

بررسی ویژگی‌های فیزیکی و ضد میکروبی فیلم بیونانوکامپوزیت آلژینات سدیم-آگار حاوی نانو نقره و نانو فیبر سلولز

محمد رضا برادران صفا^۱ و هادی الماسی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۲۵

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز

^۲ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

* مسئول مکاتبه: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

چکیده

در این پژوهش، فیلم ضد میکروبی بیونانوکامپوزیت چهارگانه متشکل از آلژینات سدیم-آگار-نانوفیبر سلولز (CNF)-نانوذرات نقره (Ag) با روش قالب گیری تولید شد و تأثیر غلظت CNF (۱، ۵ و ۱۰٪ وزنی) و Ag (۱/۰ و ۰/۵٪ وزنی) بر روی خواص فیزیکی (مکانیکی، حرارتی، بازدارندگی و ویژگی‌های ساختاری) و خاصیت ضد میکروبی فیلم مورد ارزیابی قرار گرفت. نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) با افزایش میزان CNF و Ag کاهش یافته و استحکام کششی بیشتر شد. با این وجود، در غلظت ۱۰٪ CNF، به دلیل توده شدن نانوذرات، خواص بازدارندگی و مکانیکی فیلم اندکی تضعیف شد. فیلم حاوی ۵٪ CNF و ۰/۵٪ Ag بیشترین استحکام کششی (۲۳/۰۷ MPa) و کمترین WVP (۱۰^{-۳} g/m.s.Pa) را نشان داد. دمای ذوب بیوپلیمر با افزودن نانوتقویت کننده‌ها افزایش یافت اما تأثیر CNF در این افزایش، بیشتر از Ag بود. همچنین فیلم‌های حاوی Ag اثر کشندگی در برابر باکتری *E. Coli* از خود نشان دادند. CNF این فعالیت ضد میکروبی Ag را کاهش داد که دلیل آن کنترل رهائش نانوذرات Ag بود. بطور کلی، فیلم‌های بیونانوکامپوزیت بدست آمده، بهبود قابل توجهی در خواص مکانیکی، حرارتی و بازدارندگی و ویژگی‌های ضد میکروبی نشان دادند که مشخص می‌کند که این نوع فیلم می‌تواند گزینه مناسبی برای استفاده بعنوان بسته بندی فعال مواد غذایی باشد.

واژگان کلیدی: آلژینات، نانوفیبر سلولز، نانو نقره، بیونانوکامپوزیت، خواص فیزیکی، فعالیت ضد میکروبی

مقدمه

سوزاندن و بازیافت آنها) توجه پژوهشگران را در طی سال‌های اخیر به یافتن جایگزین‌های مناسب برای این نوع مواد بسته بندی معطوف کرده است (مارینیلو و همکاران، ۲۰۰۷). بیوپلیمرهای خوراکی با زیست تخریب پذیری بالا که از منابع تجدید پذیر کشاورزی حاصل

سالانه در جهان حدود ۱۲۵ میلیون تن پلاستیک تولید می‌شود که حدود ۳۰ میلیون تن آن در بخش بسته بندی مصرف می‌شود. آلودگی ناشی از مواد بسته بندی تولید شده از مشتقات نفتی و مشکلات ناشی از روش‌های مختلف آلودگی زدایی (مانند دفن کردن،

همکاران، ۲۰۱۰؛ ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰، چریان و همکاران، ۲۰۱۱؛ الماسی و همکاران، ۲۰۱۵)

یکی دیگر از مزایای بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر، قابلیت استفاده از آنها در تولید بسته بندی‌های فعال می‌باشد. بسته بندی‌های فعال بسته بندی‌هایی هستند که در طول زمان نگهداری محصول فعال بوده و با توجه به وضعیت محصول موجود در بسته، با ایجاد تغییرات و با وارد کردن یا حذف موادی از فضای بسته، موجب حفظ یا بهبود کیفیت و افزایش عمر ماندگاری محصول می‌شوند (اهونیان، ۲۰۰۳). فیلم‌های ضد میکروبی، جاذب‌های اکسیژن و اتانول و سیستم‌های رهایش ترکیبات زیست فعال از جمله مهمترین انواع بسته بندی‌های فعال مورد استفاده در صنایع غذایی محسوب می‌شوند. در تولید بسته بندی‌های فعال ضد میکروبی از انواع مختلف ترکیبات دارای خاصیت ضد میکروبی نظیر اسانس‌ها و روغن‌های گیاهی، اسیدهای آلی، آنتی بیوتیک‌ها و نانوذرات اکسید فلزی می‌توان استفاده نمود. در میان این، نانوذرات نقره^۴ (SNP) به دلیل اینکه تاثیر سمی روی سلول‌های انسانی ندارد و یک ماده ضد باکتری بادوام در برابر حرارت بالا محسوب می‌شود و همچنین فراریت آن پایین می‌باشد، توجه زیادی را به خود معطوف کرده است (فورتوناتی و همکاران، ۲۰۱۲). فلز نقره و یون‌های آن به دلیل خاصیت ضد میکروبی در گذشته کاربردهایی فراوان داشته‌اند و برای نگهداری از آب آشامیدنی، ترمیم زخم‌های سوختگی، جلوگیری از عفونت‌های مختلف در نوزادان به کار می‌رفته است اما به تازگی به دلیل قابلیت سنتز آن به صورت نانوذرات با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر، سطح تماس آن افزایش یافته است و خاصیت ضد میکروبی آن نیز تا چند برابر افزایش یافته است (سارسار و همکاران، ۲۰۱۴). نانوذرات نقره علاوه بر برخورداری از اثرات ضد میکروبی، دارای اثر تقویت کنندگی بر روی خواص پلیمرها نیز می‌باشند. در طی

می‌شوند، گزینه‌ای مناسب در این زمینه به شمار می‌روند.

برای تولید فیلم‌های زیست تخریب پذیر، از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و یا مخلوطی از آنها استفاده می‌شود (قنبرزاده و الماسی، ۲۰۱۳). آلژینات، یک پلی ساکارید خطی استخراج شده از جلبک قهوه‌ای است که از واحدهای α -L (۱-۳) گلوکونیک اسید و β -D (۱-۴) مانورونیک اسید تشکیل شده است. آگار پلی ساکارید دیگری است که از جلبک‌های دریایی قرمز، مانند گونه *Gelidium* و *Gracilaria* استخراج می‌شود. این دو بیوپلیمر، به علت داشتن ماهیت پلیمری، قابلیت فیلم سازی خوبی دارند و مطالعات متعددی بر روی آنها صورت گرفته است (گالوس و لنارت، ۲۰۱۳؛ کراسینگام و همکاران، ۲۰۱۴؛ جاست و همکاران، ۲۰۱۴) ولی به دلیل دارا بودن برخی معایب نمی‌توانند به تنهایی فیلم مطلوبی تولید کنند. فیلم تهیه شده از این دو بیوپلیمر، استحکام مکانیکی متوسط و مقاومت نسبی در برابر عبور رطوبت دارد (گیمیز و همکاران، ۲۰۱۳).

