقره و یون نقره [14]

آلودگی‌های میکروبی در مواد غذایی باعث ایجاد فساد، افت کیفیت و کاهش مدت زمان انبارداری آن‌ها می‌گردد. از طرفی برخی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا موجب ایجاد مسمومیت و کاهش ایمنی مواد غذایی می‌شوند. به عنوان مثال باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از طریق بیماری‌های عفونی و همچنین ایجاد مسمومیت‌های غذایی سلامتی مصرف‌کننده را تهدید می‌کند. از طرفی دیگر این باکتری به سرعت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها (در برخی موارد چندین آنتی‌بیوتیک) مقاومت نشان می‌دهد. این ویژگی باعث شده تا روش‌ها و ترکیبات

نیترژن مایع ترد شده و دچار شکست می‌شوند. سپس با استفاده از بخارات طلا، سطح نمونه‌های فیلمی جهت برقراری شارش الکترون‌ها از سطح، رسانا می‌شود.

### 2-3-2- آنالیز استحکام مکانیکی نمونه‌های فیلمی

برای بررسی استحکام مکانیکی از دستگاه Texture Analyzer یونیورسال 20 کیلونیوتنی شرکت Shoj تایوان با قابلیت انجام تست‌های کشش، خمش، فشار و چسبندگی استفاده شد. نمونه‌ها برای این آزمایش یکی طبق استاندارد ASTM D638 به صورت نوارهای باریکی به طول 60 میلی‌متر و عرض 20 میلی‌متر بریده شده و ضخامت هر نمونه بریده شده توسط ریزسنج  $120 \pm 5 \mu\text{m}$  اندازه‌گیری شده است. پارامترهای میزان رطوبت نسبی  $50 \pm 5$  درصد، دمای اتاق  $25^\circ\text{C}$ ، طول مقیاس 40 میلی‌متر و سرعت کشش حدود  $5 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$  برای انجام تست‌های استحکام کششی فیلم‌ها در نظر گرفته شده است. برای داشتن تکرارپذیری در انجام تست‌های استحکام مکانیکی، تست‌های کشش هر نمونه برای سه نمونه یکسان از یک نوع فیلم انجام شده و متوسط مقادیر به دست آمده گزارش شده است.

### 2-3-3- آنالیز اندازه‌گیری میزان انحلال‌پذیری نمونه‌های فیلمی در آب

حلالیت در آب عبارت است از درصد ماده خشک فیلم که پس از 24 ساعت غوطه‌وری در آب مقطر به حالت محلول در می‌آید. ابتدا نمونه‌هایی به ابعاد  $20 \times 20$  میلی‌متر تهیه نموده، سپس برای رسیدن به وزن خشک اولیه به مدت 24 ساعت در  $105^\circ\text{C}$  قرار گرفتند. وزن خشک اولیه نمونه‌ها را تعیین کرده و بعد هر قطعه از آن‌ها را در داخل ظرف درب‌دار حاوی 50 سی‌سی آب مقطر غوطه‌ور شده و در حالی که به صورت مقطعی در دمای  $23^\circ\text{C}$  همزده می‌شد، به مدت 24 ساعت در  $105^\circ\text{C}$  قرار داده تا به وزن ثابت برسد با توزین مجدد نمونه‌ها وزن خشک نهایی به دست می‌آید درصد کل ماده حل شده (TSM%)<sup>1</sup> از معادله (1) به دست می‌آید [6]:

$$\%TSM = (1)$$

$$100 \times \frac{\text{وزن خشک اولیه} - (\text{وزن خشک نهایی} - \text{وزن خشک اولیه})}{\text{وزن خشک اولیه}}$$

1. Total Solubility Matter

مس از شرکت نوترینو تهران خریداری شده‌اند. کلیه مواد مورد استفاده از درجه خلوص بالای 99 درصد برخوردار بوده و بدون نیاز به خالص سازی اولیه، همانگونه که خریداری شده بودند، مصرف گردیدند.

### 2-2- روش تهیه نانوبیوکامپوزیت‌های بر پایه نشاسته حاوی نانوذرات فلزی

در تهیه فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نشاسته و نانوذرات فلزی، از روش قالب‌ریزی از محلول<sup>1</sup> استفاده شده است که شامل سه مرحله حل کردن پلیمر در حلال مناسب، قالب‌ریزی محلول پلیمری حاصل و خشک کردن می‌باشد. نکته قابل توجه پخش یکنواخت نانوذرات در ماتریس بیوپلیمر و جلوگیری از تجمع و توده‌ای شدن آن‌ها می‌باشد. به همین منظور برای ممانعت از تجمع نانوذرات و پخش یکنواخت آن‌ها در ماتریس نشاسته، ابتدا درصد‌های مختلف نانوذرات (اکسید روی، اکسید مس و نقره 1، 2 و 3 درصد وزنی) نسبت به نشاسته خشک در 100 میلی‌لیتر آب مقطر پخش شده و در حمام آب اولتراسونیک به مدت سه تا چهار ساعت قرار داده شدند. سپس 5 گرم نشاسته و گلیسرول به اندازه 40 درصد وزنی نشاسته خشک به همین 100 میلی‌لیتر محلول اضافه شده، این محلول در دمای  $75^\circ\text{C}$  به مدت 30 دقیقه در حمام روغن همراه با همزدن حرارت داده و در ادامه، محلول نشاسته ژلاتینه تهیه شدند. به منظور خروج حباب‌های هوا از محلول، تا  $40^\circ\text{C}$  خنک شده و همزمان به مدت 60 دقیقه به آرامی همزده و در ادامه 25 میلی‌لیتر از این محلول داخل پتری‌دیش پلی‌استایرنی ریخته و به مدت 15 ساعت در  $35^\circ\text{C}$  قرار داده شد تا فیلم نانوبیوکامپوزیتی نهایی به دست آید.

### 2-3-3- روش‌های تعیین مشخصات فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی تهیه شده

#### 2-3-3-1- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

مورفولوژی سطح شکست برای نمونه‌های فیلمی تهیه شده توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل 1430VP L ساخت کشور آلمان انجام شده است. برای بررسی سطح شکست نمونه‌های فیلمی تهیه شده ابتدا نمونه‌ها در

1. Solution Casting

تقسیم WVTR به اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم، میزان نفوذپذیری نمونه‌های فیلمی نسبت به بخار آب (WVP) طبق رابطه (3) به دست آمد. به دلیل وجود سولفات پتاسیم در داخل ویال، فشار بخار داخل ویال صفر در نظر گرفته می‌شود. فشار بخار خارج فیلم نیز از حاصل ضرب رطوبت نسبی (R.H.) داخل دسیکاتور (97٪) و فشار بخار آب خالص در دمای 25 °C به دست آمد. از حاصل ضرب WVTR و ضخامت فیلم نیز میزان نفوذپذیری فیلم به بخار آب به دست آمد. این آزمون در مورد هر کدام از نمونه‌ها سه بار تکرار شد [6].

$$j = WVTR = \frac{\Delta W}{tA} \quad (2)$$

j: شار بخار آب در عرض فیلم که آهنگ انتقال بخار آب (WVTR) نیز نامیده می‌شود.

