

نانوکامپوزیت‌های برپایه نشاسته ترموپلاستیک - نانوذرات نقره - نانورس: بررسی اثرات ضد باکتریایی روی اشرشیاکلی، ویژگی‌های مکانیکی و نفوذپذیری

طاهر استادعلی^۱، بابک قنبرزاده^{۲*}، فرزانه دریکوند^۳، سید علی مرتضوی^۴ و لیلا ابوالقاسمی فخری^۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۵

^۱دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

^۲استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

^۳دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد سبزوار

^۴استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد سبزوار

^۵دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir

چکیده

بسته بندی‌های برپایه پلیمرهای زیستی حاوی نانوذرات نقره، انواع جدیدی از بسته‌بندی‌های فعال هستند که علاوه بر برخورداری از ویژگی زیست تخریب پذیری، می‌توانند موجب کاهش خطر ناشی از آلودگی‌های میکروبی در مواد غذایی تازه و فرایند شده گردند. در این پژوهش، برای بهبود ویژگی‌های مکانیکی و نفوذپذیری فیلم‌های پلیمری زیستی نشاسته ترموپلاستیک و تولید نانوکامپوزیت زیستی، از نانورس (مونت موریلونت) و برای تولید فیلم فعال و ایجاد ویژگی‌های ضد میکروبی علیه باکتری اشرشیاکلی، از نانوذرات نقره استفاده شد. مطابق نتایج آزمون ضد میکروبی، نانولایه‌های رس نه تنها ویژگی‌های ضد میکروبی نداشتند بلکه موجب کاهش خاصیت ضد میکروبی در فیلم‌های حاوی نانوذرات نقره گردیدند. افزودن هر دو نوع نانوذره و مخلوط آن‌ها باعث بهبود ویژگی‌های بازدارندگی فیلم‌های نشاسته‌ای در برابر آب شد؛ بطوری که حلالیت در آب و نفوذپذیری در فیلم‌های نشاسته نرم شده - نانوذرات نقره - نانورس نسبت به نمونه شاهد، به ترتیب ۳۰/۹۳ و ۷۵/۴۳ درصد، کاهش پیدا کرد. نتایج حاصل از آزمون ویژگی‌های مکانیکی نشان داد که در فیلم‌های حاوی نانورس با افزایش غلظت نانوذرات نقره، استحکام کشش نهایی تا مقدار ۵/۳۸ مگاپاسکال افزایش و کرنش تا نقطه شکست تا مقدار ۴۱/۲۳ درصد کاهش پیدا کرد. با افزایش غلظت نانوذرات نقره در فیلم‌های حاوی نانورس، درصد عبور پرتوهای نور UV به طور معنی داری کاهش یافت و مطابق نتایج رنگ سنجی، با افزودن نانونقره، کدورت و زردی فیلم‌ها افزایش یافت.

واژگان کلیدی: ویژگی‌های ضد میکروبی، ویژگی‌های مکانیکی، فیلم نشاسته ترموپلاستیک، نانورس، نانوذرات نقره

مقدمه

ویژگی‌های کاربردی پلیمرها، استفاده از آن‌ها را به عنوان یک ماده بسته‌بندی در یک زمینه خاص مشخص می‌کند. به منظور استفاده از یک پلیمر برای بسته‌بندی محصولی خاص باید ویژگی‌های کاربردی آن با اهداف مورد نظر همخوانی داشته باشد. از جمله این ویژگی‌ها می‌توان به ویژگی‌های مکانیکی، نفوذپذیری به بخار آب، ویژگی‌های حسی (مانند شفافیت) و حرارتی اشاره کرد. رایج‌ترین آزمون برای ارزیابی ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها، آزمون کشش^۱ می‌باشد. در آزمون کشش فاکتورهای زیادی اندازه‌گیری می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان به استحکام کششی نهایی^۲ (UTS) و کرنش تا نقطه شکست^۳ (SB) اشاره کرد (گیلبرت ۱۹۸۶). یکی از دلایل مهم بسته‌بندی کردن مواد غذایی جلوگیری از جذب رطوبت از محیط یا از دست دادن رطوبت به محیط (گیلبرت ۱۹۸۶ و کستر ۱۹۸۶) می‌باشد. بنابراین نفوذپذیری به بخار آب ماده بسته‌بندی از اهمیت بالایی برخوردار است. تبادل رطوبتی بین ماده غذایی و محیط می‌تواند مشکلات زیر را به وجود آورد (مک هاگ ۱۹۹۴):

- جذب رطوبت توسط مواد غذایی جاذب الرطوبه و از دست دادن کیفیت حسی و به وجود آمدن حالت لاستیکی و کلوخه‌ای؛

- دهیدراسیون یا از دست دادن آب توسط مواد غذایی با فشار بخار آب بالاتر از فشار بخار آب محیط، نظیر سبزی‌ها و میوه‌های تازه و در نتیجه از دست رفتن طراوت و تازگی آن‌ها؛

- افزایش فعالیت آبی (a_w) مواد غذایی در اثر جذب رطوبت و احتمال گسترش فسادهای میکروبی، شیمیایی و آنزیمی؛

- کاهش وزن مواد غذایی نظیر غلات در اثر از دست دادن آب (دهیدراسیون) و در نتیجه کاهش ارزش اقتصادی آن‌ها.

نشاسته ترموپلاستیک، که به طور رایج به صورت TPS ^۴ نشان داده می‌شود، از ذوب نشاسته در دمای بالا و تحت نیروی برشی و در حضور پلاستی‌سایزرها به دست می‌آید. این نشاسته فرایند پذیر بوده و از این نظر مشابه با اغلب پلیمرهای سنتزی متداول می‌باشد (یو و همکاران ۲۰۰۵ و اولیواتو و همکاران ۲۰۱۳).

نانورس^۵ از مهم‌ترین سیلیکات‌های لایه‌ای است که در ترکیب با مواد پلیمری برای تولید نانوکامپوزیت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (اکاموتو ۲۰۰۵). در سال‌های اخیر مطالعاتی چند روی ویژگی‌های نانوکامپوزیت‌های بر پایه پلیمرهای زیستی زیست تخریب پذیر دارای نانورس، در بستر پلیمری نشاسته (پارک و همکاران ۲۰۰۲ و پارک و همکاران ۲۰۰۳ و ویلهلم و همکاران ۲۰۰۳ و هوانگ و یو ۲۰۰۶) انجام شده است. نتایج مطالعات مذکور اغلب حاکی از بهبود مشخص در ویژگی‌های مکانیکی، بازدارندگی، حرارتی و فیزیکی - شیمیایی در مقایسه با پلیمرهای خالص، حتی در مقادیر بسیار کم پرکننده بوده است.

بسته‌بندی فعال، نوعی بسته‌بندی است که علاوه بر داشتن ویژگی‌های اصلی بسته‌بندی‌های معمول (مانند بازدارندگی در برابر گازها و بخار آب و تنش‌های مکانیکی)، با تغییر شرایط درون بسته، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های حسی ماده غذایی را بهبود می‌بخشد. فیلم‌های بیوپلیمری ضد میکروبی که نوعی بسته‌بندی فعال به شمار می‌روند، در مقایسه با بسته‌بندی‌های مرسوم دارای دو مشخصه منحصر به فرد شامل برخورداری از فعالیت ضد میکروبی و زیست تخریب پذیری می‌باشند (قنبرزاده و همکاران ۱۳۸۸). بسته بندی‌های فعال ضد میکروبی حاوی نانوذرات فلزی، یکی

1Tensile test

2Ultimate tensile strength

3Strain to break

4Thermoplastic starch

5Montmorillonite

با توجه به بررسی منابع انجام شده، تاکنون گزارشی مبنی بر استفاده همزمان از نانولایه نانورس (*MMT*) و نانوذره نقره (*AgNP*) در فیلم‌های نشاسته‌ای وجود ندارد. با توجه به ضعف ویژگی‌های مکانیکی و بازدارندگی در برابر رطوبت و همچنین امکان رشد میکروارگانیزم‌ها در سطح فیلم‌های پلیمری زیستی از جمله نشاسته، از نانورس و نانوذرات نقره به ترتیب به عنوان بهبود دهنده و بازدارنده استفاده گردید و اثر نانورس بر بازدارندگی نانوذرات نقره و همچنین اثر نانوذرات نقره بر بهبود دهنده‌گی نانورس بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد

نشاسته سیب زمینی (رطوبت ۱۲ درصد، شرکت صنایع تبدیلی الوند همدان)، سوسپانسیون نانوذرات نقره (*AgNP*) با غلظت 4000 ppm و pH برابر ۷ (شرکت نانو ساو تهران)، سولفات پتاسیم، سولفات کلسیم و گلیسرول (شرکت مرک، آلمان)، سدیم نانورس (شرکت نانوکور، آلمان) خریداری شدند.

