(مقاله پژوهشی)

بررسی ویژگی های ساختاری و ضد باکتریایی پوشش خوراکی کامپوزیت زئین/ نانوکیتین

اسماعیل عطای صالحی[1*]، مریم سلطانی[1]

۱-گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۹ تایخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۲۸

چکیده

در دهه‌های اخیر نانو پلیمرهای زیستی مورد توجه ویژه محققان قرار گرفته است، چراکه این مواد زیست سازگار، زیست تخریب پذیر و تجدید شونده هستند و خطری برای سلامتی انسان و حیوان ندارند، ضمن آن‌که سبب آلودگی محیط زیست نمی‌شوند. هدف از این پژوهش بررسی اثر استفاده از نانوکیتین بر ویژگی های ساختاری و ضد میکروبی فیلم زئین بود. در این مطالعه نانوکامپوزیت زئین با نانوکیتین در سطوح ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۷ درصد براساس وزن خشک زئین به‌روش ریخته‌گری محلول تهیه گردید. سپس خصوصیات ساختاری (تصویر میکروسکوپ الکترونی و طیف سنجی مادون قرمز)، فیلم های تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن نانوکیتین باعث چسبندگی کیتین به بستر پلیمری، افزایش زبری و پخش یکنواخت نانو ذره در ماده زمینه بیوپلیمری می گردد. همچنین نتایج آزمون‌های آنتی‌باکتریال فیلم‌های نانوکامپوزیت به روش انتشار دیسک و هاله عدم رشد با دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که افزودن نانوکیتین به فیلم زئین خواص آنتی باکتریال فیلم را نسبت به فیلم زئین خالص افزایش می‌دهد.

واژه های کلیدی: پوشش خوراکی، نانو کیتین، زئین، ویژگی‌های ساختاری، ضد باکتریایی.

*مسؤول مکاتبات: eatayesalehi@yahoo.com

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر کاربرد پلیمرهای طبیعی مانند پلی‌لاکتیک اسید و زئین به همراه نانو ذرات برای افزایش خواص مکانیکی، فیزیکی و همچنین افزایش فعالیت ضدمیکروبی در صنایع بسته‌بندی مورد توجه قرار گرفته است. با این حال مواد بسته‌بندی طبیعی که هم‌زمان مقاومت خوبی را دارا بوده و فعالیت ضدمیکروبی قوی را ایجاد کنند، بسیار کم هستند. نانو ذرات از جمله موادی با عملکرد عالی هستند که فعالیت‌های ضدمیکروبی آن ها مورد توجه قرار گرفته است. زئین بیوپلیمری نسبتا آب‌گریز با خواص ترموپلاستیکی می‌باشد که قابلیت تولید فیلم دارد. تانر و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر پوشش خوراکی زئین ذرت بر خواص کیفی زرد آلو را طی ۱۰ ماه ذخیره سازی در دماهای ۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد را بررسی کردند و گزارش نمودند که بر اثر پوشش‌دهی تغییرات رنگ و شمارش کل باکتری‌های زنده در نمونه‌های پوشش‌دهی شده با زئین به میزان قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با کنترل کاهش یافت(۹). کیتین موکوپلی‌ساکاریدی سفید، سخت و غیر الاستیک است که به سهولت از خرجنگ، میگو و میسلیوم قارچ‌ها قابل تهیه است(۶). نانو ذرات کیتین دارای خواص ضد قارچی بوده و می‌توانند خواص ممانعت کنندگی فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی را افزایش دهند(۷). فیلم‌های حاصل از ترکیب نانو مواد و بیوپلیمرها و یا به اصطلاح نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری خواص کاربردی مطلوب‌تری از خود نشان می‌دهند که مهمترین آن ها افزایش مقاومت مکانیکی و کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب است. افزایش بازدارندگی در برابر نفوذ گازها، افزایش کارایی فیلم در استفاده به عنوان بسته‌بندی فعال، افزایش مقاومت حرارتی ماده بسته‌بندی و ایجاد شفافیت و بهبود خواص ظاهری فیلم از دیگر مزایای نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری می‌باشد (۸). همچنین به‌دلیل زیست‌تخریب‌پذیر بودن برخلاف فیلم‌های سنتزی باعث آلودگی محیط زیست نمی‌شوند و نیز دارای ارزش غذایی بوده و از فساد و آلودگی میکروبی جلوگیری می نمایند. افزایش زمان انبارداری میوه‌ها و سبزی‌ها، حفظ ظاهر مواد غذایی، جلوگیری از جذب رطوبت مواد غذایی و در نهایت جلوگیری از افت ترکیبات مغذی در اثر واکنش‌هایی مانند اکسایش از دیگر مزایای این پوشش ها است (۱۰).کیتین و کیتوزان از جمله ترکیب‌های طبیعی هستند که خواص ضدمیکروبی آن ها توسط محقق‌های مختلف به اثبات رسیده است (۱). کیتین ساختاری بلوری، سخت و سفید رنگ دارد که به وفور در پوسته سخت پوستان، حشرات و میسلیوم قارچ یافت می‌شود. محدوده وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و کپک‌ها به کیتین حساس هستند (۲). بنابراین پژوهش حاضر با هدف تهیه پوشش خوراکی بر پایه زئین در حضور سطوح مختلف نانو ذرات کیتین و بررسی خصوصیات ساختاری و آنتی باکتریایی آن انجام گرفت.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه مواد