$\Delta W$ : میزان بخار آب عبور کرده از فیلم (شیب منحنی)

t: مدت زمان انتقال بخار آب

A: مساحت سطح فیلم

$$WVP = \frac{WVRT \times X}{P (R_2 - R_1)} \quad (3)$$

X: ضخامت فیلم (m)

P: فشار بخار آب خالص در دمای 25 °C (3169 پاسکال)

$R_2$ : رطوبت نسبی در دسیکاتور (97٪)

$R_1$ : رطوبت نسبی در داخل ویال (0٪)

### 2-3-6- آنالیز اندازه‌گیری خواص ضدباکتری فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی

آزمایش‌های میکروبی بر روی دو میکرواورگانیسم *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*<sup>۲</sup> به ترتیب به عنوان نماینده باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت انجام گرفته است. ابتدا میکرواورگانیسم‌های تهیه شده، در محیط کشت تریپتیک سوی براث<sup>۳</sup> استریل و خنک (30 گرم در یک لیتر آب مقطر) کشت داده شده و به مدت 24 ساعت در دمای 37 °C گرمخانه‌گذاری شد تا به میکرواورگانیسم‌ها به تعداد اولیه مطلوب برسند (تعداد اولیه باکتری *اشرشیاکلی* برابر  $10^9 \times 1/76$  و تعداد اولیه باکتری

1. Escherichia coli  
2. Staphylococcus aureus  
3. Tryptic Soy Broth, TSB

### 2-3-4- آنالیز اندازه‌گیری میزان جذب اشعه فرابنفش نمونه‌های فیلمی

میزان شفافیت فیلم‌ها توسط اسپکتروفتومتر دو شعاعی مدل UV-1700 ساخت کشور ژاپن اندازه‌گیری شده است. در این تحقیق میزان شفافیت فیلم‌ها طبق استاندارد ASTM D1746 اندازه‌گیری شده است. فیلم‌ها به صورت قطعات 3×2 سانتی‌متر بریده شده و به مدت 24 ساعت در رطوبت نسبی 55٪ واجد شرایط گردیدند. سپس بر روی یکی از سل‌های اسپکتروفتومتر دو شعاعی نمونه مورد نظر و در سل دیگر، هوا به عنوان مرجع قرار داده شده است. مقدار جذب نور در دامنه طول موج 200 تا 800 نانومتر اندازه‌گیری و درصد عبور آن در مقایسه با نشاسته خالص سنجیده شده و داده‌ها در کامپیوتر با استفاده از نرم‌افزار Excel پردازش و نمودارهای مربوطه رسم شد.

### 2-3-5- آنالیز اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری نمونه‌های فیلمی نسبت به بخار آب<sup>۱</sup>

برای اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری بخار آب از روش ASTM E96 استفاده شده است. برای این کار از ویال‌هایی به قطر 1/5 سانتی‌متر و ارتفاع 4/5 سانتی‌متر استفاده شد. 3 گرم سولفات کلسیم در داخل ویال‌ها ریخته شده و قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون بریده شده و روی دهانه ویال قرار داده می‌شود. ویال‌ها با تمام محتویاتش توزین شده و درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار گرفته شده‌اند. جهت اطمینان از حفظ حالت اشباع، اجازه داده می‌شود که مقداری رسوب سولفات پتاسیم در کف دسیکاتور ایجاد شود. سولفات پتاسیم اشباع در دمای 25 °C، رطوبت نسبی 97 درصد ایجاد می‌کند. دسیکاتور درون انکوباتور 25 °C قرار گرفته و به مدت 7 روز، هر چند ساعت یکبار، وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ویال‌ها تعیین می‌شود. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم شده و پس از انجام رگرسیون خطی، شیب خط محاسبه گردید. از تقسیم شیب خط مربوط به هر ویال به سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشته است، آهنگ انتقال بخار آب<sup>۲</sup> مطابق رابطه (2) به دست آمد. از

1. Water Vapor Permeability, WVP  
2. Water Vapor Transmission Rate, WVTR

در  $10^5$  و سپس در 10 (مربوط به مقدار 0/1 سی سی پخش شده روی محیط کشت) و در کل به  $10^6$  ضرب شده و تعداد واقعی ثبت شد. در این تحقیق آزمایش‌های میکروبی در دو تکرار (دو رقت 5 و دو رقت 6) انجام گرفته است. در نهایت از تعداد مربوط به دو رقت متوالی (5 و 6) میانگین تهیه شده و برای آنالیزهای آماری مورد استفاده قرار گرفته است [15].

### 2-3-7- تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده

در این تحقیق برای تحلیل آماری داده‌های حاصل از آنالیز میکروبی فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی از نرم افزار Minitab 16 و تحلیل و ارزیابی One Way ANOVA در سطح احتمال 5 درصد ( $p < 0/05$ ) و آزمون توکی<sup>1</sup> برای تأیید وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها استفاده شده است. همه تیمارها در آنالیزهای میکروبی در دو تکرار و در آنالیز خواص مکانیکی در سه تکرار انجام شده است.

### 3- نتایج و بحث

#### 3-1- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

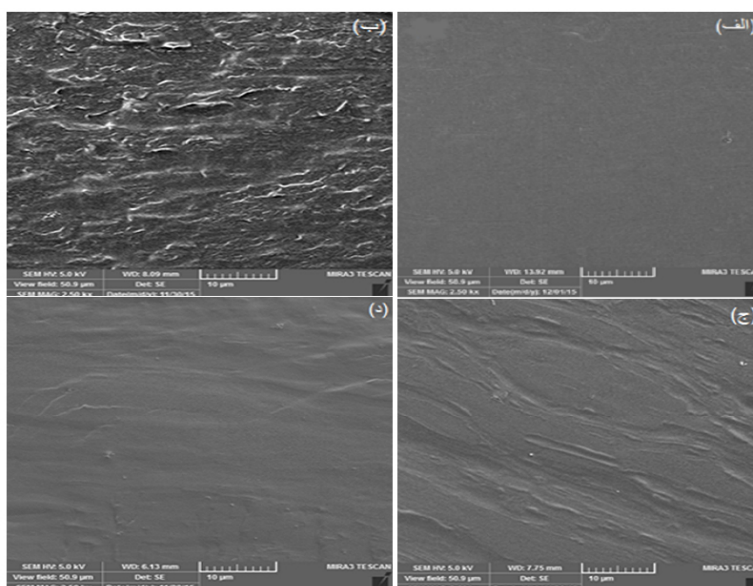
همان‌طور که در بخش آزمایشات نیز ذکر گردید، برای بررسی مورفولوژی سطح شکست تازه نمونه‌های فیلم نانوبیوکامپوزیتی تهیه شده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شده و تصاویر ریزساختار نمونه‌های نانوبیوکامپوزیتی تحت آنالیز در شکل (2) نشان داده شده است. این تصاویر مربوط به سطح شکست فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی نشاسته حاوی اکسید روی، اکسید مس و نقره هرکدام به مقدار مساوی 3 درصد وزنی می‌باشد. شکل 2-الف به‌طور آشکار نشان دهنده مورفولوژی سطح شکست بسیار صاف و همگن در سطح شکست نشاسته خالص می‌باشد که نشان از ساختار کریستالی بسیار منظم ماتریس بیوپلیمری آن است. سطح مورفولوژی فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی نسبت به نشاسته خالص زبرتر و ناهمگن‌تر هستند، و این می‌تواند ناشی از اثر توده‌ای شدن برخی از نانوذرات در تهیه نانوبیوکامپوزیت‌های تهیه شده باشد. هم‌چنین، با مقایسه تصاویر موجود در شکل 2، یعنی (ب)، (ج) و (د) مشخص است که سطح فیلم نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات اکسید روی و اکسید مس زبرتر و ناهمگن‌تر از سطح