روش تهیه فیلم

به منظور تولید فیلم نشاسته - نانوذره نقره - نانورس (*PS-AgNP-MMT*)، ابتدا محلول ۳ درصد (وزنی-حجمی) *MMT* تهیه و به مدت ۶ ساعت توسط همزن مغناطیسی با سرعت 600 rpm همزده شد. سپس مقادیر مناسب از محلول *MMT* (۱، ۳ و ۵ درصد بر اساس وزن نشاسته) به ارلن ۱۰۰ میلی لیتر منتقل شده و درصد‌های مختلف *AgNP* (۱/۰، ۲/۰، ۳/۰ درصد بر پایه وزن نشاسته) اضافه شده و توسط آب مقطر به حجم ۲۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه داخل حمام آبی دستگاه فراصوت (*USD 4R*، ژاپن) قرار گرفته و توسط امواج فراصوت منتشر شده، تیمار شد. در این فاصله، ۳ گرم نشاسته در ۸۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و این محلول در دمای 75°C به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی همراه با همزدن حرارت داده شد. در ادامه

از دستاوردهای نوین فناوری نانو در این حوضه می-باشند که در آنها نانوذرات فلزی در داخل بستر پلیمری توزیع و پخش شده‌اند.

نانوذرات مختلفی از قبیل دی اکسید تیتانیوم (TiO_2)، اکسید منیزیم، مس و اکسید مس، اکسید روی، کادمیوم سلنید - تلوراید و نانوذرات نقره (*AgNP*) و همچنین نانو لوله‌های کربنی دارای اثرات ضد میکروبی هستند (کانگ و همکاران ۲۰۰۹). در میان این نانوذرات، نانونقره به دلیل مقاومت بالا در برابر حرارت و فراریت پایین، توجه زیادی را به خود معطوف کرده است (فورتوناتی و همکاران ۲۰۱۲). فلز نقره از گذشته‌های دور برای نگهداری آب آشامیدنی و شیر، ترمیم زخم‌های سوختگی و جلوگیری از عفونت‌های خاص در نوزادان به کار می-رفته است؛ اما به تازگی، به دلیل تولید آن به صورت نانوذرات با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر، خاصیت ضد میکروبی آن بسیار افزایش یافته و بنابراین کاربرد وسیع‌تری پیدا کرده است. از تحقیقات مشابه در این زمینه می‌توان به پژوهش گوش و همکاران (۲۰۱۰) اشاره کرد که فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره در فیلم بر پایه پلیمر زیستی آگار را بررسی کردند. طی این پژوهش، اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره در آگار روی باکتری‌های اشرشیاکلی (*E. coli*)، استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) و کاندیدا آلبیکنس (*C. albicans*) در یک محلول نمکی و نوترینت برات ارزیابی شد. نتایج بدست آمده نشان داد که اثر ضد میکروبی فیلم آگار - نانونقره در برابر کاندیدا آلبیکنس بیشترین، استافیلوکوکوس اورئوس کمترین و اشرشیاکلی کمتر از کاندیدا آلبیکنس و بیشتر از استافیلوکوکوس اورئوس بود. وانگ و همکاران (۲۰۱۲) ویژگی‌های ضد باکتریایی فیلم‌های نانوکامپوزیت کیتوزان - نقره - پلی وینیل پیرولیدون را بررسی کرده و کاهش قابل ملاحظه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی را در طی ۵ دقیقه در فیلم‌های حاصل، مشاهده نمودند.

تهیه شده و برای رسیدن به وزن خشک اولیه، به مدت ۲۴ ساعت در آون 105°C قرار گرفتند. سپس هر قطعه از نمونه‌ها در داخل ظروف درب‌دار حاوی ۵۰ میلی لیتر آب مقطر، غوطه‌ور شدند. در حالی که ظروف به صورت مقطعی همزده می‌شدند؛ به مدت ۲۴ ساعت در دمای 23°C قرار گرفتند. سپس فیلم‌ها از آب خارج و دو باره به مدت ۲۴ ساعت در آون 105°C قرار گرفتند، تا به وزن ثابت برسند. با توزین دوباره نمونه‌ها، وزن خشک نهایی به دست آمد. درصد کل مادهٔ محلول ($\%TSM$) یا $\%WS$ از رابطهٔ زیر محاسبه گردید:

$$\%WS = \frac{\text{وزن خشک نهایی} - \text{وزن خشک اولیه}}{\text{وزن خشک اولیه}} \times 100 \quad [1]$$

اندازه‌گیری نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

برای اندازه‌گیری انتقال بخار آب، از روش $ASTME96$ (۱۹۹۵) استفاده شد. ۳ گرم سولفات کلسیم در داخل ویال‌ها ریخته شد. عمل مشروط سازی فیلم‌ها در دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات کلسیم با رطوبت نسبی ۵۰-۵۵ درصد در دمای $20-25^{\circ}\text{C}$ به مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت. قطعه‌ای از فیلم بریده و در درپوش ویال قرار گرفته و بر روی ویال بسته شد. ویال‌ها با تمام محتویاتش توزین شده و درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار گرفتند. دسیکاتور درون انکوباتور $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ قرار گرفت و به مدت ۴ روز، هر چند ساعت یکبار، وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ویال‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبهٔ رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر ویال به کل سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشته است، آهنگ انتقال بخار آب ($WVTR$) بدست آمد.

$$WVP = [WVTR/P(R_1 - R_2)].x \quad [2]$$

مقادیر کامل از محلول‌های $AgNP-MMT$ به صورت قطره قطره و به آرامی اضافه گردید. به منظور توزیع بهتر نانوذرات، محلول نشاسته-نانوذره نقره-نانورس به مدت ۳۰ دقیقه در داخل حمام آبی دستگاه فراصوت قرار گرفته و توسط فراصوت، تیمار شد. $1/89$ گرم گلیسرول (۶۳ درصد وزن نشاسته) به عنوان نرم کننده به آن اضافه و به مدت ۶۰ ثانیه توسط اسپاتول همزده شد. سپس محلول تا 40°C خنک شده و همزمان به مدت ۶۰ دقیقه به آرامی همزده شد تا حباب‌های هوا به طور کامل از محلول خارج شود. در ادامه، ۲۰ گرم از این محلول، داخل پتری‌دیش پلی‌استایرنی ریخته شد تا پس از خشک شدن فیلمی با ضخامت مورد نظر ($0/1$ میلی متر) تولید شود. این پتری‌دیش‌ها به مدت ۱۸ ساعت در آون 50°C قرار گرفتند و سپس فیلم خشک شده به آرامی از سطح پتری‌دیش جدا گردید (اولیایی و همکاران ۲۰۱۲).

بررسی ویژگی‌های ضد باکتریایی فیلم‌ها

جهت بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی فیلم‌های نانوکامپوزیتی زیستی، از باکتری گرم منفی اشرشیاکلی $E.Coli DH5a$ (ATCC 8739) و به منظور فعال کردن باکتری‌ها از محیط کشت نوترینت براث، استفاده شد. یک لوپ از باکتری مورد نظر (اشرشیاکلی) به محیط فوق منتقل شده و در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C قرار داده شد. سپس روی محیط کشت اختصاصی $VRBD-AGAR$ 100° میکرولیتر از باکتری اشرشیاکلی ($DH5a$) بوسیله سمپلر ریخته شد و در نهایت فیلم‌های ضد میکروبی به قطر ۸ میلی متر در سه تکرار روی محیط کشت قرار داده شده و بعد از ۲۴ ساعت انکوبه شدن در دمای 37°C ، قطر هاله‌های تشکیل شده بوسیله کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد (شومینگ و همکاران ۲۰۱۱).

