

مطالعه ویژگی فیلم‌های نانو کامپوزیتی ساخته شده از نشاسته و کیتوزان، همراه با نانو ذرات نقره و مقایسه اثر ضد میکروبی آن‌ها

زهرا بدیعی^a، سیدعلی یاسینی اردکانی^{b*}، محمد میرجلیلی^c

^a دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

^b دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

^c دانشیار دانشکده مهندسی نساجی و پلیمر، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۸/۰۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۸/۲۹

چکیده

مقدمه: بسته‌بندی مواد غذایی راهکاری حیاتی برای تضمین ایمنی آن‌ها است. به جهت اهمیت زیاد بسته‌بندی مواد غذایی فناوری نانو می‌تواند موجب بهبود بسته‌بندی مواد غذایی و قابلیت‌های آن‌ها و در نتیجه حصول اطمینان از ایمنی مواد غذایی شود. تحقیق حاضر به منظور بررسی و مقایسه اثر افزودن نانو ذرات نقره بر خواص مکانیکی و میکروبی فیلم‌های زیست تخریب پذیر نشاسته و کیتوزان صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: نانو ذره نقره سنتز شد و فیلم‌های نانو کامپوزیتی بر پایه نشاسته و کیتوزان با محتوای ۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm نانو ذره نقره تولید شدند و خواص آن‌ها از جمله خصوصیات مکانیکی، نفوذپذیری به بخار آب، حلالیت، تورم و همچنین خصوصیات ضد میکروبی فیلم‌های تولیدی نیز با اندازه‌گیری قطر ناحیه روشن بوسیله آزمون نفوذ دیسک بررسی شد. در این آزمون از چهار نوع میکروب استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلیکنس استفاده شد. همچنین میزان تغییرات رنگ در فیلم‌ها پس از اضافه کردن نانو نقره بررسی شد و سایز ذرات نانو نقره سنتز شده با آزمون پراش نور دینامیکی (DLS) تعیین شد.

یافته‌ها: با افزودن نانو نقره به فیلم‌ها نفوذپذیری به بخار آب در تمام فیلم‌ها افزایش یافت. همچنین با افزودن نانو نقره مقاومت کششی افزایش یافت که این افزایش در مورد فیلم‌های کیتوزان با نانو نقره معنی‌دار و در مورد فیلم نشاسته این افزایش معنی‌دار نبود. افزایش طول نیز در تمامی فیلم‌ها با افزودن نانو نقره افزایش یافت. هرچند افزودن نانو نقره موجب افزایش در حلالیت و تورم گردید اما این افزایش معنی‌دار نبود. نتایج به دست آمده نشان داد فیلم‌های حاوی نانو ذره نقره دارای اثر ضد میکروبی علیه همه میکروب‌های تست شده است ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به طور کلی، خصوصیات فیلم‌های تولیدی با نانو ذره نقره کاملاً متأثر از میزان نانو نقره مورد استفاده بوده و در مجموع به استثنای نفوذپذیری نسبت به بخار آب موجب بهبود خصوصیات فیلم‌ها گردید.

واژه‌های کلیدی: کیتوزان، نانو نقره، نشاسته

مقدمه

بسته‌بندی به عنوان یک محافظ فیزیکی محصول بوده و با ایجاد شرایط فیزیکوشیمیایی مناسب منجر به افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی می‌گردد (عبدالهی و همکاران، ۱۳۹۰). هدف از بسته‌بندی مواد غذایی به تأخیر انداختن فساد، حفظ اثرات مثبت فرایند روی غذا، افزایش طول عمر انبار مانی، نگهداری و یا افزایش کیفیت و ایمنی غذایی است. علاوه بر این بسته‌بندی نقش حفاظت از غذا در برابر عوامل شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیک بیرونی را به عهده دارد (Marsh and Bugusu, 2007).

فیلم‌های پلیمری نفتی به دلیل قابلیت شکل‌پذیری آسان، قیمت ارزان، سبکی، مقاومت شیمیایی بالا، تنوع خواص فیزیکی، قابلیت درزبندی به‌وسیله حرارت، چاپ‌پذیری خوب و فرایند تولید آسان، به طور گسترده‌ای در صنایع بسته‌بندی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Han et al., 2011). با این حال منابع نفتی، منابعی محدود و از طریق بیولوژیک تجزیه‌ناپذیر^۱ بوده و باعث آلودگی محیط زیست می‌شوند (Tharanathan and Saroja, 2001).

مواد جدید مبتنی بر مواد زیستی برای توسعه فیلم‌های خوراکی و زیست‌تخریب‌پذیر استفاده شده است که به عنوان یک تلاش بزرگ برای گسترش زمان ماندگاری و بهبود کیفیت مواد غذایی است و زیاله‌های ناشی از مواد غذایی را کاهش می‌دهد. با این حال استفاده از پلیمرهای خوراکی و زیست‌تخریب‌پذیر به دلیل مشکلات مربوط به عملکردشان (مانند شکنندگی، ممانعت ضعیف در برابر گازها و رطوبت)، فرآیند و هزینه محدود شده است (Xie et al., 2009; De Azeredo, 2013). بیوپلیمرها ترکیباتی زیست‌تخریب‌پذیر هستند. واژه زیست‌تخریب‌پذیر به این معنی است که به سادگی توسط فعالیت موجودات زنده به ریز واحدهای سازنده خود تجزیه شده و بنابراین در محیط باقی نمی‌مانند (Chatterjee et al., 2016; Kibar and Us, 2013).

واژه بسته‌بندی ضد میکروبی در بر گیرنده هر گونه روش بسته‌بندی است که به منظور کنترل رشد میکروبی در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مواد ضد میکروبی استفاده شده در بسته‌بندی، باید فاز تأخیر

میکروارگانسیم را افزایش و فاز رشد آن‌ها را کاهش دهند تا بتوانند زمان نگهداری محصول را، ضمن حفظ کیفیت و ایمنی افزایش دهند (گنجه و همکاران، ۱۳۹۲).

اجزای اصلی فیلم‌سازی را می‌توان به سه بخش شامل حلال، پلیمرهای با وزن ملکولی بالا و نرم کننده تقسیم کرد. تولید فیلم مستلزم وجود دست کم یک ترکیب پلیمری است که قادر به ایجاد ساختار شبکه‌ای با استحکام و پیوستگی کافی باشد (مرتضویان و همکاران، ۱۳۸۹).

بین انواع مختلف پلیمرهای زیست تخریب پذیر نشاسته بیشترین پتانسیل را برای کاربرد در صنایعی مثل صنایع بسته‌بندی، دارا می‌باشد (Frone et al., 2015). نشاسته به دلیل وفور در طبیعت، ارزان بودن و قابلیت ترموپلاستیک شدن به عنوان ماده بسته‌بندی مورد توجه زیادی قرار دارد. هرچند نشاسته به تنهایی، دارای معایبی مانند آب دوستی بالا و ویژگی‌های مکانیکی ضعیف (شکنندگی) می‌باشد (نوشیروانی و همکاران، ۱۳۹۱). بنابراین، نشاسته و مشتقات آن پلیمرهای طبیعی مهمی هستند که معمولاً بعد از فشرده شدن، به ماده ای قابل ارتجاع با مقاومت مکانیکی کم و حفاظت کم در برابر اکسیژن و رطوبت تبدیل می‌گردند. اما ترکیب آن‌ها با نانو ذرات باعث می‌شود مقاومت کششی توسعه یابد و نفوذ پذیری بخار آب کاهش پیدا کند. (Sozer et al., 2009; Tharanathan, 2003).

کیتوزان پلی‌ساکاریدی است که از استیل زدائی مشتقات کیتین^۲ تهیه می‌شود. این پلیمر کاتیونی، از نظر فراوانی در طبیعت دومین پلی ساکارید مهم بعد از سلولز می‌باشد (مرادی و همکاران، ۱۳۹۰). پلیمرهای کاتیونی از قبیل کیتوزان و پلی - ال لیزین ذاتاً دارای خاصیت ضد میکروبی هستند که به صورت فیلم و یا به روش پوشش دهی در تولید بسته‌بندی‌های ضد میکروبی به کار می‌روند. پلیمر کیتوزان ذاتاً دارای خاصیت ضد میکروبی است. مکانیسم ضد میکروبی این پلیمر شامل انهدام غشاء سلولی و تراوش ترکیبات سلول به محیط بیرون و در نتیجه تداخل با بار منفی غشاء سلول میکروارگانسیم‌ها و در انتها مرگ سلول است (Wu et al., 2016; Appendini and Hotchkiss, 2002).

کیتوزان از مشتقات کیتین بوده و کیتین حاوی فلزات و کاروتنوئید می‌باشد. کیتوزان یک بیوپلیمر طبیعی است و

¹ Non-biodegradable² Deacetylated Derivative of Chitin

فیلم‌های ساخته شده از آن نفوذپذیری کمی نسبت به اکسیژن و رطوبت دارند. بنابراین مانع بسیار خوبی برای گازها و بخار آب می‌باشند. از کاربردهای دیگر این ماده در بسته‌بندی‌های مواد غذایی اثر آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد که با جذب فلزاتی که کاتالیزور واکنش اکسیداسیون چربی هستند مانع از اکسیداسیون می‌شوند. در مجموع می‌توان گفت کیتوزان یک فیلم قوی و نفوذناپذیر است که می‌تواند اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی داشته باشد (Bourtoom and Chinnan, 2008). کیتوزان در واقع نوعی ماده ضد میکروب است که می‌تواند میزان مصرف نگهدارنده‌های سنتزی را کاهش دهد و به افزایش زمان انبار مانی و ایمنی محصولات غذایی منجر شود (عشقی و همکاران، ۱۳۹۲). کیتوزان و مشتقات آن بیومولکول‌های فعالی هستند که می‌توانند در صنعت بسته‌بندی مورد استفاده قرار گیرند. کیتوزان دارای خواص منحصر به فردی نظیر تخریب‌پذیری بوسیله محیط زیست، سازگاری با محیط زیست، فعالیت ضد میکروبی و غیر سمی بودن است. علاوه بر آن از این بیوپلیمر به عنوان پوشش هم می‌توان استفاده کرد (Dutta et al., 2009).