استافیلوکوکوس اورئوس  $10^8 \times 5/18$  بوده است). فیلم‌های تولید شده به‌صورت قطعاتی به مساحت  $4 \text{ cm}^2$  با ضخامت یکسان  $5 \pm 120 \mu\text{m}$  بریده شده و با الکل 70٪ هر دو سمت آن کاملاً تمیز شده و 10 دقیقه در هوای آزاد قرار گرفتند تا الکل باقی مانده احتمالی تبخیر شود. از هر نمونه دو قطعه مربعی شکل تهیه شد. قطعات تهیه شده با کمک پنس استریل در داخل فالكون‌های 15 سی سی استریل قرار گرفته و با کمک پیپت در یک فالكون 10 cc از محیط کشت حاوی باکتری اشرشیاکلی و در فالكون دیگر 10 cc از محیط کشت حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اضافه شد. فالكون‌های حاوی فیلم و میکرواورگانیسیم‌ها به مدت 24 ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  گرمخانه‌گذاری شد. برای شمارش تعداد کلنی‌های تشکیل شده در واحد میلی لیتر (cfu/ml)، رقت‌هایی تا 6 یا 7 رقت با کمک سرم فیزیولوژی (9 گرم در یک لیتر آب مقطر) تهیه شد. روش تهیه این رقت‌ها به این صورت است که در 6 لوله آزمایش 9 cc سرم فیزیولوژی استریل ریخته شد و با کمک نمونه‌گیر 1000 میکرولیتر از محلول داخل هر فالكون حاوی فیلم و میکرواورگانیسیم بعد از 24 ساعت گرمخانه‌گذاری، 1 CC برداشته و به لوله اول اضافه شد. این عمل از لوله اول تا لوله ششم تکرار شد و در هر بار برای اختلاط کامل، لوله‌ها با همزن به‌طور کامل یکنواخت شدند. برای اطمینان از رقت تهیه شده و کاهش خطای آزمایش، از دو رقت نهایی به‌صورت پخش روی سطح محیط کشت اختصاصی کشت داده شد، به این صورت که برای باکتری اشرشیاکلی محیط کشت وایولت ردبایل دکستروز آگار<sup>1</sup> (39/5 گرم در یک لیتر آب مقطر) و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس محیط مانیتول سالت آگار<sup>2</sup> (111 گرم در یک لیتر آب مقطر) برای هر نمونه 4 پلیت (دو پلیت برای لوله پنجم و دو پلیت برای لوله ششم) تهیه شد. سپس با کمک نمونه‌گیر 100 میکرولیتر، 0/1 cc از محلول میکروبی حاوی فیلم برداشته و روی محیط مربوط ریخته و با سیم پخش‌کن به‌طور یکنواخت روی محیط، کشت داده شده و به مدت 24 ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  گرمخانه‌گذاری شد. بعد از 24 ساعت تعداد کلنی‌های تشکیل شده شمارش و در رقت مربوطه ضرب شد. برای مثال تعداد شمارش شده از لوله پنجم

1. Voilet Red Bile Dextrose Agar, VRBD

2. Mannitol Salt Agar, MSA

1. Tukey



شکل (2) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الف) فیلم نشاسته خالص و فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی ب) 3 درصد وزنی اکسید روی، ج) 3 درصد وزنی اکسید مس و د) 3 درصد وزنی نقره

احتمالاً به علت ایجاد پیوندهای هیدروژنی قوی بین زنجیرهای نشاسته و نانوذرات اکسید روی و هم‌چنین پر کردن فضاهای خالی بین زنجیرها، نیروی لازم برای کشیدن افزایش یافته و در نتیجه میزان کرنش فیلم کاهش می‌یابد. شکل (4) نیز نشان می‌دهد که درصد کرنش تا نقطه شکست فیلم حاوی نانوذرات نقره بیش‌تر از بقیه فیلم‌ها می‌باشد. در کل نتایج آنالیز مکانیکی حاکی از آن است که فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات نسبت به فیلم نشاسته خالص خواص مکانیکی بهتری را در کاربردهای بسته‌بندی از خود نشان می‌دهند [16].

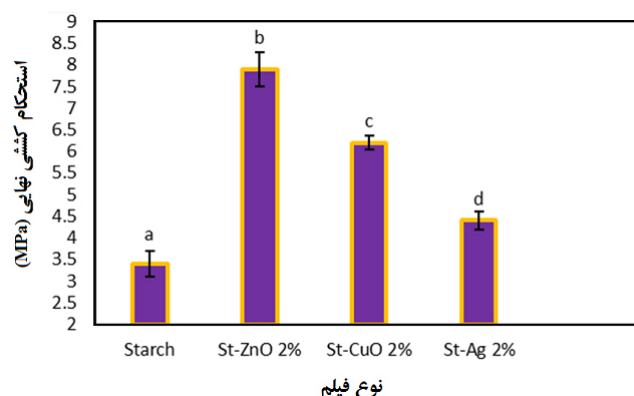
### 3-3- اندازه‌گیری میزان انحلال‌پذیری نمونه‌های فیلم در آب

انحلال‌پذیری در آب یکی از مشخصه‌های کیفی مهم درباره مواد بسته‌بندی استفاده شده برای محصولات غذایی به‌شمار می‌آید. پلیمرهای زیستی مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی باید کم‌ترین حساسیت را نسبت به رطوبت داشته باشند. در غیر این صورت، در طول زمان کارایی فیزیکی خود را از دست داده و نمی‌توانند از بروز انواع فسادهای میکروبی و شیمیایی در ماده غذایی درون خود جلوگیری کنند. همان‌طور که در مقدمه نیز اشاره شد، حساسیت نسبت به رطوبت و

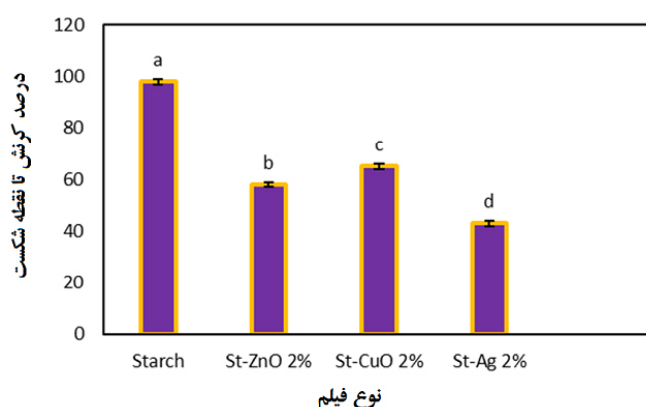
فیلم حاوی نانوذرات نقره می‌باشد که این نشان از پخش بهتر و گسترده نانوذرات نقره در بیوپلیمر نشاسته داشته و اثرات توده‌ای شدن نانوذرات در اکسید روی و اکسید مس شدیدتر بوده است.