اندازه‌گیری میزان حلالیت در آب

حلالیت در آب ($\%WS$) توسط روش گونتارد و گیلبرت (۱۹۹۴) تعیین گردید. نمونه‌های فیلم با ابعاد $20 \times 20 \text{ mm}^2$

x : ضخامت فیلم (m)

P : فشاربخار آب خالص در دمای $25^{\circ}C$ ($3169 Pa$).

R_1 : رطوبت نسبی در دسیکاتور (۹۷ درصد).

R_2 : رطوبت نسبی در داخل ویال (صفر درصد).

اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی

استحکام کششی نهایی (UTS) و کرنش تا نقطه شکست (SB) فیلم‌ها با استفاده از دستگاه آزمون مکانیکی *Zwick Roell* مدل *FR010* (ساخت کشور آلمان) طبق استاندارد *ASTM D882-91* (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دسیکاتور حاوی نیترات کلسیم (رطوبت نسبی ۵۵ درصد) واجد شرایط شدند و سپس نمونه‌ها به شکل دمبلی با ابعاد $6 \times 0.5 \times 0.5 \text{ cm}^2$ بریده شده و در بین دو فک دستگاه قرار گرفتند. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب 50 mm و 5 mm/min تعیین و داده‌ها توسط کامپیوتر ثبت گردید.

اندازه‌گیری ویژگی‌های رنگی

رنگ نمونه‌ها توسط دستگاه رنگ سنج (ساخت گروه مکانیزاسیون دانشگاه تبریز) که بر اساس پارامترهای رنگی هانتر کار می‌کرد مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان رنگ، با استفاده از پارامترهای هانتر بر حسب روشنایی (L^*)، زردی-آبی (b^*) بیان گردید.

داده‌ها در طی پنج اندازه‌گیری از نقاط مختلف فیلم‌ها (یکی در مرکز و چهار عدد در پیرامون) بدست آمد و از آن‌ها میانگین گرفته شد. برای هر نوع فیلم سه تکرار انجام گردید.

اندازه‌گیری میزان شفافیت فیلم‌ها

میزان شفافیت فیلم، طبق استاندارد *ASTM D1746* در روش بکار رفته توسط ساتورنویتو همکاران (۲۰۰۹) تعیین گردید. فیلم‌ها در ابعاد 2×3 سانتیمتر مربع بریده و به مدت ۲۴ ساعت در دسیکاتور حاوی نیترات کلسیم (رطوبت نسبی ۵۵ درصد) واجد شرایط گردیدند. سپس داخل یکی از سل‌های اسپکتروفوتومتر دوشعاعی *UV-Vis Shimadzu* (مدل *UV-1700* ساخت کشور ژاپن) قرار گرفتند. در سل دیگر، هوا به عنوان مرجع در نظر گرفته

شد. مقدار جذب نور فیلم در دامنه $800-200$ نانومتر اندازه‌گیری و درصد عبور نور آن رسم گردید. میزان عبور نور از فیلم در نواحی مختلف UV (طول موج‌های 240 و 360 نانومتر به‌عنوان شاخص نواحی مختلف)، محاسبه گردید.

تحلیل آماری

همه آزمون‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل، با دو فاکتور شامل غلظت نانورس (در سه سطح، ۱، ۳ و ۵ درصد وزن نشاسته) و غلظت نانونقره (در سه سطح، 0.1 ، 0.2 و 0.3 درصد وزن نشاسته) و در سه تکرار انجام پذیرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس و آزمون میانگین دانکن ($\alpha = 0.05$) استفاده شد و نرم‌افزار آماری *SPSS16* برای تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

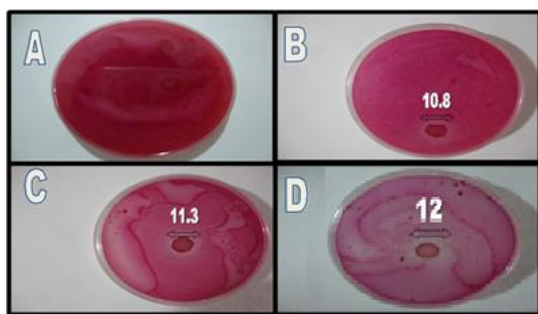
فعالیت ضد میکروبی روی اشرشیاکلی *DH5a*

با مقایسه نتایج ارائه شده در جدول ۱، مشاهده می‌گردد که اختلاف معنی داری ($\alpha = 0.05$) بین فیلم‌های نشاسته-ای دارای ترکیبات مختلف از نظر میزان محدوده بازدارندگی نسبت به باکتری اشرشیاکلی وجود داشته است.

محدوده بازدارندگی از رشد در فیلم شاهد (*PS*)، صفر بود و رشد باکتری بر روی این فیلم مشاهده شد، در حالی که در فیلم حاوی 0.1 درصد *AgNP*، محدوده بازدارندگی به $10/8$ میلی متر افزایش یافت. با افزایش میزان نانوذرات *AgNP*، محدوده بازدارندگی از رشد باکتری اشرشیاکلی افزایش یافت (شکل ۱). بطوریکه با افزودن 0.2 و 0.3 درصد *AgNP*، محدوده بازدارندگی به ترتیب به $11/3$ و 12 میلی متر افزایش یافت. مکانیسم اثر باکتریوسیدی ذرات کلوئیدی نقره در برابر باکتری‌ها، به صورت دقیق مشخص نشده است. نانوذرات نقره می‌توانند از طریق اتصال به سطح غشای سلولی، بر روی نفوذپذیری و تنفس باکتری‌ها اثر مخرب داشته باشند.

تخریب ترکیباتی نظیر DNA گردند. همچنین این احتمال وجود دارد که در اثر آزاد شدن یون‌های نقره از نانوذرات آن، این یون‌ها اثر هم‌افزایی را با ویژگی‌های باکتریوسیدی نانوذرات نقره نشان دهند (پاناکک و همکاران ۲۰۰۶).

نتایج مشابهی در مورد اثر افزودن نانوذرات نقره به فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی سلولز، کیتوزان و... گزارش شده است. لی و همکاران (۲۰۱۱) با افزودن AgNP به فیلم نانوکامپوزیت زیستی سلولز نشان دادند که در غلظت‌های پایین نانونقره محدوده‌ی بازداری برای باکتری اشرشیاکلی ۱۰ میلی متر بود در حالی که با افزایش غلظت AgNP تا دو برابر، محدوده‌ی بازداری به ۱۲/۵ میلی متر افزایش یافت. استفاده از نانوذرات MMT تاثیری بر روی محدوده‌ی بازدارندگی فیلم نشاسته بدون نانوماده نداشت. فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی حاوی ۰/۳ درصد AgNP بدون MMT، بیشترین میزان محدوده‌ی بازدارندگی را نسبت به باکتری اشرشیاکلی نشان دادند و تفاوت معنی‌داری ($\alpha = 0/05$) نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند.



شکل ۱- محدوده‌ی بازداری فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی

حاوی مقادیر مختلف نانونقره روی اشرشیاکلی

فیلم خالص (شاهد) (A)، فیلم حاوی ۰/۱ درصد AgNP (B)، فیلم حاوی ۰/۲ درصد AgNP (C)، فیلم حاوی ۰/۳ درصد AgNP (D). قطرها بر حسب میلی‌متر گزارش شده است.