نانو ذرات به ذراتی اطلاق می‌شود که حداقل در یک بعد دارای ابعادی کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشند. این گونه ذرات باعث افزایش خواص بازدارنده (مکانیکی، حرارتی، شیمیایی و میکروبی) بهبود خواص مکانیکی و مقاومت در برابر گرما، توسعه فعالیت ضد میکروبی و سطوح ضد قارچ و تغییرات بیوشیمیایی می‌شوند (Sanguansri and Augustin, 2006; Mihindukulasuriya and Lim, 2014).

اصلی‌ترین روش‌های ساخت مواد نانو را می‌توان در دو روش کلی خلاصه نمود.

(۱) روش بالا به پایین: در این روش با استفاده از یک سری ابزارها، مواد از جسم حجیم جدا شده و جسم کوچک می‌شود تا به اندازه‌های نانومتری برسد.

(۲) روش پایین به بالا: این روش درست در جهت مخالف روش بالا به پایین می‌باشد. در این روش مواد نانو با استفاده از به هم پیوستن بلوک‌های سازنده مانند اتم‌ها و ملکول‌ها و قرار دادن آن‌ها در کنار یکدیگر و یا استفاده از خودآرایی، تولید می‌شوند.

خودآرایی عبارت است از طراحی مولکول‌ها و ابرمولکول‌هایی که اساس تشکیل آن‌ها مکمل بودن شکل ساختاری است. باید توجه داشت که اتم‌ها و ملکول‌ها همیشه در جایی که مورد نظر است قرار نخواهند گرفت و عاملی که محل قرارگیری آن‌ها را تعیین می‌کند انرژی آن‌ها است. به این صورت که ملکول‌ها در جایی قرار خواهند گرفت که کمترین انرژی آزاد را داشته باشند و به سمت انرژی آزاد منفی تمایل دارند (Egger et al., 2009).

اولین اثر کاهش اندازه ذرات افزایش سطح است، افزایش نسبت سطح به حجم نانو ذرات موجب می‌شود که اتم‌های واقع در سطح، اثر بسیار بیشتری نسبت به اتم‌های درون حجم ذرات بر خواص فیزیکی ذرات داشته باشند. این ویژگی واکنش‌پذیری نانو ذرات را به شدت افزایش می‌دهد به گونه‌ای که ذرات به شدت تمایل به آگلومره یا کلوخه‌ای شدن دارند (Orozco et al., 2010).

کامپوزیت یا مواد مرکب به دسته‌ای از مواد اطلاق می‌شود که ترکیبی از مواد مختلف و متفاوت در شکل و ساختار باشند ولی اجزاء تشکیل دهنده آن‌ها هویت خود را حفظ کرده و با هم ممزوج نمی‌شوند. نانو کامپوزیت به دسته خاصی از کامپوزیت‌ها گفته می‌شود که حداقل یکی از اجزای آن‌ها در مقیاس نانو باشد (Dadfar et al., 2011).

به کارگیری نانو کامپوزیت حاوی نانو ذرات نقره جایگزین مناسبی برای پلیمرهای معمول بکار رفته در صنعت غذا است که توانایی کاهش شدت فرایند در محصولات فرایند شده و یا افزایش عمر نگهداری محصولات تازه را دارا می‌باشند (De Azeredo, 2009).

در تحقیقی عبدالهی و همکاران در سال ۱۳۹۰ به تهیه و ارزیابی خصوصیات نانو کامپوزیت زیست تخریب‌پذیر کیتوزان / نانورس جهت کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی پرداختند. در این پژوهش با افزودن نانو ذرات به میزان ۳٪ مقاومت کششی فیلم‌ها حدود ۲۰٪ افزایش و نفوذپذیری به بخار آب ۴۵٪ کاهش پیدا کرد. همچنین افزودن نانو ذرات تا سطح ۳٪ موجب کاهش درصد جذب آب در نانو کامپوزیت‌ها به میزان ۶۴٪ گردید.

در تحقیقی توسط Chirachanchai و Yoksan در سال ۲۰۱۰ نانو کامپوزیت زیستی از کیتوزان و نشاسته و

مطالعه ویژگی فیلم‌های نانو کامپوزیتی ساخته شده از نشاسته و کیتوزان، همراه با نانو ذرات نقره

گرم منفی با کاهش وزن ملکولی کیتوزان فعالیت ضد باکتریایی افزایش می‌یابد.

در تحقیقی Moura De و همکاران در سال ۲۰۱۲ به ساخت پوشش‌های بسته‌بندی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز^۳ (HPMC) و تأثیر دو اندازه مختلف نانو نقره در این پوشش‌ها پرداختند، خواص مکانیکی و ضد میکروبی و نفوذپذیری به رطوبت نیز توسط آن‌ها بررسی شد. وجود نانو نقره باعث افزایش مقاومت کششی شد و زمانی که قطر نانو ذره ۴۱ نانومتر بود مقاومت کششی بیشتر از زمانی بود که قطر نانو ذره ۱۰۰ نانومتر بود. مقاومت کششی از ۲۸ مگاپاسکال برای شاهد به ۵۱ مگاپاسکال برای فیلم حاوی نانو نقره با قطر ۴۱ نانومتر و ۳۸ مگاپاسکال برای فیلم حاوی نانو نقره با قطر ۱۰۰ نانومتر رسید. مدول یانگ و طول نقطه پارگی خیلی تابع وجود نانو نقره نبودند.

از آنجا که امروزه در صنایع غذایی تقاضا برای فرآیند کمتر در جهت حفظ کیفیت ماده غذایی افزایش یافته است و در حال حاضر بسته‌بندی ارزان قیمت و کارا که خاصیت ضد میکروبی داشته باشد وجود ندارد، ضرورت طراحی و ساخت پوششی که دارای خواص ذکر شده باشد احساس می‌شود. ازین رو بررسی ویژگی فیلم‌های نانو کامپوزیتی ساخته شده از نشاسته، کیتوزان همراه با نانو ذرات نقره و مقایسه اثر ضد میکروبی آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

نشاسته مورد استفاده از شرکت زعفران سرای یزد (صنایع بسته‌بندی ملک) و کیتوزان از شرکت suvchem خریداری شد. اسید استیک، اتیلن گلیکول، پلی وینیل پیرولیدون، نقره نیترات و گلیسرول مواد استفاده از شرکت مرک تهیه شد.

- ساخت فیلم نشاسته

برای ساخت این نوع فیلم، ۴ نشاسته در ۱۰۰ cc آب مقطر حل شد، سپس دما تا ۹۰ c افزایش یافت و ۱۰ دقیقه در این دما روی همزن مغناطیسی هم زده شد تا محلول ۴٪ نشاسته ساخته شود. همچنین برای انعطاف پذیر کردن فیلم‌ها، ۵۰٪ درصد وزن ماده خشک گلیسرول به آن اضافه

نانونقره تهیه کردند و خصوصیات مکانیکی و میکروبی و نفوذپذیری به رطوبت را در آن‌ها بررسی کردند. هدف از این مطالعه به دست آوردن حداقل غلظت مهارکننده (MIC) برای نانونقره و بررسی خصوصیات مکانیکی و نفوذپذیری به اکسیژن و رطوبت بود. حداقل غلظت مهارکننده و نفوذ دیسک برای سه گونه باکتری که شامل ۲ گونه گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) و یک گونه گرم منفی (اشرشیاکلی) بود. با شیوه رقت لوله^۱ تعیین شد. همچنین مشخص شد که با افزودن نانو ذره نقره به فیلم کیتوزان-نشاسته و افزایش در مقدار نانو ذرات خصوصیات ضد میکروبی آن‌ها افزایش یافت، نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب نیز افزایش یافت. نفوذ پذیری نسبت به اکسیژن کاهش و همچنین با اضافه شدن نانو ذره نقره خواص کششی فیلم‌ها کمی بهبود یافت. در تحقیقی که توسط Dutta و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی فیلم‌های ساخته شده از کیتوزان بررسی شد. همچنین در این تحقیق خواص منحصر به فرد کیتوزان نظیر زیست‌تخریب‌پذیری، سازگاری زیستی، فعالیت ضد میکروبی و غیر سمی بودن آن نیز بررسی شد و مشخص شد که کیتوزان نسبت به کیتین دارای حلالیت و فعالیت ضد باکتریایی بهتری است. مکانیسم دقیق خاصیت ضد میکروبی کیتین، کیتوزان و مشتقات آن هنوز کاملاً مشخص نیست اما چند مکانیسم مختلف در این پژوهش پیشنهاد شد که یکی از آن‌ها وجود گروه آمین^۲ در موقعیت C₂ کیتوزان که دارای بار مثبت است با بار منفی غشاهای سلولی میکروبی واکنش داده و منجر به نشت مواد درون سلولی میکروارگانیسم‌ها می‌شود. همچنین کیتوزان روی سطح خارجی باکتری عمل می‌کند، در غلظت‌های پایین کیتوزان با بار مثبت زیاد به بار منفی دیواره سلولی متصل شده و باعث تجمع آن می‌شود در حالی که در غلظت‌های بالا یک بار مثبت خالص روی سطح باکتری ایجاد و آن‌ها را به شکل سوسپانسیون درمی‌آورد. مکانیسم فعالیت ضد میکروبی کیتوزان برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی متفاوت است. برای باکتری گرم مثبت با افزایش وزن ملکولی کیتوزان فعالیت ضد باکتری افزایش می‌یابد در حالی که برای باکتری‌های

¹ Tube Dilution Method

² Amino Group

³ Hydroxypropyl Methylcellulose

شد. ۲۵ cc از محلول‌های ساخته شده در پلیت‌های پلاستیکی با قطر ۸/۵ cm ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ °C خشک شد. فیلم‌ها بعد از خشک شدن به راحتی از پلیت جدا و برای انجام آزمون‌های مختلف نگهداری شدند.

- ساخت فیلم کیتوزان

برای ساخت این نوع فیلم، کیتوزان در محلول استیک اسید (۱٪ v/v) در دمای ۵۰ °C و به مدت سه ساعت حل شد تا محلولی با غلظت ۱ w/v٪ به وجود آید. همچنین برای انعطاف پذیر کردن فیلم‌ها ۲۵٪ وزن ماده خشک گلیسرول به آن اضافه شد. ۲۵cc از محلول ساخته شده در پلیت‌هایی پلاستیکی با قطر ۸/۵ cm ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ °C خشک شد. فیلم‌ها بعد از خشک شدن به راحتی از پلیت جدا و برای انجام آزمون‌های مختلف نگهداری شدند.