پودر زئین از شرکت سیگما-آلدریچ، گلیسرول از شرکت مارک آلمان، پلی اتیلن گلایکول ۴۰۰۰ و اتانول ۹۶ درصد از شرکت‌دکتر مجللی ایران و سوش‌های باکتریایی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس از بانک سوش باکتری دانشگاه علوم پزشکی گرگان تهیه شد. همچنین برای بررسی مورفولوژی و اندازه نانو ذرات از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Philips و XL30 ساخت کشور هلند و به منظور بررسی توزیع اندازه ذرات از دستگاه پراش دینامیکی نور (DLS) مدل Malvern ساخت کشور انگلیس استفاده شد. جهت طیف سنجی فیلم ها از اطیف سنج مدل Spectrum RXI ساخت شرکتPerkin Elmer آمریکا استفاده شد و طیف های جذبی در گستره$^{-1}$cm۴۰۰۰-۵۰۰ در تفکیک پذیری $^{-1}$cm۵ تعیین گردید

۲-۱-۱- تهیه ذرات نانوکیتین

برای تهیه ذرات نانوکیتین ازروش آسیاب استفاده شد. برای این منظورابتدا۱۰ گرم از پودرمیکروفیبرهای کیتین به آب مقطر دِیونیزه افزوده شد تاسوسپانسیون با غلظت یک درصد وزنی از میکروفیبرها تهیه شود. سپس این سوسپانسیون برای مدت۱۲ساعت در دمای اتاق هم‌زده شد. در ادامه سوسپانسیون تهیه شده در داخل دستگاه آسیاب مکانیکی ریخته شده و ۱۵ سیکل با نرخ جریان ۱۰ لیتر بر دقیقه عبور داده شد تا ژل نانو ذرات کیتین تهیه شد. آنگاه سوسپانسیون به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفویژ شد تا ژل نانو ذرات کیتین تهیه گردید.

۲-۱-۲- آماده سازی محلول نانوکیتین

ژل حاوی نانو کیتین که درصد خلوص آن ۲ درصد بود به میزان ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۷ درصد بر اساس وزن خشک زئین در اتانول جداگانه پراکنده شد و به‌مدت ۳ دقیقه فرا صوت‌دهی شد.

۲-۱-۳- تولید فیلم زیست تخریب پذیر زئین

در این فرآیند ۵ گرم زئین، ۰/۱۵ گرم پلی اتیلن گلایکول و ۰/۲۱ گرم گلیسرول در ۲۵ میلی لیتر اتانول ۷۵٪ با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و محلول حاصل بر روی ظروف سیلکونی به طور یکنواخت پخش گردید به مدت ۴۸ ساعت در هوای آزاد خشک گردید.