ولی با افزودن MMT تا سطح ۱ درصد، به فیلم‌های حاوی AgNP، میزان محدوده‌ی بازدارندگی به طور معنی‌داری ($\alpha = 0/05$) کاهش یافت و در غلظت‌های بالاتر

اتصال ذرات به باکتری، به سطح قابل دسترس نانوذره برای برهمکنش با سطح باکتری بستگی دارد. ذرات کوچک دارای سطح بیشتر قابل دسترس برای برهمکنش مناسب، اثر باکتریوسیدی بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگتر با مساحت سطحی کمتر قابل دسترس دارند. آزمایشات انجام گرفته با STEM^۸ و EDS^۹، نانوذرات نقره را نه تنها در سطح غشای سلولی، بلکه داخل سلول باکتری نیز نشان داده است. بنابراین احتمال نفوذ نانوذرات نقره به درون سلول باکتری وجود دارد و به دلیل تمایل بالای این نانوذرات به برهمکنش با ترکیبات حاوی سولفور و فسفر، این نانوذرات می‌توانند منجر به

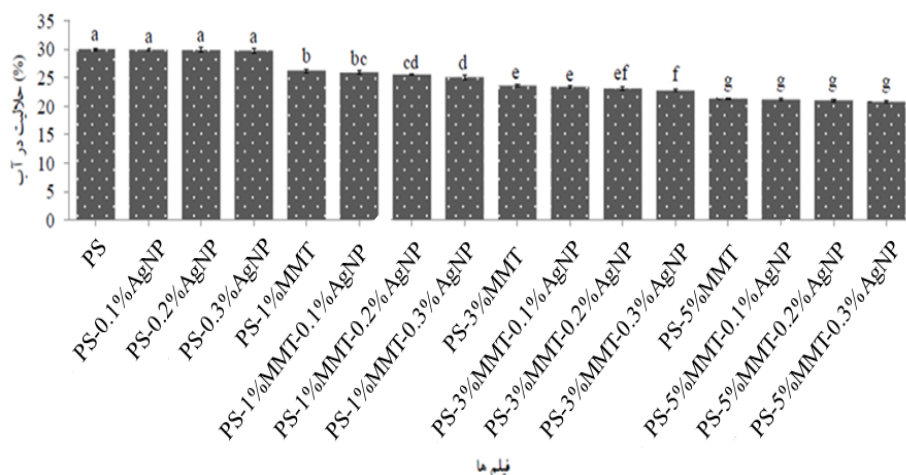
جدول ۱- مقادیر محدوده‌ی بازداری علیه باکتری اشرشیاکلی در فیلم‌های با مقادیر مختلف MMT و AgNP.*

نوع فیلم	میزان محدوده‌ی بازداری (mm)
PS	۱۰/۸±۰/۳ ^c
PS-0.1% AgNP	۱۱/۳±۰/۳ ^b
PS-0.2% AgNP	۱۲/۰±۰/۵ ^a
PS-0.3% AgNP	۱۲/۰±۰/۵ ^a
PS-1% MMT	۹/۶±۰/۳ ^e
PS-1% MMT-0.1% AgNP	۹/۸±۰/۳ ^e
PS-1% MMT-0.2% AgNP	۱۰/۳±۰/۴ ^d
PS-1% MMT-0.3% AgNP	۱۰/۳±۰/۴ ^d
PS-3% MMT	۸/۵±۰/۳ ^g
PS-3% MMT-0.1% AgNP	۸/۶±۰/۳ ^f
PS-3% MMT-0.2% AgNP	۸/۸±۰/۴ ^f
PS-3% MMT-0.3% AgNP	۸/۸±۰/۴ ^f
PS-5% MMT	۸ ^h
PS-5% MMT-0.1% AgNP	۸ ^h
PS-5% MMT-0.2% AgNP	۸ ^h
PS-5% MMT-0.3% AgNP	۸/۱±۰/۲ ^{gh}

*حروف مختلف روی اعداد، نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار بین نمونه‌ها در آزمون دانکن است ($\alpha = 0/05$). عدد اول مربوط به میانگین داده‌ها و عدد دوم انحراف از معیار است.

می‌دهد که احتمالاً مربوط به جلوگیری از انتشار ذرات نقره یا یون‌های آن باشد.

MMT (۳ درصد و ۵ درصد)، اثر ضد میکروبی فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی MMT و AgNP در مقایسه با فیلم‌های بدون MMT و حاوی AgNP، به شدت کاهش یافت. این نشان می‌دهد که MMT نه تنها خاصیت ضد میکروبی ندارد بلکه ویژگی‌های ضد میکروبی AgNP را نیز کاهش



شکل ۲- تأثیر مقادیر مختلف نانوذرات MMT و Ag و مخلوط آنها بر میزان حلالیت فیلم‌های نشاسته‌ای حروف مختلف روی نمودارها، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها در آزمون دانکن است ($\alpha = 0.05$).

هیدروژنی بین لایه‌های PS و MMT را بشکنند و همین موضوع باعث می‌شود که حلالیت فیلم‌های نانویی در آب به طور معنی‌داری ($\alpha = 0.05$) کاهش یابد. در مطالعه عبدالهی و همکاران (۲۰۱۲) نیز با افزودن نانوذرات MMT به فیلم‌های کیتوزان کاهش قابل ملاحظه‌ای (تا ۵۰ درصد) در حلالیت در آب فیلم‌ها مشاهده شد. نوشیروانی و همکاران (۱۳۹۰) با افزودن دو پرکننده MMT و نانوکریستال سلولز (NCC) به بستر نشاسته حاوی پلی وینیل الکل، مقدار انحلال پذیری در آب را به ترتیب از ۲۳/۵۶ درصد به ۱۱/۷۵ و ۱۸/۸۷ درصد کاهش دادند.

با افزودن AgNP و افزایش میزان آن در فیلم، حلالیت در آب فیلم‌ها کاهش یافت، هرچند این کاهش معنی‌دار ($\alpha = 0.05$) نبود. فیلم‌های PS-AgNP-MMT حاوی ۰/۳ درصد AgNP و ۵ درصد MMT با ۲۰/۷۶ درصد بیشترین کاهش در میزان حلالیت در آب را بین نمونه‌ها

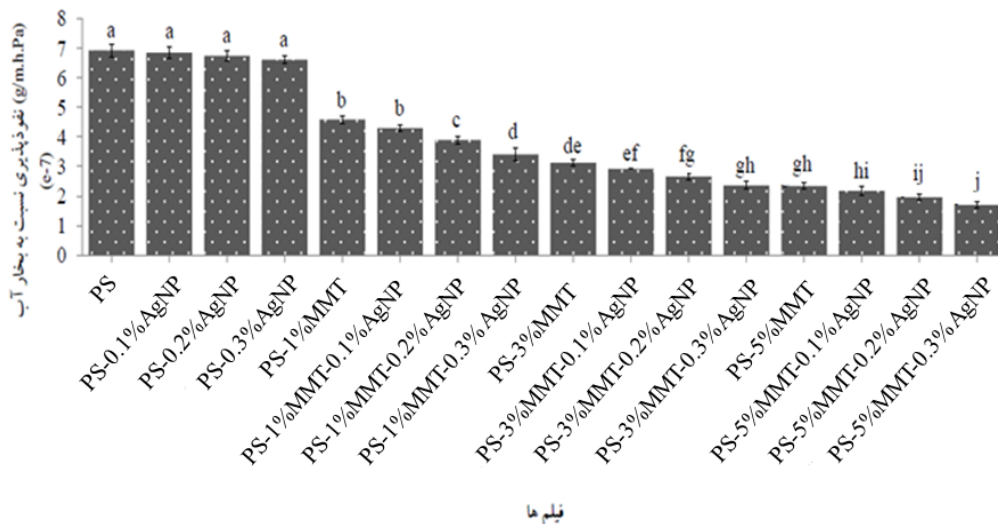
حلالیت در آب

حلالیت در آب فیلم‌های نانوکامپوزیتی زیستی-PS-MMT، PS-AgNP و PS-AgNP-MMT و مقایسه نتایج آن در شکل ۲، آورده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که بین فیلم‌های حاوی سطوح مختلف MMT و فاقد AgNP تفاوت معنی‌داری ($\alpha = 0.05$) وجود داشت، درصد کل ماده محلول در نمونه بدون MMT، ۲۰/۰۶ درصد بود که در فیلم‌های حاوی ۱ درصد و ۳ درصد MMT به ترتیب به ۲۶/۲۶ و ۲۳/۶۶ درصد کاهش یافت. کمترین حلالیت در آب فیلم‌های نانوکامپوزیتی زیستی در مقادیر MMT ۵ درصد مشاهده شد که مقدار آن به ۲۱/۳۶ درصد رسید. احتمالاً گروه‌های هیدروکسیل مولکول‌های MMT با گروه‌های هیدروکسیل PS، پیوندهای هیدروژنی قوی برقرار نموده و بدین ترتیب باعث افزایش برهمکنش بین زنجیرها می‌شود. در این حالت مولکول‌های آب نمی‌توانند به اندازه کافی باندهای

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

مقادیر نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های نانوکامپوزیتی زیستی PS-MMT، PS-AgNP و PS- AgNP در شکل ۳، ارائه شده است.