- سنتز نانو نقره

برای سنتز نانو ذره نقره ۰/۲ پلی وینیل پیرولیدون (pvp) را در ۵ cc / ۱۲ اتیلن گلیکول به خوبی حل شد سپس ۰/۵۳۱g نیترات نقره به محلول اضافه شد و پس از اینکه به طور کامل در آن حل شد، محلول را حرارت داده تا دما به ۱۰۰ °C برسد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در این دما روی هم زن مغناطیسی با دور ۱۲۰۰rpm هم خورد. پس از آن جهت تایید سنتز نانو ذره آزمون طیف‌سنجی مرئی- فرابنفش روی محلول سنتز شده انجام گرفت. سپس برای آنکه علاوه برسنجش اثر نانو ذرات نقره، اثر مقدار نانو ذرات در فیلم‌ها مشخص گردد به صورت انتخابی از مقادیر ۲۵۰ ppm و ۵۰۰ نانو ذره نقره در فیلم‌ها استفاده شد.

- آزمون اسپکتروفوتومتر UV/ Visible

اسپکتروفوتومتر مستقیماً برای اندازه‌گیری شدت نور در طول موج‌های مختلف استفاده می‌شود و می‌تواند نماینده در صد نور تابشی مخایره شده یا جذب شده باشد. با استفاده از این اطلاعات و مقایسه آن با داده‌های به دست آمده می‌توان اسپکتروسکوپی را به عنوان یک ابزار استفاده کرد. به‌منظور تایید سنتز نانو ذرات نقره آزمون اسپکتروفوتومتر UV/ Visible روی محلول سنتز شده

صورت گرفت. مقداری از محلول نانو نقره سنتز شده در سل دستگاه ریخته شد و از اتیلن گلیکول به عنوان محلول شاهد استفاده شد. تنظیمات دستگاه روی طول موج nm ۶۰۰-۳۰۰ قرار گرفت. پس از عبور نور از نمونه، منحنی حاصله جهت تشخیص و تایید ایجاد نانو ذرات نقره مورد استفاده قرار گرفت (Desai et al., 2012).

- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای اطمینان از اینکه ذرات، حالت نانو خود را حفظ کرده‌اند و آگلومره شدن رخ نداده است آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام شد (Dadfar et al., 2011). تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح فیلم‌ها تهیه شد. برای انجام این کار در ابتدا فیلم‌ها بوسیله نوارچسب کربنی رسانا روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده تا نقطه بحرانی خشک شده و با لایه نازکی از طلا پوشش داده شدند. سپس با میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد مشاهده قرار گرفتند که در این مرحله بمباران نمونه با پرتوی الکترونی سبب می‌شود تا از نمونه الکترون‌هایی به سمت صفحه دارای بار مثبت رها شود که این الکترون‌ها در آن جا تبدیل به سیگنال می‌شوند. حرکت پرتو روی نمونه مجموعه‌ای از سیگنال‌ها را فراهم می‌کند که بر این اساس میکروسکوپ می‌تواند تصویری از سطح نمونه را بر صفحه کامپیوتر نمایش دهد. تصاویر با بزرگنمایی ۱۵۰۰۰ برابر تنظیم گردید.

- آزمون پراش نور دینامیکی (DLS)

از این آزمون برای تعیین اندازه نانو ذرات نقره سنتز شده استفاده شد. در این روش با اندازه‌گیری حرکت براونی ذرات و یا به عبارت دیگر، میزان جابجایی ذرات درون محلول پخش‌کننده می‌توان به اندازه آنها پی‌برد. اندازه‌گیری حرکت براونی ذرات در این روش، با استفاده از دستگاه DLS و تابش پرتوهای نور مرئی از یک منبع نور از جنس نئون هلیوم با طول موج ۶۳۳ نانومتر و تجزیه و تحلیل نوسانات شدت نور متفرق شده در اثر برخورد پرتوهای نور با ذرات به دست می‌آید. حرکت براونی ذرات درون محلول پخش‌کننده، وابسته به اندازه ذرات است. هر چه اندازه ذره درون محلول پخش‌کننده بزرگ‌تر باشد،

- آزمون نفوذپذیری به بخار آب (WVP)^۳

جهت بررسی نفوذپذیری بخار آب نمونه فیلم‌های خوراکی یک روش اصلاح شده بر اساس استاندارد ASTM E96-95 برای اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب به کار گرفته شد (برزگر و همکاران، ۱۳۹۲). مدل ریاضی برای محاسبه نفوذپذیری نسبت به بخار آب از فیلم‌های مصنوعی پلیمری توسعه پیدا کرده است:

$$WVP = \frac{j_{Az} \Delta z}{P_{A1} - P_{A2}}$$

Δz ضخامت فیلم (mm)، j_{Az} جریان تند عبور بخار آب از فیلم که اغلب بر می‌گردد به سرعت انتقال بخار آب، و $(P_{A1} - P_{A2})$ اختلاف فشار جزئی بخار آب (KPa) در دو طرف فیلم است که نیروی محرکه‌ای برای انتقال رطوبت است. این اختلاف فشار در رطوبت ۱۰۰٪، $3/179$ کیلوپاسکال با استفاده از جدول بخار اشباع در نظر گرفته شد. j_{Az} به طور آزمایشگاهی و با کمک معادله زیر تعیین می‌شود:

$$j_{Az} = \frac{\Delta w}{A \Delta t}$$

که در اینجا Δw رطوبت جذب شده یا اتلاف رطوبت از طریق فیلم، Δt مدت انتقال رطوبت (h) و A سطحی (m^2) است که نمونه فیلم آزمایش می‌شود.

در این روش از یک سری فنجان‌های آزمایشگاهی با قطر داخلی ۴cm، حاوی ۱۲ mL آب مقطر استفاده گردید که این مقدار آب می‌توانست رطوبت ۱۰۰٪ را در فضای داخلی فنجان ایجاد کند. هر یک از فیلم‌های مورد آزمایش بر دهانه یکی از این فنجان‌ها قرار گرفته و لبه آن‌ها به وسیله پارافین بر روی فنجان محکم گردید تا هیچ منفذی برای خروج بخار آب به جز سطح مقطع معینی از فیلم موجود نباشد. سپس این فنجان‌ها درون یک دسیکاتور محتوی کلسیم کلرید قرار گرفتند. دسیکاتور در انکوباتور با دمای $24^\circ C$ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس کاهش وزنی فنجان‌ها خوانده شد (برزگر و همکاران، ۱۳۹۲).

حرکت براونی ذره آهسته‌تر شده و به همین ترتیب، با کوچک‌تر شدن اندازه ذره، حرکت آن درون محلول پخش‌کننده سریع‌تر می‌شود. البته لازم به ذکر است که حرکت براونی ذرات به عوامل دیگری نیز وابسته است که می‌توان از میان آنها به دما و ویسکوزیته اشاره نمود. توجه به این نکته لازم و ضروری است که عوامل تأثیرگذار در انجام آزمون، باید ثابت باشند در غیر این صورت، آزمون انجام شده می‌تواند دارای خطا باشد.

حدود ۵cc از محلول کلئیدی نانونقره در سل‌های مخصوص دستگاه ریخته‌شد و در دستگاه DLS قرار گرفت، پس از عبور نور از نمونه، نموداری حاصل می‌شود که با توجه به این نمودار می‌توان به توزیع اندازه نانو ذرات نقره پی برد (Yoksan and Chirachanchai, 2010).

- آزمون تعیین میزان تورم^۱

نمونه‌هایی با اندازه $2 \times 2 \text{ cm}$ تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای $60^\circ C$ قرار داده شد. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از آون و توزین آن‌ها (M_i)، در آب نمک ۰/۱ مولار به مدت ۳۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. سپس آن‌ها را بیرون آورده و بین کاغذ صافی گذاشته تا آب اضافی خارج شود و دوباره آن‌ها را وزن کرده (M_f) و طبق فرمول زیر نسبت تورم محاسبه شد (Haider et al., 2007).

$$\text{Swelling}(\%) = \frac{M_f - M_i}{M_i} \times 100$$

- آزمون تعیین میزان حلالیت^۲

نمونه‌هایی با اندازه $2 \times 2 \text{ cm}$ تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای $104^\circ C$ گذاشته شدند تا وزن خشک اولیه آن به دست آید (M_i). سپس نمونه‌ها را در یک ظرف محتوی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای $25^\circ C$ غوطه‌ور گردیدند (نمونه‌ها به صورت مقطعی به آرامی هم زده شدند). بعد از این مدت نمونه‌ها را خارج و ۲۴ ساعت در آون با دمای $104^\circ C$ گذاشته و دوباره وزن شدند تا وزن خشک ثانویه بدست آید (M_f). حلالیت طبق فرمول زیر بدست می‌آید (Jangchud and Chinnan, 1999).

$$\text{Solubility}(\%) = \frac{M_i - M_f}{M_f} \times 100$$

¹ Swelling² Solubility³ Water Vapor Permeability

- آزمون کشش^۱

هدف از این آزمون مطالعه خواص مکانیکی نمونه‌ها می‌باشد. برای انجام آزمون کشش بر روی فیلم‌ها، نمونه‌های مستطیلی به ابعاد ۷cm در ۴mm تهیه و آزمون کشش طبق استاندارد ASTM D882 انجام شد. سرعت کشش ۵۰ mm/min و فاصله بین دو فک ۵ cm بود. استحکام کششی بوسیله تقسیم بیشینه نیرو بر سطح اولیه و کرنش تا نقطه شکست (کشیدگی) به وسیله تقسیم میزان کشش در لحظه پاره شدن نمونه فیلم بر طول اولیه فیلم به دست آمدند (برزگر و همکاران، ۱۳۹۲).