۲-۱-٤- تولید فیلم زیست نانوکامپوزیتی زئین

مطابق روش نانوکیتین بعد از اضافه کردن گلیسرول و پلی اتیلن گلایکول به محلول زئین اضافه گردید و به مدت ۸ دقیقه عمل هم‌زدن به‌منظور پخش یکنواخت ذرات نانوکیتین صورت گرفت و فیلم مانند روش قبل خشک شد. فیلم‌های زئین- نانوکیتین با میزان ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۷ درصد بر اساس وزن خشک زئین آماده گردید.

R= نمونه شاهد

A= نمونه زئین+۰/۲٪ نانو کیتین

B= نمونه زئین+۰/۵٪ نانو کیتین

C= نمونه زئین+۰/۷٪ نانو کیتین

۲-۲- بررسی ویژگی‌های سطح شکست فیلم‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM)

تصویر برداری از نمونه‌ها توسط دستگاه میکروسکوپ مدل AIS 2100 ساخت شرکت Seron Technology و در ولتاژ شتاب دهنده ۱۲KVانجام شد. سطح نمونه‌ها جهت مشاهده بهتر ابتدا با طلا پوشش‌دهی شدند و سپس در زیر میکروسکوپ قرار گرفتند. میکروسکوپی در محیط خلأ و در دمای محیط انجام گرفت.

۲-۳- طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه FTIR

جهت طیف سنجی فیلم‌ها از اسپکتروفوتومتر مدل Spectrum RXI ساخت شرکت Perkin Elmer آمریکا استفاده شد و طیف‌های جذبی در گستره ۱- ۴۰۰۰cm-۴۰۰ و در تفکیک پذیری ۱- ۴ cm تعیین گردید.

۲-٤- آزمون‌های بیولوژیکی

۲-٤-۱- استریل کردن فیلم‌ها

فیلم‌های مورد استفاده باید عاری از هر گونه میکروب باشند. استریل شدن فیلم‌ها به روش حرارتی به انجام رسید. برای این منظور فیلم‌های مورد نیاز برای آزمون بیولوژیکی که ۰/۰۵ گرم وزن داشتند برای هر تیمار در نظر گرفته شدند. پس از پیچیده شدن در فویل در یک بشر قرارگرفتند و به مدت ۱۲۰ دقیقه تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو قرار گرفتند.

۲-٤-۲- فعال‌سازی سوش‌های باکتریایی

در این تحقیق فیلم نانو کامپوزیت حاوی مقادیر مختلف نانو کیتین تحت تاثیر دو نوع باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس قرار گرفتند. جهت فعال شدن

باکتری‌ها سوش‌های تهیه شده روی محیط کشت جامد، کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C نگهداری شدند تا باکتری‌ها به طور کامل رشد کنند. با استفاده از لوپ مقداری از باکتری‌های رشد یافته در داخل محیط کشت مایع کشت داده شده و در داخل انکوباتور قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت این باکتری‌ها آماده آزمون ضد باکتری بودند. بدین منظور باکتری‌ها با استفاده از محیط کشت مایع استریل رقیق شدند تا به غلظت مورد نظر (عدد جذب ۰/۰۵ درصد) رسانده شوند.