داشتند. بعد از آن به ترتیب فیلم‌های نانوکامپوزیت سه جزئی (PS-AgNP-MMT) و فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی دو جزئی PS-MMT و PS-AgNP کمترین میزان حلالیت در آب را نشان دادند.



شکل ۳- تاثیر مقادیر مختلف نانوذرات MMT و AgNP و مخلوط آنها بر میزان WVP فیلم‌های نشاسته حروف مختلف روی نمودارها، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها در آزمون دانکن است ($\alpha = 0.05$).

این ترتیب زمان لازم برای عبور این مولکول‌ها از فیلم افزایش یافته و در نتیجه سرعت انتشار آنها از فیلم کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، احتمالاً نانورس در اثر بر همکنش با گروه‌های هیدروکسیل بستر پلیمری، تعداد و فعالیت این گروه‌ها را کاهش داده و موجب کاهش حلالیت مولکول‌های آب در بستر گردیده است (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸).

نوشیروانی و همکاران (۱۳۹۰) با افزودن دو پرکننده MMT و نانوکریستال سلولز (NCC) به بستر نشاسته حاوی پلی وینیل الکل، مقدار نفوذپذیری نسبت به بخار آب را از $7/4 \times 10^{-7}$ g/m.h.Pa برای فیلم شاهد به ترتیب به $6/19 \times 10^{-7}$ g/m.h.Pa و $7/05 \times 10^{-7}$ g/m.h.Pa کاهش دادند. ابوالقاسمی فخری و همکاران (۱۳۹۱) با افزودن ۱۰ درصد MMT به فیلم آلیاژی کربوکسی متیل سلولز - پلی وینیل الکل، مقدار نفوذپذیری به بخار آب این فیلم را به میزان ۲۹/۰۶ درصد کاهش دادند.

نتایج بدست آمده نشان داد که بین فیلم‌های نانوکامپوزیتی زیستی دارای سطوح مختلف MMT و فاقد AgNP از لحاظ میزان WVP اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در میان غلظت‌های مختلف نانورس، فیلم‌های حاوی ۵ درصد MMT، کمترین WVP را نشان دادند ($2/33 \times 10^{-7}$ g/m.h.Pa). در فیلم‌های حاوی MMT و AgNP، افزایش غلظت MMT در مقادیر ثابت AgNP نیز باعث کاهش معنی‌دار ($\alpha = 0.05$) در WVP فیلم‌ها گردید.

اثر MMT در کاهش WVP فیلم PS را به صورت‌های مختلفی می‌توان توجیه نمود. نفوذپذیری به گازها به دو عامل ضریب انتشار و ضریب حلالیت بستگی دارد. با افزودن نانوذرات ممکن است ضریب انتشار مولکول‌های گاز در بستر پلیمری کاهش یابد زیرا از یک طرف تحرک موضعی زنجیرهای پلیمر کاهش یافته و فضای خالی بین آنها کمتر می‌شود و از طرف دیگر این گازها برای عبور از پلیمر بایستی مسیر زیگزاگی طولانی را طی کنند. به

تا نقطه شکست فیلم‌ها مشاهده شد. افزودن AgNP به فیلم بدون افزودن MMT، به طور غیرمعنی‌دار باعث افزایش استحکام کشش نهایی و کاهش کرنش تا نقطه شکست گردید. افزایش غلظت AgNP نیز تغییر معنی‌داری در ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها ایجاد نکرد. افزودن همزمان نانولایه MMT و نانوذره نقره موجب افزایش استحکام کششی نهایی (UTS) و کاهش کرنش تا نقطه شکست (SB) گردید. فیلم نانوکامپوزیت زیستی نشاسته حاوی ۵ درصد MMT و ۰/۳ درصد AgNP با UTS برابر با ۵/۳۸ MPa و SB برابر با ۴۱/۲۳ درصد دارای بیشترین میزان استحکام کشش نهایی و کمترین کرنش تا نقطه شکست بود. فیلم‌های ترکیبی از نانولایه MMT و نانوذره نقره دارای استحکام کشش نهایی بیشتری نسبت به فیلم‌های دارای نانولایه و نانوذره به تنهایی و فیلم‌های حاوی نانوذرات MMT دارای استحکام کششی نهایی بیشتر از فیلم‌های حاوی نانوذرات AgNP بود. میزان کرنش تا نقطه شکست در فیلم‌های نانوکامپوزیتی زیستی به ترتیب زیر بود:

PS-MMT > PS-AgNP > PS-AgNP-MMT

مکانیسم‌های مختلفی برای افزایش استحکام و کاهش انعطاف پذیری پلیمرها توسط نانوذرات پیشنهاد شده است:

- برهمکنش با زنجیرهای پلیمر و کاهش تحرک زنجیرها؛
- پر کردن فضاهای خالی بین زنجیری در مناطق آمورف؛
- افزایش نواحی بلوری در بستر پلیمری که به عنوان اتصالات فیزیکی برای نواحی آمورف عمل می‌کنند؛
- بالا بودن استحکام کششی خود نانو ذرات و مشارکت در استحکام کلی.

در فیلم‌های حاوی هر دو نانوماده، به جز فیلم حاوی ۱ درصد MMT، افزایش غلظت AgNP در مقادیر ثابت باعث کاهش معنی‌دار ($\alpha = 0/05$) در WVP فیلم‌ها نشد. فیلم‌های PS-AgNP-MMT حاوی ۰/۳ درصد نانورس و ۵ درصد نانورس با $1/7 \times 10^{-7}$ g/m.h.Pa بیشترین کاهش در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب را بین نمونه‌ها داشتند. بعد از آن به ترتیب فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی سه جزئی (PS-AgNP-MMT) و فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی دوجزئی PS-MMT و PS-AgNP کمترین میزان WVP را نشان دادند. میزان مؤثر بودن نانوذرات در افزایش بازدارندگی، به عوامل زیر بستگی دارد:

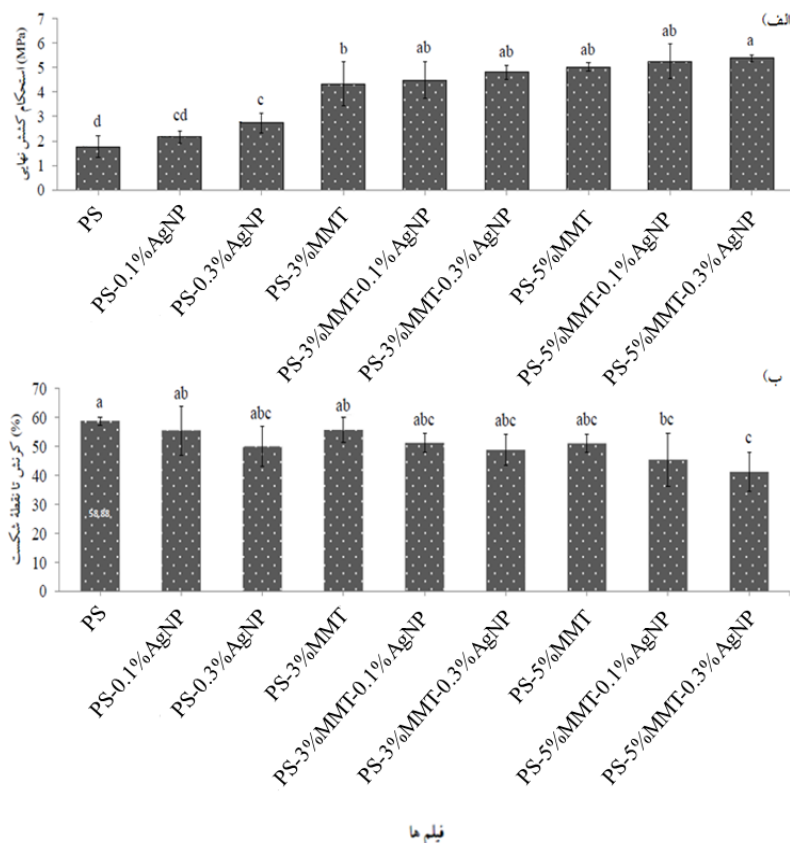
- نحوه پخش و برهم کنش نانوذرات با بستر پلیمری؛
- برهم کنش بین خود نانوذرات؛
- نسبت منظر (نسبت ابعاد) نانوذرات؛
- میزان آبدوستی و بلورینگی نانوذرات؛
- نفوذپذیری نانوذرات.

ذرات MMT طبیعی علیرغم آبدوستی، به علت نسبت منظر بالا، بلورینگی بالا و احتمالاً برهمکنش مناسب با بستر پلیمرهای زیستی، بازدارندگی مناسبی را در فیلم‌های بر پایه نشاسته ایجاد می‌نمایند.

از نتایج حاصل از آزمون WVP در این پژوهش، می‌توان احتمال پخش مناسب نانوذرات در بستر پلیمر زیستی و همچنین احتمال عدم تجمع و انبوه شدن نانوذرات در غلظت‌های بالا را بیان کرد.

ویژگی‌های مکانیکی

نتایج حاصل از آزمون اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی، افزایش معنی‌دار ($\alpha = 0/05$) در استحکام کشش نهایی و کاهش غیرمعنی‌دار ($\alpha = 0/05$) در کرنش تا نقطه شکست فیلم‌های نشاسته را در اثر افزودن ۳ درصد MMT نشان داد (شکل ۴). با افزایش مقدار این نانوماده به ۵ درصد در فیلم‌های بدون AgNP، افزایش و کاهش غیرمعنی‌دار به ترتیب در استحکام کشش نهایی و کرنش



فیلم‌ها

شکل ۴- تأثیر مقادیر مختلف نانوذرات MMT و AgNP و مخلوط آنها بر میزان ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های نشاسته (الف) استحکام کشش نهایی (UTS) (ب) کرنش تا نقطه شکست (SB). حروف مختلف روی نمودارها، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها در آزمون دانکن است ($\alpha = 0.05$).

نشان دادند که افزودن MMT، در سطح ۷ درصد باعث افزایش استحکام کشش نهایی از ۴/۲ به ۴/۶۱ MPa می‌شود، در حالی که افزودن NCC در همان سطح، اثر معنی‌داری بر این استحکام ندارد. با افزودن MMT و NCC مقدار کرنش تا نقطه شکست به ترتیب کاهش و افزایش یافت. الماسی و همکاران (۲۰۱۰) در فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی نانورس، مشاهده کردند که با افزایش غلظت MMT از صفر به ۷ درصد، UTS به طور معنی‌داری از ۹/۸۳ به ۲۷/۵۵ MPa افزایش یافت و SB از ۶۳/۵۲ درصد به ۱۸/۲۵ درصد رسید.

رنگ سنجی

پارامترهای رنگی هانتر یعنی روشنایی (L) و زردی-آبی (b)، فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی PS-MMT و PS-

احتمالاً به دلیل ایجاد برهمکنش بین نانوذرات AgNP و شبکه زنجیری نشاسته استحکام کشش نهایی فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی نانوذرات AgNP بیشتر از استحکام کششی فیلم نشاسته خالص بود. این احتمال وجود دارد که برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین بارهای مثبت نانوذرات AgNP و بارهای منفی گروه‌های هیدروکسیل PS در طول فرایند تولید و در طول خشک کردن فیلم‌ها، ایجاد می‌شوند.

کونوار و همکاران (۲۰۱۰) نیز با افزودن نانوذرات AgNP در سطوح ۱ و ۳ درصد وزنی به پلیمر پلی استر، UTS را از مقدار ۲/۶۸ MPa به ترتیب به مقادیر ۸/۵ و ۹/۷۴ افزایش دادند. نوشیروانی و همکاران (۱۳۹۰) با افزودن دو پرکننده MMT و نانوکریستال سلولز (NCC) به بستر نشاسته حاوی پلی وینیل الکل،

AgNP و PS-AgNP-MMT در جدول ۲، آورده شده است.

جدول ۲- پارامترهای هانتر فیلم‌های نانوکامپوزیت نشاسته حاوی درصد‌های مختلف نانونقره و نانورس ومخلوط آنها*

نوع فیلم	L	b
PS	۷۲/۶±۰/۹ ^a	-۴/۴±۰/۸ ^g
PS-0.1%AgNP	۶۹/۶±۰/۴ ^b	۱۹/۲±۱/۳ ^c
PS-0.2%AgNP	۶۳/۴±۰/۲ ^d	۲۸/۶±۰/۸ ^b
PS-0.3%AgNP	۵۶/۸±۰/۳ ^{fg}	۳۳/۰±۱/۰ ^a
PS-1% MMT	۷۱±۰/۳ ^{ab}	-۲/۸±۰/۹ ^g
PS-1% MMT-0.1%AgNP	۶۱/۲±۰/۲ ^c	۲۲/۸±۱/۳ ^d
PS-1% MMT-0.2%AgNP	۵۵/۴±۰/۲ ^g	۲۹/۶±۱/۱ ^b
PS-1% MMT-0.3%AgNP	۵۱±۰/۵ ^h	۳۴/۴±۱/۵ ^a
PS-3% MMT	۷۲/۲±۰/۳ ^a	-۳/۲±۰/۵ ^g
PS-3% MMT-0.1%AgNP	۶۷/۴±۰/۲ ^c	۱۴/۴±۱/۳ ^f
PS-3% MMT-0.2%AgNP	۶۲±۰/۱ ^{de}	۲۴/۸±۰/۸ ^c
PS-3% MMT-0.3%AgNP	۵۷/۸±۰/۴ ^f	۲۷/۸±۰/۶ ^b
PS-5% MMT	۷۱/۸±۱/۷ ^a	-۳/۰±۰/۷ ^g
PS-5% MMT-0.1%AgNP	۶۷±۰/۷ ^c	۱۴/۶±۰/۵ ^f
PS-5% MMT-0.2%AgNP	۶۱/۶±۱/۱ ^e	۲۵/۲±۰/۹ ^c
PS-5% MMT-0.3%AgNP	۵۷/۲±۰/۹ ^f	۲۸/۰±۰/۵ ^b

*حروف مختلف روی اعداد، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین نمونه‌ها در آزمون دانکن است ($\alpha = 0/05$). عدد اول مربوط به میانگین داده‌ها و عدد دوم انحراف از معیار است.