برای رفع این معایب، راه‌های گوناگونی پیشنهاد شده است که یکی از آنها استفاده از نانوتقویت کننده‌ها^۱ و تولید پلیمرهای نانوکامپوزیت^۲ می‌باشد. نانوفیبر سلولز^۳ (CNF) از جمله نانوذراتی است که در طی سالهای اخیر، تأثیر آن بعنوان نانوتقویت کننده، در پلیمرهای مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (عبدالخلیل و همکاران، ۲۰۱۲). مقاومت مکانیکی بالا، نسبت سطح به حجم زیاد، چگالی پایین، سهولت دسترسی، قیمت مناسب و زیست تخریب پذیری از جمله مهمترین ویژگی‌هایی است که CNF را از سایر نانوتقویت کننده‌ها متمایز می‌سازد. از این رو، تأثیر تقویت کنندگی این نانوذره، در پلیمرها و بیوپلیمرهای مختلفی مورد مطالعه قرار گرفته است (کائوشیک و

^۱ Nanoreinforcements

^۲ Nanocomposite polymers

^۳ Cellulose Nanofiber

^۴ Silver nanoparticles

مواد و روش‌ها

پودر آلژینات سدیم و آگار با گرید خوراکی از نمایندگی شرکت Sigma (آلمان) خریداری شد. نانوفیبر سلولز (CNF) حاصل از درخت سوزنی برگ از شرکت تعاونی دانش بنیان نانونوین پلیمر (ایران) بصورت یک ژل سفید رنگ (۷٪ ماده خشک) خریداری شد. مهمترین ویژگی‌های CNF تهیه شده عبارتند از: میانگین قطر ~ ۲۸ nm، درجه بلورینگی ~ ۷۲٪ و اندازه کریستال nm ۴/۶. نانوذرات نقره (AgNP) به شکل محلول آبی کلوئیدی تیره رنگ با غلظت (ppm) ۴۰۰۰ و pH برابر ۷ از شرکت نانواویژه (نانوساختار) تهران خریداری شد. ویسکوزیته این محلول ۰/۸۸۷۲ سانتی پواز و میانگین قطر نانوذرات nm ۸/۳۷ بود. سویه باکتری اشرشیاکلی E157:H7 (*E. Coli*) بصورت کشت فعال از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. گلیسرول، نیتريت کلسیم، سولفات کلسیم و سولفات پتاسیم نیز از شرکت Sigma (آلمان) خریداری شد. محیط کشت نوترینت آگار و Tryptic soy broth (TSB) نیز از همین شرکت خریداری شد.

تهیه فیلم بیونانوکامپوزیت آلژینات - آگار حاوی

CNF و نانوقره

برای تهیه فیلم بیوکامپوزیت شاهد، ۲ گرم آلژینات و ۲ گرم آگار در ۸۰ ml آب مقطر حل گردید و این محلول در دمای °C ۷۵ به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی همراه با همزدن حرارت داده شد و در ادامه ۲۰ ml آب مقطر به آن اضافه شد. جهت خروج حباب‌های هوا و تولید فیلم یکنواخت، ژل آلژینات و آگار تا دمای اتاق خنک گردید. در ادامه، ۱/۶ ml گلیسرول (۵۰٪ وزن آلژینات و آگار) به عنوان نرم کننده به آن اضافه و به مدت ۶۰ ثانیه همزده شد. به منظور خروج کامل حباب‌های هوا از محلول، آن را تا °C ۴۵ خنک کرده و همزمان به مدت ۶۰ دقیقه به آرامی همزده شد. در ادامه، ۲۰ گرم از این محلول، داخل پتری دیش پلی استایرنی ریخته شد تا پس از خشک شدن فیلمی با ضخامت ۰/۱ mm تولید

سال‌های اخیر فیلم‌های نانوکامپوزیت و بیونانوکامپوزیت مختلف حاوی نانوذرات نقره تولید شده و اثر تقویت کنندگی آن بر روی خواص فیلم (لوپز کاربالو و همکاران، ۲۰۱۳؛ کانمانی و ریم، ۲۰۱۴) و همچنین خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های تولید شده (دمورا و همکاران، ۲۰۱۲؛ کوشن و همکاران، ۲۰۱۴) به اثبات رسیده است. چائوراسیا و باچپایی (۲۰۱۳) فیلم آلژینات کلسیم حاوی نانوذرات نقره تولید کردند و افزایش دمای ذوب، افزایش استحکام کششی، کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب و کاهش میزان جذب رطوبت از جمله نتایج افزودن نانوقره به ترکیب فیلم آلژینات بود. همچنین مشخص گردید که خاصیت ضدباکتریایی فیلم آلژینات کلسیم در حضور نانوذرات نقره بطور قابل توجهی افزایش می‌یابد. آروکیاناتان و همکاران (۲۰۱۲) فیلم مرکب آلژینات - نشاسته حاوی نانوذرات نقره تهیه نموده و تأثیر آن در بهبود زخم‌های عفونی در بیماران مختلف مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش نمودند که استفاده از فیلم حاوی نانوذرات نقره در محل زخم، قادر است بسیار بهتر و سریعتر از برخی از آنتی بیوتیک‌ها در التیام زخم موثر باشد.

تاکنون هیچ مطالعه مشخص و معتبری در مورد فیلم بیوکامپوزیت حاصل از ترکیب آلژینات سدیم و آگار گزارش نشده است. همچنین تأثیر ترکیبی استفاده از دو نانوذره مختلف در بستر این دو بیوپلیمر مورد مطالعه قرار نگرفته است. در این تحقیق، برای اولین بار، فیلم بیونانوکامپوزیت فعال آلژینات - آگار - نانوفیبر سلولز - نانوقره تولید شده و تأثیر حضور نانوذرات بر روی ویژگی‌های بازدارندگی، خواص مکانیکی و حرارتی، ویژگی‌های مورفولوژیکی و همچنین خواص ضد میکروبی این نوع فیلم‌ها، مورد بررسی قرار گرفته است.

گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر ظرف، به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب^۵ (WVTR) به دست آمد. سپس با استفاده از رابطه زیر، نفوذپذیری نسبت به بخار آب^۶ (WVP) محاسبه شد:

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} \cdot X \quad [1]$$

X: ضخامت فیلم (m)

P: فشار بخار آب خالص در ۲۵°C (Pa)

R₁: رطوبت نسبی در دسیکاتور (۹۷٪)

R₂: رطوبت نسبی در داخل ظرف شیشه‌ای (۰٪)

این آزمون در مورد هر کدام از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

اندازه گیری خواص مکانیکی

استحکام کششی نهایی^۷ (UTS) و کرنش تا نقطه شکست^۸ (STB) فیلم‌ها با استفاده از دستگاه آزمون مکانیکی مدل Zwick/Roell FR010 (ساخت کشور آلمان) و طبق استاندارد ASTM D882-10 (۲۰۱۰) اندازه گیری شد. ابتدا نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵٪ واجد شرایط شدند و سپس سه نمونه از هر کدام از فیلم‌ها به شکل دمبلی با ابعاد cm ۸×۰/۵ بریده شد و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب ۵۰ mm/min و ۵ mm/min تعیین و داده‌ها توسط یک رایانه ثبت گردید.

اندازه گیری خواص حرارتی

برای اندازه گیری خواص حرارتی از دستگاه گرماسنج روبشی افتراقی^۹ (DSC) (مدل Netzsch DSC 200 F3، ساخت آلمان) استفاده شد. کالیبراسیون دستگاه توسط

شود. این پتری‌دیش‌ها به مدت ۱۸ ساعت در ۵۰°C قرار گرفتند و سپس فیلم خشک شده به آرامی از سطح پتری دیش جدا گردید. به منظور تهیه فیلم‌های بیونانوکامپوزیت، سوسپانسیون CNF (در سه غلظت ۱، ۵ و ۱۰٪ وزن مجموع بیوپلیمرها) و نانونقره (در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۵٪ وزن مجموع بیوپلیمرها) در ۵۰ میلی لیتر آب جداگانه تهیه شده و به منظور پخش بهتر نانوذرات، به مدت ۳۰ دقیقه در داخل حمام آبی دستگاه اولتراسوند AS ONE مدل USD 4R (ساخت کشور ژاپن) با فرکانس ۴۰ KHz، تحت تیمار فراصوت قرار گرفتند. سپس سوسپانسیون نانوذرات به محلول تشکیل دهنده فیلم اضافه شده و پس از افزودن گلیسرول، مطابق روش فوق، فیلم‌های بیونانوکامپوزیت تهیه گردید.

اندازه گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب

برای اندازه گیری آهنگ انتقال بخار آب، از روش E96-ASTM 05 (۲۰۰۵) استفاده شد. برای این کار، ظروف شیشه‌ای مخصوصی با قطر ۲ cm و ارتفاع ۴/۵ cm به کار رفتند. در درپوش این ظرف‌ها منفذی به قطر ۸mm قرار دارد که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار می‌گیرد. ۳ گرم سولفات کلسیم که RH=۰٪ ایجاد می‌نماید در داخل ظرف‌ها قرار داده شد. ابتدا فیلم‌ها در رطوبت نسبی ۵۵٪ که توسط نیتريت کلسیم ایجاد شده بود، به مدت ۲۴ ساعت واجد شرایط شدند و سپس قطعه‌ای از فیلم بریده شده و در درپوش ظرف شیشه‌ای قرار گرفته و بر روی آن بسته شد. ظروف شیشه‌ای همراه با محتویاتشان توزین شده و درون دسیکاتوری حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار گرفتند. سولفات پتاسیم اشباع در دمای ۲۵°C، رطوبت نسبی ۹۷٪ ایجاد می‌کند. دسیکاتور در درون انکوباتور ۱±۲۵°C قرار گرفت و به مدت چهار روز هر چند ساعت یکبار وزن ظروف اندازه گیری شد.

مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ظرف‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ظرف‌ها با

5. Water vapor transmission rate

6. Water vapor permeability

7. Ultimate tensile strength

8. Strain to break

9. Differential Scanning Calorimetry

زنده مانی باکتری *E. Coli* با استفاده از روش شمارش کلونی بر روی محیط کشت نوترینت آگار انجام گرفت (شانکار و همکاران، ۲۰۱۵). این آزمون در مورد هرکدام از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

تحلیل آماری

آزمون‌های نفوذپذیری، خواص مکانیکی و خاصیت ضد میکروبی در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری SPSS 21 در سطح احتمال ۵٪ ($p < 0.05$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

نتایج و بحث

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

شکل ۱ نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های آلژینات - آگار حاوی نانوذرات را نشان می‌دهد. با افزودن نانوقره و همچنین با افزودن CNF، میزان WVP در تمامی تیمارها بجز غلظت ۱۰٪ CNF بطور معناداری کاهش نشان داد. همان‌طور که در شکل مشخص است، تأثیر CNF در کاهش WVP بیشتر از نانوذرات نقره می‌باشد و با افزایش غلظت CNF، تغییر در میزان WVP بیشتر از تأثیر غلظت نانوقره می‌باشد. این امر را می‌توان به ماهیت ساختاری این دو نانوذره نسبت داد. CNF بدلیل دارا بودن ساختار رشته‌ای، نسبت طول به ضخامت (نسبت بُعد) بالاتری داشته و بنابراین در حالت اختلاط با بیوپلیمرها، از امکان تشکیل پیوندهای بین رشته‌ای بیشتری برخوردار خواهد بود. همچنین بدلیل دارا بودن ماهیت پلی ساکاریدی، CNF سازگاری بیشتری با بیوپلیمرهای آلژینات و آگار داشته و در نتیجه تمایل آن برای تشکیل پیوند و ایجاد شبکه سه بعدی در داخل ماتریکس بیوپلیمرها بیشتر خواهد بود. رشته‌های نانوفیبر سلولز، بدلیل سازگاری بالا قادرند با رشته‌های بیوپلیمرها تشکیل پیوند دهند و بدین ترتیب، میزان گروه‌های هیدروکسیل آنها برای جذب

ایندیوم و نقره صورت گرفت. ظرف آلومینیومی خالی به عنوان مرجع و اتمسفر ازت مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌هایی با وزن تقریبی ۰/۳ گرم با سرعت $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ در گستره دمایی ۲۰ تا 125°C اسکن شدند. از روی الگوی گرمایی بدست آمده، دمای ذوب و دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) تعیین شد. T_g به عنوان نقطه میانه بین شروع و پایان تغییرات منحنی در جریان گرمایی در نظر گرفته شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۱

شکل شناسی^۱ سطح فیلم‌ها توسط میکروسکوپ SEM مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها قبل از بررسی، به مدت ۳۰ ثانیه توسط پوشش دهنده‌ی پاششی Cresingtor با طلا پوشش داده شدند. سپس ریزنگاره‌های روبش الکترونی از نمونه‌ها، در ولتاژ ۱۵kV تهیه گردید.