### 3-2- استحکام مکانیکی نمونه‌های فیلم

آنالیز تعیین میزان استحکام کشش نهایی و کرنش تا شکست فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی سه نوع نانوذره اکسید روی، اکسید مس و نقره در سطح دو درصد وزنی در دمای محیط اندازه‌گیری شد که نتایج آن در شکل‌های 3 و 4 نشان داده شده است. بسته به میزان برهمکنش‌های بین سطحی میان نانوذرات پرکننده و ماتریس، نحوه پخش نانوذرات در داخل ماتریس و در نتیجه میزان پر شدن فضاهای خالی، مقادیر متفاوتی از میزان استحکام کششی در فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی مشاهده شده می‌شود. مقاومت مکانیکی فیلم نشاسته خالص تا تنش حدود  $3/4$  مگاپاسکال می‌باشد، بنابراین میزان استحکام کششی فیلم‌های تهیه شده برای بسته‌بندی مواد غذایی باید بیش‌تر از  $3/4$  مگاپاسکال باشد که نتایج به‌دست آمده در این تحقیق بیش‌تر از مقدار ذکر شده است. همان‌طور که شکل (3) نشان می‌دهد، استحکام کششی فیلم حاوی نانوذرات اکسید روی بیش‌تر از استحکام کششی بقیه فیلم‌ها می‌باشد. این امر



شکل (3) تأثیر نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و نقره در سطح دو درصد وزنی بر میزان استحکام کششی نهایی (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در آزمون توکی ( $p < 0/05$ ) می‌باشند).



شکل (4) تأثیر نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و نقره در سطح دو درصد وزنی بر کاهش تا نقطه شکست (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در آزمون توکی ( $p < 0/05$ ) می‌باشند).

و به طبع آن آبدوستی ماتریس نیز کاهش می‌یابد. با افزایش نانوذرات اکسید مس میزان حلالیت در آب کاهش یافته است، اما این میزان کاهش چشمگیر نبوده است و دلیل این امر تجمع نانوذرات اکسید مس در ماتریس پلیمری می‌باشد. با افزایش میزان نانوذرات نقره، میزان حلالیت در آب فیلم‌ها کاهش پیدا می‌کند. نانوذرات نقره به وسیله برهمکنش‌های الکترواستاتیکی با زنجیرهای نشاسته اتصال برقرار نموده و باعث افزایش برهمکنش بین زنجیرها می‌شود. همچنین به دلیل این‌که نانوذرات نقره نسبت به زنجیرهای نشاسته خاصیت آگریزی بیشتری دارند، حضور آن‌ها موجب کاهش آبدوستی زنجیرهای نشاسته می‌گردد [6، 14].

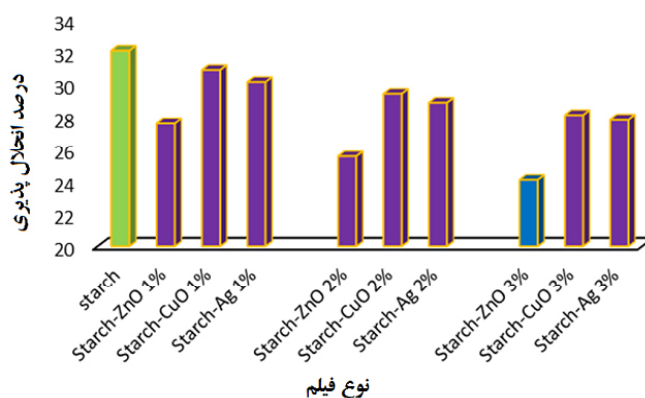
#### 3-4- آنالیز عبور اشعه فرابنفش (UV-Vis)

پلیمرهای شفاف و بی‌رنگ در بسته‌بندی اکثر مواد غذایی

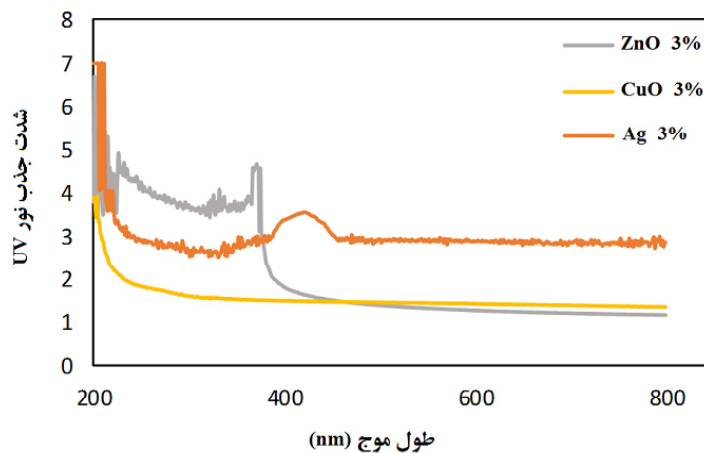
انحلال‌پذیری بیش‌تر فیلم نشاسته نسبت به پلیمرهای سنتزی، یکی از معایب اصلی آن به‌شمار می‌رود. به همین دلیل، باید این عیب تا حد قابل قبولی رفع شود. نتایج حاصل از آنالیز میزان انحلال‌پذیری نمونه‌های فیلمی در شکل (5) نشان داده شده است. مطابق نتایج این شکل مشخص است که درصد کل حلالیت در آب فیلم نشاسته خالص حدود 32 درصد می‌باشد. میزان انحلال‌پذیری در فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی 1، 2 و 3 درصد نانواکسید روی به‌ترتیب، به 27/6، 25/5 و 24 درصد کاهش یافته است. برای دو نانوذره دیگر یعنی اکسید مس و نقره نیز روند کاهشی این کمیت نسبت به افزایش مقدار نانوذره در شکل (5) قابل مشاهده می‌باشد. مکانیسمی که می‌توان در این مورد بیان نمود به این صورت است که نانوذرات اکسید روی با نشاسته پیوندهای هیدروژنی برقرار نموده و در نتیجه میزان گروه‌های OH- ماتریس کاهش یافته



ترجیح داده می‌شوند تا تأثیری بر ظاهر محصول نداشته و به‌طور کامل نشان دهنده ویژگی‌های ظاهری محصول بسته‌بندی شده باشند. با توجه به این که تابش نور یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده فساد در مواد غذایی می‌باشد و برخی از محصولات تحت تأثیر نور دچار تغییرات محسوسی در طعم، بو و رنگ می‌شوند، لذا برای چنین محصولاتی ورود نور به داخل بسته‌بندی بایستی کنترل شود. برای بررسی میزان شفافیت فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی تهیه شده باید میزان جذب اشعه فرابنفش این فیلم‌ها بررسی شود که برای این کار از آنالیز UV-Visible استفاده شده است. شکل (6) نشان دهنده تأثیر سه نوع نانوذره اکسید روی، اکسید مس و نقره در سطح 3 درصد وزنی در نانوبیوکامپوزیت‌های تهیه شده بر روی میزان جذب اشعه فرابنفش در محدوده طول موج 300-900 نانومتر می‌باشد. پیک ایجاد شده برای فیلم‌های حاوی نانوذرات اکسید روی



شکل (5) میزان انحلال‌پذیری در آب فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و نقره در سطوح 1 تا 3 درصد وزنی



شکل (6) نمودار جذب اشعه فرابنفش فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و نقره در سطح 3 درصد وزنی

### 3-5- آنالیز میزان نفوذپذیری نمونه‌های فیلم نسبت به نسبت به بخار آب (WVP)

تبادل رطوبت بین ماده غذایی و محیط می‌تواند مشکلات زیر را ایجاد کند.