۲-٤-۳- ارزیابی خواص ضد باکتریایی فیلم نانو کامپوزیت

بررسی خاصیت ضدباکتری فیلم نانوکامپوزیت زئین با اندازه گیری هاله عدم رشد باکتری‌ها انجام گرفت. بدین منظور از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس واشرشیاکولی که به ترتیب گرم مثبت وگرم منفی هستند استفاده گردید. همچنین ازنانو نیتریت آگار به‌عنوان محیط کشتی که در آن باکتری‌های مورد نظر به خوبی رشد می‌کنند استفاده شد. هرکدام از باکتری ها در دو ظرف استریل روی محیط کشت پخش شد(رقت ۰/۵ مک فارلند). محیط کشت از پپتون، آگار و عصاره گوشت ساخته شده است. برای بررسی اثر ضدباکتریایی دیسکی از فیلم نانو کامپوزیت با مقادیر ۰/۲، ۰/۵ و۰/۷ گرم از هر کدام تهیه گردید و به ظرف استریل منتقل شد. از آنتی‌بیوتیک جنتومایسین برای شاهد مثبت استفاده شد. ظرف‌های استریل در بسته در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از گذشت ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد در اطراف هریک ازدیسک ها بررسی گردید. در نهایت با مقایسه اندازه هاله عدم رشد اثر ضدباکتریایی فیلم نانوکامپوزیت‌ها با مقادیر مختلف نانوکیتین تعیین گردید.

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

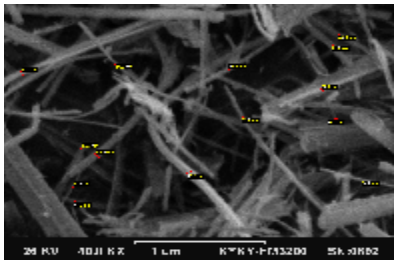
از طرح کاملا تصادفی و آنالیز واریانس یک‌طرفه و زیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری spss و در نهایت گروه‌بندی میانگین‌ها به کمک آزمون دانکن در سطح (۵ درصد) انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی نانو ذرات کیتین

۳-۱-۱- شکل شناسی و بررسی اندازه نانوذرات کیتین و کیتوزان

به منظور بررسی شکل شناسی و تشخیص اندازه نانو ذرات کیتین و کیتوزان تصاویر SEM از آنها تهیه گردید. شکل ۱ تصویر SEM تهیه شده از نانو ذرات کیتین را در مقیاس یک میکرومتر نشان می‌دهد.

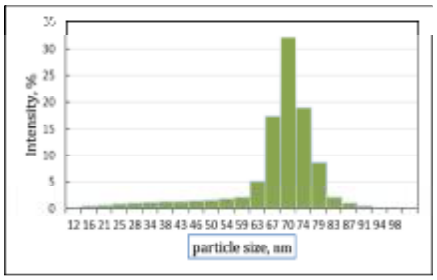


شکل ۱- تصویر SEM مربوط به نانوذرات کیتین در مقیاس ۵۰۰nm

در این تصویر نانو الیاف کیتین با اندازه متوسط قطر حدود ۶۰ نانومتر قابل مشاهده هستند. بنابراین این تصاویر وجود الیاف کیتین در مقیاس نانو را به خوبی تأیید می‌کند.

۳-۱-۲- بررسی توزیع اندازه ذرات به کمک دستگاه پراش دینامیکی نور

به منظور بررسی توزیع اندازه متوسط قطر نانو ذرات ساخته شده از دستگاه DLS استفاده گردید. شکل ۲ درصد فراوانی نانو ذرات کیتین را به‌عنوان تابعی از اندازه متوسط قطر نانو ذرات نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود بیشترین فراوانی نانو ذرات کیتین دارای قطر متوسطی حدود 70nm می‌باشند.



شکل ۲- توزیع اندازه ذرات نانو کتین توسط دستگاه DLS

در این مطالعه از روش ریخته‌گری جهت تهیه فیلم‌ها استفاده شده است، از مزایای مهم این روش تهیه فیلم می‌توان به کم هزینه بودن، تهیه آسان، سهولت دسترسی مواد مورد آزمایش و تبخیر سریع حلال می‌توان اشاره کرد.

