

تهیه فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان - نانوذرات اکسید روی - اسانس آویشن و بررسی ویژگی‌های مکانیکی، ساختاری و ضد میکروبی آن

زهرا شباهنگ^۱، سپیده بهرامی^۲، بهزاد محمدی^۳

تاریخ دریافت مقاله: دیماه ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش مقاله: اسفند ماه ۱۳۹۸

چکیده

بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر به دلیل ویژگی‌های دوستدار محیط زیست بودن جایگزین مناسبی برای فیلم‌های سنتزی در صنعت بسته‌بندی می‌باشند. در این پژوهش از نانو ذرات اکسید روی و اسانس آویشن برای بهبود خصوصیات ساختاری کیتوزان استفاده شد که بدین‌منظور نانو کامپوزیت کیتوزان- نانو اکسید روی (۰/۰۳ - ۰/۰۱) - اسانس آویشن (۰/۲۵ - ۰/۰۵)٪ تولید شد. تفاوت نمونه‌ها با فیلم شاهد با هدف تولید بسته‌بندی ضدباکتری و زیست‌تخریب‌پذیر است، خصوصیات ساختاری با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی مادون قرمز، پراش اشعه ایکس، بررسی گردیدند و مورفولوژی ذرات سنتز شده با استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی روبشی تعیین شد. نتایج به‌دست‌آمده از بررسی خصوصیات ساختاری نشان داد نانو ذرات اکسید روی سنتز شده در ماتریکس پلیمری کیتوزان در ابعاد نانومتری می‌باشند. بر اساس نتایج به دست آمده با افزایش غلظت نانو اکسید روی و اسانس آویشن، حلالیت آبی و نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها ۷۰٪ کاهش یافت. برهم‌کنش بین کیتوزان، نانو اکسید روی و اسانس آویشن توسط الگوی طیف‌سنجی مادون قرمز و پراش اشعه ایکس تأیید شد. یافته‌های این پژوهش عاملی مهم برای گسترش استفاده از فیلم‌های زیست‌تخریب با بهبود خصوصیات عملکردی آن‌ها توسط نانوذرات می‌باشد.

۱- مقدمه

فیلم‌ها و پوشش‌های بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر به دلیل دوستدار محیط‌زیست بودن و وابستگی کم به منابع غیرقابل تجدید، جایگزین مناسبی برای فیلم‌های سنتزی^۶ در صنعت بسته‌بندی می‌باشند که توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده‌اند. بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر با حفاظت از محصول در برابر آسیب‌های مکانیکی، فیزیکی و شیمیایی محصولات غذایی مانع از کاهش کیفیت آن‌ها می‌شوند. همچنین می‌توانند به‌عنوان حامل مواد ضد میکروب به‌صورت بسته‌بندی‌های ضد میکروبی، از فعالیت‌های میکروبی جلوگیری کرده و

واژه‌های کلیدی

کیتوزان^۴، نانو اکسید روی، اسانس آویشن^۵، پلیمر، زیست‌تخریب‌پذیری^۶، ضدباکتری

۱- دانشجوی دکتری، گروه آموزشی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد صفا دشت، دانشگاه آزاد اسلامی، صفا دشت، ایران. (x نویسنده مسئول: zahrashabahang0912@gmail.com)

۲- استادیار، دکتری تخصصی، گروه آموزشی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد صفا دشت، دانشگاه آزاد اسلامی، صفا دشت، ایران (s.bahrami@safaiu.ac.ir).

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد- گروه علوم و صنایع غذایی- دانشکده کشاورزی- مؤسسه آموزش عالی آفاق (Behzadmohammadi743@gmail.com).

6- Biodegradability

7- Synthesis

4- Chitosan

5- Thyme Essential Oil

همچنین کیتوزان به عنوان شلاته کننده (خشتی کننده) / دفع کننده عمل کرده که فلزات کم مقدار را مقید کرده در نتیجه از تولید سموم و رشد باکتری جلوگیری می کند. کیتوزان به عنوان یک عامل اتصال دهنده با آب، باعث فعال شدن فرایندهای مختلف در بافت میزبان می شود و از فعالیت آنزیم های مختلف جلوگیری می کند [5].

ویژگی آب دوستی و به دنبال آن خصوصیات مکانیکی ضعیف کیتوزان در حضور آب و محیط های مرطوب و ناکافی بودن مقاومت حرارتی، سختی، ممانعت آن در برابر گازها و هزینه تهیه آن، کاربرد تنهای آن را در صنعت بسته بندی با مشکل روبه رو کرده است. در نتیجه خواص ممانعتی کیتوزان می تواند در ترکیب با نانو ذرات و اسانس های گیاهی بهبود یابد. در سال های اخیر، نانو ذرات به دلیل خصوصیات ویژه آن ها کاربردهای مختلفی داشته اند که مهم ترین استفاده از آن ها در تهیه نانو کامپوزیت های پلیمری می باشد. در این میان، نانو ذرات اکسید روی یکی از نانوذرات معدنی پر کاربرد می باشد که به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی مناسب و غیر سمی بودن برای انسان مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است. از مهم ترین خصوصیات ZnO می توان به پایداری شیمیایی بالا، ثابت دی الکتریک پایین، ضریب کوپل الکترومکانیکی^۳ بالا، فعالیت کاتالیزوری^۴ بالا، جذب نور زیر قرمز و فرابنفش و خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی و ارزان بودن آن اشاره کرد که این امر باعث استفاده گسترده از آن در تولید فیلم های زیست تخریب و خوراکی شده است. تولید هیدروژن پراکسید از سطح نانو ذرات روی، باعث بروز پدیده ضد میکروبی می شود [6]. استفاده از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی کسیدانی با منشأ گیاهی به خاطر توانایی بالقوه آن ها به عنوان افزودنی های سالم به منظور کنترل میکروبی، شیمیایی و افزایش ماندگاری بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. در حال حاضر، تمایل مشتریان مواد غذایی بیشتر به استفاده از مواد غذایی سالم فاقد

موجب افزایش مدت زمان نگهداری محصولات غذایی شود. در طی سال های اخیر، مطالعات زیادی بر روی جایگزینی پلیمر های سنتزی با بیوپلیمر های زیست تخریب به ویژه با هدف بسته بندی مواد غذایی صورت گرفته است [1].

فناوری نانو یکی از بخش های بسیار مهم و سریع ترین بخش در حال رشد از فناوری پیشرفته است. محصولات حاوی نانو ذرات را می توان در برنامه های مختلف صنعتی، پزشکی، شخصی و نظامی به کاربرد. نانو کامپوزیت ماده مرکبی است که حداقل یکی از فازهای تشکیل دهنده آن دارای ابعاد نانو (بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) هست [2].

کیتوزان پلی ساکاریدی خطی متشکل از واحدهای D-گلوکز آمین^۱ و N-استیل D-گلوکز آمین می باشد که از استیل زدایی کیتین^۲ تهیه می گردد. در واقع پلی ساکاریدی طبیعی است که دارای خواص منحصربه فردی از قبیل: زیست تخریب پذیری زیست سازگاری، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می باشد. منبع اصلی کیتین، منابع دریایی از قبیل سخت پوستان میگو و خرچنگ می باشد. ساختار سخت و حضور پیوندهای هیدروژنی در کیتین منجر به حلالیت ضعیف آن در حلال های آلی می گردد. در صورتی که کیتوزان به دلیل حضور گروه های آمین و تشکیل پلی الکترولیت کاتیونی در حلال های اسیدی رقیق حل می شود. عوامل مختلفی مانند: دما درجه استیل زدایی اندازه ذرات وزن مولکولی بر روی حلالیت کیتوزان تأثیر گذار است. از جمله خصوصیات این پلیمر، می توان به هزینه کم، زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری، چسبندگی، ضد میکروبی، غیر سمیت، ضد قارچی و توانایی تشکیل فیلم اشاره نمود [3].

