

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلمهای تهیه شده حاوی نانوذرات اکسید سیلیسیوم با پایه پلی ساکارید آرد سویا

داود سالارباشی^{1*}، مصطفی شهیدی نوقایی²، بی بی صدیقه فضل‌ی بزاز^{3,4} سید علی مرتضوی⁵، ایمان شهابی قهفرخی⁶، رضا احمدی⁷

- 1- استادیار، گروه مهندسی شیمی و صنایع غذایی، واحد زرین دشت، دانشگاه آزاد اسلامی، زرین دشت، ایران
- 2- استادیار، گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
- 3- استاد، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
- 4- استاد، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
- 5- استاد، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- 6- استادیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
- 7- استادیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

تاریخ پذیرش: 1396/05/02

تاریخ دریافت: 1395/10/29

چکیده

بیوپلیمرهای مشتق شده از منابع طبیعی که سهم زیادی از توجهات را در سال‌های اخیر به خود جلب نموده‌اند، به عنوان جایگزین‌های فیلم‌های پلاستیکی غیرزیست تخریب پذیر متداول در نظر گرفته می‌شوند چرا که هزینه آن‌ها پایین است و به آسانی از منابع تجدیدپذیر و زیست تخریب پذیر در دسترس‌اند. در این پژوهش، تاثیر غلظت‌های مختلف اکسیدسیلیسیوم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلم خوراکی بر پایه پلی ساکارید محلول دانه سویا بررسی گردید. فیلم‌های نانوکامپوزیتی با افزودن نانوذرات اکسید سیلیسیوم در غلظت‌های مختلف (5، 10 و 15 درصد بر پایه وزن خشک) به پلیساکارید آرد سویا، تولید گردید. نانوکامپوزیت حاصل، با هدف بررسی ویژگی‌های میکروبی به روش قالب‌ریزی محلول، سنتز شد. با افزایش غلظت نانوذرات در فیلم‌ها، میزان رطوبت آنها به طور معنی داری کاهش یافت. فیلم پلی ساکاریدی پا به بسیار شفاف بود اما افزایش غلظت اکسید سیلیسیوم، میزان شفافیت فیلم‌ها را کاهش داد. نانواکسیدسیلیسیوم دارای اثر ضد میکروبی نیست. نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید سیلیسیوم می‌توانند در ماتریس پروتئینی سویا برای تولید فیلم استفاده گردند. فیلم کامپوزیتی تولید شده در این پژوهش را می‌توان برای کاربردهای غذایی و به عنوان ماده بسته بندی زیست تخریب پذیر استفاده نمود.

واژه های کلیدی: خصوصیات فیزیکوشیمیایی، خصوصیات میکروبی، نانوذرات اکسید سیلیسیوم، نانوکامپوزیت‌ها.

1- مقدمه

امروزه میلیون‌ها تن پلاستیک هر ساله در سراسر جهان تولید می‌شوند و تولید و مصرف آنها روبه افزایش است. عدم قابلیت زیست تخریب پذیری آنها سبب بروز مشکلات زیست محیطی جدی شده است. به همین دلیل، مواد زیست تخریب‌پذیر، در طی چند دهه گذشته به‌عنوان جایگزینی برای پلیمرهای تجزیه‌ناپذیر، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. بیوپلیمرهای مشتق شده از منابع طبیعی که سهم زیادی از توجهات را در سال‌های اخیر به خود جلب نموده‌اند، به‌عنوان جایگزین‌های فیلم‌های پلاستیکی غیرزیست تخریب‌پذیر متداول در نظر گرفته می‌شوند چرا که هزینه آنها پایین است و به آسانی از منابع تجدیدپذیر و زیست تخریب‌پذیر در دسترس اند (1 و 3). پلی ساکاریدها به دلیل فراوانی و قیمت کم، برای تولید این گونه بسته‌بندی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما نفوذپذیری بالا به گازها و مقاومت مکانیکی ضعیف، استفاده از این پلیمرها را در صنعت محدود می‌کند (15). پلیساکارید محلول دانه سویا، از مواد دیواره سلولی دانه های سویای استخراج می‌شود. این پلی-ساکارید، دارای ساختاری مشابه پکتین بوده و متشکل از ستون گالاکتورونان هموگالاکتو-رونان (آلفا) 1-4 گالاکتورونان) و رامنوگالاکتورونان (واحدهای تکرارشونده آلفا 1 و 2 رامنوز و آلفا 1 و 4 گالاکتورونیک اسید) که توسط بتا 1 و 4 گالاکتان و آلفا 1 و 3 یا آلفا 1-5 آرابینان شاخه دار، است (13). ویژگی‌های فیلم‌پذیری این ماده بسیار خوب بوده و قادر به تولید فیلم‌های قابل تجزیه با ویژگی فیزیکی و ساختاری مطلوب می‌باشد. با این حال، فیلم‌های تهیه شده از این پلی ساکارید حساس به رطوبت بوده و نسبت به عبور انواع گازها، نفوذپذیری بالایی دارد (10). خواص فیزیکی ضعیف و ویژگی‌های مکانیکی ضعیف این پلیمر زیستی، استفاده از آن‌ها صنعت بسته‌بندی را محدود می‌کند و باید با استفاده از شیوه‌های نوین این محدودیت‌ها را جبران نمود (16). مهمترین عامل استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی توانایی آنها در فراهم کردن مانع در مقابل موادی مانند رطوبت، اکسیژن، طعم، رنگ و روغن می‌باشد که نتیجه آن افزایش کیفیت و ماندگاری ماده غذایی است.