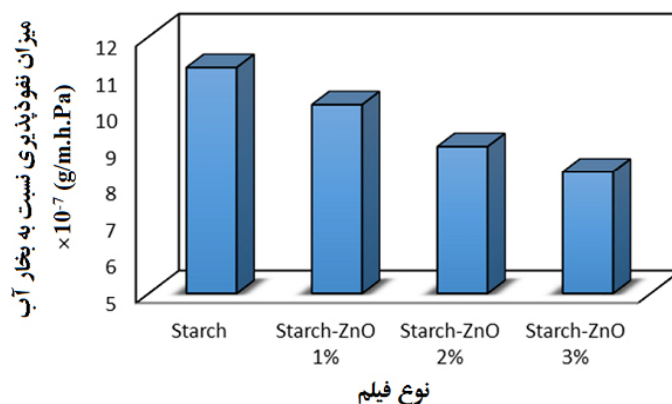
1) جذب رطوبت توسط مواد جاذب رطوبت و از دست دادن کیفیت مواد غذایی.

2) افت آب در مواد غذایی که فشار بخار آب در آن‌ها از فشار بخار آب محیط بالاتر است و باعث از دست دادن طراوت و تازگی مواد غذایی می‌شود.

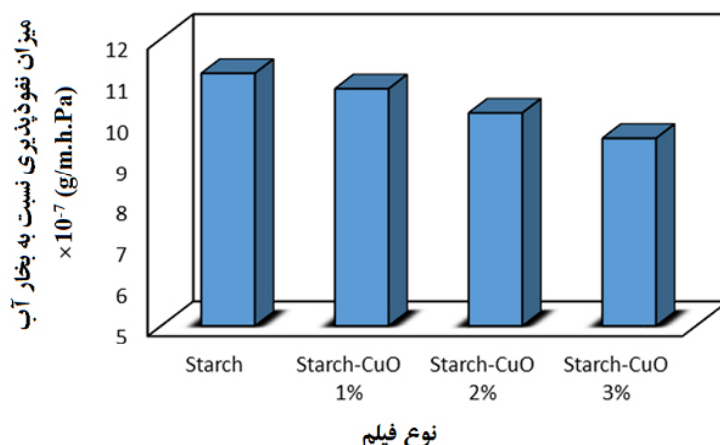
3) جذب آب توسط بعضی از مواد غذایی و بالا رفتن فعالیت آبی در آن‌ها باعث گسترش فسادهای میکروبی و شیمیایی و آنزیمی می‌شود.

بنابراین، بایستی مواد بسته‌بندی تا حد امکان، حداقل نفوذپذیری نسبت به بخار آب را داشته باشند تا از تبادل رطوبت بین محیط و ماده غذایی ممانعت شود. یکی از الزامات قابل توجه در استفاده از بیوپلیمر نشاسته در بسته‌بندی مواد غذایی، کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب به پایین‌ترین مقدار ممکن می‌باشد. نفوذپذیری نسبت به بخار آب برای فیلم‌های نشاسته خالص و فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی نشاسته حاوی نانوذرات نقره، اکسید روی و اکسید مس در رطوبت نسبی 97 درصد و بعد از گذشت یک هفته اندازه‌گیری شد. میزان WVP برای فیلم نشاسته خالص  $1/161 \times 10^{-8}$  g/m.h.pa می‌باشد که با افزایش درصد نانوذرات فلزی درون ماتریس نشاسته، WVP به تدریج کاهش یافته است. در شکل (7) میزان نفوذپذیری فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات

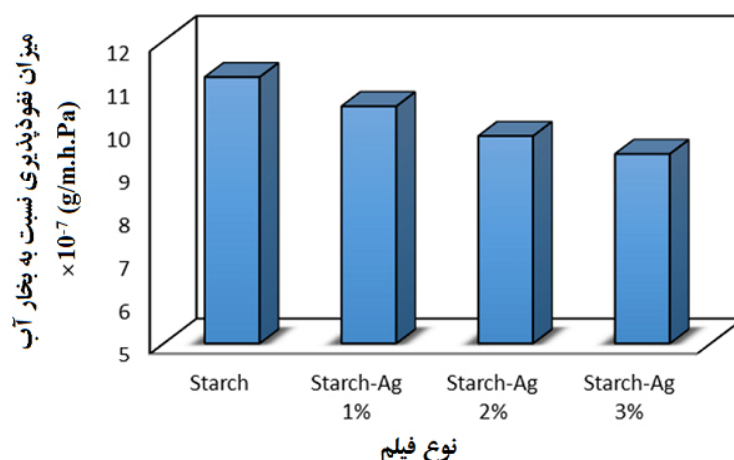
اکسید روی تا 3 درصد وزنی مشاهده می‌شود. همان‌طور که از شکل (7) مشخص است، مقدار WVP نانوبیوکامپوزیت نشاسته - نانواکسید روی کمتر از WVP فیلم نشاسته خالص بوده و با افزایش درصد این نانوذرات، WVP کاهش یافته است. کاهش WVP در اثر افزودن نانوذرات اکسید روی را می‌توان به چند مکانیسم نسبت داد. در درجه اول افزایش نانوذرات اکسید روی، یک مسیر پر پیچ و خم برای عبور مولکول‌های آب ایجاد می‌کند. در مقادیر یک درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پخش شده در شبکه بیوپلیمر، چندین مسیر پر پیچ و خم برای مولکول‌های آب ایجاد می‌شود که این مسیرها با افزایش میزان نانوذرات اکسید روی به دو و سه درصد، بیش‌تر شده و بدین ترتیب مقدار WVP رفته رفته کمتر می‌شود. مکانیسم‌های پیشنهادی دیگر شامل پر شدن فضاهای خالی و هم‌چنین برقراری پیوندهای هیدروژنی با مولکول‌های نشاسته و در نتیجه کاهش نفوذ مولکول‌های آب در ماتریس می‌باشد [17]. مطابق با شکل (8) با افزایش درصد نانوذرات اکسید مس هم میزان WVP نانوبیوکامپوزیت نشاسته-نانواکسید مس به تدریج کاهش یافته است. مکانیسم عملکرد این نانوذرات مشابه به مکانیسم عملکرد نانوذرات اکسید روی می‌باشد. میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب برای نانوبیوکامپوزیت نشاسته - نانونقره تا سه درصد وزنی در شکل (9) نشان داده شده است. باز هم میزان WVP در فیلم‌های حاوی 1، 2 و 3 درصد نانوذرات نقره بر حسب وزن بیوپلیمر به ترتیب به  $9/38 \times 10^{-7}$ ،  $9/8 \times 10^{-7}$  و  $1/048 \times 10^{-8}$  g/m.h.pa کاهش پیدا کرده است. دلایل مختلف کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار



شکل (7) میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات اکسید روی تا 3 درصد وزنی



شکل (8) میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات اکسید مس تا 3 درصد وزنی



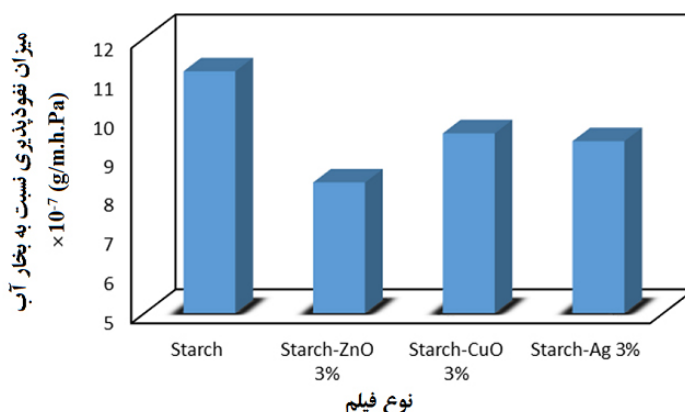
شکل (9) میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانوذرات نقره تا 3 درصد وزنی

بیوپلمر نشاسته، میزان آبدوستی فیلم حاصل را کاهش داده و زنجیره‌های آبدوست نشاسته را تبدیل به زنجیره‌هایی با خاصیت آبدوستی پایین‌تر می‌کنند [18]. بین مقادیر سه درصد وزنی از هر سه نانوذره همان‌طور که در شکل (10) قابل مشاهده است، نانو اکسید روی عملکرد بهتری در کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب را از خود نشان داده است. این عملکرد خوب نانو اکسید روی می‌تواند به دلیل پخش شدگی بهتر آن در ماتریس نشاسته نسبت به دو نانوذره دیگر و ایجاد پیوندهای هیدروژنی بیش‌تر با مولکول‌های نشاسته باشد.

### 3-6- آنالیز خواص ضد میکروبی

جدول (2) نتایج شمارش میانگین کلنی‌های رشد کرده انواع فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی با درصدهای مختلفی از نانوذرات را در برابر دو نوع باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس

آب در فیلم‌های حاوی نانو نقره را می‌توان این‌طور بیان کرد که نانوذرات نقره از طریق ایجاد برهمکنش‌های الکترواستاتیک (بین بار مثبت نقره و گروه‌های آزاد OH- نشاسته) ضمن کاهش گروه‌های هیدروکسیل آزاد نشاسته، اتصالات عرضی در داخل شبکه زنجیره‌های نشاسته ایجاد می‌کنند و از آنجایی که نفوذپذیری بخار آب در بیوپلیمرهای آبدوستی مانند نشاسته به آهنگ جذب مولکول‌های بخار آب در شبکه بیوپلیمر و آهنگ نفوذ آن‌ها در ماتریس بیوپلیمر بستگی دارد، لذا ذرات نانونقره با کاهش حفرات خالی و کاهش تحرک زنجیره‌های بیوپلیمر و افزایش برهمکنش‌ها با زنجیره‌های بیوپلیمر، از طریق ایجاد برهمکنش الکترواستاتیک باعث کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های بیوپلیمری نشاسته می‌شوند. هم‌چنین به دلیل این‌که نانوذرات نقره نسبت به بیوپلیمر نشاسته خاصیت آبگریزی بیش‌تری دارند، به‌وسیله برهمکنش با زنجیره‌های



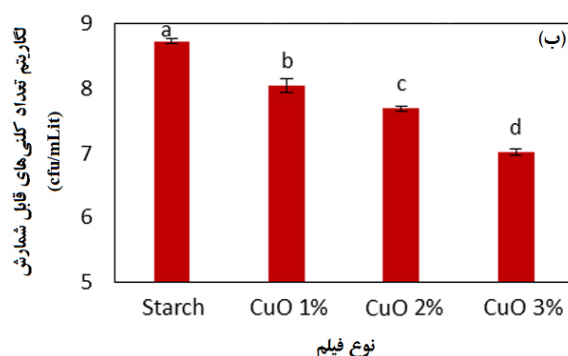
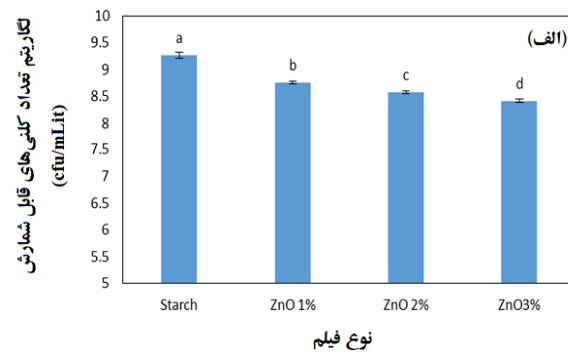
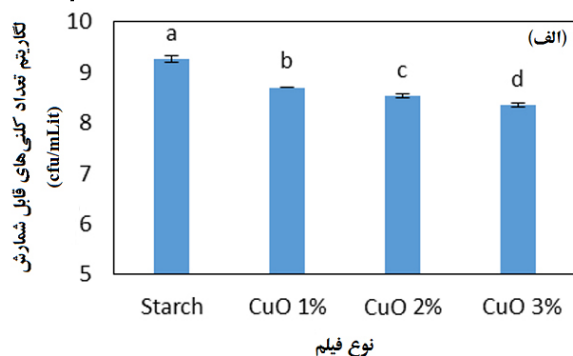
شکل (10) میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی حاوی سه نانوذره در سطح 3 درصد وزنی

جدول (2) نتایج ضدمیکروبی فیلم‌های تهیه شده با نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و نقره

تیمار	نشاسته (% wt.)	نانو ذرات نقره (% wt.)	نانو ذرات اکسید مس (% wt.)	نانو ذرات اکسید روی (% wt.)	میانگین کلنی‌های استافیلوکوکوس اورئوس (×10 <sup>8</sup> )	میانگین کلنی‌های باکتری اشرشیاکلی (×10 <sup>8</sup> )
شاهد	100	0	0	0	92/3 ± 0/03	68/3 ± 0/01
1	99	1	0	0	14/5 ± 0/01	2/4 ± 0/05
2	98	2	0	0	8/6 ± 0/01	1/05 ± 0/01
3	97	3	0	0	4/4 ± 0/04	0/5 ± 0/1
4	99	0	1	0	10/2 ± 0/1	5/09 ± 0/01
5	98	0	2	0	4/8 ± 0/03	3/3 ± 0/03
6	97	0	3	0	1/03 ± 0/04	2/2 ± 0/04
7	99	0	0	1	12/8 ± 0/01	5/6 ± 0/02
8	98	0	0	2	7/3 ± 0/01	3/7 ± 0/02
9	97	0	0	3	3/9 ± 0/05	2/6 ± 0/03