مکانیسم های مختلفی برای خاصیت ضد میکروبی کیتوزان پیشنهاد شده است. عنوان شده است که واکنش بین مولکول کیتوزان دارای بار مثبت با غشای سلول دارای بار منفی میکروب منجر به نشت ترکیبات پروتئین دار و سایر ترکیبات درون سلول به خارج سلول می شود [4].

3- Electromechanical

4- Catalytic

1- Glucosamine

2- Chitin clearance

افزودنی‌های مصنوعی، دارای کیفیت و ماندگاری مناسب‌تر معطوف شده است [۷]. مزیت به‌کارگیری مواد بسته‌بندی آزاد ساز آنتی‌اکسیدان نسبت به روش افزودن مستقیم ضد اکسیدان به مواد غذایی، این است که ترکیبات فعال ضد اکسیدانی در مقادیر کنترل شده به ماده غذایی افزوده می‌شوند در نتیجه غلظت ترکیبات فعال در غذا ثابت باقی می‌ماند و آنتی‌اکسیدان مصرف شده در طول دوره نگهداری جبران می‌شود. تیمول یکی از مهم‌ترین ترکیبات منوترپنی^۱ اکسیژنه با خاصیت ضدباکتری و ضدقارچی و جلوگیری‌کننده از رشد و تولید مایکوتوکسین^۲ است که آویشن، پونه کوهی، مرزه و مریم گلی بیشترین درصد از این ترکیبات را دارا می‌باشند [۸].

۲- مواد و روش‌ها

مواد آزمایشی استفاده شده: کیتوزان (سیگما- خلوص ۹۸٪)، گلیسرول خلوص ۹۸٪ (مرک-آلمان)، اسید استیک ۱٪ (مرک- آلمان)، آب مقطر، نانوذرات اکسید روی (سیگما- خلوص ۹۹٪)، HCl غلیظ (مرک- آلمان)، اسانس آویشن (شرکت ستاره سحر- ایران - خلوص ۹۹٪)، کلسیم کلرید بدون آب (مرک- آلمان)، محیط کشت نوترینت آگار (سیگما)، پارافین جامد (مرک- آلمان).

دستگاه‌های مورد استفاده: ترازوی دیجیتالی RADVAG با دقت ۰/۰۰۱ مدل WTB200 (کمپانی RADVAG آمریکا)، هیتر استریل^۳ PECO ایران، لوازم شیشه‌ای (بشر، ارلن، پیپت، دماسنج و ...) سینا شیشه ایران، دستگاه رنگ‌سنج کالری متر^۴ مدل ماینولت^۵ CR-410 ژاپن، دستگاه پراش ایکس مدل فلیپس اکسپرت^۶ ساخت کشور هلند، میکروسکوپ روبش

الکترونی Philips XL30 ESEM^۷، انکوباتور (شیماز ایران)، دستگاه اسپکترومتر^۸ (FTIR) مدل ۲۰۰۲ آلمان.

۲-۱- سنتز فیلم کیتوزان

ابتدا ۵ گرم پودر کیتوزان (سیگما) در ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک (۱ v/v) و آب تهیه شد سپس به منظور بهبود خاصیت انعطاف‌پذیری فیلم ۲ میلی‌گرم گلیسرول (مرک با درصد خلوص ۹۸٪) به عنوان پلاستیسایزر^۹ به محلول اضافه شد و در آخر محلول به مدت ۸ ساعت در دمای ۹۰ درجه بر روی هیتر استریل هم زده شد، بعد از یکنواختی کامل، محلول قالب‌ریزی شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط خشک گردید.

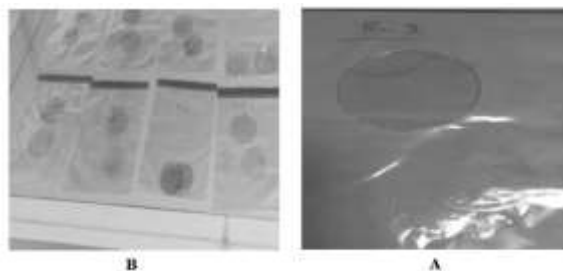
۲-۲- تهیه کامپوزیت کیتوزان- نانو اکسید روی - اسانس آویشن

ابتدا وزن دقیق از نانو ذرات اکسید روی (۰/۰۳-۰/۰۱) در ۲ میلی‌لیتر محلول اسید استیک در بشر جداگانه حل می‌شود. سپس ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بشر ریخته شده و ۲/۵ میلی‌گرم گلیسرول به آب اضافه می‌شود و کاملاً هم زده می‌شود و سپس محلول اکسید روی تهیه شده در اسید استیک به محلول فوق اضافه و ۵ گرم، پودر کیتوزان و اسانس آویشن (۰/۲۵-۰/۰۵) به محلول افزوده شد، محلول به مدت یک ساعت با دستگاه التراسوند^{۱۰} مخلوط شده و بعد روی همزن مغناطیسی یا هیتر استریل به طور کامل هم زده شد. پس از مخلوط کردن، هیدروکسید سدیمیک مولار^{۱۱} قطره قطره به محلول اضافه شد تا pH محلول به ۱۰ برسد. بعد از ۶ ساعت هم‌زدن، محلول توسط استوانه مدرج به مقدار مساوی در ظروف پلاستیکی قالب‌ریزی شده و اجازه داده

- 1- Monotherapy
- 2- Mycotoxin
- 3- Sterile Heaters
- 4- Colorimeter
- 5- Minolte Model
- 6- Philips- Xpert

- 7- Electron Scanning Microscope
- 8- Fourier-transform infrared
- 9- Plasticizer
- 10- Ultrasound
- 11- Molar Sodium Hydroxide

شد تا در دمای محیط خشک و فیلم تشکیل گردد. روش فوق برای تمامی تیمارها تکرار شد (شکل ۱).



شکل ۱- (A) فیلم کیتوزان خالص (B) فیلم کیتوزان اصلاح شده با نانوکامپوزت اکسید روی و اسانس آویشن

۲-۳- حلالیت فیلم در آب

حلالیت در آب عبارت است از: درصد ماده خشک فیلم که پس از ۲۴ ساعت غوطه‌وری در آب به حالت محلول درمی‌آید [۹]. برای اندازه‌گیری حلالیت در آب، تکه‌های فیلم برای رسیدن به وزن خشک اولیه به مدت ۶ ساعت در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد توزین شده سپس وزن گردید (W₁). سپس ۰/۲۴۵ میلی‌گرم از نمونه‌های فیلم در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شده و در حالی که به‌صورت مقطعی هم زده می‌شد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت با دور ۲۵۰rpm قرار گرفت. سپس محلول از کاغذ صافی واتمن^۱ شماره ۴ عبور داده شد و آخرین وزن (W₂) آن بعد از خشک‌کردن در آون به دست آمد [۱۰]. میزان حلالیت با استفاده از رابطه (۱) به دست می‌آید:

رابطه (۱)

$$\text{وزن خشک نهایی} - \text{وزن خشک اولیه} \\ \text{وزن خشک اولیه} \times 100 = \text{درصد حلالیت}$$

۲-۴- اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP^۲)

برای محاسبه نفوذپذیری به بخار آب از استاندارد مصوب ASTM-96 که توسط حسینی و همکاران (۲۰۰۹) از