تعیین خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها

فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های بیونانو کامپوزیت حاوی نانوذرات Ag با تعیین تأثیر گذاری آنها در ممانعت از رشد باکتری *E. Coli* انجام پذیرفت. این باکتری در ۲۰ میلی لیتر از TSB براث تلقیح شد و 37°C به مدت ۱۶ ساعت انکوبه شد. سپس میکروارگانیزم کشت داده شده، در 5000rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و به ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت TSB براث استریل جدید اضافه گردید و در ادامه با استفاده از آب مقطر استریل، ۱۰ برابر رقیق شد. در ادامه، قطعاتی به ابعاد $5 \times 5\text{cm}$ از فیلم‌ها بریده شده و در فلاسک مخروطی قرار داده شد. ۵۰ میلی لیتر از محیط کشت رقیق شده حاوی باکتری *E. Coli* (به میزان $10^6 - 10^7\text{CFU/ml}$) به روی قطعات فیلم افزوده شد و 37°C به مدت ۱۲ ساعت انکوبه شد. میزان مشابه محیط کشت رقیق شده که فاقد نمونه فیلم بود بعنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت. در فواصل زمانی ۳ ساعته، میزان

^۱ Scanning electron microscopy

^۱ Morphology

خواص مکانیکی

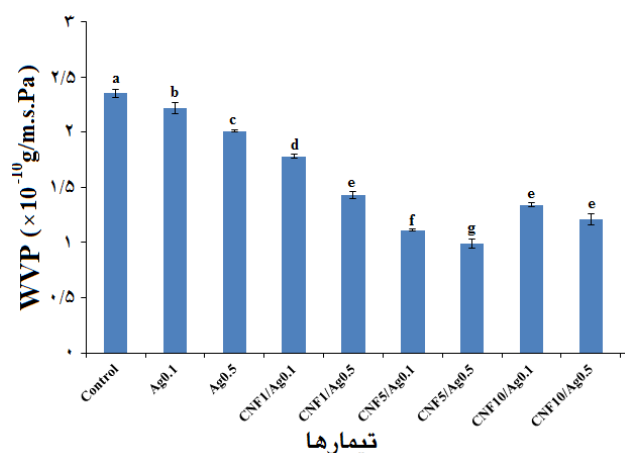
جدول ۱ ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های بیونانوکامپوزیت شامل استحکام کششی نهایی (UTS) و کرنش در نقطه شکست (STB) را نشان می‌دهد. با افزایش غلظت نانوقره از صفر به ۰/۵٪، UTS به‌طور معنی‌داری از ۱۰/۰۰ به ۱۴/۷۱ MPa افزایش یافت و STB از ۱۰۶/۵۰٪ به ۹۸/۱۱٪ رسید.

این امر نشان می‌دهد که نانوقره قادر است با ایجاد اتصالات در بین رشته‌های بیوپلیمرها، مقاومت مکانیکی را افزایش داده و انعطاف پذیری را کم کند (ماری و همکاران، ۲۰۱۲). نانوذرات یا یون‌های نقره بعنوان هسته‌های اولیه برای تشکیل مناطق بلورین عمل نموده و باعث افزایش تراکم رشته‌های بیوپلیمر می‌شوند و بدین ترتیب با نزدیک شدن زنجیرها، به افزایش اتصالات بین رشته ای کمک می‌کنند.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش میزان CNF نیز، UTS فیلم افزایش و STB آن کاهش می‌یابد. نتایج نشان می‌دهد که تأثیر CNF در افزایش استحکام کششی و کاهش انعطاف پذیری بیشتر از نانوقره می‌باشد. این امر احتمالاً بدلیل سازگاری بالاتر CNF با بیوپلیمرهای پلی ساکاریدی و در نتیجه امکان برقراری پیوندهای بین رشته‌ای بیشتر می‌باشد. فیلم حاوی ۵٪ CNF و ۰/۵٪ نانوقره، بالاترین UTS و پایین‌ترین STB را نشان داد. با وجود سازگاری بین CNF و بیوپلیمرها، غلظت بالاتر این نانوذره باعث توده شدن آن در فیلم حاوی ۱۰٪ CNF می‌شود که همانند WVP، تأثیر خود را بر روی خواص مکانیکی نیز نشان داد. بطوریکه با افزایش میزان CNF به ۱۰٪، UTS کاهش و STB افزایش یافت (سوریانگارا و همکاران، ۲۰۰۹).

مولکول‌های آب را کاهش دهند. همچنین تشکیل پیوندهای هیدروژنی زیاد و ایجاد شبکه سه بعدی در هم تنیده از CNF در داخل ماتریکس بیوپلیمرها و ایجاد مسیرهای پرپیچ و خم، مسیرهای نفوذ مولکول‌های آب را کاهش داده و بدین ترتیب میزان انتشار مولکول‌های بخار آب کمتر می‌شود (سوریانگارا و همکاران، ۲۰۰۹). با این وجود، نانوذرات نقره نیز بدلیل افزایش اتصالات بین رشته‌ای و پرکردن فضاهای خالی ماتریکس بیوپلیمرها، قادر به کاهش قابل توجه WVP فیلم می‌باشند. بطور کلی، فیلم حاوی ۵٪ CNF و ۰/۵٪ نانوقره کمترین WVP را نشان داد (10^{-10} g/m.s.Pa).

با افزایش غلظت CNF به ۱۰٪، WVP بطور معناداری افزایش می‌یابد. دلیل این امر احتمالاً توده شدن نانوذرات و عدم پخش یکنواخت آنها در بستر بیوپلیمر در غلظت‌های بالا می‌باشد. ایجاد پیوندهای داخل مولکولی بین رشته‌های CNF بجای تشکیل پیوند با بیوپلیمرها باعث توده شدن نانوذرات شده و همین امر باعث کاهش یکپارچگی شبکه بیوپلیمر، افزایش فضاهای آزاد بین رشته‌ای و در نتیجه افزایش نفوذپذیری نسبت به بخار آب می‌شود (سوریانگارا و همکاران، ۲۰۰۹).



شکل ۱- نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های بیونانوکامپوزیت آلژینات-آگار حاوی نانوقره و نانوفیبر سلولز

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.