بنابراین نفوذپذیری فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی نسبت به این مواد مورد توجه قرار گرفته است. خاصیت قطبی یا غیر قطبی مواد سازنده فیلم میزان ممانعت‌کنندگی فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی را تعیین می‌کند. برای مثال وجود چربی آب‌گریز در ساختار فیلم نفوذپذیری آنرا نسبت به رطوبت کاهش می‌دهد. به این علت که پلاستی‌سایزرهای شامل آب به‌طور کلی نفوذپذیری فیلم را افزایش می‌دهند بنابراین نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به مواد قطبی و غیرقطبی با افزایش میزان پلاستی‌سایزر افزایش می‌یابد. عامل مهم در بهبود خواص ممانعتی فیلم‌های خوراکی انتخاب نوع ماده سازنده فیلم، نوع و مقدار پلاستی‌سایزر و شرایط تشکیل فیلم است که در نهایت موجب بهبود انعطاف‌پذیری، انحلال و قدرت فیلم می‌شوند. (4). مواد نانوکامپوزیت تهیه شده از طریق پروتئین سویای نرم شده با گلیسرول بعنوان چارچوب و سیلیکا بعنوان فاز تقویت‌کننده مورد بررسی قرار گرفتند (14). نانوذرات سیلیکا در محیط پروتئینی با منبع سدیم سیلیکات سنتز می‌شوند. نتایج نشان داد که ذرات سیلیکا بصورت همگن در پروتئین سویا پراکنده می‌شوند (در مقادیر کمتر از 8%) (14). ذرات سیلیکا چسبندگی بالایی با چارچوب پروتئین از طریق پیوند هیدروژنی دارند. اختلاط سیلیکا بعنوان یک عامل تقویت‌کننده در بهبود خواص مکانیکی و حرارتی پلاستیک‌های پروتئین سویا موثر بوده است. افزودن 0/3% نانو اکسید سیلیسیم می‌تواند نفوذپذیری اکسیژن فیلم پروتئین سویا را افزایش دهد. نانوکامپوزیت‌های سبز از پروتئین سویا با پخش کردن نانو پودر پوسته تخم مرغ به همراه گلیسرول بررسی شده‌اند (11). ساختار شیمیایی، مشتقات و کاربردهای پلی ساکاریدهای محلول سویا به عنوان غذای کاربردی مورد بررسی قرار گرفته است. از آن جایی که این زیست پلیمر دارای پایه غذایی است لذا استفاده از آن در بسته‌بندی مواد غذایی مطلوب‌تر می‌باشد. تحقیقات اخیر نشان داده است که این پلیمر دارای پتانسیل زیادی برای تبدیل شدن به یک ماده بسته‌بندی کارا است. لذا اصلاح آن با استفاده از روش‌های پیشنهادی در بالا می‌تواند گام نوینی در توسعه یک پلیمر زیست تخریب‌پذیر باشد. (9). بنابراین انجام تحقیق جامع و کامل در مورد نانو

گذاری شد. بعد از خشک شدن، فیلمها جدا شدند و برای آزمایشهای بعدی در دمای 4 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی 45 درصد نگهداری شدند.

2-3- میزان رطوبت

مقدار رطوبت فیلمها از طریق خشک کردن آنها در یک آون با دمای 104 درجه سانتیگراد، تا رسیدن به یک وزن ثابت انجام گرفت.