فالکون^۳ اصلاح شده است، استفاده گردید. ابتدا درون فالکون‌ها (با مساحت دهانه ۰/۰۱۹۶۲۵ متر مربع) ۲/۵ میلی‌گرم کلسیم کلرید بدون آب ریخته و دهانه فالکون‌ها به وسیله فیلم‌های بدون چروکیدگی و سوراخ با کمک پارافین مذاب پوشانده شد. برای حفظ گرادیان رطوبت نسبی ۷۵ درصد عبوری از فیلم‌ها، از محلول اشباع کلرید سدیم در داخل دسیکاتور استفاده شد. اختلاف رطوبت نسبی در دو سمت فیلم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، فشار بخاری معادل ۱۷۵۳/۵۵ پاسکال ایجاد می‌کند. بدین ترتیب، تغییرات وزن فالکون‌ها طی زمان با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. منحنی افزایش وزن فالکون‌ها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم شیب خط کاهش وزن مربوط به هر فالکون به سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب^۴ WVTR و نفوذپذیری به بخار آب WVP طبق روابط (۲ و ۳) محاسبه گردید:

رابطه (۲)

$$\text{شیب منحنی} \\ \text{مساحت سطحی فیلم} = \text{نرخ انتقال بخار آب} \\ \text{رابطه (۳)}$$

$$\text{نرخ انتقال بخار آب} \times \text{ضخامت} \\ \text{اختلاف فشار} = \text{نفوذپذیری بخار آب}$$

۲-۵- آزمون پراش اشعه X (XRD)^۵

آزمون پراش اشعه X بر روی فیلم‌ها توسط دستگاه پراش‌سنج^۶ MPD (فیلیپس ساخت کشور هلند) انجام گرفت. ابتدا نمونه‌ها بر روی دیسک‌هایی فشرده شدند. تولید اشعه X فیلتر شده با نیکل با طول‌موج ۰/۱۴۵ نانومتر انجام شد. برای انجام آزمون، ژنراتور تولید اشعه ایکس در

3- Falcon
4- Water Vapor Transmission Rate
5- X- Ray Diffraction
6- Diffractometer

1- Watman
2- Water Vapor Permeability

۴۰ کیلو ولت و ۴۰ میلی آمپر تنظیم شد و نمونه‌ها در معرض اشعه X قرار گرفتند. تشعشعات بازتابشی از نمونه در دمای محیط و در محدوده زاویه (20) از ۲ درجه تا ۷۰ درجه سرعت انجام آزمون ۱ درجه و اندازه گام‌ها ۰/۰۲ به دست آمد. شاخص بلورینگی^۱ که نشان‌دهنده میزان نظم آرایشی رشته‌های فیبر می‌باشد از رابطه (۴) محاسبه می‌شود:

رابطه (۴)

$$CrI (\%) = [(I_{002} - I_{am}) / I_{002}] \times 100$$

I_{002} شدت بازتابش از سطح کریستال فیلم و I_{am} شدت

پخش اشعه X-Ray است که ناشی از بخش آمورف نمونه می‌باشد. شدت پراش در زاویه $\theta = 18^\circ$ انجام گرفت. اندازه بلورها هم با استفاده از فرمول شیرر (۵) اندازه گیری شد.

رابطه (۵)

$$Crystallite\ size = \lambda / 0.9 / (\beta \cos \theta)$$

λ طول موج اشعه X (0.154 nm)، β عرض پیک پراش

در نصف ارتفاع مربوط به نمونه و θ زاویه بازتاب^۲ است.

۲-۶- آزمون طیف‌سنجی FTIR

برای انجام آزمون FTIR از دستگاه FTIR (Spectrum Two, Perkin Elmer, USA) استفاده شد. قرص‌های نازکی از فیلم با ضخامت کمتر از یک میلی‌متر از اختلاط آب و آسیاب نمونه‌های فیلم و پوشش دادن با پتاسیم برماید^۳ خشک به نسبت ۲۰:۱ و اعمال فشار حدود ۶۰ کیلو پاسکال به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه تهیه قرص به دست آمد و طیف عبور نمونه‌ها در محدوده عدد موجی 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} و با قدرت تفکیک 0.5 cm^{-1} مورد آنالیز قرار گرفت [۱۱].

۲-۷- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی

بررسی ریزساختاری فیلم‌های تولیدی به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام پذیرفت. به منظور بررسی تأثیر افزودن

نانو اکسید روی و اسانس آویشن بر روی ریزساختاری فیلم‌های تولید شده تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح فیلم‌ها تهیه گردید. ابتدا فیلم‌ها به کمک چسب کربنی بر روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش‌دهنده/پاشنده تا نقطه بحرانی خشک شده و به مدت یک دقیقه با طلا پوشش داده شدند. تصویربرداری از نمونه‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی با کاربری ۱۵ کیلووات و در بزرگ‌نمایی مختلف انجام پذیرفت [۱۲].

۲-۸- اندازه‌گیری خواص رنگی

برای اندازه‌گیری رنگ سطحی از دستگاه رنگ‌سنج (Colorimeter Minolta Model CR-410 Japan) استفاده شد. خواص رنگی به منظور بررسی پتانسیل فیلم‌ها برای استفاده در بسته‌بندی محصولات حساس به نور انجام شد. برای این منظور، ابتدا دستگاه توسط صفحه سفید استاندارد کالیبره شد. سپس فیلم‌ها بر روی یک پلیت سفید قرار گرفته و میزان رنگ آن‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج اندازه‌گیری شد. این دستگاه چهار طول موج در محدوده امواج ناحیه مرئی را اندازه می‌گیرد. نتایج شامل اندازه سه بعد رنگ با شاخص‌های L^* ، a^* و b^* می‌باشد که به ترتیب نمایانگر روشنایی (از $L=0$ برای سیاه تا $L=100$ برای سفید)، سبز تا قرمز ($a=-60$ برای سبز $a=60$ برای قرمز) و آبی تا زرد (از $b=-60$ تا $b=60$ برای زرد) می‌باشند. با استفاده از روابط (۶، ۷، ۸ و ۹) مقادیر اختلاف کل رنگ و سفیدی محاسبه گردید [۱۳].

رابطه (۶)

$$E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

رابطه (۷)

$$YI = \frac{145/14b}{L}$$

4- Lightness

1- Crystallinity Index

2- Angle of Reflection

3- Potassium Bromide

رابطه (۸)

$$C^* = \sqrt{(a)^2 + (b)^2}$$

رابطه (۹)

$$WI = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]$$

رابطه (۱۰)

$$\text{Strain To Break \%} = \frac{\text{Distance to break}}{\text{Film length}}$$

رابطه (۱۱)

$$\text{Tensile strength (TS)} = \frac{F}{W \times d}$$

۹-۲- اندازه‌گیری خواص ضدمیکروبی فیلم

اندازه‌گیری خواص ضدمیکروبی فیلم با استفاده از روش انتشار در سطح آگار انجام گرفت. برای کشت ایکولای^۱ از محیط کشت نوترینت آگار استفاده گردید. ابتدا محیط کشت جامد باکتری مورد نظر تهیه شد و بعد از خشک شدن محیط کشت مایع حاوی باکتری با استفاده از سمپلر^۲ به محیط کشت جامد اضافه شد و به طور یکنواخت در سطح پلیت پخش شد و بعد قطعات بریده شده فیلم‌ها در محیط کشت قرار داده شد و بعد از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد ایجاد شده در اطراف فیلم‌ها اندازه‌گیری گردید و میانگین آن‌ها ثبت شد. این آزمایش با سه تکرار انجام شد [۱۴].