جدول ۱- استحکام کششی نهایی (UTS) و کرنش در نقطه شکست (STB) فیلم‌های بیونانوکامپوزیت آلزینات - آگار

تیمار	UTS (MPa)	STB (%)
Control	10.0 ± 0.21 ^g	10.6 ± 0.113 ^a
Ag0.1	12.0 ± 0.98/43 ^f	10.0 ± 0.44/11 ^b
Ag0.5	14.0 ± 0.71/0.0 ^e	9.8 ± 0.11/47 ^c
CNF1/Ag0.1	18.0 ± 0.55/98 ^d	8.5 ± 0.0/0.1 ^d
CNF1/Ag0.5	19.0 ± 0.17/76 ^c	8.2 ± 0.87/78 ^e
CNF5/Ag0.1	21.0 ± 0.49/76 ^b	7.6 ± 0.0/0.2 ^f
CNF5/Ag0.5	23.0 ± 0.19/47 ^a	7.5 ± 0.37/0.0 ^g
CNF10/Ag0.1	20.0 ± 0.89/27 ^b	7.9 ± 0.35/0.6 ^h
CNF10/Ag0.5	21.0 ± 0.51/40.0 ^b	7.6 ± 0.17/0.8 ^f

* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.

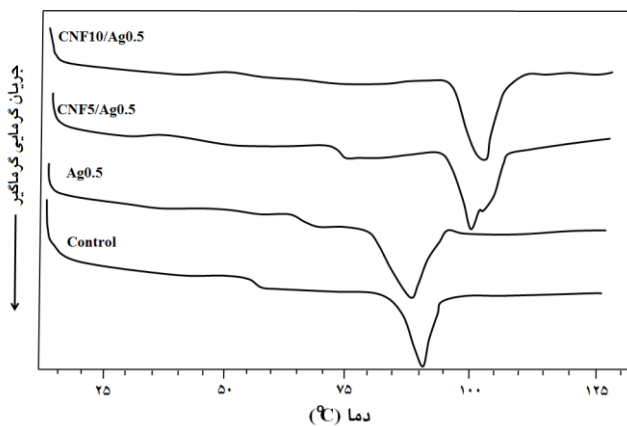
جدول ۱- استحکام کششی نهایی (UTS) و کرنش در نقطه شکست (STB) فیلم‌های بیونانوکامپوزیت آلزینات - آگار

تیمار	UTS (MPa)	STB (%)
Control	10.0 ± 0.21 ^g	10.6 ± 0.113 ^a
Ag0.1	12.0 ± 0.98/43 ^f	10.0 ± 0.44/11 ^b
Ag0.5	14.0 ± 0.71/0.0 ^e	9.8 ± 0.11/47 ^c
CNF1/Ag0.1	18.0 ± 0.55/98 ^d	8.5 ± 0.0/0.1 ^d
CNF1/Ag0.5	19.0 ± 0.17/76 ^c	8.2 ± 0.87/78 ^e
CNF5/Ag0.1	21.0 ± 0.49/76 ^b	7.6 ± 0.0/0.2 ^f
CNF5/Ag0.5	23.0 ± 0.19/47 ^a	7.5 ± 0.37/0.0 ^g
CNF10/Ag0.1	20.0 ± 0.89/27 ^b	7.9 ± 0.35/0.6 ^h
CNF10/Ag0.5	21.0 ± 0.51/40.0 ^b	7.6 ± 0.17/0.8 ^f

* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.

خواص حرارتی

دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) دمایی است که تحت آن دما، مواد از حالت سخت شیشه‌ای به حالت نرم و لاستیکی درمی‌آیند. در زیر T_g ، فیلم‌ها حالت سخت و شکننده دارند درحالی‌که در بالای T_g ، فیلم‌ها انعطاف پذیر شده و قابلیت خمش پیدا می‌کنند. شکل ۲ منحنی‌های DSC فیلم‌های بیونانوکامپوزیت را نشان می‌دهد. فیلم خالص آلزینات - آگار یک پیک ذوب در دمای $91/7^\circ\text{C}$ نشان می‌دهد که مربوط به ذوب نواحی کریستالی می‌باشد. همچنین فیلم شاهد، یک تغییر انتقال شیشه‌ای با دمای T_g در $55/7^\circ\text{C}$ نشان داد. این امر نشان می‌دهد که دو بیوپلیمر آلزینات و آگار بخوبی با یکدیگر امتزاج پذیر می‌باشند زیرا در غیر این صورت بایستی دو دمای انتقال شیشه‌ای یا دو دمای ذوب مربوط به هر دو بیوپلیمر مشاهده می‌شد. همچنین، مشاهده همزمان پدیده انتقال شیشه‌ای و ذوب نشان می‌دهد که بیوکامپوزیت آلزینات - آگار را می‌توان یک پلیمر نیمه بلورین بشمار آورد. همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، با افزودن Ag، دمای انتقال شیشه‌ای فیلم‌های بیونانوکامپوزیت افزایش می‌یابد و با افزودن



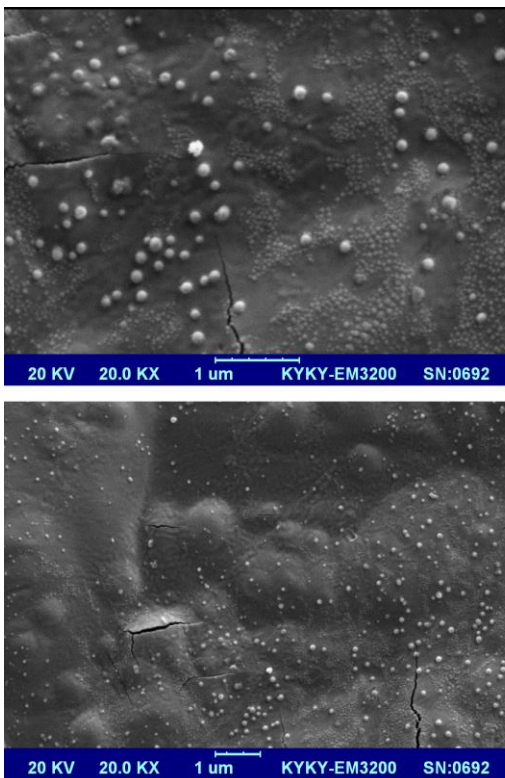
شکل ۲- منحنی‌های DSC فیلم‌های بیونانوکامپوزیت آلزینات - آگار حاوی درصد‌های مختلف CNF و Ag

در حضور ۰/۵٪ Ag، با افزودن CNF، دمای ذوب بیونانوکامپوزیت‌ها بطور چشمگیری افزایش یافت و در حضور ۵٪ CNF به $2/10.2^\circ\text{C}$ رسید اما افزایش غلظت CNF تا ۲۰٪ تأثیر قابل توجهی بر روی دمای ذوب نداشت که می‌توان آن را به تجمع CNF در غلظت‌های بالاتر نسبت داد که در قسمتهای قبل نیز به آن اشاره گردید.