- آزمون نفوذ دیسک^۲

سوش میکروب‌های *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)، *Escherichia coli* (ATCC 25922)، *Aspergillus niger* (ATCC 9142) و *Candida albicans* (ATCC 10231) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و به صورت لیوفلیزه شده (منجمد) تهیه گردید. در ابتدا به منظور به دست آوردن کلونی‌های تک، هر کدام از میکروب‌های یادشده روی محیط کشت Nutrient Agar کشت خطی داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C کشت داده شد. ۳ تا ۵ کلونی که به خوبی ایزوله شده و شکل یکسانی داشتند، با استفاده از سواب استریل، به لوله‌های حاوی ۵ mL سرم فیزیولوژی انتقال داده شد. به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ nm کدورت سوسپانسیون‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در صورتی که شفافیت سوسپانسیون‌ها در حد نیم مک فارلند باشد، جمعیتی در حدود $10^8 \times 1/5$ cfu/ml از هر میکروب درون محلول‌های سوسپانسیون وجود دارد، با استفاده از سواب استریل، از هر کدام از لوله‌های حاوی سوسپانسیون بالا، روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت سطحی داده شد، به طوری که تمام سطح پلیت به سوسپانسیون آغشته شد. فیلم‌های تولید شده به صورت دیسک‌هایی با قطر ۱/۵ برش داده شدند و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. دیسک‌ها در شرایط استریل روی مرکز محیط کشت مولر هینتون^۳ آگار قرار داده شدند.

سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. قطر هاله‌های تشکیل شده به عنوان شاخص میزان فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها در نظر گرفته شد. در مواردی که هاله‌ای تشکیل نشده بود یعنی فعالیت ضد میکروبی وجود نداشت. برای اطمینان از رشد یکنواخت باکتری‌ها بر روی سطح پلیت، یک پلیت کشت داده شده فاقد فیلم در نظر گرفته شد. همچنین یک پلیت فاقد باکتری برای اطمینان از عدم آلودگی محیط‌های کشت استفاده شد.

- آزمون رنگ سنجی^۴

رنگ و شفافیت فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر، نقش مهمی در ظاهر و پذیرش آنها دارد. به طور کلی، هرچه شفافیت فیلم‌های زیست پلیمری بیشتر و به پلاستیک‌های حاصل از پلیمرهای سنتزی نزدیک‌تر، پذیرش و استفاده از این نوع مواد بسته‌بندی افزایش می‌یابد. معمولاً در بسته‌بندی اکثر مواد غذایی ترجیح داده می‌شود که پلیمر استفاده شده برای بسته بندی، بی رنگ و کاملاً شفاف باشد تا اثری بر ظاهر محصول نداشته و به طور کامل، نشان دهنده ویژگی‌های ظاهری محصول بسته‌بندی شده باشد. استانداردهای رنگ اغلب به عنوان $L^*a^*b^*$ بیان می‌شوند، L^* مولفه درخشندگی یا روشنایی است، که داری محدوده صفر تا ۱۰۰ است، و پارامتر a^* (سبز تا قرمز) و b^* (آبی تا زرد) دومولفه رنگی با محدوده‌ای از ۱۲۰ تا ۱۲۰ هستند. فضای رنگی $L^*a^*b^*$ از نظر ادراکی یکنواخت است، به طور مثال فاصله اقلیدسی بین دو رنگ مختلف تقریباً مطابق با تفاوت رنگ درک شده توسط چشم انسان است. از هر کدام از فیلم‌های تهیه شده برش‌هایی تهیه و در دستگاه uv/vis spectrometer مدل lambda 35 قرار داده شد. بعد از این که از نمونه‌ها عکس گرفته شد به کمک نرم‌افزار فوتوشاپ مقادیر L و a و b تعیین شدند و در ادامه با توجه به آن‌ها پارامترهای زیر (ΔE ، WI و YI) تعیین گردید و مورد مطالعه و تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Srinivasa et al., 2003; Afshari and Farahnaki, 2011).

ΔE یعنی Total color difference که طبق فرمول زیر به دست می‌آید و عبارت است از اختلاف رنگ بین

¹ Tensile Test

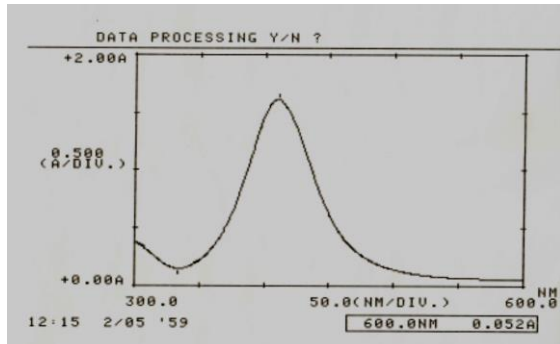
² Disc Diffusion

³ Mueller Hinton Agar Tensile Test

⁴ Colorimetry

مطالعه ویژگی فیلم‌های نانو کامپوزیتی ساخته شده از نشاسته و کیتوزان، همراه با نانو ذرات نقره

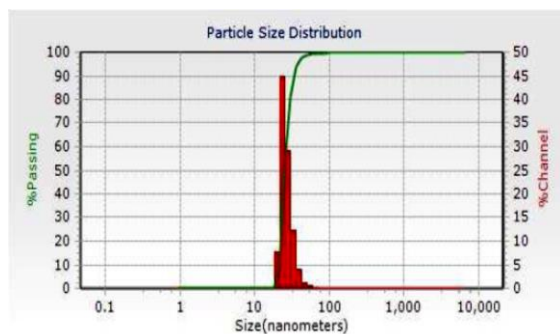
می‌دهد. نانو ذرات نقره دارای یک پلاسمون جذب سطحی بین ۴۰۰-۴۵۰ nm است. همچنین نتیجه به دست آمده از طیف اسپکتروسکوپی UV-Visible با انجام آزمون DLS تایید شد (Desai et al., 2012).



شکل ۱- منحنی اسپکتروفتومتر UV-Visible محلول نانو نقره سنتز شده

- آزمون پراش نور دینامیکی (DLS)

آزمون DLS سایز ذرات را بین ۶۰-۱۵ nm گزارش کرد که سایز اکثر ذرات ۲۵ nm بود. نمایی از توزیع سایز ذرات گزارش شده توسط آزمون پراش نور دینامیکی در شکل ۲ آمده است.



شکل ۲- توزیع اندازه نانو ذرات نقره سنتز شده

- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی خصوصیات سطحی فیلم‌های تهیه شده با نانو ذرات نقره و اثبات حضور نانو ذرات روی سطح فیلم از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. بدین منظور تصویر سطحی از نمونه‌های فیلم ضد باکتری تهیه گردید. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نمونه‌های فیلم شاهد و دارای نانو ذره نقره در شکل ۳ نشان

فیلم شاهد و فیلم تهیه شده با نانو ذرات نقره.

$$\Delta E = \left[(L_{standard} - L_{sample})^2 + (a_{standard} - a_{sample})^2 + (b_{standard} - b_{sample})^2 \right]^{0.5}$$

$$YI = 142.86b/L$$

$$WI = 100 - \left[(100 - L)^2 + a^2 + b^2 \right]^{0.5}$$

L بیانگر میزان روشنایی فیلم

a بیانگر میزان سبزی - قرمزی

b بیانگر میزان آبی - زردی

YI بیانگر ضریب زردی

WI بیانگر ضریب سفیدی

ΔE بیانگر تفاوت در میزان رنگ کلی نمونه است.

- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایشات انجام شده در این مطالعه با دو بار تکرار انجام گرفتند و داده‌های حاصله بر پایه طرح آزمایشی کاملاً تصادفی (CRD) با استفاده از SPSS16 تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با آنالیز واریانس انجام و گروه‌بندی تیمارها با آزمون دانکن در سطح معنی‌دار $P \leq 0.05$ بررسی شد.

۱۲

یافته‌ها

- تایید ایجاد نانو ذرات

اسپکتروسکوپی UV-Visible ابزاری ارزشمند برای تعیین شکل‌گیری ذرات و ویژگی‌های آن‌ها است. علاوه بر این طیف رزونانس پلاسمون سطحی^۱ (SPR) نانو ذرات تحت تأثیر اندازه و شکل نانو ذرات، تعاملات بین ذره‌ای، دانسیته الکترون آزاد و ضریب شکست محیط اطراف آن است. رزونانس پلاسمون سطحی برانگیختگی منسجمی از همه الکترون‌های آزاد (در نزدیکی سطح نانو ذرات) است که در باند انتقال منجر به نوسان در فاز می‌شود. هنگامی که اندازه نانو کریستال‌های فلزی کوچک‌تر از طول موج تابش شود، رزونانس پلاسمون سطحی تولید می‌شود. نانو ذرات ساخته شده با اسپکتروسکوپی UV-Visible در ناحیه مرئی در طول موج ۶۰۰-۳۰۰ nm بررسی شد و همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، طیف جذبی نمونه پیک مشخصی در طول موج ۴۱۰/۵ nm را نشان

¹ Surface Plasmon Resonance Peak

صورت نگرفته است پس دارای خاصیت ضد میکروبی بودند. با اضافه کردن نانو ذرات به فیلم‌ها علاوه بر محدوده شفاف زیر فیلم ناحیه مهاری شفافی در اطراف فیلم مشاهده شد. با افزودن مقدار نانو ذره قطر هاله افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که نانو ذره نقره دارای فعالیت آنتی میکروبیال علیه همه میکروب‌های تست شده است.

قطر هاله‌های به دست آمده از تست نفوذ دیسک برای فیلم‌های نشاسته، کیتوزان حاوی ۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm نانو نقره، در جدول ۱ آمده است.

- آزمون حالیت

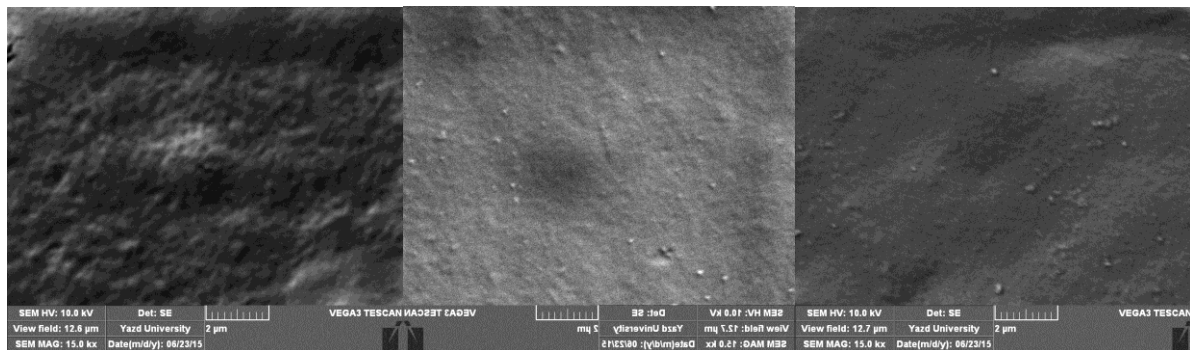
حالیت در آب فیلم‌های نشاسته و کیتوزان محتوی ۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm نانو نقره در جدول ۲ آمده است. هرچند با افزودن نانو نقره، حالیت افزایش پیدا کرد اما باعث ایجاد تغییر معناداری در حالیت نشد.