۱۰-۲- اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمون‌های تنش کرنش یکی از پرکاربردترین آزمون‌های تعیین رفتار مکانیکی فیلم‌ها می‌باشد. آزمون‌های کشش با استفاده از دستگاه بافت‌سنج مدل TA.XT Plus, Stable Micro Systems UK اندازه‌گیری شد. برای این منظور، فیلم‌ها در ابعاد ۵×۱ سانتی‌متر توسط برشگر مخصوص، به شکل دمبلی برش داده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵ سانتی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۰/۸۳ میلی‌متر بر ثانیه تنظیم شد. شاخص‌های حداکثر نیروی شکست (برحسب نیوتون)، نسبت نیرو به زمان^۳ برحسب نیوتون بر ثانیه و فاصله تا نقطه شکست (میلی‌متر) به وسیله دستگاه محاسبه شد و عوامل کرنش تا نقطه شکست^۴ (STB) توسط رابطه (۱۰) و مقاومت کششی (ST) توسط رابطه (۱۱) محاسبه گردید:

- 1- E.coli
- 2- Sampler
- 3- Gradient
- 4- Strain to Break

۳- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات این تحقیق بر اساس طرح آماری مرکب مرکزی در سطح احتمال ۹۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار آماری Design expert-7 انجام گرفت و نمودارها با استفاده از همین نرم‌افزار و نیز به کمک نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

۴- نتایج و بحث

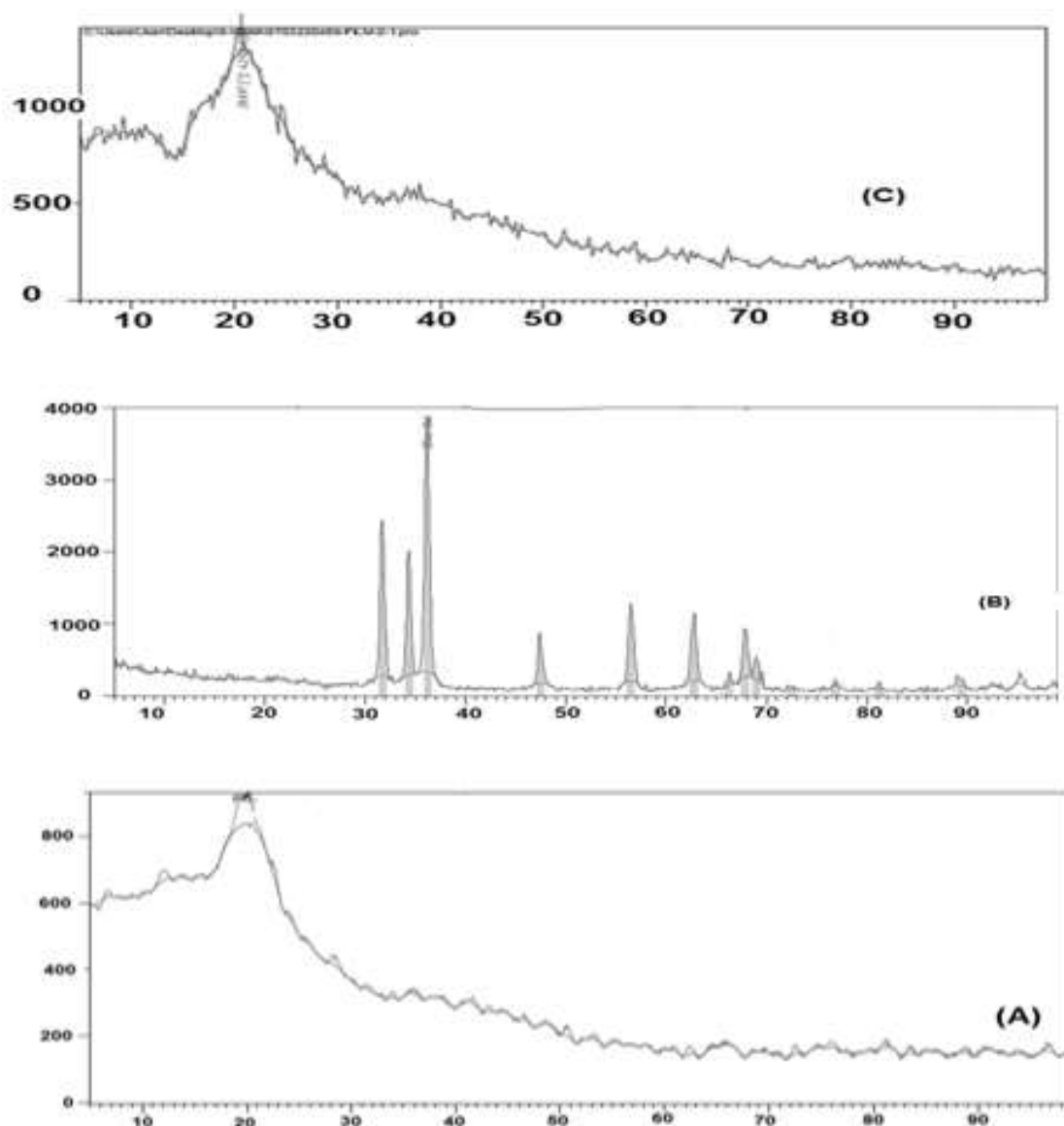
۴-۱- نتایج آزمون پراش اشعه X (XRD)

شکل (۲) نتایج آزمون XRD برای فیلم خالص کیتوزان (A)، نانو اکسید روی (B)، و فیلم مرکب کیتوزان-اکسید روی-اسانس آویشن (C) را نشان می‌دهد. الگوی پراش پرتو ایکس فیلم کیتوزان (A) پیک‌های پهن وضعیفی را در محدوده زاویه $2\theta = 11/7$ درجه نشان می‌دهد که ناشی از ساختار آمورف کیتوزان است که باعث تشکیل پیک در زاویه پایین تر و ارتفاع کمتر می‌شود [۱۵]. و پیک‌های زاویه $2\theta = 21$ درجه هم مورفولوژی بلورین بالا برای فیلم کیتوزان را نشان می‌دهد [۱۶].

قسمت B در (شکل ۲) الگوی پراش پرتو اشعه ایکس برای نانو ذرات اکسید روی را نشان می‌دهد که پیک‌های ظاهر شده بین زاویه ۳۰ و ۴۰ نشان‌دهنده ساختار هگزاگونال ورتزینت تک‌فاز^۵ (شش گوشه) برای نانو اکسید روی می‌باشد که نشان‌دهنده خالصی ماده می‌باشد و هیچ پیکی مربوط به ناخالصی مشاهده نمی‌گردد [۱۷].

5- Single Phase

مجله علمی علوم و فنون
بسته بندی



شکل ۲- آزمون XRD فیلم کیتوزان (A) نانوذرات اکسید روی (B) کامپوزیت کیتوزان- نانو اکسید روی (C) اسانس آویشن

قسمت C هم پراش پرتو اشعه ایکس برای فیلم مرکب را نشان می‌دهد که از شدت پیک‌ها نسبت به کیتوزان و نانو اکسید روی کاسته شده که نشان‌دهنده تشکیل کامپوزیت می‌باشد به عبارتی، پیک‌های جذبی در اثر کاهش اندازه می‌توانند شیفت پیدا کنند. بنابراین ذرات اکسید روی تشکیل شده در کامپوزیت در ابعاد نانومتری می‌باشند. نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققان مطابقت دارد [۱۷].

۲-۴- نتایج آزمون FTIR

طیف‌سنجی مادون قرمز ابزاری جهت بررسی وضعیت پیوندها و ریز ساختار مواد می‌باشد به عبارتی، برای مطالعه باندهای هیدروژنی و دیگر واکنش‌ها به علاوه قابلیت آمیختن پلیمرها می‌باشد [۱۸].