با افزودن ۵٪ CNF، دمای انتقال شیشه‌ای بیشتر شد و به $73/6^\circ\text{C}$ رسید. اما در غلظت ۱۰٪، پدیده انتقال

ساختاری بسیار مطلوب و بدون تجمع نانوذرات در بستر فیلم تولید کند.

در شکل ۴ علاوه بر نانوذرات نقره، توده‌ها و نانوذرات منفرد CNF نیز مشهود می‌باشد. هرچند که برآمدگی‌های سطح فیلم در اثر خروج هوا در حین خشک کردن محلول تشکیل دهنده فیلم، مانع از وضوح کامل نانوذرات می‌شود، اما می‌توان علاوه بر نانوذرات Ag، رشته‌های کوتاه و باریک CNF را نیز در برخی از نواحی تشخیص داد. با وجود تجمع نانوذرات CNF در برخی از قسمت‌های فیلم، مشخص است که این توده‌ها نیز بطور یکنواخت در تمامی نواحی پخش شده‌اند و این امر سازگاری بین CNF و بیوپلیمرها را نشان می‌دهد.



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ SEM از سطح فیلم

آلژینات - آگار حاوی ۰/۵٪ نانونقره

شیشه‌ای ناپدید شد. هرچند که این پدیده گاهی به روش اندازه گیری انتقال شیشه‌ای نیز مربوط می‌شود اما ناپدید شدن انتقال شیشه‌ای نشان می‌دهد که نفوذ رشته‌های CNF در فضای بین زنجیرهای بیوپلیمری، در نواحی آمورف بیشتر اتفاق افتاده است. قرارگیری نانورشته‌های CNF در بین زنجیرهای آلژینات و آگار و برقراری پیوند با آنها باعث افزایش نظم و انسجام ساختاری در نواحی آمورف شده و باعث تبدیل نواحی آمورف به قسمت‌های کریستالی می‌شود و درجه کریستالی بودن و در نتیجه دمای ذوب فیلم‌ها افزایش می‌یابد. هرچه نظم یافتگی در بین زنجیرهای یک پلیمر بیشتر باشد، نواحی کریستالی وسیع‌تر شده و فشردگی زنجیرها در این نواحی بیشتر خواهد بود. CNF قادر است این نظم یافتگی را در بین زنجیرهای آلژینات - آگار افزایش دهد. بنابراین با کاهش نواحی آمورف و تشکیل نواحی کریستالی به هم فشرده در اثر حضور CNF، پدیده انتقال شیشه‌ای کاهش یافته اما دمای ذوب افزایش می‌یابد. در نتیجه CNF قادر است پیوستگی و فشردگی ساختار فیلم مخلوط بیوپلیمرها را افزایش داده و جهت‌گیری زنجیرها در ماتریکس بیوپلیمری را اصلاح نماید (فورتوناتی و همکاران، ۲۰۱۴).

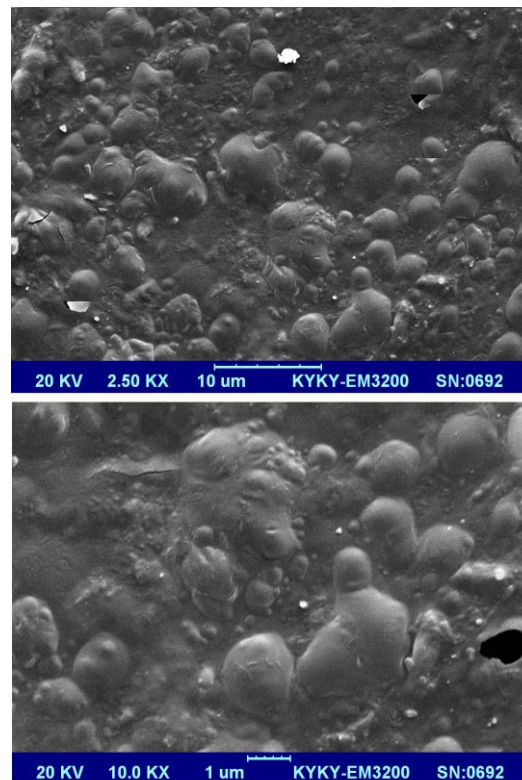
ویژگی‌های ساختاری

شکل ۳ و ۴ تصاویر میکروسکوپ SEM از سطح فیلم‌های Ag0.5 و CNF10/Ag0.5 را نشان می‌دهند. نقاط سفید رنگ موجود در تصاویر به احتمال زیاد متعلق به نانوذرات نقره می‌باشد. همان طور که در شکل ۳ بطور واضح مشخص است، نانوذرات Ag بطور کاملاً یکنواخت در بستر فیلم آلژینات - آگار پخش شده و هیچگونه تجمع و توده شدن نانوذرات مشاهده نمی‌شود. سازگاری نانوذرات نقره و بیوپلیمرها و امکان برقراری پیوندهای بین مولکولی، باعث پخش کامل آنها در بستر بیوپلیمر شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزودن Ag به ترکیب فیلم مرکب آلژینات - آگار قادر است فیلم ضد میکروبی با خواص

کامل مشخص نشده است اما تأثیر ضد میکروبی آن بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف به اثبات رسیده است (ماری و همکاران، ۲۰۱۲).

نکته قابل تأمل در شکل ۵ این است که در حضور CNF، خاصیت ضد میکروبی نانوقره در سوسپانسیون کاهش می‌یابد. همان‌طور که مشخص است با افزایش میزان CNF، در حضور غلظت ثابت نانوقره، تعداد سلول‌های زنده از باکتری *E. Coli* افزایش می‌یابد و این افزایش در زمان‌های نهایی آزمون معنادار است. واضح است که اثر ضد میکروبی فیلم‌ها در سوسپانسیون، مربوط به نانوذرات نقره آزاد شده به داخل محیط کشت می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که حضور CNF مانع رهایش سریع نانوقره از بستر فیلم شده و به همین دلیل خاصیت ضد میکروبی فیلم کاهش می‌یابد و یا به عبارت دیگر، فیلم برای مدت زمان طولانی‌تری خاصیت ضد میکروبی از خود نشان می‌دهد. با افزایش غلظت CNF تا ۱۰٪، هرچند که در آزمون‌های پیشین به توده شدن آن در بستر فیلم اشاره شد، اما در حضور همین توده‌های CNF نیز مهاجرت نانوقره کاهش یافته و اثر ضد میکروبی فیلم کمتر می‌شود. اما در حضور ۱۰٪ CNF، اختلاف معناداری بین خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های حاوی ۰/۱ و ۰/۵٪ نانوقره مشاهده نشد. احتمالاً گیر افتادن نانوذرات نقره در داخل توده‌های CNF، نرخ رهایش آن را کندتر کرده و به همین دلیل فیلم‌های حاوی ۱۰٪ CNF کمترین خاصیت ضد میکروبی را از خود نشان می‌دهند.