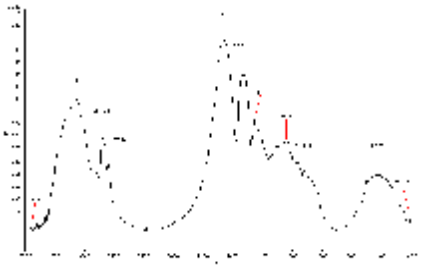
۳-۲- آماده سازی فیلم‌های نانوکامپوزیت زئین

شکل ۳- فیلم شاهد و نانو مواد با درصدهای مختلف

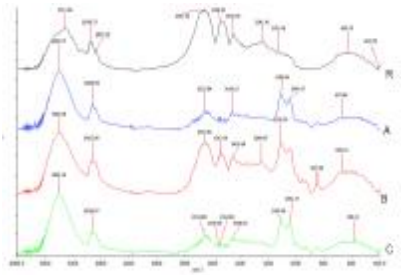
همان‌طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود از مقایسه فیلم زئین خالص با بیوکامپوزیت‌های حاوی زئین و نانوکیتین شفافیت کامپوزیت‌ها تغییر چندانی نکرده است که این دلالت بر آن دارد که ذرات نانو به‌طور یکنواخت و خوب در ماده زمینه زئین پخش شده و تشکیل کلوخه و تجمع نداده‌اند و ذرات افزوده شده (نانوکامپوزیت زئین و نانوکیتین) در ابعاد نانو بوده که سبب کدری فیلم ها نشده است.

۳-۳- طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه FTIR

با توجه به شکل ۴ در طیف جذبی زئین خالص دو پیک شاخص دارد این دو پیک مربوط به ۳۳۱۱ و cm^{-1} ۱۲۵۱ می باشد که پیک cm^{-1} ۳۳۱۱ مربوط به پیوندهای آمین (N-H)با شدت نسبتاً خوب است و پیک cm^{-1} ۱۲۵۱ مربوط به پیوندهای آمینی (C-N) با شدت متوسط می‌باشد ضمناً پیک مربوط به گروه کربونیل آمیدی زئین در ناحیه cm^{-1} ۱۶۵۵ مشخص است در شکل ۵ همانطور که قابل مشاهده است برای فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی نانوکیتین پیک ها از اعداد موجی ۳۳۱۱ به cm^{-1} ۳۳۹۹ و از ۱۲۵۱ به cm^{-1} ۱۲۵۹ جابجا شده‌اند که ناشی از برهم‌کنش هیدروکسیل کیتین با گروههای کربونیل (CO) و هیدروژن آمیدی زنجیره پروتئین با اکسیژن گروه هیدروکسیل نانوکیتین و همچنین برهم‌کنش و هیدروژن متصل به آمید و هیدوکسیل کیتین با اکسیژن‌های آمینو اسیدهای موجود در پروتیئن زئین می‌باشد است که پیوند هیدروژنی برقرار شده و با همدیگر برهم‌کنش داده اند که منجر به جابجایی شده است.