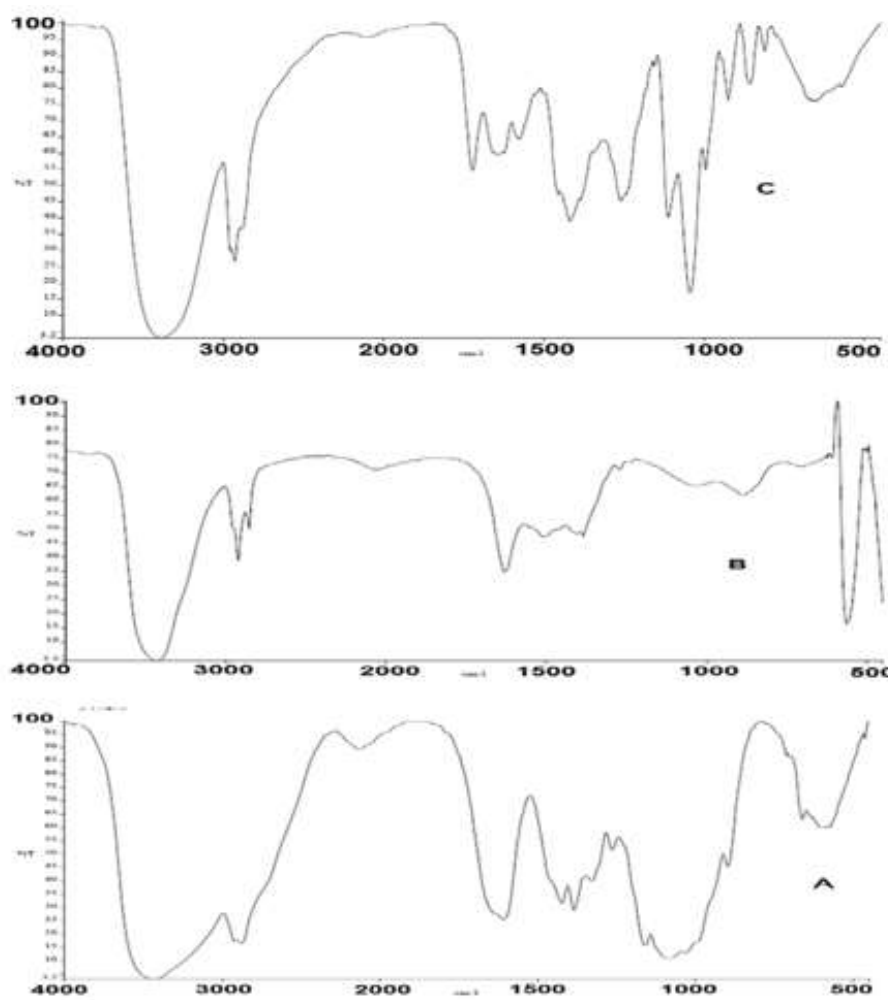
قسمت A طیف FTIR برای کیتوزان خالص را نشان می‌دهد. کیتوزان خالص دارای پیک‌های جذبی متمایز در فرکانس 3442 cm^{-1} ناشی از ارتعاشات کششی متقارن و

در ZnO می باشد. پیک های ظاهر شده در فرکانس cm^{-1} ۱۵۰۰-۱۰۰۰ و cm^{-1} ۲۰۰۰-۳۰۰۰ مربوط به ارتعاش کششی OH در سطح ZnO و ارتعاشات کششی CH_2 - و ارتعاشات کششی C=O برای ZnO می باشد که نشان دهنده خالصی ZnO مصرفی می باشد [۲۲-۲۳].

قسمت c طیف FTIR برای کیتوزان اصلاح شده با نانواکسید روی و اسانس آویشن را نشان می دهد. پیک های ایجاد شده در فرکانس cm^{-1} ۵۱۶ مربوط به تشکیل گروه های O-ZN-O می باشد و از شدت پیک ها در کامپوزیت نسبت به پیک های کیتوزان و نانواکسید روی کاسته شده است که نشان دهنده تشکیل کامپوزیت می باشد [۲۴-۲۵].

نامتقارن NH_2 - و پیوندهای خمشی NH_2 - در فرکانس cm^{-1} ۱۵۷۵ می باشد. پیک ظاهر شده در فرکانس cm^{-1} ۲۸۵۰ مربوط به باند کششی C-H (کربن مرکزی- باند هیدروژنی) در فیلم کیتوزان می باشد که این امر می تواند دلیلی برای بالا بودن نسبی استحکام این فیلم ها تلقی شود (شکل ۳) [۱۹-۲۰].

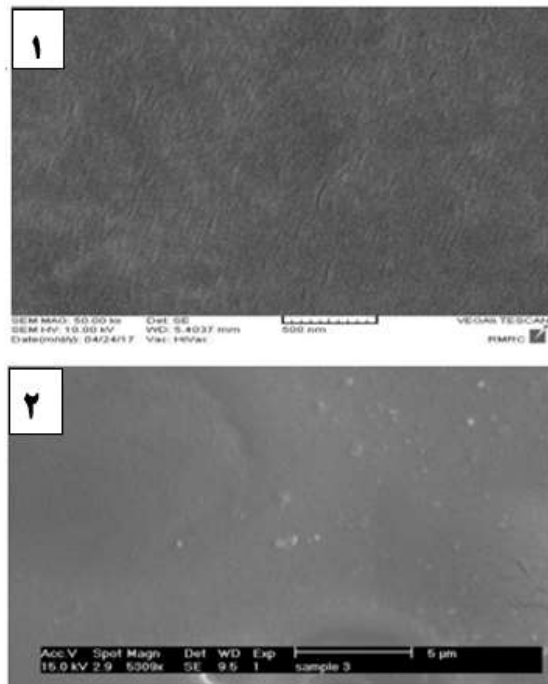
پیک در فرکانس cm^{-1} ۱۲۰۰ ناشی از کشش نامتقارن C-O-C و پیک در فرکانس cm^{-1} ۱۱۶۰ ناشی از ارتعاشات کششی متقارن و نامتقارن C-O است که بیانگر ساختار ساکاریدی برای کیتوزان می باشد [۲۱]. قسمت B طیف FTIR نانواکسید روی را نشان می دهد. پیک های قوی ظاهر شده در فرکانس cm^{-1} ۴۵۰-۵۰۰ مربوط به ارتعاشات کششی



شکل ۳- آزمون FTIR کیتوزان (A) نانوذرات اکسید روی (B) فیلم اصلاح شده با نانوذرات اکسید روی (۰/۰۳) (C) اسانس آویشن (۰/۵)

۳-۴- ریز ساختار میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

مورفولوژی^۱ سطحی فیلم کیتوزان و کامپوزیت کیتوزان - نانو ذرات اکسید روی - اسانس آویشن با استفاده از SEM^۲ مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از SEM می‌توان به همگن بودن کامپوزیت، حضور حفره، سطح پراکندگی نانو ذرات در ماتریکس پلیمر و وجود کلوخه و در مواردی برای جهت‌گیری نانو ذرات پی برد. میکروگراف SEM برای فیلم کیتوزان خالص در (شکل ۴) نشان داد که این فیلم بدون منفذ صاف و بدون خلل فرج می‌باشد که نشانگر همگن بودن و یکپارچگی ساختاری فیلم تهیه شده است. شکل (۴) میکروگراف SEM ساختاری متراکم برای کیتوزان اصلاح شده با نانو ذرات اکسید روی و اسانس آویشن را نشان می‌دهد.