داده شده است. همان طور که در شکل مشاهده می‌شود سطح فیلم‌های شاهد کاملاً صاف و هموار و عاری از هر گونه ذره می‌باشد. در حالی که در سطح فیلم‌های حاوی نانو ذرات، ذرات نانو نقره به وضوح قابل رویت می‌باشند. همچنین هیچ‌گونه تجمع و انباشتگی نانو ذرات در سطح فیلم‌ها مشاهده نمی‌شود و از پراکندگی یکنواختی برخوردار می‌باشند.

در مورد سایز ذرات نیز همان‌گونه که در آزمون قبل مشخص گردید سایز ذرات بین ۶۰-۱۵ nm می‌باشد و سایز اکثر ذرات ۲۵ nm بود.

- آزمون نفوذ دیسک

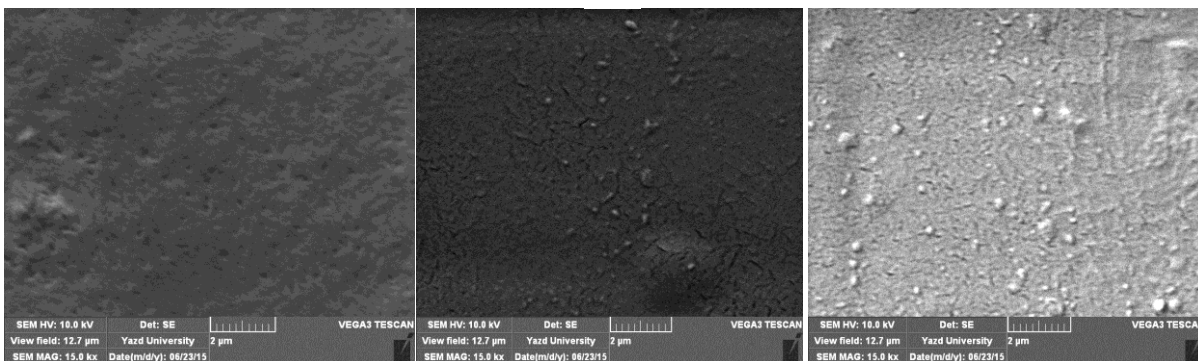
آزمون انجام شده نشان داد که فیلم‌های ساخته شده از نشاسته خالص خاصیت ضد میکروبی نداشتند اما در فیلم ساخته شده از کیتوزان خالص، محدوده زیر فیلم کاملاً شفاف بود که مشخص می‌کرد در آن منطقه رشد میکروب



a

b

c



d

e

f

شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی، (a) فیلم نشاسته شاهد بدون نانو ذره نقره (b) فیلم نشاسته حاوی ۰ ppm ۲۵۰ نانو ذره نقره، (c) فیلم نشاسته حاوی ۵۰۰ ppm نانو ذره نقره، (d) فیلم کیتوزان شاهد بدون نانو ذره نقره، (e) فیلم کیتوزان حاوی ۰ ppm ۲۵۰ نانو ذره نقره، (f) فیلم کیتوزان حاوی ۵۰۰ ppm نانو ذره نقره

مطالعه ویژگی فیلم‌های نانو کامپوزیتی ساخته شده از نشاسته و کیتوزان، همراه با نانو ذرات نقره

جدول ۱- قطر هاله (cm) برای فیلم‌های نشاسته و کیتوزان شاهد و حاوی مقادیر مختلف (ppm) نانو ذره نقره

Film	Concentration of nanosilver (ppm)	bacterial Strains			
		E.coli	S.aureus	C.albicans	A.niger
Starch	0	0±0 ^d	0±0 ^e	0±0 ^e	0±0 ^e
Starch	250	1.75±0.07 ^b	1.70±0.10 ^{cb}	2.35±0.07 ^b	2.55±0.21 ^b
Starch	500	2.05±0.05 ^a	2.25±0.07 ^{ab}	2.67±0.17 ^a	2.95±0.07 ^a
Chitosan	0	1.5±0.0 ^c	1.5±0.0 ^d	1.5±0 ^d	1.5±0 ^d
Chitosan	250	1.85±0.05 ^b	2.05±0.14 ^{bc}	1.87±0.10 ^c	1.92±0.03 ^c
Chitosan	500	2.15±0.07 ^a	2.32±0.10 ^a	2.20±0.14 ^b	2.37±0.24 ^c

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۹۵٪ بین نمونه‌ها می‌باشد

جدول ۲- حلالیت در آب (درصد) برای فیلم‌های نشاسته و کیتوزان شاهد و حاوی مقادیر مختلف (ppm) نانو ذره نقره

Film	Concentration of nanosilver (ppm)	Solubility (%)
Starch	0	35.48±0.68 ^a
Starch	250	36.03±0.61 ^a
Starch	500	36.39±0.80 ^a
Chitosan	0	23.5±0.70 ^b
Chitosan	250	23.99±0.63 ^b
Chitosan	500	24.35±0.78 ^b

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۹۵٪ بین نمونه‌ها می‌باشد.

واکنش‌های منجر به فساد مواد غذایی، گسترده‌ترین ویژگی مطالعه شده فیلم‌های خوراکی است. روند تغییر در نفوذپذیری به رطوبت فیلم‌های نشاسته و کیتوزان محتوی ۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm نانو نقره در جدول ۴ آمده است. با افزودن نانو نقره به فیلم‌ها، نفوذپذیری افزایش یافت و هر چه میزان نانو نقره افزایش پیدا کرد میزان افزایش در نفوذپذیری بیشتر شد.

- آزمون تورم

تغییرات میزان تورم در فیلم‌های نشاسته و کیتوزان محتوی ۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm نانو نقره در جدول ۳ آمده است. هرچند با افزودن نانو ذره نقره به فیلم‌ها مقدار تورم افزایش داشت اما باعث ایجاد تفاوت معناداری در تورم نشد.

- آزمون نفوذپذیری به بخار آب

نفوذپذیری بخار آب به واسطه مشارکت آب در

جدول ۳- تورم در آب (درصد) برای فیلم‌های نشاسته و کیتوزان شاهد و حاوی مقادیر مختلف (ppm) نانو ذره نقره

Film	Concentration of nanosilver (ppm)	Sweling (%)
Starch	0	106.5±8.48 ^b
Starch	250	115.1±6.64 ^b
Starch	500	120.85±7.28 ^b
Chitosan	0	228.75±5.30 ^a
Chitosan	250	237.65±4.59 ^a
Chitosan	500	242.15±6.01 ^a

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۰.۰۵٪ بین نمونه‌ها می‌باشد

جدول ۴- نفوذپذیری نسبت به بخار آب (g.mm/kPa.m².h) برای فیلم‌های نشاسته و کیتوزان حاوی مقادیر مختلف نانو ذره نقره

Film	Concentration of nanosilver (ppm)	Water vapor Permeability (g.mm/kPa.m ² .h)
Starch	0	0.86±0.08 ^d
Starch	250	1.6±0.1 ^b
Starch	500	1.92±0.06 ^a
Chitosan	0	0.36±0.08 ^f
Chitosan	250	0.59±0.12 ^e
Chitosan	500	0.81±0.04 ^d

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۰.۰۵٪ بین نمونه‌ها می‌باشد

- آزمون استحکام

خواص مکانیکی فیلم‌های نشاسته و کیتوزان محتوی ۰ ، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm نانو نقره شامل مقاومت کششی و ازدیاد طول در نقطه پارگی در جدول ۶ آمده است. برای تمامی نمونه‌های مورد آزمون مقاومت کششی با افزودن

نانو نقره به فیلم افزایش پیدا کرد و با افزایش مقدار نانو ذره از ۲۵۰ ppm به ۵۰۰ ppm این روند ادامه یافت که در مورد نشاسته افزایش معنی‌دار نبود در صورتی که در مورد فیلم کیتوزان افزایش معنی‌دار بود. برای تمامی نمونه‌های مورد آزمون ازدیاد طول در نقطه پارگی با افزودن نانو ذره

مطالعه ویژگی فیلم‌های نانو کامپوزیتی ساخته شده از نشاسته و کیتوزان، همراه با نانو ذرات نقره

۲۵۰ و ۵۰۰ ppm نانو نقره در جدول ۵ نشان داده شده است.

نقره به فیلم به صورت معناداری افزایش پیدا کرد و با افزایش مقدار نانو ذره از ۲۵۰ ppm به ۵۰۰ ppm این روند ادامه یافت.