2-5- نفوذ پذیری نسبت به بخار آب

برای محاسبه نفوذپذیری به بخار آب از روش حسینی وهمکاران (2009) استفاده گردید (6). نمونهها قبل از آزمون در دسیکاتور حاوی نیترا منیزیم (برای ایجاد رطوبت نسبی 53 درصد) قرار داده گرفته و در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 24 ساعت نگهداری شدند. ابتدا درون ظروف شیشه ای کلرید کلسیم بدون آب ریخته و سطح ظروف به وسیله فیلمهای بدون چروکیدگی و سوراخ پوشانده شده و سپس با استفاده از پارافیلیم و به کمک پارافین مذاب درب بندی شدند. برای حفظ گرادیان رطوبت نسبی 75 درصد عبوری از فیلمها، از محلول اشباع کلرید سدیم (رطوبت نسبی 75 درصد) در داخل دسیکاتور استفاده شد. اختلاف رطوبت نسبی در دو سمت فیلم در دمای 25 درجه سانتیگراد، فشار بخاری معادل 1753/55 پاسکال ایجاد می کند. بدین ترتیب تغییرات وزن ظرفها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت $\pm 0/0001$ گرم اندازه گیری شد. منحنی تغییرات رسم و شیب هر خط رسم شده به وسیله رگرسیون خطی محاسبه گردید. نرخ انتقال بخار آب (WVTR) از تقسیم شیب خط کشیده شده (Slope) بر سطح فیلم (A) بدست می آید:

$$WVTR = \text{Slope} / A \quad (2)$$

با توجه به معادله 2 با ضرب کردن ضخامت فیلم (X) و تقسیم بر اختلاف فشار بین رطوبت نسبی درون سلولها و رطوبت نسبی دسیکاتور (ΔP)، نفوذ پذیری به بخار آب (WVP) به دست می آید:

$$WVT = \frac{WVTR \times X}{\Delta P} \quad (3)$$

کامپوزیتها و کاربرد احتمالی آنها در صنایع بسته بندی کشور امری لازم و ضروری است. در این راستا، در این پژوهش ابتدا فیلم خوراکی بر پایه پلی ساکارید محلول دانه سویا با استفاده از غلظتهای مختلف اکسید سیلیسیوم و به روش قالب ریزی تولید گردید. سپس تاثیر غلظت های مختلف اکسید سیلیسیوم بر ویژگیهای میکروبی فیلم تولیدی، بررسی گردید.

2- مواد و روش ها

2-1- مواد

پلی ساکارید آرد سویا به عنوان ماتریس پلیمری پلی ساکاریدهای محلول در آب هستند که از دانه سویا استخراج میشوند و از شرکت روغن فوجی* تهیه شد. نانو ذره اکسید سیلیسیوم از شرکت ساترن خریداری شد. باکتریهای مورد بررسی در این پژوهش شامل باسیلوس سرئوس (Bacillus cereus, PTCC1247)، اشرشیاکلی-PTCC 1330، ATCC 8739 و استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 6538 P-1112 بودند که از مرکز PTCC کرج تهیه گردید. مخمر کاندیدا آلبیکنز (Candida albicans) و کپک پنی سیلیوم اکسپانسونوم (Pencilium expansum) نیز از مواد غذایی ایزوله، و تهیه شدند.

2-2- آماده سازی فیلم

فیلمها با استفاده از روش قالب ریزی و مطابق روش Tajik و همکاران در سال 2013 با اندکی اصلاح تهیه شدند (13). برای تهیه محلول 1 درصد از این فیلم، مقدار 1 گرم (w/v) پلی ساکارید را در 100 میلی لیتر آب ریخته و با همزن مغناطیسی در دمای 65 درجه سانتیگراد و به مدت 30 دقیقه هم زده شد. برای نرم شدن فیلمهای تولیدی، مقدار 25 درصد وزن ماده خشک آنها گلیسرول به عنوان پلاستی-سایزر اضافه گردید. هم زمان نسبت های 5، 10 و 15 درصد از نانوذرات اکسید سیلیسیوم به محلول اضافه شد. محلولها در دمای 40 درجه سانتیگراد به مدت یک شبانه روز گرمخانه

*Fuji Oil Co. (Osaka, Japan)

†Plasticizer

2-6- میزان کدورت

برای اندازه گیری کدورت فیلم‌ها، از طیف‌سنج (UV/Vis spectrophotometer, Shimadzu, model 1601 PC, Tokyo, Japan) استفاده شد. فیلم‌های تولیدی را در ابعاد 6×1 سانتی‌متر برش داده و آن‌ها را در دو طرف قسمت شفاف کووت شیشه‌ای قرار دادیم و میزان جذب در طول موج 660 نانومتر ثبت گردید (6).