با مقایسه پارامترهای رنگی مشاهده شد که افزودن MMT به فیلم نشاسته خالص، موجب کاهش معنی‌داری در پارامتر L یعنی روشنایی و شفافیت فیلم‌ها نگردید. همچنین مقادیر b یعنی زردی فیلم‌ها افزایش نیافت. در صورتی که ذرات AgNP موجب کاهش در روشنایی و افزایش در مقادیر زردی فیلم‌های نشاسته خالص گردیدند. فیلم‌های نانوکامپوزیت زیستی سه تایی، دارای کمترین پارامتر L و بیشترین پارامتر b بودند و به عبارتی دیگر بیشترین تیرگی و زردی را در بین فیلم‌ها به خود اختصاص داده‌اند و بعد آن فیلم‌های دوتایی PS-

AgNP دارای تیرگی و زردی بیشتر نسبت به فیلم‌های دوتایی PS-MMT می‌باشند. از نتایج مشابه در مورد تاثیر نانوذرات MMT بر روی ویژگی‌های رنگی فیلم‌های نشاسته‌ای می‌توان به پژوهش اولیایی و همکاران (۲۰۱۲) اشاره نمود. نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج ارائه شده توسط محققان که نشان دادند MMT، باعث ایجاد تغییر در ویژگی‌های رنگی، افزایش کدورت و کاهش شفافیت فیلم‌ها نمی‌گردد، مطابقت داشت. همچنین از آنجایی که با افزایش غلظت نانوذرات AgNP، میزان تیرگی و زردی فیلم‌ها افزایش معنی داری ($\alpha = 0/05$) پیدا کرد، چنین نتیجه می‌شود که پخش این نانوذرات در بستر نشاسته، نه تنها موجب بهبود ویژگی‌های رنگی فیلم نشاسته نشد بلکه موجب تضعیف آن نیز شد.

میزان شفافیت فیلم‌ها

میزان عبور امواج فرابنفش در طول موج‌های ۲۴۰ و ۳۶۰ نانومتر برای فیلم‌های نانوکامپوزیت PS-MMT، PS-AgNP و PS-AgNP-MMT در جدول ۳، ارائه شده است.

بین فیلم‌های حاوی سطوح مختلف MMT و فاقد AgNP، در هر دو طول موج و همچنین بین فیلم‌های حاوی سطوح مختلف AgNP و فاقد MMT، در طول موج nm ۲۴۰، اختلاف معنی داری ($\alpha = 0/05$) در میزان شفافیت وجود داشت. فیلم‌های سه تایی PS-AgNP-MMT حاوی بیشترین سطح MMT (۵ درصد)، دارای بیشترین میزان قابلیت بازدارندگی در برابر پرتو فرابنفش بودند و بعد آن فیلم‌های دوتایی PS-MMT میزان درصد عبور نور کمتر (قابلیت بازدارندگی بیشتر) نسبت به فیلم‌های PS-AgNP را دارا بودند. با افزودن ۱ درصد MMT، درصد عبور نور UV، به ترتیب در طول موج‌های ۲۴۰ و ۳۶۰ نانومتر به مقادیر ۳۲ و ۷۲/۲۷ درصد کاهش پیدا کردند.

جدول ۳- میزان عبور پرتوهای UV فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی درصد‌های مختلف نانونقره و نانورس و مخلوط آنها*

UV (۲۶۰nm) T (%)	UV (۲۴۰nm) T (%)	نوع فیلم
۷۷/۱۴±۰/۰۸ ^a	۴۸/۱۰±۰/۲۸ ^a	PS
۷۶/۷۴±۰/۱۰ ^{ab}	۴۶/۶۴±۰/۳۶ ^b	PS-0.1% AgNP
۷۶/۴۲±۰/۱۲ ^{bc}	۴۵/۲۸±۰/۴۱ ^c	PS-0.2% AgNP
۷۵/۹۸±۰/۱۱ ^c	۴۳/۷۷±۰/۳۸ ^d	PS-0.3% AgNP
۷۲/۲۷±۰/۳۲ ^d	۳۲/۰۰±۰/۲۸ ^e	PS-1% MMT
۷۱/۷۶±۰/۲۹ ^{de}	۲۷/۲۹±۰/۳۱ ^f	PS-1% MMT- 0.1% AgNP
۷۱/۳۳±۰/۳۳ ^{ef}	۲۶/۱۸±۰/۳۳ ^g	PS-1% MMT- 0.2% AgNP
۷۱/۰۲±۰/۳۵ ^{fg}	۲۴/۹±۰/۳۱ ^h	PS-1% MMT- 0.3% AgNP
۷۰/۴۵±۰/۴۹ ^{gh}	۱۹/۵۵±۰/۳۵ ⁱ	PS-3% MMT
۶۹/۹۱±۰/۴۳ ^{hi}	۱۶/۰۲±۰/۳۶ ^j	PS-3% MMT- 0.1% AgNP
۶۹/۳۴±۰/۱۸ ^{ij}	۱۵/۱۱±۰/۳۶ ^k	PS-3% MMT- 0.2% AgNP
۶۸/۹۱±۰/۴۵ ^j	۱۴/۴۳±۰/۴۱ ^k	PS-3% MMT- 0.3% AgNP
۵۸/۸۰±۰/۲۴ ^k	۱۲/۴۰±۰/۱۴ ^l	PS-5% MMT
۵۸/۴۵±۰/۱۶ ^{kl}	۱۱/۰۱±۰/۵۰ ^m	PS-5% MMT- 0.1% AgNP
۵۸/۲۰±۰/۱۲ ^{kl}	۱۰/۳۳±۰/۴۷ ^{mn}	PS-5% MMT- 0.2% AgNP
۵۸/۰۵±۰/۱۰ ^l	۹/۶۵±۰/۳۳ ⁿ	PS-5% MMT- 0.3% AgNP

*حروف مختلف روی اعداد، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین نمونه‌ها در آزمون دانکن است ($\alpha = 0.05$). عدد اول مربوط به میانگین داده‌ها و عدد دوم انحراف از معیار است.

آلومینیوم و اکسید آهن در ساختار MMT و توزیع کاملاً یکنواخت نانوذرات MMT در بستر پلیمر زیستی نشاسته و ایجاد اتصالات عرضی با زنجیرهای نشاسته باعث کاهش میزان عبور نور به طور کارآمدی می‌شود. نتایج این پژوهش با نتایجی که توسط اولیایی و همکاران (۲۰۱۲) به دست آمده بود، کاملاً مطابقت داشت. این محققین نشان دادند که با افزودن ۱ و ۳ درصد MMT، درصد نور تابشی عبور یافته (با طول موج ۲۴۰ nm) به ترتیب به ۲۶/۴۶ و ۱۲/۴۹ درصد کاهش یافت.

با افزودن ۰/۱ درصد AgNP، درصد عبور نور UV، به ترتیب در طول موج‌های ۲۴۰ و ۳۶۰ نانومتر به مقادیر ۴۶/۶۴ و ۷۶/۷۴ درصد کاهش پیدا کرد و با افزایش غلظت نانوذرات AgNP تا سطح ۰/۳ درصد، مشاهده شد که میزان عبور امواج نور UV، برابر با ۴۳/۷۷ درصد در طول موج ۲۴۰ و ۷۵/۹۸ درصد در طول موج ۳۶۰ نانومتر بود. احتمالاً نانوذرات AgNP از طریق گروه‌های باردار مثبت خود با گروه‌های هیدروکسیل نشاسته برهمکنش‌های الکترواستاتیک ایجاد کرده و در نتیجه اتصالات عرضی بین نانوذرات و زنجیرهای نشاسته افزایش یافته و در نتیجه، میزان بازداری در برابر اشعه UV، افزایش یافته است. شاید بتوان دلیل قابلیت بازداری بیشتر در فیلم‌های

سه تایی را وجود برهمکنش‌های بیشتر بین سه جزء بیان نمود.

نتیجه‌گیری

برای تولید و بهبود ویژگی‌های فیلم‌های زیست تخریب پذیر و ضد میکروبی بر پایه نشاسته، از نانولایه MMT و نانوذره AgNP و مخلوط آنها در سطوح مختلف استفاده شد. نتایج نشان داد که نانوذرات MMT هیچ گونه اثر ضد میکروبی روی باکتری *اشرشیاکلی* ندارند ولی با افزایش میزان نانوذرات AgNP، محدوده بازداری در مقابل رشد این باکتری افزایش یافت. مطابق نتایج حلالیت و نفوذپذیری، افزودن نانوذرات MMT و AgNP و

بیشترین میزان کاهش در مقدار درصد عبور نور در میان فیلم‌های PS-MMT، در فیلم‌های نشاسته حاوی ۵ درصد MMT مشاهده شد که برابر با ۱۲/۴ درصد در طول موج ۲۴۰ و ۵۸/۸ درصد در طول موج ۳۶۰ نانومتر بود.