بحث

نانو ذرات نقره مورد استفاده شده در این تحقیق با استفاده از روش بالا به پایین تهیه گردید که در این روش با استفاده از یک سری ابزارها، مواد از جسم حجیم جدا شده و جسم کوچک می‌شود تا به اندازه‌های نانومتری برسد و همانطور که در قسمت یافته‌ها ملاحظه شد تایید سنتز

- آزمون رنگ سنجی

رنگ فیلم می‌تواند یک عامل مهم از نظر پذیرش مصرف کننده برای فیلم‌های خوراکی و غیرخوراکی باشد. پارامترهای مختلف رنگ سنجی (شاخص L^* ، a^* ، b^* ، YI ، WI و ΔE) در مورد فیلم‌های نشاسته و کیتوزان محتوی ۰،

جدول ۵ - پارامترهای رنگ سنجی برای فیلم‌های نشاسته و کیتوزان شاهد و حاوی مقادیر مختلف (ppm) نانو ذره نقره

Film	Concentration of nanosilver (ppm)	Color Parameters					
		L^*	a^*	b^*	YI	WI	ΔE
Starch	0	47.43±0.09 ^a	0.62±0.1 ^d	-0.77±0.05 ^e	6.47±0.6 ^e	22.18±0.31 ^a	--
Starch	250	46.51±0.33 ^b	1.25±0.14 ^c	0.86±0.1 ^d	12.28±0.18 ^d	8±0.27 ^b	2.08±0.17 ^d
Starch	500	44.09±0.07 ^c	1.7±0.07 ^b	1.08±0.07 ^c	13.75±0.63 ^c	5.02±0.24 ^d	4.20±0.41 ^b
Chitosan	0	46.25±0.27 ^b	0.31±0.11 ^d	1.20±0.02 ^c	12.24±0.8 ^d	6.13±0.86 ^c	--
Chitosan	250	44.38±0.16 ^c	1.16±0.06 ^c	2.55±0.07 ^b	17.23±0.46 ^b	-8.22±0.53 ^e	2.72±0.4 ^c
Chitosan	500	42.35±0.33 ^d	2.29±0.22 ^a	3.50±0.42 ^a	23.77±0.81 ^a	-19.98±0.26 ^f	5.3±0.28 ^a

۱۶

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۹۵٪ بین نمونه‌ها می‌باشد

جدول ۶ - مقاومت کششی (مگا پاسکال) و ازدیاد طول در نقطه پارگی (درصد) برای فیلم‌های نشاسته و کیتوزان حاوی مقادیر مختلف (ppm) نانو ذره نقره

Film	Concentration of nanosilver (ppm)	Tensile Test	
		Tensile Strength (Mpa)	Elongation at Break (%)
Starch	0	2.69±0.02 ^d	29.79±0.57 ^e
Starch	250	3.18±0.07 ^d	33.0±1.40 ^d
Starch	500	3.86±0.09 ^d	36.17±0.60 ^c
Chitosan	0	20.53±0.74 ^c	32.0±2.80 ^{de}
Chitosan	250	23.56±0.70 ^b	44.2±0.56 ^b
Chitosan	500	26.25±1.70 ^a	50.19±0.55 ^a

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۹۵٪ بین نمونه‌ها می‌باشد

نانوذرات توسط آزمون اسپکتروفوتومتر UV-Visible (شکل ۱) انجام گردید، آزمون DLS سایز اکثر ذرات را ۲۵nm گزارش (شکل ۲) و تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۳)، پراکندگی یکنواخت نانو ذرات نقره در سطح فیلم‌های تهیه شده را مشخص کردند.

آزمون میکروبی انجام شده همان طور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، نشان داد که فیلم‌های ساخته شده از نشاسته خالص خاصیت ضد میکروبی نداشتند و در محدوده زیر فیلم میکروبه‌ها رشد کردند. اما در فیلم ساخته شده از کیتوزان خالص، محدوده زیر فیلم کاملاً شفاف بود که مشخص می‌کرد در آن منطقه رشد میکروب صورت نگرفته است پس دارای خاصیت ضد میکروبی بودند. با اضافه کردن نانو ذرات به فیلم‌ها علاوه بر محدوده شفاف زیر فیلم ناحیه مهاری شفاف در اطراف فیلم مشاهده شد. با افزودن مقدار نانو نقره در تمام نمونه‌ها قطر هاله به صورت معنی داری افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که نانو ذره نقره دارای فعالیت آنتی میکروبیال علیه همه میکروبه‌های تست شده است. به عنوان مثال در نمونه نشاسته خالص در پلیت حاوی E.coli هیچ گونه هاله‌ای در اطراف فیلم نشاسته شکل نگرفت که نشان می‌دهد نشاسته خالص خاصیت ضد میکروبی ندارد ولی با افزودن ۲۵۰ppm نانو ذره نقره به فیلم نشاسته هاله‌ای با قطر ۱/۷۵ cm تشکیل می‌شود و در واقع با افزودن نانو ذره خاصیت ضد میکروبی در فیلم نشاسته شکل می‌گیرد و باز با رساندن مقدار نانو ذره نقره به ۵۰۰ ppm در فیلم قطر هاله به ۲/۰۵cm افزایش می‌یابد که نشان دهنده افزایش معنا دار خاصیت ضد میکروبی است. این در حالی است که در پلیت حاوی C. albicans فیلم کیتوزان خالص هاله عدم رشدی به قطر ۱/۵ cm از خود نشان می‌دهد که موید خاصیت ضد میکروبی این ماده می‌باشد. با افزودن ۲۵۰ ppm نانو ذره نقره به کیتوزان قطر هاله به ۱/۸۷ cm افزایش و با افزودن ۵۰۰ ppm نانو ذره نقره به فیلم کیتوزان قطر هاله به ۲/۲۰cm رسید که این افزایش نیز معنا دار گزارش شد.

به صورت کلی با توجه به جدول ۱ فیلم نشاسته همراه با ۵۰۰ ppm نانو ذره بهترین هاله عدم رشد را به ترتیب در مورد A.niger و C.albicans و فیلم کیتوزان همراه با

۵۰۰ ppm نانو ذره نقره بهترین هاله عدم رشد را به ترتیب در مورد A. niger و S. aureus از خود نشان دادند.

بنابراین آزمون میکروبی به روشنی مشخص کرد که فیلم‌های دارای نانو ذره نقره دارای خاصیت ضد میکروبی بودند و با افزایش در مقدار نانو ذره نقره خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت. همچنین مشخص شد که کیتوزان بر خلاف نشاسته به تنهایی و بدون نانو ذره نقره دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد که علت آن این است که در مورد باکتری گرم مثبت، کیتوزان روی سطح سلول یک غشای پلیمری تشکیل داده و مانع از رسیدن مواد مغذی به داخل سلول می‌شود. در حالی که برای باکتری گرم منفی کیتوزان با وزن ملکولی پایین باعث نفوذ بهتر ملکول به درون سلول می‌شود. Dutta و همکاران نیز نتایج مشابهی برای میکروبه‌های کیتوزان گزارش کردند. در این پژوهش خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی فیلم‌های ساخته شده از کیتوزان بررسی شد. همچنین در این تحقیق خواص منحصر به فرد کیتوزان نظیر زیست‌تخریب‌پذیری، سازگاری زیستی، فعالیت ضد میکروبی و غیر سمی بودن آن نیز بررسی شد و مشخص شد که کیتوزان نسبت به کیتین دارای حلالیت و فعالیت ضد باکتریایی بهتری است. مکانیسم دقیق خاصیت ضد میکروبی کیتوزان هنوز کاملاً مشخص نیست اما چند مکانیسم مختلف در این پژوهش پیشنهاد شد که یکی از آن‌ها وجود گروه آمین^۱ در موقعیت C₂ کیتوزان که دارای بار مثبت است با بار منفی غشاهای سلولی میکروبی واکنش داده و منجر به نشت مواد درون سلولی میکروارگانیسم‌ها می‌شود. همچنین کیتوزان روی سطح خارجی باکتری عمل می‌کند، در غلظت‌های پایین کیتوزان با بار مثبت زیاد به بار منفی دیواره سلولی متصل شده و باعث تجمع آن می‌شود در حالی که در غلظت‌های بالا یک بار مثبت خالص روی سطح باکتری ایجاد و آن‌ها را به شکل سوسپانسیون درمی‌آورد. مکانیسم فعالیت ضد میکروبی کیتوزان برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی متفاوت است. برای باکتری گرم مثبت با افزایش وزن ملکولی کیتوزان فعالیت ضد باکتری افزایش می‌یابد در حالی که برای باکتری‌های گرم منفی با کاهش وزن ملکولی کیتوزان فعالیت ضد باکتریایی افزایش می‌یابد. (Dutta et al., 2009).

¹ Amino Group

مطالعه ویژگی فیلم‌های نانو کامپوزیتی ساخته شده از نشاسته و کیتوزان، همراه با نانو ذرات نقره

علت میکروب‌کشی نانو نقره را می‌توان این‌چنین تفسیر کرد که بار مثبت روی نقره به میکروب‌کشی کمک کرده و همچنین رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در سطح نانو ذرات باعث آسیب‌رسانی به غشای باکتری می‌شود. به‌علاوه تشکیل حفره در دیواره سلولی باکتری‌ها و تجمع نانو ذرات نقره در غشای باکتریایی سبب نفوذپذیری و در نتیجه مرگ سلولی می‌شود. Yoksan and Chirachanchai نیز نتایج مشابهی با پژوهش حاضر گزارش کردند، در این پژوهش از روش *disc diffusion agar* با استفاده از سه باکتری *E. coli*, *S. aureus* و *B. cereus* استفاده شد. فیلم نشاسته شاهد هیچ‌گونه هاله عدم رشدی از خود نشان نداد اما فیلم کیتوزان شاهد دارای هاله عدم رشد بود. فیلم ترکیبی کیتوزان- نشاسته نیز هاله عدم رشدی برابر با کیتوزان از خود نشان داد. در ادامه و با افزودن نانو ذره نقره قطر هاله افزایش یافت. همچنین با اضافه شدن مقدار نانو ذره نقره قطر هاله تشکیل شده، افزایش یافت (Yoksan and Chirachanchai, 2010).

در مورد آزمون حلالیت در آب فیلم‌ها (جدول ۲) هرچند با افزودن نانو نقره به فیلم‌ها، حلالیت آنها افزایش پیدا کرد اما این افزایش در حلالیت معنادار نبود. به عنوان مثال در مورد فیلم کیتوزان خالص حلالیت در آب ۲۳/۵ درصد بود و با افزودن ۲۵۰ ppm نانو ذره نقره به فیلم حلالیت در آب به ۲۳/۹۹ درصد و با افزایش مقدار نانو ذره به ۵۰۰ ppm میزان حلالیت در آب به ۲۴/۳۵ درصد رسید که این مقادیر از لحاظ آماری تفاوت معناداری با یکدیگر ایجاد نکردند و در واقع افزودن نانو ذرات تاثیر چندانی در حلالیت فیلم‌ها ایجاد نکرد. از آن جایی که بحث حلالیت در آب در ساخت چنین فیلم‌هایی بسیار حائز اهمیت می‌باشد لذا بایستی سعی شود در مطالعات آینده در جهت کاهش حلالیت این فیلم‌ها تلاش شود. همچنین در مورد آزمون تورم در آب (جدول ۳) با افزودن نانو ذره نقره به فیلم‌ها مقدار تورم افزایش داشت اما افزایش در تورم باعث ایجاد تفاوت معناداری در آن نشد. به عنوان مثال در مورد فیلم نشاسته خالص میزان تورم در آب ۱۰۶/۵ درصد و با افزودن ۲۵۰ ppm نانو ذره نقره به فیلم میزان تورم ۱۱۵/۱ درصد و با افزایش مقدار نانو ذره نقره به ۵۰۰ ppm میزان تورم در آب فیلم ۱۲۰/۸۵ درصد گزارش شد. مرادی و همکاران نتایج مشابهی را در مورد تورم در آب در مورد فیلم کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور

گزارش کردند. در این پژوهش مشخص شد تورم در آب فیلم کیتوزان حاوی ۲ درصد عصاره دانه انگور افزایش یافت که این افزایش، تفاوت معنی داری با فیلم کیتوزان خالص داشت.