2-7- آزمون درصد بازدارندگی و مهارکنندگی برای

کپک‌ها

محیط کشت آگاردار مورد استفاده در آزمون درصد مهارکنندگی کپک‌ها، محیط کشت اختصاصی Sabro Dextrose Agar (SDA) است. نانوذرات اکسیدسیلیسیوم، ابتدا به روش دیسپرسیون نانوذرات در محیط کشت مایع، در محلول‌های استریل شده کازئینات سدیم 20 درصد و Bovine Serum Albumin (BSA) 20 درصد مخلوط می‌گردد. سپس با توجه به این که محیط کشت آگاردار SDA، بعد از اتوکلاو سرد و منجمد می‌گردد جهت اضافه نمودن نانوذرات دیسپرس شده در محلول‌های 20 درصد کازئینات و BSA در محیط کشت SDA، ابتدا محیط کشت SDA را در مایکروویو ذوب کرده و در ادامه محلولهای حاوی نانوذرات را به محیط کشت SDA 10 اضافه نموده و بلافاصله عمل دیسپرسیون در اولتراسونیکس به مدت 1 دقیقه، با توجه به منجمد شدن سریع محیط کشت SDA صورت می‌گیرد. بعد از آماده شدن محلول حاوی نانوذره دیسپرس شده در محیط کشت SDA و کازئینات سدیم و یا BSA، 12 سی سی به پلیت اول منتقل می‌شود. در ادامه جهت سایر رقت‌ها به تعداد رقت‌هایی که بایستی تهیه کنیم، باید لوله آزمایش بزرگ، استریل شده وجود داشته باشد، که در هر کدام 12 سی سی از محیط کشت SDA ذوب شده در مایکروویو اضافه کرده و سپس جهت جلوگیری از منجمد شدن محیط کشت SDA، لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت SDA را در جا لوله ای و در درون آب 70-80 درجه سانتی گراد حمام آب ننگه میداریم. رقت‌های دیگر شامل: 1/25 میلی گرم بر میلی

لیتر، 2/5 میلی گرم بر میلی لیتر، 5 میلی گرم بر میلی لیتر و 10 میلی گرم بر میلی لیتر بودند. جهت تهیه کشت 7 روزه از کپک‌ها جهت آزمون درصد مهارکنندگی، ابتدا از محیط کشت اصلی حاوی کپک‌های رشد کرده با سرست پاستور، یک دایره برش خورده از این محیط کشت تهیه کرده و به وسط یک پلیت حاوی محیط کشت SDA، اضافه می‌کنیم. سپس به مدت 7 روز در انکوباتور نگهداری می‌کنیم. جهت نمونه شاهد در آزمون درصد مهارکنندگی کپک‌ها یک دایره برش خورده از کشت اول 7 روزه کپک‌ها، به مرکز یک پلیت که فقط حاوی محیط کشت SDA بوده منتقل می‌کنیم و به مدت 7 روز در انکوباتور نگهداری می‌کنیم. بعد از 7 روز، قطر هاله‌های ایجاد شده از رشد کپک‌ها در پلیت‌های کشت شده با استفاده از ابزار اندازه گیری کولیس انجام می‌شود. با استفاده از قطر هاله‌های اندازه گیری شده و براساس فرمول زیر، زمانی که نسبت 100 درصد در مورد قطر هاله یکی از پلیت‌های حاوی نانوذره و محیط کشت SDA حاصل شود، درصد مهارکنندگی نانوذره اکسید سیلیسیوم مشخص شده است.

$$d_c = \text{قطر هاله ی کپک مورد نظر محیط کشت فاقد نانوذره (قطر هاله کنترل)}$$

$$d_t = \text{قطر هاله ی کپک مورد نظر در محیط کشت حاوی نانوذرات دیسپرس شده}$$

$$(5) \quad \text{درصد مهارکنندگی رشد میسل‌های کپک (MGI)} = \frac{(d_c - d_t)}{d_c} \times 100$$