شکل ۴- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی فیلم کیتوزان شاهد (۱) فیلم کیتوزان اصلاح شده با (۰/۰۳٪) نانو اکسید روی و (۰/۵٪) اسانس آویشن (۲)

با توجه به شکل، نانو ذرات اکسید روی به صورت یکنواخت در ماتریکس توزیع و حل گردیده و اسانس در غلظت‌های بالا اندکی باعث کاهش فشردگی سطحی فیلم گردیده و منافذ و حفراتی کوچک در قسمت‌های سطحی فیلم ایجاد گردیده است که می‌تواند ناشی از تجمع ذرات اسانس و بر هم خوردن ساختار منظم زنجیرهای پلیمری کیتوزان به دلیل ترکیبات موجود در اسانس آویشن باشد. نتایج تحقیق با نتایج سایر محققین مطابقت دارد [۲۶-۲۷].

۴-۴- حلالیت در آب (TSM%)

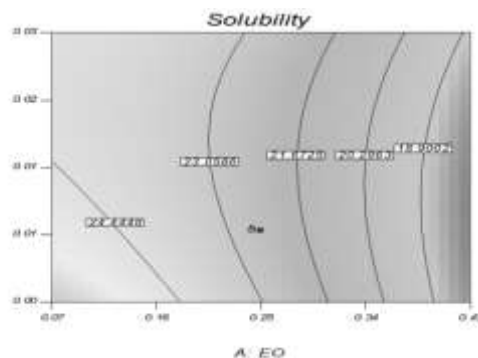
میزان حلالیت در آب فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر خصوصیت مهمی است که نشان‌دهنده مقاومت به آب این فیلم‌ها در تماس با ماده غذایی آبی است، زیرا بیانگر کارایی آن در حفاظت از مواد غذایی با فعالیت آبی بالا و یا مواد تازه و یخ‌زده است [۲۸]. شکل (۵) تأثیر غلظت‌های نانو ذرات اکسید روی و اسانس آویشن را بر روی حلالیت آبی فیلم‌های کیتوزان نشان می‌دهد. شاخص حلالیت فیلم در واقع اندازه‌گیری میزان مقاومت فیلم در برابر آب است که در ارتباط با ماهیت آب‌دوستی ماده است. فیلم کیتوزان خالص به دلیل طبیعت هیدروفیلک^۳ (آب‌دوستی) خود، بیشترین حلالیت را از خود نشان داد. اما نانو ذرات اکسید روی به دلیل خاصیت هیدروفوبی (آب‌گریزی) و اسانس آویشن به دلیل اثر دفع‌کننده ترکیبات غیرقطبی خود بر مولکول‌های آب باعث کاهش معنادار حلالیت آبی نمونه‌های فیلم کیتوزان گردید (۰/۰۵ < P). دلیل این کاهش را می‌توان افزایش خواص ممانعتی کیتوزان با استفاده از خاصیت آب‌گریزی نانو ذرات اکسید روی و اسانس آویشن بیان کرد که به علت عدم اتصال مولکول‌های آب به ماتریکس بیوپلیمر کیتوزان از طریق کاهش گروه‌های هیدروژنی آزاد جهت تشکیل پیوندهای آب‌دوست می‌باشد. دلیل دیگر ساختار دیسک مانند و یا فعل و انفعالات می‌تواند ناشی از تشکیل پیوند بین

1- Hydrophilic

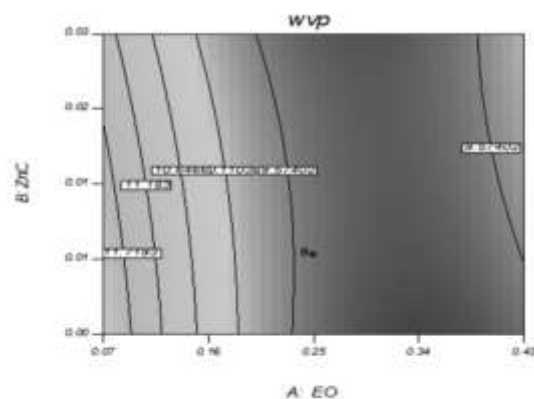
- 1- Morphology
- 2- Scanning Electron Microscope

کیتوزان، نانو ذرات و بهبود و تثبیت ساختار فیلم کیتوزان در نتیجه این پیوند باشد [۲۹].

انسجام و یکپارچگی فیلم افزایش یافته و مسیر عبور بخار آب طولانی و غیرمستقیم شده که در نتیجه باعث کاهش حساسیت به نفوذ بخار آب در فیلم های نانو کامپوزیتی می شود و از دلایل دیگر اثر دفع کننده ترکیبات غیرقطبی موجود در اسانس آویشن بر مولکول های آب دانست [۳۰]. نتایج حاصله از این تحقیق با نتایج سایر محققین مطابقت دارد [۳۱-۳۲].



شکل ۵- تأثیر اسانس آویشن (A) و نانوذرات اکسید روی (B) بر حلالیت آب فیلم های کیتوزان



شکل ۶- تأثیر اسانس آویشن (A) و نانوذرات اکسید روی (B) بر نفوذپذیری فیلم کیتوزان

۴-۵- میزان نفوذپذیری فیلم ها به بخار آب (WVP)

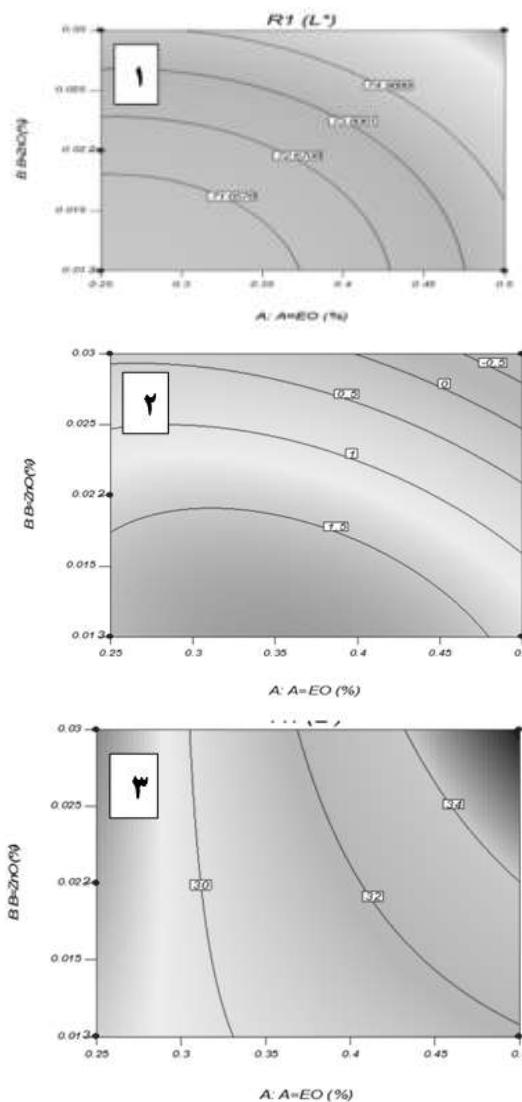
انتقال بخار آب از فیلم ها به دو عامل حلالیت و نفوذپذیری مولکول های آب در ماتریکس فیلم بستگی دارد. WVP یکی از شاخص های مهم فیلم های زیست تخریب پذیر می باشد که نقش مهمی را در واکنش های تخریبی مواد غذایی ایفا می کند. این شاخص به منظور بررسی اثر دو عامل غلظت های نانو ذرات اکسید روی و اسانس آویشن بر روی خواص ممانعتی فیلم کیتوزان مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در (شکل ۶) نشان داده شده است، غلظت های نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن بر نفوذپذیری به بخار آب فیلم کیتوزان تأثیر معنی داری دارد. به طوری که با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی و اسانس آویشن نفوذپذیری فیلم کاهش پیدا می کند، علت این امر می تواند واکنش بین مولکولی قوی کیتوزان با نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن باشد که نتیجه آن کاهش فواصل بین مولکولی و در نهایت تشکیل فیلم های فشرده تر می باشد که باعث کاهش نفوذپذیری به بخار آب نمونه های فیلم می شود. علت دیگر، وجود پیوندهای هیدروژنی بین مولکول های نانوذرات اکسید روی، کیتوزان و اتصالات عرضی قوی از نوع کووالانسی^۱ در ساختار پلیمر می تواند باشد که در نتیجه