برای داشتن فیلم‌های انعطاف‌پذیر و غیر شکننده اضافه کردن گلیسرول اجتناب‌ناپذیر است. به طور کلی افزودن گلیسرول به فیلم‌ها باعث افزایش نفوذپذیری به رطوبت می‌شود، که این افزایش به دلیل افزایش حجم آزاد بین زنجیره‌های پلیمری در اثر کاهش نیروی بین ملکولی جذب کننده است که باعث می‌شود زنجیره ملکولی کم تراکم‌تر و نفوذپذیری بیشتر شود. هرچند که وجود گلیسرول باعث بیشتر شدن نفوذپذیری می‌گردد اما افزودن آن به بیوپلیمر اجتناب‌ناپذیر است (Miranda et al., 2012; Mu et al., 2015).

در مورد آزمون نفوذپذیری نسبت به بخار آب (جدول ۴) با افزودن نانو نقره به فیلم‌ها، نفوذپذیری افزایش یافت و هر چه میزان نانو نقره افزایش پیدا کرد میزان افزایش در نفوذپذیری بیشتر شد. به عنوان مثال میزان نفوذ پذیری در فیلم کیتوزان خالص (g.mm/kPa.m².h) ۰/۳۶ بود که با افزودن ۲۵۰ ppm نانو ذره نقره به (g.mm/kPa.m².h) ۰/۵۹ افزایش یافت و نیز با افزودن مقدار نانو ذره به ۵۰۰ ppm نفوذپذیری نسبت به بخار آب به (g.mm/kPa.m².h) ۰/۸۱ رسید. افزایش در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب در این آزمون به صورت معناداری افزایش پیدا کرد. Yoksan and Chirachanchai نیز نتایج مشابهی با پژوهش حاضر گزارش کردند، بدین صورت که با اضافه کردن نانو ذره نقره به فیلم‌های نشاسته-کیتوزان نفوذپذیری فیلم‌ها به صورت معنی داری افزایش یافت. افزایش در نفوذپذیری نسبت به بخار آب ممکن است نتیجه ممانعت از تشکیل باند هیدروژنی بین ملکولی بین ملکول‌های کیتوزان-کیتوزان، نشاسته-نشاسته و کربوکسی‌متیل سلولز-کربوکسی‌متیل سلولز بوسیله نانو ذره نقره باشد که باعث ناسازگاری ماتریس فیلم‌ها و نفوذ احتمالی رطوبت می‌شود (Yoksan and Chirachanchai, 2010).

در مورد آزمون رنگ سنجی (جدول ۵)، در تمامی موارد با افزودن نانو ذره نقره به فیلم‌های نشاسته و کیتوزان از میزان روشنایی (L) کاسته شد. به عنوان مثال در فیلم

نشاسته خاص مقدار $47/43$ L گزارش شد که با افزودن نانو ذره نقره به میزان 500 ppm به $44/09$ کاهش یافت. در مورد a، در تمامی موارد با افزودن نانو ذره نقره به فیلم‌های نشاسته و کیتوزان میزان a افزایش پیدا کرد که در واقع این بدین معناست که فیلم‌ها به سمت قرمزی متمایل شده‌اند. به عنوان مثال در مورد فیلم کیتوزان خالص مقدار a $0/31$ گزارش شد که با افزودن نانو ذره نقره به میزان 500 ppm به $2/29$ رسید. در مورد b در تمامی موارد با افزودن نانو ذره نقره میزان b افزایش پیدا کرد، که به عبارت دیگر فیلم‌ها زردتر شدند. به عنوان مثال در فیلم کیتوزان خالص مقدار b $1/20$ و با افزودن 250 ppm نانوذره نقره $2/55$ گزارش شد. YI یا ضریب زردی نمونه در تمامی نمونه‌ها با افزودن نانو ذره نقره افزایش یافت. به عنوان مثال در مورد فیلم نشاسته خالص و نشاسته حاوی 250 ppm نانوذره نقره به ترتیب مقدار YI $6/47$ و $12/28$ گزارش شد. WI یا ضریب سفیدی در تمامی نمونه‌ها با افزودن نانو ذره نقره و همچنین افزایش در مقدار نانو ذره از 250 ppm به 500 ppm، کاهش یافت. برای مثال در فیلم کیتوزان خالص و کیتوزان حاوی 500 ppm نانو ذره نقره WI به ترتیب $6/13$ و $19/98$ - گزارش شد. ΔE نیز با در نظر گرفتن فیلم‌های شاهد به عنوان مبنا و محاسبه مقدار ΔE مشخص شد. نتیجه بدین صورت بود که با اضافه نمودن نانو ذره نقره تفاوت در رنگ نمونه با نمونه شاهد مشاهده می‌شود و با افزایش مقدار نانو ذره از 250 ppm به 500 ppm این تفاوت رنگ افزایش می‌یابد. برای مثال تفاوت در رنگ نمونه فیلم نشاسته حاوی 250 ppm با نشاسته خالص $2/08$ و تفاوت در رنگ نمونه فیلم نشاسته حاوی 500 ppm نانو ذره نقره با نشاسته خالص $4/2$ می‌باشد.

بنابراین در آزمون رنگ سنجی مشخص شد که با افزودن نانو ذرات نقره به فیلم‌های مورد آزمون میزان قرمزی و زردی فیلم‌ها افزایش یافت و از میزان روشنائی و سفیدی فیلم‌ها کاسته شد. بنابراین ممکن است این تغییر رنگ در فیلم‌ها از میزان محبوبیت و بازارپسندی محصول بکاهد. در هر صورت این تغییر رنگ ایجاد شده که در اثر افزودن نانو ذرات نقره به فیلم‌ها ایجاد شده اجتناب ناپذیر می‌باشد.

در مورد آزمون مقاومت کششی (جدول ۶) برای تمامی نمونه‌های مورد آزمون، مقاومت کششی با افزودن نانو نقره به فیلم افزایش پیدا کرد و با افزایش مقدار نانو ذره از 250 ppm به 500 ppm این روند ادامه یافت. این روند افزایشی در مورد فیلم نشاسته معنی‌دار نبود اما در مورد فیلم‌های تهیه شده از کیتوزان معنی‌دار بود. به عنوان مثال در مورد فیلم نشاسته خالص مقاومت کششی $2/69$ Mpa، در مورد فیلم نشاسته حاوی 250 ppm نانو ذره نقره $3/18$ و در مورد فیلم نشاسته حاوی 500 ppm نانو ذره نقره $3/86$ Mpa گزارش شد که روند افزایشی آن اختلاف معناداری نداشت. اما در مورد فیلم کیتوزان خالص و حاوی 250 ppm و 500 ppm نانو ذره نقره به ترتیب مقادیر $20/53$ ، $23/56$ و $26/25$ گزارش شد که روند افزایشی آن اختلاف معناداری داشت. همچنین بر طبق گزارشات مشخص شد که مقاومت کششی فیلم کیتوزان بسیار بالاتر از فیلم نشاسته می‌باشد و ازین جهت نسبت به فیلم نشاسته دارای برتری است. این افزایش مقاومت کششی به دلیل جایگزینی جزئی نانو نقره در ماتریس فیلم است و بیانگر مقدار انرژی است که فیلم می‌تواند تا قبل از شکست در خود ذخیره کند. هرچه مقاومت کششی پایین‌تر به معنای ترد و شکننده بودن فیلم و حساسیت بالای آن به نیروهایی است که به صورت ضربه‌ای به فیلم وارد می‌شود. Moura De و همکاران نیز نتایج مشابهی با پژوهش حاضر گزارش کردند. در این تحقیق خواص مکانیکی پوشش‌های بسته‌بندی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز^۱ (HPMC) و تأثیر دو اندازه مختلف نانو نقره در این پوشش‌ها بررسی شد. وجود نانونقره باعث افزایش مقاومت کششی شد و زمانی که قطر نانو ذره 41 نانومتر بود مقاومت کششی بیشتر از زمانی بود که قطر نانو ذره 100 نانومتر بود. مقاومت کششی از 28 مگاپاسکال برای شاهد به 51 مگاپاسکال برای فیلم حاوی نانونقره با قطر 41 نانومتر و 38 مگاپاسکال برای فیلم حاوی نانو نقره با قطر 100 نانومتر رسید.

در مورد آزمون ازدیاد طول (جدول ۶) برای تمامی نمونه‌های مورد آزمون ازدیاد طول در نقطه پارگی با افزودن نانو ذره نقره به فیلم به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد و با افزایش مقدار نانو ذره از 250 ppm به 500 ppm این

¹ Hydroxypropyl Methylcellulose

روند ادامه یافت. به عنوان مثال در مورد فیلم کیتوزان خاص و حاوی ۲۵۰ و ۵۰۰ نانو ذره نقره به ترتیب مقادیر ازدیاد طول ۳۲/۰، ۴۴/۲ و ۵۰/۱۹ درصد گزارش شد که دارای تفاوت معناداری با یکدیگر بودند. Yoksan و Chirachanchai نیز نتایج مشابهی با پژوهش حاضر گزارش کردند، از نظر آنها اضافه نمودن نانو ذرات نقره به فیلم‌ها می‌تواند تا حدودی باعث بهبود خواص کششی در فیلم کیتوزان - نشاسته شود. در واقع در این پژوهش نانو ذرات نقره قادر بودند میزان ازدیاد طول در نقطه پارگی را که برای فیلم کیتوزان - نشاسته شاهد ۶/۴۶ درصد بود به ۷/۶۶ درصد برسانند، که این ارقام از لحاظ آماری تفاوت معناداری با یکدیگر دارند.