لذا، علاوه بر قطر هاله در روز هفتم، قطر هاله کپک در روز اول گرمخانه گذاری باید اندازه گیری شود. زمانی که عدد صورت کسر تقسیم بر مخرج برابر 1 باشد یا به عبارت دیگر، قطر هاله ی رشد کپک در محیط کشت SDA حاوی درصد مشخص نانوذره، برابر قطر دهانه پیپت پاستور باشد، نشان دهنده ی عدم رشد کپک خواهد بود. کپک مورد بررسی در این پژوهش پنی سیلیوم اکسپانسون بود (12). چنان چه براساس محاسبات، در یکی از محیط کشت‌های SDA، حاوی نانوذره به 10 درصد MGI برسیم، این محیط کشت حاوی نانوذره و درصد‌های بیشتر نانوذره در محیط کشت SDA، برای تهیه کشت 7 روزه کپک در محیط کشت SDA جدید استفاده خواهد شد، چنان چه در کشت‌های هفت روزه مورد نظر جدید، کپک رشد داشته و تشکیل هاله دهد، نشان دهنده عدم نابودی کپک با وجود

درصدهای مختلف نانوذره مورد بررسی از معرف نمک تترازولیوم استفاده گردید. محلول نمک تترازولیوم در برابر تغییر اسیدیته محیط کشت و کاهش pH تغییر رنگ به قرمز می‌دهد. چنانچه حضور نانوذرات در درصد مشخص مورد بررسی قادر به جلوگیری از رشد مخمر یا باکتری نباشد، مخمر و باکتری در نتیجه مصرف ترکیبات قندی محیط کشت و فرآیند تخمیر تولید اسید نموده و در نتیجه pH محیط کاهش می‌یابد. در چنین شرایطی محلول نمک تترازولیوم تغییر رنگ به قرمز داده و نشان دهنده رشد مخمر یا باکتری در چاهک حاوی نانوذره است. به عبارت دیگر، تغییر رنگ نمک تترازولیوم به قرمز نشان دهنده توانایی رشد مخمر یا باکتری با وجود نانوذره و عدم تغییر رنگ تترازولیوم، نشان دهنده رقتی از نانوذره بود که مانع از رشد مخمر یا باکتری شده و در نتیجه pH محیط کشت تغییر نکرده است. باکتری‌های مورد بررسی در این پژوهش شامل باسیلوس سرئوس، اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس بودند. مخمر مورد ارزیابی نیز کاندیدا آلیبکنز و کپک مورد بررسی پنسیلیوم اکسپانوم بودند (2).

2-9- روش آماری

آنالیزهای آماری اختلاف بین تیمارهای مختلف، براساس طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) در سطح احتمال 5 درصد تعیین شد. با توجه به بررسی نسبت‌های 0، 5، 10 و 15 درصد از نانوذرات اکسید سیلیسیوم، تعداد کل نمونه‌ها 4 مورد بود. کلیه آزمایشات در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون دانکن با استفاده از نرم افزار مینی تب نسخه 16 انجام شد.

3- نتایج

3-1- خصوصیات فیزیکی و مکانیکی

نتایج حاصل از ارزیابی خصوصیات فیزیکی فیلم‌های تولید شده حاوی نانوذرات اکسید سیلیسیوم در جدول 1 نشان داده شده است.

جلوگیری از رشد آن در حضور درصد مشخص نانوذره خواهد بود. چنانچه در کشت 7 روزه‌ای از کپک، هاله تشکیل نگردد، نشان دهنده ی نابودی کپک در حضور درصد مشخص نانوذره خواهد بود و کمترین درصدی از نانوذره که نابودی کپک و عدم تشکیل هاله در آن مشاهده گردد به عنوان درصد حداقل کشندگی کپک (MBC) شناخته می‌شود (12).

2-8- آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها

و مخمرها

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی در باکتری‌ها و مخمرها، از چاهک‌های حاوی محیط کشت Broth و باکتری و مخمر تلقیح شده که بعد از 24 ساعت گرمخانه گذاری و اضافه شدن نمک تترازولیوم، به رنگ قرمز تغییر ندادند را با استفاده از آنس حلقوی، به یک محیط کشت آگاردار عمومی مانند MHA (Mullen Hinton Agar) منتقل می‌کنیم. چنانچه بعد از یک روز گرمخانه گذاری در رقت موردنظر، باکتری و مخمر رشد کرده باشند، نشان می‌دهد که نانوذره در این درصد با وجود جلوگیری از رشد باکتری یا مخمر، قادر به نابود کردن آن‌ها نبوده است. اما چنانچه در محیط کشت آگاردار کشت یک روزه، باکتری یا مخمر رشدی نداشته باشد و تشکیل کلونی هم نداده باشد، نشان دهنده نابودی آنها است و حداقل درصدی از نانوذره که باکتری یا مخمر را نابود کند، حداقل غلظت کشندگی محسوب می‌گردد. باکتری‌مورد بررسی در این آزمون، باسیلوس سرئوس بود. مخمر مورد ارزیابی نیز کاندیدا آلیبکنز بود (2). جهت دیسپرسیون نانوذره اکسید سیلیسیوم در آب دیونیزه استریل انجام شد. بعد از اتوکلاو نمودن محلول 20 درصد محیط کشت BSA، نانوذرات را به محلول‌ها اضافه و با دستگاه اولتراتراکس و سپس اولتراسوند دیسپرس نمودیم. در هر چاهک پلیت 96 خانه، علاوه بر 200 میکرولیتر از محیط کشت حاوی نانوذره، 10 میکرولیتر از رقت 10^6 باکتری و مخمر منتقل گردید. جهت مشخص نمودن، حداقل بازدارندگی مخمر و باکتری در بین