همچنین لازم به ذکر است که فیلم‌های آبدوست نظیر آلژینات و آگار، در محیط‌های آبی با جذب آب سریعاً متورم شده و در اثر این تورم و افزایش فاصله رشته‌ها، نرخ رهایش ترکیبات ضد میکروبی افزایش می‌یابد. اما در حضور نانوذرات CNF، بدلیل افزایش پیوندهای بین رشته‌ای، میزان تورم و در نتیجه میزان حلالیت فیلم‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه نرخ رهایش

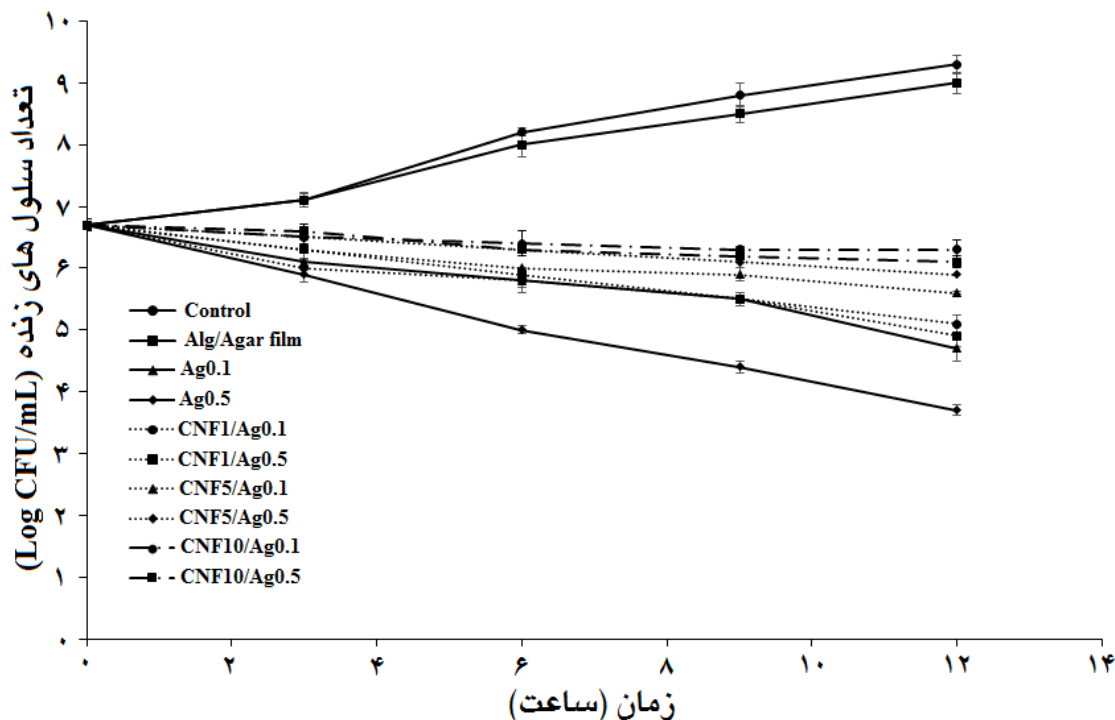


شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ SEM از سطح فیلم آلژینات - آگار حاوی ۰/۵٪ نانوقره و ۱۰٪ نانوفیبر سلولز

خاصیت ضد میکروبی

شکل ۵ تأثیر ضد میکروبی فیلم‌های حاوی نانوقره را بر روی باکتری *E. Coli* نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، فیلم آلژینات - آگار خالص، فاقد خاصیت ضد میکروبی است و با افزایش زمان آزمون، تعداد میکروارگانیسم‌های زنده در سوسپانسیون افزایش می‌یابد. فیلم شاهد آلژینات - آگار در تمامی زمان‌های آزمون اختلاف معناداری با سوسپانسیون خالص فاقد فیلم (Control) نشان نداد. با افزودن نانوقره، فیلم مرکب خاصیت ضد میکروبی قابل قبولی از خود نشان داده و در طول ۱۲ ساعت آزمون، تعداد باکتری‌های زنده بطور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. با افزایش غلظت نانوقره از ۰/۱٪ به ۰/۵٪ این خاصیت ضد میکروبی به طور معناداری بیشتر شد. مکانیسم اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره هنوز بطور

Ag نیز کمتر خواهد بود (نتایج آزمون حلالیت فیلم‌های بیونانوکامپوزیت در این مقاله قید نشده است).



شکل ۵- تأثیر ضد میکروبی فیلم‌های بیونانوکامپوزیت حاوی نانوقره بر روی باکتری گرم منفی *E. coli*

نتیجه‌گیری

CNF، میزان رهائش نانوذرات نقره از بستر فیلم و به تبع آن خاصیت ضد میکروبی کاهش یافت. بطور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که با ترکیب کردن دو بیوپلیمر آلژینات و آگار و با افزودن نانورشته‌های CNF و نانوذرات نقره، می‌توان فیلمی با خواص فیزیکوشیمیایی مطلوب حاصل از اثر سینرژیستی دو نانوتقویت کننده تولید نمود که همزمان دارای خاصیت ضد میکروبی نیز باشد و در عین حال بتوان مهاجرت نانوذرات نقره از بستر فیلم را با استفاده از نانوذرات CNF بصورت کنترل شده درآورد.

نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش میزان نانوپرکننده‌های CNF و نانوذرات نقره، نفوذپذیری فیلم بیوکامپوزیت آلژینات سدیم - آگار را نسبت به بخار آب کاهش می‌دهد. همچنین غلظت نانوپرکننده‌ها تأثیر معنی داری بر روی ویژگی‌های مکانیکی و حرارتی فیلم نیز داشتند. با این وجود، تصاویر میکروسکوپی SEM، تأیید نمود که توده‌های نانوذرات نیز بطور یکنواخت در تمامی قسمت‌های فیلم پخش شده و تأثیری در یکپارچگی فیلم بیوکامپوزیت ندارند. با افزایش میزان

منابع مورد استفاده

قنبرزاده ب، الماسی ه و زاهدی ی، ۱۳۸۸. بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی و دارویی. انتشارات دانشگاه امیرکبیر (پلی تکنیک)، تهران.

Abdul Khalil HPS, Bhat AH and Ireana Yusra AF, 2012. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. Carbohydrate Polymers 87: 963-979.