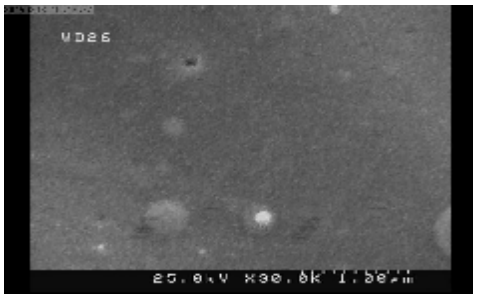
شکل ٤- طیف FT-IR فیلم زئین



شکل ٥- طیف FT-IR فیلم زئین و فیلم های حاوی نانوالیاف کیتین

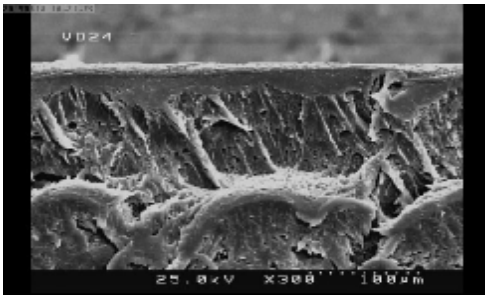
۳-٤- آنالیز میکروسکوپی الکترونی روبشی

از تصاویر SEM برای بررسی میزان سازگاری نانو ذره کیتین و توزیع و پراکنش ذرات در بستر پلیمر استفاده شد. همان‌طوری‌که در شکل ۶ مشاهده می‌شود نانو ذرات کیتین در سطح بستر پلیمر به خوبی پراکنده می‌باشند و فواصل و حفره‌ای اطراف نانو ذره کیتین با بستر پلیمری زئین مشاهده نمی‌شود که این چسبندگی را همانطور که قبلا توضیح داده شد می‌توان ناشی از بر هم‌کنش بین گروه‌های عاملی نانو کیتین (هیدورکسیل و گروه آمیدی) با گروه‌های عاملی زنجیر زئین که خود دارای گروه‌های عاملی آمیدی ناشی از آمینو اسیدها می‌باشد ناشی دانست. لکه سفید مشخص شده می‌تواند یا ناشی از ناخالصی حین تهیه تصویر باشد یا اینکه درقسمتی از سطح پلیمر نانو کیتین‌ها تشکیل کلوخه داده و از هم دیگر خوب تفکیک نشده‌اند. این تجمع و کلوخه شدن را در درصدهای بیشتر نانو کیتین ۱درصد می‌توان در شکل ۷ مشاهده نمود. وجود حفره مشاهده شده در تصاویر می‌تواند ناشی از خروج حلال به هنگام تبخیر و خشک شدن از قسمت‌های درونی نمونه فیلم باشد.



شکل٦– تصویر الکترونی روبشی فیلم نانو کامپوزیت حاوی ۰/۷ درصد نانو کیتین تصاویر از سطح نمونه

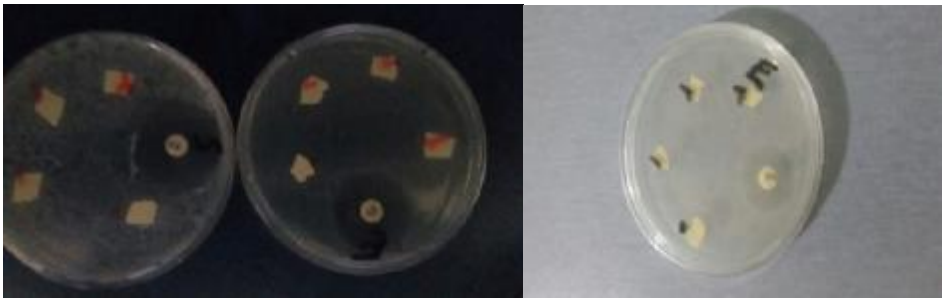
در شکل ۷ تصویر شکست سطح مقطع فیلم نمایش داده شده است همان‌طوری‌که در تصویر مشخص می‌باشد اطراف نانو کیتین را به مقدار زیادی پلیمر زئین در برگرفته و نانو ذره از داخل پلیمر بیرون نزده است بلکه اطراف نانوکیتین پلیمر چسبیده شده که همان‌طوری‌که بیان شد ناشی از چسبندگی خوب نانو کیتین به بستر پلیمری است اما حضور حفره و شکاف در شکل می‌تواند ناشی از خروج حلال بعد از تهیه نانو کامپوزیت باشد که بعد از فرار و تبخیر حلال از درون بستر پلیمر جای آن حفره ایجاد شده است که در صورت تهیه فیلم به‌روش مذاب و نه ریخته‌گری به روش اکسترودر این مشکل برطرف خواهد شد.



شکل۷ – تصویر الکترونی روبشی فیلم نانو کامپوزیت حاوی ۰/۷ درصد نانو کیتین تصاویر از سطح شکست نمونه

۳-۵- آنالیز ضدمیکروبی فیلم های نانوکامپوزیت

نتایج آزمون عدم هاله رشد برای فیلم نانوکامپوزیت‌های مختلف در شکل ۸ نشان داده شده است همان‌طوری‌که در شکل مشخص می‌باشد در اطراف تمام نمونه‌های حاوی نانو کامپوزیت و نمونه حاوی آنتی‌بیوتیک ایجاد هاله عدم رشد باکتری مشخص می‌باشدکه ملاک مقایسه خاصیت آنتی باکتریالی اندازه این هاله می باشد و نشان می‌دهد که وجود نانوکیتین در فیلم همانند آنتی بیوتیک باعث خاصیت آنتی باکتریالی نمونه های فیلم زیین شده است.