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم های حاوی نانوذرات اکسید سیلیسیوم

درصد نانوذره در نانوکامپوزیت	ضخامت (mm)	میزان رطوبت (%)	WVP ($\times 10^{-6} \text{ gm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ pa}^{-1}$)
0	0/00020±0/000003 ^a	21/02±0/04 ^a	7/06±0/249 ^b
5	0/00018±0/000002 ^b	16/12±0/11 ^b	5/93±0/005 ^c
10	0/00016±0/000002 ^c	15/91±0/02 ^{bc}	7/46±0/011 ^b
15	0/00014±0/000005 ^d	15/86±0/06 ^c	8/97±0/004 ^a

میانگین های موجود در هر ستون و با یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار هستند ($P < 0/05$); داده ها به صورت میانگین سه تکرار از هر پارامتر \pm انحراف از معیار.

غذایی و محیطی که از مهمترین فاکتورهای مورد بررسی برای سنجش خصوصیات مواد پلیمری مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی می باشد که از طریق پارامتر نفوذ پذیری به بخار آب (WVP) قابل مطالعه است. بر اساس این نتایج افزودن 5 درصد از نانوذرات اکسید سیلیسیوم باعث کاهش میزان WVP شده است طوری که نانوکامپوزیت حاوی سطح 5 درصد از نانوذرات اکسید سیلیسیوم با WVP برابر با 5/93 کمترین میزان انتقال رطوبت را داشته است، این در حالی است که سطوح 10 و 15 درصد از نانوذرات اکسید سیلیسیوم به ترتیب با WVP برابر با 7/46 و 8/97 میزان انتقال رطوبت بیشتری از فیلم پلی ساکاریدی خالص از خود نشان دادند، این بدین معنی است که افزایش نانوذرات در سطوح بیشتر از 5 درصد اثر منفی بر WVP گذاشته و میزان انتقال رطوبت را افزایش داده است. نفوذ پذیری در سطح 5 درصد نسبت به نمونه شاهد و نیز نسبت به سایر سطوح نانوذره، کمتر بود.

میزان رطوبت فیلم پلی ساکاریدی پایه در آب، به ترتیب 21/02 درصد تعیین شد. با افزودن 5 درصد وزنی از نانوذرات اکسید سیلیسیوم، میزان رطوبت نانوکامپوزیت به طور معنی داری به 16/12 درصد کاهش یافت که میتواند به دلیل ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین گروه های هیدروکسیل پلی ساکارید و اتم های اکسیژن در نانوذرات اکسید سیلیسیوم باشد. با افزایش سطح نانوذرات اکسید سیلیسیوم به 10 و 15 درصد وزنی در نانوکامپوزیتها مقادیر رطوبت به ترتیب به 15/91 درصد و 15/86 درصد کاهش یافت که اختلاف معنی داری با هم ندارند. نانوذرات اکسید سیلیسیوم به دلیل آب دوستی پائینتر نسبت به پروتئین سویا در صورت مخلوط شدن با پروتئین سویا از حلالیت مولکولهای آب جلوگیری کرده و مقاومت فیلم ها در برابر آب را افزایش می دهند. بنابراین، با افزودن این نانوذرات که ماده های نامحلول در آب است، شاهد کاهش میزان رطوبت در فیلم های نانوکامپوزیت میباشیم. میزان انتقال رطوبت بین مواد

2-3- کدورت

نتایج حاصل از ارزیابی کدورت فیلم های حاوی نانوذره اکسید سیلیسیوم در جدول 2 گزارش شده است.