نتیجه گیری

بیوپلیمرها می‌توانند جایگزین خوبی برای پلیمرهای تجزیه‌ناپذیر باشند، اما بیوپلیمرها نقاط ضعف و معایب خاص خود را دارند. در این پژوهش سعی شد تا حدودی خصوصیات مکانیکی و ضد میکروبی دو بیوپلیمر مهم نشاسته و کیتوزان با و بدون نانو ذره نقره ارزیابی و با هم مقایسه شود. از نانو ذره نقره به منظور ضد میکروب کردن فیلم‌های مذکور استفاده شد. بدین منظور نانو ذره نقره مورد نظر سنتز و جهت تایید ایجاد نانو ذرات و سایز آن‌ها تست اسپکتروفوتومتر UV-Visible و DLS روی محلول سنتز شده انجام گرفت که ایجاد نانو ذرات را تایید و متوسط سایز ذرات ۲۵ nm تعیین شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تهیه شده از فیلم‌ها نشان دهنده توزیع یکنواخت نانو ذرات در فیلم‌ها بود.

یکی از مشکلات این بیوپلیمرها خصوصیات مکانیکی ضعیف آن‌ها است که با افزودن نانو نقره به آن‌ها استحکام و خصوصیات مکانیکی فیلم (استحکام کششی و افزایش طول آن) بهبود یافت. در حالی که حلالیت و تورم در این فیلم‌ها با افزودن نانو نقره تفاوت معنی‌داری نداشت، همچنین نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب افزایش یافت که این به عنوان یک فاکتور نامطلوب تلقی می‌شود. این فیلم‌ها از لحاظ فاکتورهای رنگ سنجی نیز بررسی شدند و مشخص شد با افزودن نانو ذره نقره از میزان روشنایی و سفیدی فیلم‌ها کاسته شد و میزان قرمزی و زردی افزایش یافت.

افزودن نانو ذرات نقره در هر دو نوع فیلم سبب ایجاد خاصیت آنتی میکروبیال در برابر باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس)، گرم منفی (اشرشیاکلی)، قارچ (آسپرژیلوس نایجر) و مخمر (کاندیدا آلبیکنس) شد و با افزایش میزان نانو ذره نقره این خاصیت افزایش یافت. به طور کلی، خصوصیات فیلم‌های تولیدی با نانو ذره نقره کاملاً متأثر از میزان نانو نقره مورد استفاده بوده و در مجموع به استثنای نفوذپذیری نسبت به بخار آب موجب بهبود خصوصیات فیلم‌ها گردید.

به‌طور کلی، می‌توان از فیلم‌های حاصل در جهت بسته‌بندی مواد غذایی نظیر انواع گوشت‌ها و فراورده‌های گوشتی، نان و پوشش دهی میوه‌ها و سبزیجات و... استفاده نمود. همچنین، از آن جایی که این بیوپلیمرها در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی کاربرد دارند و از طرفی هر ماده غذایی خصوصیات منحصر به فردی (از لحاظ رطوبت، pH، نوع میکروب‌های عامل فساد و...) را دارا می‌باشد، بنابراین شناخت کامل و صحیح از خصوصیات این فیلم‌ها و نقاط ضعف و قوت آن‌ها می‌تواند ما را به انتخاب بیوپلیمر مناسب برای بسته‌بندی هر ماده غذایی خاص و رفع عیوب آن با توجه به خصوصیات آن ماده غذایی رهنمون کند.

منابع

- برزگر، ح.، عزیزی، م.، برزگر، م. و حمیدی اصفهانی، ز. (۱۳۹۲). تولید و ارزیابی خواص فیلم فعال نانو کامپوزیتی نشاسته - رس حاوی اسانس دارچین و سوربات پتاسیم. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی. جلد دوم، شماره ۲، صفحات ۱۷۸-۱۶۷.
- عبدالهی، م.، رضایی، م. و فرزی، غ. (۱۳۹۰). تهیه و ارزیابی خصوصیات نانو کامپوزیت زیست تخریب پذیر کیتوزان/ نانورس جهت کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد هفتم، شماره ۱، صفحات ۷۹-۷۱.
- گنجه، م.، جعفری، س. م. و امان جانی، م. (۱۳۹۲). استفاده از پوشش‌های با خاصیت ضد میکروبی در بسته‌بندی مواد غذایی. فصلنامه علمی- ترویجی علوم و فنون بسته‌بندی. سال چهارم، شماره شانزدهم، صفحات ۲۳-۱۶.

active food packaging. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 520-524.

Desai, R., Mankad, V., Gupta, S. K. & Jha, P. K. (2012). Size Distribution of Silver Nanoparticles: UV-Visible Spectroscopic Assessment. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 4(1), 30-34.

Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K. & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food chemistry*, 114(4), 1173-1182.

Egger, S., Lehmann, R. P., Height, M. J., Loessner, M. J. & Schuppler, M. (2009). Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(9), 2973-2976.

Frone, A. N., Nicolae, C. A., Gabor, R. A. & Panaitescu, D. M. (2015). Thermal properties of water-resistant starch-polyvinyl alcohol films modified with cellulose nanofibers. *Polymer Degradation and Stability*, 121, 385-397.

Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W. & Yang, X. (2007). Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(28), 285604.

Han, W., Yu, Y., Li, N. & Wang, L. (2011). Application and safety assessment for nanocomposite materials in food packaging. *Chinese Science Bulletin*, 56(12), 1216-1225.

Haider, S., Park, S. Y., Saeed, K. & Farmer, B. L. (2007). Swelling and electroresponsive characteristics of gelatin immobilized onto multi-walled carbon nanotubes. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 124(2), 517-528.

Jangchud, A. & Chinnan, M. S. (1999). Peanut protein film as affected by drying temperature and pH of film forming solution. *Journal of Food Science*, 64(1), 153-157.

Kibar, E. A. A. & Us, F. (2013). Thermal, mechanical and water adsorption properties of corn starch-carboxymethylcellulose/methylcellulose biodegradable films. *Journal of Food Engineering*, 114(1), 123-131.

Marsh, K. & Bugusu, B. (2007). Food packaging—roles, materials, and environmental issues. *Journal of Food Science*, 72(3), R39-R55.

Mihindukulasuriya, S. D. F. & Lim, L. T. (2014). Nanotechnology development in food packaging: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 40(2), 149-167.

مرادی، م.، تاجیک، ح.، رضوی روحانی، س. م.، ارومیه‌ای، ع.، ملکی نژاد، ح. و قاسم مهدی، ه. (۱۳۹۰).

تهیه و ارزیابی خصوصیات فیلم آنتی اکسیدانی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور. فصلنامه گیاهان دارویی. سال یازدهم، دوره دوم، شماره ۴۲، صفحات ۵۲-۴۳

مرتضویان، س. م.، عزیزی، م. ح. و سهراب وندی، س. (۱۳۸۹). فیلم‌های خوراکی: شاخص‌های کیفی و روش‌های تولید. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. دوره هفتم، شماره ۴، صفحات ۱۱۷-۱۰۷.

نوشیروانی، ن.، قنبرزاده، ب. و انتظامی، ع. (۱۳۹۱). ویژگی‌های ریز ساختاری و فیزیکی (نفوذ پذیری، مکانیکی، حرارتی) فیلم‌های نانو کامپوزیتی بر پایه نشاسته، پلی وینیل الکل، نانو رس. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران. جلد هشتم، شماره ۱، صفحات ۵۹-۴۹.

Afshari-Jouybari, H. & Farahnaky, A. (2011). Evaluation of Photoshop software potential for food colorimetry. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 170-175.

Appendini, P. & Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(2), 113-126.

Bourtoom, T. & Chinnan, M. S. (2008). Preparation and properties of rice starch-chitosan

blend biodegradable film. *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1633-1641.

Chatterjee, B., Kulshrestha, N. & Gupta, P. N. (2016). Nano Composite Solid Polymer Electrolytes Based On Biodegradable Polymers Starch and Poly Vinyl Alcohol. *Measurement*.

Dadfar, S. A., Alemzadeh, I., Dadfar, S. R. & Vosoughi, M. (2011). Studies on the oxygen barrier and mechanical properties of low density polyethylene/organoclay nanocomposite films in the presence of ethylene vinyl acetate copolymer as a new type of compatibilizer. *Materials & Design*, 32(4), 1806-1813.

De Azeredo, H. M. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42(9), 1240-1253.

De Moura, M. R., Mattoso, L. H. & Zucolotto, V. (2012). Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as

- Miranda, C. S., Ferreira, M. S., Magalhães, M. T., Bispo, A. P. G., Oliveira, J. C., Silva, J. B. & José, N. M. (2015). Starch-based films plasticized with glycerol and lignin from piassava fiber reinforced with nanocrystals from eucalyptus. *Materials Today: Proceedings*, 2(1), 134-140.
- Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W. & Li, D. (2012). Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 22-29.
- Orozco, V. H., Kozlovskaya, V., Kharlampieva, E., López, B. L. & Tsukruk, V. V. (2010). Biodegradable self-reporting nanocomposite films of poly (lactic acid) nanoparticles engineered by layer-by-layer assembly. *Polymer*, 51(18), 4127-4139.
- Sanguansri, P. & Augustin, M. A. (2006). Nanoscale materials development—a food industry perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 547-556.
- Sozer, N. & Kokini, J. L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, 27(2), 82-89.
- Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., Kumar, K. R. & Tharanathan, R. N. (2003). Properties and sorption studies of chitosan–polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 431-438.
- Tharanathan, R. N. & Saroja, N. (2001). Hydrocolloid-based packaging films-alternate to synthetic plastics. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 60(7), 547-559.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71-78.
- Wu, C., Tian, J., Li, S., Wu, T., Hu, Y., Chen, S. & Ye, X. (2016). Structural properties of films and rheology of film-forming solutions of chitosan gallate for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 146, 10-19.
- Xie, F., Pollet, E., Halley, P. J. & Avérous, L. (2013). Starch-based nano-biocomposites. *Progress in Polymer Science*, 38(10), 1590-1628.
- Yoksan, R. & Chirachanchai, S. (2010). Silver nanoparticle-loaded chitosan–starch based films: Fabrication and evaluation of tensile, barrier and antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering: C*, 30(6), 891-897.