۴-۶- آنالیز رنگ

در شکل (۷) بخش (۱) نتایج بررسی تأثیر غلظت های نانواکسید روی و اسانس آویشن بر روی شاخص L^* بخش (۲) بر روی شاخص a^* و بخش (۳) بر روی شاخص b^* را نشان می دهد. نتایج رنگ سنجی در (شکل ۷) بخش (۱) نشان می دهد فیلم کیتوزان خالص دارای ظاهری شفاف و به رنگ زرد بود که در نتیجه توافق خوبی با نتایج حاصل از تحقیق سایر محققان می باشد [۳۳-۳۴]. فیلم های نانو کامپوزیتی اختلاف معنی داری با نمونه شاهد (کیتوزان خالص) در تمام شاخص ها و نیز تغییرات کلی رنگ دارند. شاخص روشنایی L^* با افزایش غلظت نانواکسید روی کاهش و با افزایش غلظت اسانس آویشن افزایش پیدا می کند به طوری که در ۰/۵ درصد اسانس به بالاترین حد می رسد که می تواند ناشی از شفاف بودن اسانس مصرفی باشد. علت کدر شدن فیلم ها در غلظت بالای نانو اکسید روی

1- Covalent

می‌تواند مربوط به تجمع ذرات نانو اکسید روی در ماتریکس فیلم کیتوزان باشد که در بین زنجیره‌ها قرار گرفته و فیلم را کدر می‌کند که این موضوع می‌تواند در بسته‌بندی مواد غذایی که نسبت به نور حساس هستند و دچار اکسیداسیون می‌شوند و نیاز به پوشش‌های کدر و مات دارند، مفید باشد.



شکل ۷- تأثیر اسانس آویشن (A) نانوذرات اکسید روی (B) و بر شاخص روشنایی (۱) و شاخص a^* (۲) و شاخص b^* (۳) نمونه‌های فیلم کیتوزان اصلاح شده

۴-۶-۱- شاخص سبزی- قرمزی (a^*)

شکل (۷) بخش (۲) نشان‌دهنده شاخص a^* می‌باشد که میزان سبزی-قرمزی $x-x$ قرمزی نمونه‌ها را نشان می‌دهد به طوری که اعداد مثبت در شکل، نشان‌دهنده قرمزی و اعداد منفی در شکل، نشان‌دهنده سبزی نمونه‌ها می‌باشد. مشاهده می‌شود که نمونه‌ها در ابتدا دارای رنگ قرمز کم رنگ می‌باشند، اما با افزایش غلظت اسانس آویشن و نانوذرات اکسید روی رنگ نمونه‌های به رنگ سبز متمایل می‌شود که اعداد منفی گویای این مطلب می‌باشند.

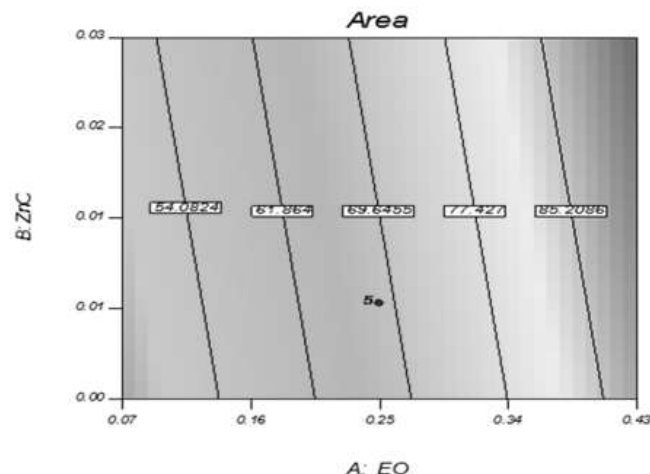
۴-۶-۲- شاخص آبی - زردی (b^*)

شکل (۷) بخش (۳) نشان‌دهنده شاخص b^* آبی-زردی $x-x$ زردی نمونه‌ها می‌باشد که ابتدا نمونه‌ها دارای رنگ زرد کم رنگ بوده و با افزایش غلظت اسانس آویشن و نانواکسید روی رنگ نمونه‌ها به سمت آبی متمایل می‌شوند. قابل ذکر است که کیتوزان دارای تک رنگ زرد می‌باشد.

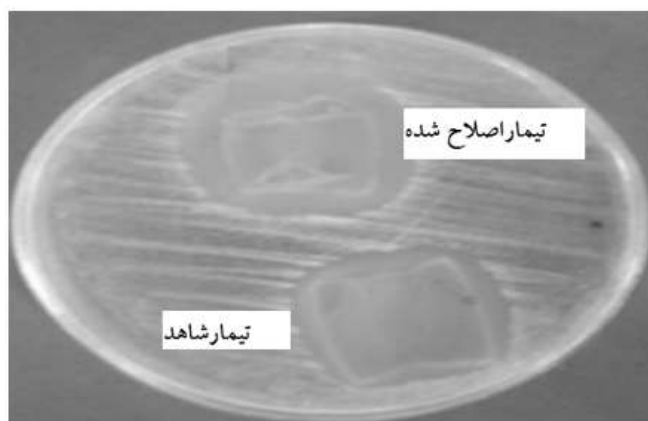
۵- خاصیت ضدباکتریایی فیلم‌ها

استفاده از فیلم‌های خوراکی و زیست تخریب برای آزادسازی ترکیبات ضد میکروبی به درون بسته‌بندی ماده غذایی، نوعی از بسته‌بندی فعال می‌باشد. شکل (۸) نتایج خاصیت ضد میکروبی فیلم شاهد و فیلم‌های مرکب را در برابر باکتری ایکولای نشان می‌دهد.

شکل (۹) نمونه‌ای از خاصیت بازدارندگی فیلم شاهد و فیلم اصلاح شده با غلظت اسانس ۰/۵ و نانو اکسید روی ۰/۳ درصد را نشان می‌دهد. با توجه به شکل، افزایش غلظت اسانس آویشن و نانو ذرات اکسید روی سبب افزایش خاصیت ضدباکتریایی در نمونه‌های فیلم کیتوزان گردید. زمانی که مواد ضد میکروبی به فیلم افزوده می‌شوند. این ترکیبات به درون آگار نفوذ می‌کنند و خواص ضد میکروبی را نشان می‌دهند. خاصیت ضد میکروبی فیلم کیتوزان شاهد به دلیل وجود



شکل ۸- تأثیر اسانس آویشن (A) و نانوذرات اکسید روی (B) بر خاصیت ضد میکروبی فیلم کیتوزان در برابر باکتری اشریشیا کلی



شکل ۹- بازدارندگی فیلم کیتوزان شاهد و فیلم اصلاح شده بر ضد اشریشیا کلی

شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ سلول می شود. فیلم های تولیدی از پتانسیل بالایی برای استفاده به عنوان بسته بندی زیست تخریب مواد غذایی دارا می باشند و از این خاصیت می توان برای افزایش عمر نگهداری مواد غذایی توسط این بسته بندی ها استفاده کرد [۳۵].