جدول 2: خصوصیات کدورت فیلم کنترل و نانوکامپوزیت حاوی SiO_2

کدورت	درصد نانوذره در نانوکامپوزیت
0/25±0/001 ^d	0
0/31±0/001 ^c	5
0/33±0/001 ^b	10
0/39±0/001 ^a	15

میانگین های موجود در هر ستون و با یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار هستند ($P < 0/05$); داده ها به صورت میانگین سه تکرار از هر پارامتر \pm انحراف از معیار.

3-3- خصوصیات ضد میکروبی

نتایج حاصل از آزمون‌های میکروبی بر روی فیلم‌های تولید شده در این پژوهش، در جدول 3 گزارش شده است. نتایج نشان داد که اکسید سیلیسیوم هیچ تاثیر صد باکتریایی، ضد مخمر و ضد کپک ندارد.

فیلم پلی ساکارید پایه بسیار شفاف بود که مقدار کدورت آن در طول موج 660 نانومتر، 25 درصد گزارش گردید. با افزایش غلظت اکسید سیلیسیوم، مقدار عبور نور کاهش یافته است. به عبارت دیگر، افزودن نانوذرات با افزایش مقدار کدورت فیلم‌ها، میزان شفافیت را کاهش داده‌اند به طوری که، میزان کدورت از 31 درصد در غلظت 5 درصد به ترتیب به 33 و 39 درصد برای سطوح 10 و 15 درصد افزایش یافته است.

جدول 3- تاثیر فیلم های حاوی نانوذرات اکسید سیلیسیوم بر حداقل بازدارندگی و کشندگی میکروارگانیسمها

نام میکروارگانیسم	حداقل غلظت کشندگی (mg/mL)	حداقل غلظت بازدارندگی (mg/mL)
باکتریها: باسیلوس سرئوس و اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس	>20	>20
مخمر: کاندیدا آلبیکنز	>20	>20
کپک: پنسیلیوم اکسپانسونم	>20	>20

4- بحث و نتیجه گیری

رطوبت یکی از خصوصیات عملکردی فیلم های تولید شده از مواد بیوپلیمری است که مرتبط با آب دوستی و آب گریزی مواد تشکیل دهنده می باشد. (5 و 8). دلیل کاهش رطوبت در فیلم های تولید شده در این پژوهش، با خاصیت هیدروفوبی نانوذرات مرتبط می باشد. نانوذرات SiO_2 به طور طبیعی، آب دوستی پائین تری نسبت به پروتئین سویا دارند. بنابراین، مخلوط نمودن نانوذرات اکسید سیلیسیوم با پروتئین سویا می تواند از حلالیت مولکول های آب جلوگیری کرده و مقاومت فیلم ها در برابر آب را افزایش دهد. بنابراین، با افزودن SiO_2 که ماده ای نامحلول در آب است، شاهد کاهش میزان رطوبت در فیلم های نانوکامپوزیتی خواهیم بود (19). از آنجا که، یکی از مهمترین نقش های عملکردی بسته بندی مواد غذایی، جلوگیری یا به حداقل رساندن رطوبت بین ماده غذایی و اتمسفر اطراف است؛ لذا نفوذ پذیری به بخار آب توسط ماده بسته بندی باید تا حد امکان پائین باشد (17). همان طور

که نتایج نشان داد، نفوذ پذیری به بخار آب در غلظت 5 درصد نانوذره کاهش یافت اما در سطوح 10 و 15 درصد افزایش یافته و اختلاف معنی داری با نمونه شاهد نداشت. این رفتار را می توان به توزیع ناهمگون نانوذرات اکسید سیلیسیومو تجمع آنها در شبکه پروتئین های سویا نسبت داد. اکسید سیلیسیوم نسبت به پروتئین های سویا، آب گریزتر بوده و بنابراین وقتی به یک غلظت خاص برسد تمایل به تجمع یافتن دارد (7 و 17) که این پدیده در سطوح بالاتر از 5 درصد مشاهده گردید. تاثیر نانوذرات اکسید سیلیسیوم در غلظت 5 درصد بر کاهش نفوذ پذیری به بخار آب را می توان به تشدید بی نظمی شبکه‌ها نتیجه حضور این نانوذرات نسبت داد (18). تاجیک و همکاران (2013) نتایج مشابهی در مورد خصوصیات فیزیکوشیمیایی فیلم خوراکی بر پایه پلی ساکاریدهای سویا ارائه نمودند و بیان کردند که پلی ساکاریدهای محلول پروتئین سویا، می توانند به خوبی در بسته بندی مواد غذایی استفاده گردد (13). زلفی و همکاران (2014) نیز تاثیر نانوذرات اکسید سیلیسیوم بر فیلم

- thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*.33(6):727-43.
7. Jeon, J-D., Kim, M.J. and Kwak, S.Y. 2006. Effects of addition of SiO₂ nanoparticles on mechanical properties and ionic conductivity of solvent-free polymer electrolytes based on porous P (VdF-HFP)/P (EO-EC) membranes. *Journal of power sources*. 162(2), 1304-1311.
 8. Li, Y., et al. 2011. Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*.25(5):1098-1104.
 9. Lindsay, A., Benoist, B. D., Dary, O. and Hurrell, R.. 2006. Guidelines on food fortification with micronutrients, WHO and FAO, Geneva
 10. Nakamura, A., et al. 2004. Emulsifying properties of soybean soluble polysaccharide. *Food Hydrocolloids*.18(5):795-803.
 11. Pavlidou, S., Papaspyrides, C. D., 2008. A review on polymer-layered silicate nanocomposites, *Progress in Polymer Science*. 33:1119-1198.
 12. Salarbashi, D. et al. 2014. Oil stability index and biological activities of *Achillea biebersteinii* and *Achillea wilhelmsii* extracts as influenced by various ultrasound intensities. *Industrial Crops and Products*. 55:163-172.
 13. Tajik, S. et al. 2013. Soluble soybean polysaccharide: A new carbohydrate to make a biodegradable film for sustainable green packaging. *Carbohydrate Polymers*.97(2):817-24
 14. Tarimala, S., Kothari, N., Abidi, N., Hequet, E., Fralick, J., Dai, L. L. 2006. New approach to antibacterial treatment of cotton fabric with silver nanoparticle-doped silica using sol-gel process, *Journal of Applied Polymer Science*. 101:2938-2943.
 15. Tharanathan, R. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in food science & technology*.14(3):71-8.
 16. Weiss, J., Takhistov, P. and McClements, D.J. 2006. Functional materials in food nanotechnology. *Journal of food science*.71(9):R107-R116
- خوراکی تولید شده از پروتئین آب پنیر را بررسی کرده و پس از حصول نتایج بهبود دهنده ذرات اکسیدسیلیسیوم، استفاده از آنها را به عنوان مواد موثر در بسته بندی مواد غذایی و سیستم های دارورسانی پیشنهاد نمودند (19).
- ارزیابی توانایی فیلم های تولید شده در مقابله با میکروارگانیسم ها نشان داد که فیلم تولید شده حاوی نانوذرات اکسید سیلیسیوم تاثیری بر کپک، مخمر و باکتری نداشته است. بکارگیری فیلم های تولید شده در این پژوهش، سبب کاهش پسماندهای بسته بندی، حفظ تازگی ماده غذایی و افزایش دوره ماندگاری محصولات غذایی می-گردد و منجر به بهبود برخی ویژگی ها نظیر افزایش مقاومت در برابر صدمات مکانیکی، حرارتی، نفوذ حلال و گازها، کاهش وزن بسته، افزایش شفافیت و زمان ماندگاری در مقایسه با انواع تجاری در سطح میکروبی می گردد.
- #### 5- منابع
1. Avella, M. et al. 2005. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chemistry*.93(3):467-474.
 2. Biswal, S.K. 2012. Anti-microbial activities of soya protein isolate (SPI)/cloisite C30B (MMT) nanocomposite film. *Journal of Asian Scientific Research*.2(9):539-46.
 3. Davis, G. and Song, J. 2006. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Industrial Crops and Products*.23(2):147-61.
 4. Gennadios, A. Protein-Based Films and Coatings. 2004. In: *Comprehensive Dictionary of Physical Chemistry*. Ellis Horwood, Chichester, UK. 15-65.
 5. Ghasemlou, M., Khodaiyan, F. and Oromiehie A.P 2011. Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate Polymers*.84(1):477-83.
 6. Hosseini, M., Razavi, S. and Mousavi, M. 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with

- activity. *Polymer Composites*. 32(4): 519-28
19. Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M., Hashemi M. et al. 2014. Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-SiO₂ nanocomposite films. *International journal of biological macromolecules*.65:340-345.
17. Zhou J, Wang S. and Gunasekaran S. 2009. Preparation and characterization of whey protein film incorporated with SiO₂ nanoparticles. *Journal of food science*.74(7):N50-N56
18. Zhu, Y., Buonocore, GG., Lavorgna, M., Ambrosio, L. et al. 2011 Poly (lactic acid)/titanium dioxide nanocomposite films: influence of processing procedure on dispersion of titanium dioxide and photocatalytic