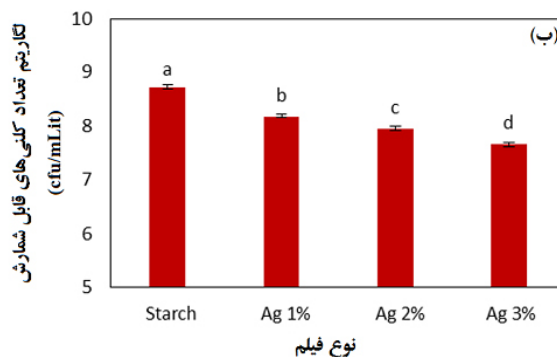
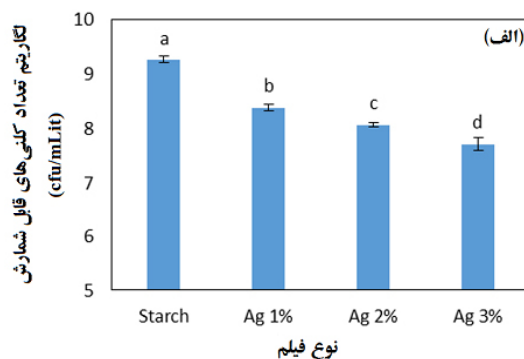
وزنی از نانوذرات به ترتیب اکسید روی، اکسید مس و نقره نشان داده شده است. همان‌طور که از شکل‌ها مشخص است، در مورد هر دو باکتری با افزایش درصد وزنی نانوذرات اکسید مس، اکسید روی و نقره از 1 تا 3 درصد وزنی در داخل ماتریس بیوپلیمری نشاسته، خاصیت ضدمیکروبی فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج آنالیز میکروبی در مورد فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی تهیه شده مطابق شکل‌های 11 تا 13، تاثیر نانوذرات اکسید روی و اکسید مس بر کاهش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیش‌تر از تاثیر آن بر کاهش باکتری اشرشیاکلی می‌باشد، به عبارتی دیگر نانوذرات اکسید روی و اکسید مس در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که تعداد کلونی‌های رشد کرده باکتری اشرشیاکلی در فیلم نشاسته خالص پس از 24 ساعت به تعداد  $6/83 \times 10^9$  cfu/ml و تعداد کلونی‌های رشد کرده باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در فیلم نشاسته خالص به  $9/23 \times 10^8$  cfu/ml افزایش یافته است، یعنی فیلم نشاسته خالص هیچ‌گونه بازدارندگی در مقابل این دو نوع باکتری از خود نشان نداده است (تعداد اولیه باکتری اشرشیاکلی برابر  $1/76 \times 10^9$  و تعداد اولیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس  $5/18 \times 10^8$  بوده است). در شکل‌های 11 تا 13 نیز نمودارهای تعداد کلونی‌های رشد کرده هر دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در فیلم‌های حاوی 1، 2 و 3 درصد



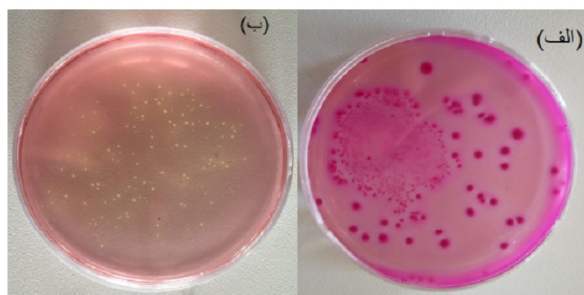
شکل (12) تأثیر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید مس بر میزان خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها در برابر الف) باکتری اشرشیاکلی و ب) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در آزمون توکی ( $p < 0/05$ ) می‌باشند).

شکل (11) تأثیر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید روی بر میزان خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها در برابر الف) باکتری اشرشیاکلی و ب) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در آزمون توکی ( $p < 0/05$ ) می‌باشند).

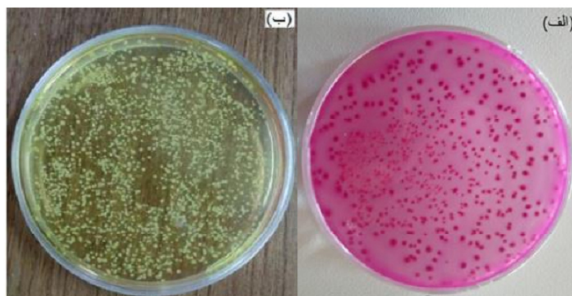


شکل (13) تأثیر مقادیر مختلف نانوذرات نقره مس بر میزان خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها در برابر الف) باکتری اشرشیاکلی و ب) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در آزمون توکی ( $p < 0/05$ ) می‌باشند).

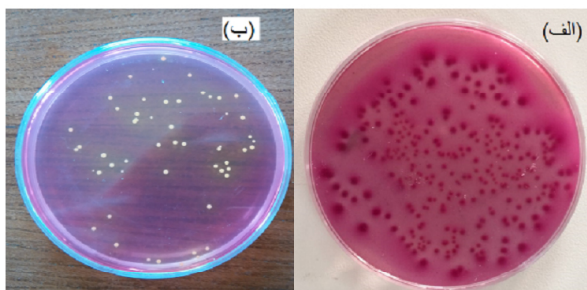
حساسیت بیشتری از خود نشان می‌دهند. در حالی که در مورد نانوذرات نقره روند کاملاً برعکس می‌باشد، یعنی تأثیر نانوذرات نقره بر کاهش باکتری *اشرشیاکلی* بیشتر از تأثیر آن بر کاهش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. این موضوع به دلیل تفاوت در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت (مثل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*) لایه پپتیدوگلیکان ضخیم‌تر بوده، همین موضوع موجب افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر نانوذرات می‌شود. همچنین وجود لیپوپلی ساکارید در غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی (مثل باکتری *اشرشیاکلی*) موجب اتصال نانوذرات به غشاء سلولی می‌شود، در حالی که این لایه در باکتری‌های گرم مثبت وجود ندارد و از عوامل دیگر مقاومت این باکتری‌ها می‌باشد [6، 14]. شکل‌های 14 تا 17 وضعیت کلونی‌های رشد کرده در هر پلیت حاوی فیلم‌های به ترتیب نشاسته خالص و نانوبیوکامپوزیت‌های حاوی نشاسته حاوی 3 درصد وزنی نقره، اکسید روی و اکسید مس را در مقابل باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* نشان می‌دهد.



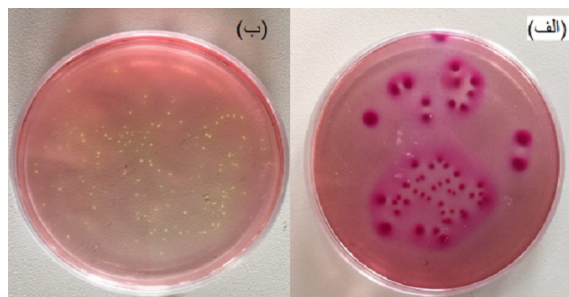
**شکل (16)** وضعیت کلونی‌های رشد کرده در هر پلیت حاوی فیلم نانوبیوکامپوزیتی نشاسته حاوی 3 درصد وزنی نانوذره اکسید روی برای الف) باکتری *اشرشیاکلی* (رقم  $10^6$ ) و ب) باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ( $10^5$ )



**شکل (14)** وضعیت کلونی‌های رشد کرده در هر پلیت حاوی فیلم نشاسته خالص برای الف) باکتری *اشرشیاکلی* (رقم  $10^6$ ) و ب) باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ( $10^5$ )