Ahvenainen R, 2003. Active and intelligent packaging: An introduction. pp. 5-21. In: Ahvenainen R, (ed.), Novel food packaging techniques. Woodhead Publishing, Cambridge, U.K.

- Almasi H, Ghanbarzadeh, B, Dehghannia, J, Entezami, AA and Khosrowshahi Asl A, 2015. Novel nanocomposites based on fatty acid modified cellulose nanofibers/poly (lactic acid): morphological and physical properties. *Food Packaging and Shelf Life* 5: 21-31.
- Arockianathan PM, Sekar S, Sankar S, Kumaran B and Sastry TP, 2012. Evaluation of biocomposite films containing alginate and sago starch impregnated with silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 90: 717-724.
- ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-10. Annual book of ASTM, 2010, Philadelphia, PA: American Society for testing and Materials.
- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of material. E96-05. Annual book of ASTM, 2005, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Chaurasia V and Bajpai SK 2012. Moisture uptake behavior, antibacterial property, and heat of sorption of nano silver-loaded calcium alginate film. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* 66: 711-718.
- Cherian BM, Leao AL, de Souza SF, Costa LMM, de Olyveira GM and Kottaisamy M, 2011. Cellulose nanocomposites with nanofibres isolated from pineapple leaf fibers for medical applications. *Carbohydrate Polymers* 86(4): 1790–1798.
- Crossingham YJ, Kerr PG and Kennedy RA, 2014. Comparison of selected physico chemical properties of calcium alginate films prepared by two different methods. *International Journal of Pharmaceutics* 473: 259–269.
- Cushen M, Kerry J, Morris M, Cruz-Romero M and Cummins E, 2014. Silver migration from nanosilver and a commercially available zeolite filler polyethylene composites to food simulants, *Food Additives & Contaminants: Part A* 47: 312-319.
- De Moura MR, Mattoso LHC and Zucolotto V, 2012. Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *Journal of Food Engineering* 109: 520-524.
- Fortunati E, Armentano I and Kenny JM, 2012. Multifunctional bionanocomposite films of poly (lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Journal Carbohydrate Polymers* 87: 1596-1605.
- Fortunati S, Rinaldi M, Peltzer N, Bloised L, Visaid I, Armentano A, Jiménez L and Latterini JM, 2014. Nano-biocomposite films with modified cellulose nanocrystals and synthesized silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 101: 1122– 1133.
- Galus S and Lenart A, 2013. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering* 115: 459–465.
- Ghanbarzadeh B and Almasi H, 2013. Biodegradable polymers. Pp. 141-186. In: Chamy R and Rosenkranz F (Eds). *Biodegradation- life of science*. InTech Publications, Croatia.
- Gimenez B, Lopez de Lacey A, Perez-Santín E, Lopez-Caballero ME and Montero P, 2013. Release of active compounds from agar and agar-gelatin films with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 30: 264–271.
- Ibrahim MM, El-Zawawy WK and Nassar MA, 2010. Synthesis and characterization of polyvinyl alcohol/nanospherical cellulose particle films. *Carbohydrate Polymers* 79: 694-699.
- Jost V, Kobsik K, Schmid M and Noller K, 2014. Influence of plasticizer on the barrier, mechanical and greaseresistance properties of alginate cast films. *Carbohydrate Polymers* 110: 309–319.
- Kanmani P and Rhim JW, 2014. Physical, mechanical and antimicrobial properties of gelatin based active nanocomposite films containing AgNPs and nanoclay. *Food Hydrocolloids* 35: 644-652.
- Kaushik A, Singh M and Verma G, 2010. Green nanocomposites based on thermoplastic starch and steam exploded cellulose nanofibrils from wheat straw. *Carbohydrate Polymers* 82(2): 337-345.
- Lopez-Carballo G, Higuera L, Gavara R and Hernandez-Munoz P, 2013. Silver ions release from antibacterial chitosan films containing in situ generated silver nanoparticles. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 61: 260 – 267.

- Marie P, Sekar S, Kumaran B and Sastry TP 2012. Preparation, characterization and evaluation of biocomposite films containing chitosan and sago starch impregnated with silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 12: 1-33.
- Mariniello L, Giosafatto CVL, Moschetti G, Aponte M, Masi P, Sorrentino A and Porta R, 2007. Fennel Waste-based films suitable for protecting cultivations. *Biomacromols* 8: 3008–3014.
- Sarsar V, Selwal KK and Selwal MK, 2014. Nanosilver: Potent antimicrobial agent and its biosynthesis. *African Journal of Biotechnology* 13(4): 546-554.
- Shankar S, Teng X, Li G and Rhim JW, 2015. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. *Food Hydrocolloids* 117: 341-349.
- Suryanegara L, Nakagaito AN and Yano H, 2009. The effect of crystallization of PLA on the thermal and mechanical properties of microfibrillated cellulose-reinforced starch composites. *Composites Science and Technology* 69: 1187–1192.

Investigation of the physical and antimicrobial properties of sodium alginate – agar based bionanocomposite film containing nanosilver and cellulose nanofiber

MR Baradaran Safa¹ and H Almasi^{2*}

Received: November 11, 2015

Accepted: February 14, 2016

¹MSc Student, Department of Food Science, College of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

²Assistant Professor of Department of Food Science, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding author: h.almasi@urmia.ac.ir

Abstract

In this study, antimicrobial quaternary sodium alginate-agar-cellulose nanofiber (CNF)-silver nanoparticles (Ag) bionanocomposite films were prepared by casting method and the effect of CNF (1, 5 and 10% wt) and Ag (0.1 and 0.5% wt) concentrations on the physical (structural, thermal, mechanical and barrier properties) and antimicrobial properties of the bionanocomposites was studied. Water vapor permeability (WVP) of alginate-agar films decreased and mechanical strength increased by increasing CNF and Ag content. However, the water vapor barrier and mechanical properties diminished by increasing of CNF content to 10%, due to the aggregation of nanofibers. The film containing 5% CNF and 0.5% Ag showed the highest tensile strength (23.07 MPa) and lowest WVP (1.07×10^{-10} g/m.s.Pa). Melting temperature increases by adding CNF, but the effect of CNF is more than Ag. Also, the films containing Ag showed lethal effect against *E.coli*. CNF, decreased Ag+ antimicrobial activity by controlling the release of Ag nanoparticles. Overall, resulted bionanocomposite film, exhibited significant improvement in barrier, mechanical, thermal and antimicrobial properties that revealed that it could be a good candidate for using as active packaging of foods.

Keywords: Alginate, Cellulose nanofiber, Nanosilver, Bionanocomposite, Physical properties, Antimicrobial activity