شکل ۸- نتایج آزمون عدم رشد باکتری نمونه فیلم حاوی مقادیر مختلف نانوکیتین در محیط کشت باکتری (چپ) اشرشیاکلی (راست) استافیلوکوکوس اورئوس

نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که اگر چه با افزایش مقدار نانو کیتین در زیین مقدار قطر هاله عدم رشد افزایش داشته است ولی تفاوتی بین میانگین قطر هاله ممانعت از رشد حاصل از نانو ذره در فیلم برای دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به صورت کلی با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد (mm) حاصل از آزمون ضد باکتریی نانو فیلم

نمونه باکتری	R	A	B	C
اشرشیاکلی	۰/۱۵۵	۰/۵۶۷	۰/۶۱۵	۰/۶۲۹
استافیلوکوکوس	۰/۱۵۵	۰/۴۶۳	۰/۵۰۱	۰/۶۱۰

آنالیز داده‌ها نشان داد که نانو فیلم حاوی ۰/۷ درصد وزنی نانو کیتین(تیمار c) بیشترین اثر بازدارندگی را بر اشرشیاکلی داشت. در باکتری اشرشیاکلی اثربازدارندگی مقدار ۰/۷ درصد نانوکیتین در فیلم نانوکامپوزیت زئین با اثربازدارندگی جنتامایسین بر این باکتری تقریبا یکسان بود و تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در مورد باکتری اشرشیاکلی تاثیربازدارنده در مقدار ۰/۷ درصد نانوکیتین در فیلم بیشتر ازجنتامایسین بود ولی در مقادیر ۰/۲ و ۰/۵ درصد نانوکیتین در فیلم تفاوت معنی‌داری نشان نداد. مطالعات نشان می‌دهد کیتین به علت داشتن گروه‌های آمیدی دارای بار مثبت و غشاهای سلولی بار منفی بر هم‌کنش دارد که منجر به تراوش مواد پروتئینی و دیگر مواد درون سلولی میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۵). همچنین گمان می‌رود که کیتین با تشکیل یک لایه پلیمری غیر قابل نفوذ روی سطح از انتقال مواد مغذی ضروری به درون سلول جلوگیری کرده و باعث مرگ سلولی می‌شود (۳). از آن جایی که آبدوستی باکتری گرم منفی بیشتر می‌باشد حساسیت آن به کیتین افزایش می‌یابد. غشای باکتری گرم منفی مانند اشرشیاکلی از لیپوساکاریدهای حاوی گروه‌های فسفات و پیروفسفات تشکیل شده که باعث منفی شدن بار سطحی سلول می شود. دیواره سلولی می‌تواند از طریق برهم‌کنش الکترواستاتیکی به کیتین متصل شده و هر چه مقدار کیتین بیشتر باشد تغییرات ایجاد شده در ساختار و نفوذ پذیری غشایی سلولی بیشتر خواهد شد(۴). تمام این ملاحظات با این شواهد که فعالیت ضدمیکروبی فیلم نانوکیتین در برابر اشیرشیاکلی بیشتر از استافیلوکوکوس است مطابقت دارد.