**شکل (17)** وضعیت کلونی‌های رشد کرده در هر پلیت حاوی فیلم نانوبیوکامپوزیتی نشاسته حاوی 3 درصد وزنی نانوذره اکسید مس برای الف) باکتری *اشرشیاکلی* (رقم  $10^6$ ) و ب) باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ( $10^5$ )



**شکل (15)** وضعیت کلونی‌های رشد کرده در هر پلیت حاوی فیلم نانوبیوکامپوزیتی نشاسته حاوی 3 درصد وزنی نانوذره نقره برای الف) باکتری *اشرشیاکلی* (رقم  $10^6$ ) و ب) باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ( $10^5$ )

#### 4- نتیجه‌گیری

- بررسی تصاویر مورفولوژی سطح شکست با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روشی نشان دهنده سطح زبر و ناهمگن نانوکامپوزیت‌ها در مقایسه با نشاسته خالص می‌باشد که احتمالاً این به علت عدم تشکیل پیوند شیمیایی قوی بین نانوذرات فلزی و ماتریس پلیمری و همچنین عملکرد این نانوذرات به عنوان هسته‌های بی‌شمار کریستالیزاسیون در نشاسته باشد.

- هر سه نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و نقره میزان انحلال‌پذیری در آب را کاهش دادند که این امر به کاهش گروه‌های هیدروکسیل آزاد و افزایش مسیر پر پیچ و خم و کاهش فضاهای خالی نسبت داده شد. در سطح 3 درصد وزنی، فیلم نانوبیوکامپوزیتی حاوی نانواکسید روی بیش‌ترین میزان کاهش در حلالیت در آب را از خود نشان داده است که این امر ناشی از پخش شدگی بهتر این نانوذره نسبت به اکسید مس و نقره در ماتریس پلیمری می‌باشد.

- تأثیر نانوذره اکسید مس به تنهایی بر کاهش مقدار باکتری استفیلوکوکوس اورئوس بیش از تأثیر بقیه نانوذرات و حدود 98 درصد و تأثیر نانوذره نقره به تنهایی بر کاهش تعداد کلنی‌های باکتری اشرشیاکلی بیش از بقیه نانوذرات و حدود 97 درصد بوده است.

در این پژوهش، فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر نشاسته تاپیوکا به روش قالب‌ریزی از محلول تهیه شدند. با توجه به این که فیلم نشاسته خالص بسیار ترد و شکننده می‌باشد، گلیسیرول به عنوان نرم‌کننده در فرمولاسیون تولید فیلم به کار رفت. به‌منظور بهبود ویژگی‌های کاربردی فیلم نشاسته و ایجاد خاصیت ضد میکروبی در فیلم‌ها از نانوذرات فلزی اکسید روی، اکسید مس و نقره در سطح 3 درصد وزنی نشاسته تهیه شده و تأثیر آن‌ها بر روی خواص فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی مورد مطالعه قرار گرفت. مهم‌ترین نتایج حاصل از این تحقیق را می‌توان به‌صورت زیر خلاصه نمود:

- مطابق با یافته‌های پژوهشگران قبلی و همان‌طور که انتظار می‌رفت، پیک جذب اشعه ماوراء بنفش در فیلم حاوی نانوذرات اکسید روی در محدوده طول موج 380 تا 350 نانومتر انجام شده و بیش‌ترین میزان جذب در طول موج 370 نانومتر اتفاق افتاده است. فیلم‌های حاوی نانوذرات اکسید روی بیش‌ترین جذب اشعه ماوراء بنفش را دارند که نشان از خاصیت حفاظتی این فیلم‌ها در برابر فساد میکروبی ماده غذایی توسط اثرات مخرب اشعه فرابنفش می‌باشد.

#### منابع

- packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Ind. Crop Prod.*, 23(2), 147-161.
- [6] Espitia, P. J. P., et al., (2013). Physical-mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. *Carbohydr Polym.*, 94(1), 199-208.
- [7] Couvreur, P. and Puisieux, F., (1993). Nano- and microparticles for the delivery of polypeptides and proteins. *Adv. Drug Deliver Rev.*, 10(2), 141-162.
- [8] Pandey, J. K., et al., (2005). An overview on the degradability of polymer nanocomposites. *Polym.*
- [1] Ahvenainen, R., (2003). *Novel Food Pack Tech*, 1<sup>st</sup> ed. Woodhead Publishing, Elsevier, pp 120.
- [2] Sung, S.Y., et al., (2013). Antimicrobial agents for food packaging applications. *Trends Food Sci. Tech.*, 33(2), 110-123.
- [3] Rhim, J. W. and Ng, P.K., (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Crit. Rev. Food Sci.*, 47(4), 411-433.
- [4] Kalambur, S. and Rizvi, S.S., (2006). An overview of starch-based plastic blends from reactive extrusion. *J. Plast Film Sheet*, 22(1), 39-58.
- [5] Davis, G. and Song, J., (2006). Biodegradable



*Polym.*, 75, 472-478.

[18] Bajpai, S., Chand, N., and Chaurasia, V., (2010). Investigation of water vapor permeability and antimicrobial property of zinc oxide nanoparticles-loaded chitosan-based edible film. *J. Appl. Polym. Sci.*, 115, 674-683.

*Degrad Stabil.*, 88(2), 234-250.

[9] Raveendran, P., Fu, J., and Wallen, S. L., (2003). Completely "green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *J. Am. Chem.*, 125(46), 13940-13941.

[10] Kang, S. Z., et al., (2010). A facile gelatin-assisted preparation and photocatalytic activity of zinc oxide nanosheets. *Colloid Surface A.*, 369(1), 268-271.

[11] Wu, D., et al., (2004). Nanocomposites of poly (vinyl chloride) and nanometric calcium carbonate particles: Effects of chlorinated polyethylene on mechanical properties, morphology, and rheology. *J. Appl. Polym. Sci.*, 92(4), 2714-2723.

[12] Su, P. G. and Huang, L. N., (2007). Humidity sensors based on TiO<sub>2</sub> nanoparticles/polypyrrole composite thin films. *Sensor Actuator B-Chem.*, 123(1), 501-507.

[13] Lei, H., Xu, T. and Gao, C. (2010). Characterization of the dispersion of tetrapod-like nano-ZnO whiskers in acrylic resin and properties of the nanocomposite coating system. *J. Coating Technol. Res.*, 7(1), 91-97.

[14] An, J., et al., (2011). Preparation and characterization of silver-chitosan nanocomposite particles with antimicrobial activity. *J. Appl. Polym. Sci.*, 120(6), 3180-3189.

[15] Hong S., Rhim J. W., (2012). Preparation and properties of melt-intercalated linear low density polyethylene/clay nanocomposite films prepared by blow extrusion. *LWT - Food Sci. Technol.*, 48, 43-51.

[16] Gholami, R., Ghanbarzadeh, B., Dehghannia, J., (2013), Potato Starch/Montmorillonite-Based Nanocomposites: Water Sensitivity, Mechanical and Thermal Properties and XRD Profile Study. *Iran J. Polym. Sci. Technol.*, 26(2), 91-100.

[17] Ma, X., Chang, P. R., Yang, J., and Yu, J., (2009). Preparation and properties of glycerol plasticized-pea starch/zinc oxide-starch bionanocomposites. *Carbohydr*