کاهش درصد عبور نور در کامپوزیت‌های حاوی نانوذرات MMT تحت تاثیر دو پارامتر ساختار و توزیع یکنواخت نانولایه‌ها در شبکه پلیمر می‌باشد. وجود اکسید

مخلوط آنها حساسیت به آب فیلم‌های نشاسته‌ای را بهبود داد. از طرفی افزودن همزمان نانولایه و نانوذره، استحکام کشش نهایی را افزایش و کرنش تا نقطه شکست را کاهش داد. همچنین افزودن نانوذرات، درصد عبور UV را کاهش ولی AgNP برخلاف MMT شفافیت را کاهش و زردی را افزایش داد.

منابع مورد استفاده

- ابوالقاسمی فخری ل، قنبرزاده ب، دهقان‌نیا ج، انتظامی ع الف، ۱۳۹۱، بررسی تاثیر نانورس (نانورس) بر ویژگی‌های نفوذپذیری به بخار آب، زاویه تماس و خواص حرارتی فیلم نانوکامپوزیتی بر پایه کربوکسی متیل سلولز- پلی وینیل الکل، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۸، ۴، ۳۹۹-۴۰۹.
- قنبرزاده ب، الماسی ه، زاهدی ی، ۱۳۸۸، بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته‌بندی مواد غذایی و دارویی، انتشارات دانشگاه صنعتی امیر کبیر.
- نوشیروانی ن، قنبرزاده ب، انتظامی ع الف، ۱۳۹۰، مقایسه خواص کششی، نفوذپذیری و رنگی زیست نانوکامپوزیت‌های بر پایه نشاسته حاوی دو نوع پرکننده: سدیم نانورس و نانوبلور سلولز، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، ۵، ۳۹۱-۴۰۲.
- Almasi H, Ghanbarzadeh B and Entezami AA, 2010. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules* 46: 1-5.
- Abdollahi M, Rezaei M and Farzi G, 2012. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering* 12: 1-26.
- ASTM E96-95, 1995. Standard test methods for water vapor transmission of material. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM D882-91, 1996. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Fortunati E, Armentano I and Kenny JM, 2012. Multifunctional bionanocomposite films of poly (lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 87: 1596-1605.
- Gontard N and Guilbert S, 1994. Biopackaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: Mathlouthi M, Food packaging and preservation. Blackie Academic and Professional, London.
- Ghosh S, Kaushik R, Nagalakshmi K and Vasan HN, 2010. Antimicrobial activity of highly stable silver nanoparticles embedded in agar-agar matrix as a thin film. *Carbohydrate Research* 345: 2220-2227.
- Guilbert S, 1986. Technology and application of edible protective films. Pp. 371-394. In: Mathlouthi M (eds). *Food Packaging and Preservation*. Elsevier Applied Science, London, UK.
- Huang M and Yu J, 2006. Structure and properties of thermoplastic corn starch/clay nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* 99: 170.
- Kang S, Mauter M and Elimelech M, 2009. Microbial cytotoxicity of carbon-based nanomaterials. *Journal of Environmental Science and Technology* 43: 2648-2653.
- Kester JJ and Fennema O, 1986. Edible films and coatings: A review. *Food Technology* 40: 47-59.
- Konwar U, Karaka N and Mandal M, 2010. Vegetable oil based highly branched polyester/clay silver nanocomposites as antimicrobial surface coating materials. *Progress in Organic Coatings* 68: 265-273.
- Li SH, Jia N, Ma M and Sun R, 2011. Cellulose-silver nanocomposites: microwave-assisted synthesis, characterization, their thermal stability, and antimicrobial property. *Carbohydrate Polymers* 86: 441-447.
- Mc Hugh TH and Krochta JM, 1994. Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. *Journal of food science* 52: 416-419.
- Okamoto M, 2005. Biodegradable polymer/layered silicate nanocomposites: A review. Pp. 1-45. In: Mallapragada S and Narasimhan B (eds). *Handbook of biodegradable polymeric materials and their applications*. American Science Publishers.

- Oleyaei SA, Ghanbarzadeh B and Abbasi F, 2012. Preparation and comparison of physical properties of starch nanobiocomposites contain nanoclay and titanium dioxide nanoparticles. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz.
- Olivato JB, Grossmann MVE, Bilck AP, Yamashita F and Oliveira LM, 2013. Starch/polyester films: simultaneous optimisation of the properties for the production of biodegradable plastic bags. *Polímeros* 23(1): 32-36.
- Panacek A, Kvitek L, Pucek R, Kolar M, Vecerova R, Pizurova N, Sharma VK, Nevecna T and Zboril R, 2006. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *Journal of Physical Chemistry B* 110: 16248-16253.
- Park HM, Li X, Un CZ, Park CY, Cho WJ and Ha CS, 2002. Preparation and properties of biodegradable thermoplastic starch/clay hybrids. *Macromolecule Material Engineerig* 287: 553.
- Park HM, Lee WK, Park CY, Cho WJ and Ha CS, 2003. Environmentally friendly polymer hybrids. 1. mechanical, thermal, and barrier Properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. *Journal of Material Science* 38: 909.
- Sothornvit R, Rhim JW and Hong SI, 2009. Effect of nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films. *Journal of Food Engineering* 91: 468-473.
- Shu-Ming L, Ning J, Ming-Guo M, Zhe Z, Qing-Hong L and Run-Cang S, 2011. Cellulose-silver nanocomposites: Microwave-assisted synthesis, characterization, their thermal stability, and antimicrobial property. *Carbohydrate Polymers* 86: 441- 447.
- Wang B, Liu X, Ji Y and Ji J, 2012. Fast and long-acting antibacterial properties of chitosan-Ag/polyvinylpyrrolidone nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers* 12: 1-29.
- Wilhelm HM, Sierakowski MR, Souza GP and Wypych F, 2003. Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers* 52: 101.
- Yu JG, Wang N and Ma XF, 2005. The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. *Starch/Starke* 57: 494-504.

Thermoplastic starch-nanosilver-nanoclay nanocomposites: investigation of anti-bacterial effect against *Escherichia coli*, mechanical and permeability properties

T Ostadali¹, B Ghanbarzadeh^{2*}, F Darikvand³, S A Mortazavi⁴ and L Abolghasemi Fakhri⁵

Received: April 24, 2015 Accepted: November 16, 2015

¹MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³PhD Student, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Azad University, Sabzevar, Iran

⁴Professor, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Azad University, Sabzevar, Iran.

⁵PhD Student Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

* Corresponding author: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir

Abstract

The biopolymers based packaging materials containing nano-silver are new types of active packaging that are biodegradable and in addition, they can reduce the risk of microbial contamination in fresh and processed foods. In this research, clay (MMT) nanofillers were used for improving the mechanical properties and water vapor permeability (WVP) of the thermoplastic starch (PS) films and producing nanobiocomposites. In addition, nanosilver (AgNP) was applied for producing active antimicrobial film against *Escherichia coli*. According to the results of the antimicrobial test, the MMT not only did not show any antimicrobial activity but also reduced it in the films containing nano-silver. AgNP and MMT and their mixture improved barrier properties of the PS based films; In comparison to the control film, the water solubility and permeability of the PS-AgNP-MMT films were reduced about 30.93 and 75.43 percent, respectively. The results of mechanical tests showed that in the films containing MMT, increasing concentration of AgNP, increased ultimate tensile strength to 5.38 MPa and reduced strain to break to 41.23 percent. Furthermore, increasing concentration of AgNP in the films containing MMT reduced UV light transmittance significantly however, increased yellowness and turbidity.

Keywords: Antimicrobial properties, Mechanical properties, Thermoplastic starch film, Nanoclay, Nanosilver