٤- نتیجه‌گیری

از مقایسه فیلم زئین خالص با بیوکامپوزیت‌های حاوی زئین و نانوکیتین شفافیت کامپوزیت‌ها تغییر چندانی نکرده است که این دلالت بر آن دارد که ذرات نانو به‌طور یکنواخت و خوب در ماده زمینه زئین پخش شده و تشکیل کلوخه و تجمع نداده‌اند و ذرات افزوده شده (نانوکامپوزیت زئین و نانوکیتین) در ابعاد نانو بوده که سبب کدری فیلم ها نشده است. این چسبندگی را می‌توان ناشی از بر هم‌کنش بین گروه‌های عاملی نانو کیتین (هیدورکسیل و گروه آمیدی) با گروه‌های عاملی زنجیر زئین که خود دارای گروه‌های عاملی آمیدی ناشی از آمینو اسیدها می‌باشد ناشی دانست. آنالیز داده‌های مربوط به آزمون آنتی باکتریالی نشان داد که نانو فیلم حاوی ۰/۷ درصد وزنی نانو کیتین(تیمار c) بیشترین اثر بازدارندگی را بر اشرشیاکلی داشته است همچنین تیمار حاوی ۰/۷ که تفاوت آن با باکتری استافیلوکوکوس با فیلم حاوی ۰/۲ درصد نانو کیتین معنی‌داربود. در باکتری اشرشیاکلی اثربازدارندگی مقدار ۰/۷ درصدنانوکیتین در فیلم نانوکامپوزیت زئین با اثربازدارندگی جنتامایسین بر این باکتری تقریبا یکسان بود و تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در مورد باکتری اشرشیاکلی تاثیربازدارنده در مقدار ۰/۷ درصد نانوکیتین در فیلم بیشتر از جنتامایسین بود ولی در مقادیر ۰/۲ و ۰/۵ درصد نانوکیتین در فیلم تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

٥- منابع

1. Harish Prashanth, K.V. and Tharanatha, R.N. 2007. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an Overview, *Trends in Food Science and Technology*, 18: 117-131.

2. Jayakumar, R., New, N., Tokura, S. and Tamura, H. 2007. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40(3):175-181.

3. Li Du, W., Shan Niu, S., Lei Xu, Y., RongXu, Z. and Li Fan, C. 2009. Antibacterial activity of chitosan tri polyphosphate nanoparticles loaded with various metals, *Carbohydrate Polymers*, 75(3):385-389.

4. MubarakAli, D., Thajuddin, N., Jeganathan, K., and Gunasekaran, M. 2011. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*.85:360-36

5. Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., and Zou, X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles, *Carbohydrate Research*, 339:2693-2700.

6. Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: properties and application, *Progress in polymer science*, 31: 603-632

7. Salaberria, A M., Diaz, R H., Ladibi, J. and Fernandez, S C M. 2014. Role of chitin Nanocrystals and nanofibrils on physical, mechanical and functional properties in thermoplastic starch films, Food *Hydrocolloid*, 46:93-102

8. Sanchez-Gonzalez, L., Vargas, M., Gonzalez-martinez, C., Chiralt, A. and chafer, Mt. 2011. Use of essential oils in bioactive edible coating, *Food Engineering Reviews*, 3: 1-16.

9. Taner, B., Seda, E B., Elif, A. 2010. The effect of corn zein edible film coating on intermediate moisture apricot (prunus armenica l.) quality, *GIDA*, 35 (4): 245-249

10. Weller, C.L., Gennadios, A. and Saraiva, R.A.1998. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax, *Lebensm. Wiss.Technology*. 31:279-285.

(Original Research Paper)

Study of Structural and Antibacterial Properties of Edible Coating of Zein / Nano Chitin Composite

Esameil Ataye Salehi[1*], Maryam Soltani[1]

1-Department of Food Sciences and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

Received:19/01/2019 Accepred:18/05/2019

Abstract

Biochemical nano composites have attracted the attention of researchers in recent decades, because they are biocompatible, biodegradable and renewable, and they do not pose a risk to the health of humans and animals, while not contaminating the environment. The purpose of this study was to investigate the effect of using Nano-chitin on structural and anti-bacterial properties of zein film. In this study, zein Nano composite with Nano chitin was prepared in 0.2, 0.5 and 0.7% based on dry weight zein by solution casting method. Then the structural properties (image of electron microscope and infrared spectroscopy), films were investigated. The results showed that the addition of Nano chitin caused chitin adhesion to the polymeric substrate, increased roughness and uniform distribution of nanoparticles in the biopolymer matrix. Also, the results of antibacterial tests of Nano composite films by disc diffusion and non-zone growth with two bacteria of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* showed that the addition of Nano chitin to zein film increases the antibacterial properties of film compared to pure zein film.

Keyword: Edible Coating, Nano Chitin, Zein, Structural Properties, Antibacterial

[*]Corresponding Author: eatayesalehi@yahoo.com