۶- ارزیابی خواص مکانیکی فیلم ها

برای اندازه گیری ویژگی های مکانیکی از فیلم های بهینه استفاده شد. برای دستیابی به فیلم بهینه از نتایج به دست آمده از آزمون های نفوذ پذیری، خاصیت ضد میکروبی و ویژگی های رنگی استفاده شد. فیلم کیتوزان خالص به

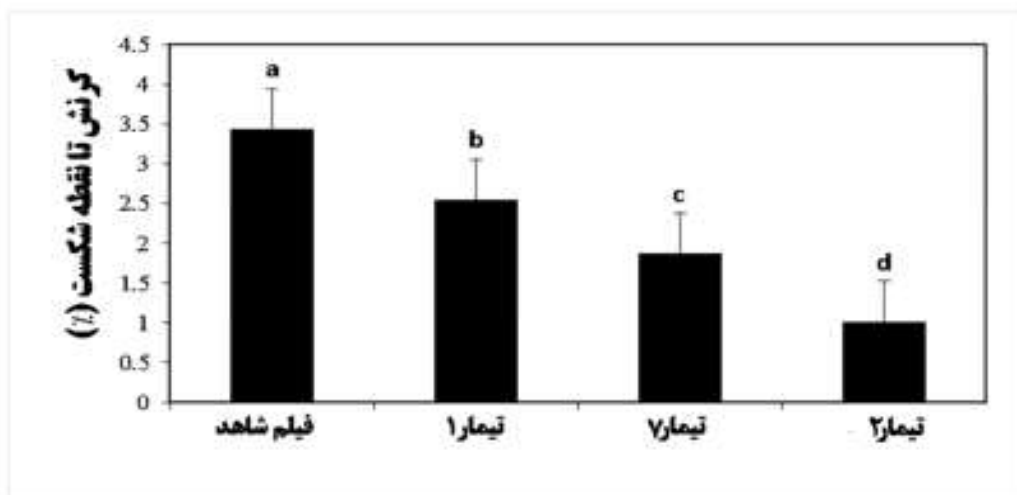
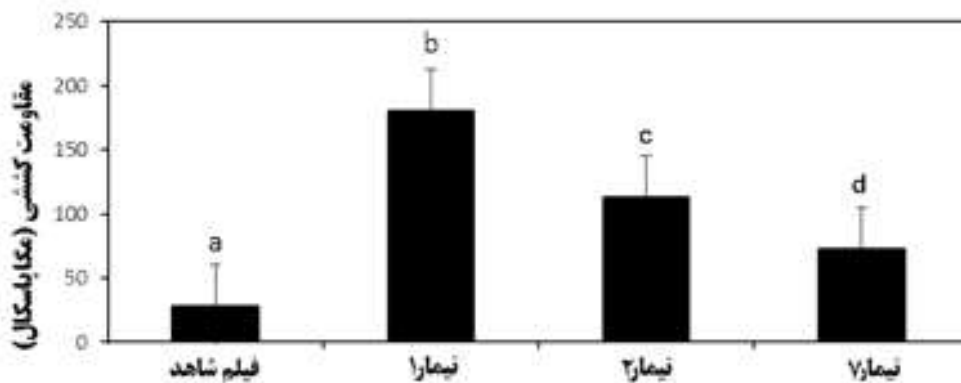
گروه های آمینی با بار مثبت می باشد و افزودن غلظت های نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن به ماتریکس فیلم، سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی فیلم های کیتوزان گردید. خاصیت ضد میکروبی نانو اکسید روی از طریق تخریب دیواره سلولی باکتری بوده و خاصیت ضد میکروبی اسانس آویشن به دلیل وجود دو ترکیب تیمول^۱ و کارواکرول^۲ می باشد که غشاء خارجی میکروارگانیسم ها را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاری ها و افزایش نفوذ پذیری غشاء سیتوپلاسمی به ATP می شود. خروج ATP منجر به تمام

- 1- Thymol
- 2- Carvacrol

یکنواخت نانو ذرات اکسید روی در ماتریکس پلیمری کیتوزان، برهم کنش قوی بین کیتوزان و نانو اکسید روی از طریق پیوند یونی و تشکیل پیوندهای جدید و قوی بین کیتوزان و نانوذرات اکسید روی باشد.

بخش (۲) کرنش در نقطه شکست (Stb) فیلم شاهد و نمونه‌های فیلم بهینه اصلاح شده با نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن را نشان می‌دهد. با توجه به شکل، فیلم شاهد بالاترین Stb را نسبت به فیلم‌های نانوکامپوزیتی بهینه دارا می‌باشد. کرنش تا نقطه شکست معیاری برای انعطاف‌پذیری فیلم می‌باشد، بنابراین فیلم شاهد بالاترین انعطاف‌پذیری را دارا می‌باشد. نتایج دیگری از بهبود خواص مکانیکی و افزایش مقاومت کششی فیلم‌های

عنوان فیلم شاهد مورد استفاده قرار گرفت. شکل (۱۰) بخش (۱) مقاومت کششی بخش (۲) کرنش تا نقطه شکست نمونه‌های فیلم را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده نشان‌دهنده افزایش مقاومت کششی و در اثر افزودن نانو ذرات اکسید روی و اسانس آویشن به درون ماتریکس پلیمری می‌باشد. با توجه به (بخش ۱) تیمار شاهد مقاومت کششی کمتری نسبت به نمونه‌های نانوکامپوزیتی دارا می‌باشد. بیشترین مقدار مقاومت کششی (Ts) و مدول الاستیک به ترتیب مربوط به تیمار ۱ (۰٪ اسانس آویشن - ۰.۳٪ نانو اکسید روی)، تیمار ۲ (۰.۵٪ اسانس آویشن - ۰.۳٪ نانو اکسید روی) و تیمار ۳ (۰.۵٪ اسانس آویشن - ۰٪ نانو اکسید روی) می‌باشد. علت این امر می‌تواند پراکندگی



شکل ۱۰- بخش (۱) مقاومت کششی بخش (۲) ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم شاهد و فیلم‌های اصلاح شده با نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن

1- Tensile Strenght

- applications in food science.” J. Fd. Proc. Bev. 1.13.
4. Je J. and Kim S., (2006) **“Chitosan derivatives killed bacteria by disrupting the outer and inner membrane,”** Journal of Agricultural Food Chemistry, vol. 54, pp. 6629–6633.
 5. Rabea E.I., Badawy M.E.-T., Stevens C.V., Smaghe G., and W. S., (2003). **“Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action,”** Biomacromolecules, vol. 4, pp. 1475–1465.
 6. Zeng, L., Jiang, Y., Ding, Y., Pove, D. (2007). **“Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of zno nanoparticles.”** Journal of nanoparticles research, 9, 479-489.
 7. Davidson PM, Zivanovic S. (2003). **“The use of natural antimicrobials. In: Food preservation techniques.”** Woodhead Publishing Limited and CRC Press. 1st ed. CRC press: Washington; 5-8.
 8. Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. (2001). **“Impedance measurement to study antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae.”** International Journal of Food Microbiology, 67, 187–195.
 9. Pasquini, D., Teixeira, E. M., Curvelo, A.S., Belgasem, M. N., & Dufresne, A. (2008). **“Surface esterification of cellulose Fibres: Processing and Characterisation of low – density polyethylene / cellulose fibres composites.”** Composites Science & Technology. 68:193-201.
 10. Peng, Y., Wu, Y., and Li, Y. (2013). **“Development of tea extracts and chitosan composite film for active packaging materials.”** International journal of

بیوپلیمری در اثر افزودن نانوذرات گزارش شده است [۳۶-۳۷].

۷- نتیجه گیری

به کارگیری نانو ذرات و اسانس های گیاهی باعث بهبود عملکرد کلی بیوکامپوزیت کیتوزان بوده و عاملی برای گسترش استفاده از آن به عنوان بسته بندی زیست تخریب پذیر می باشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، افزودن درصد های مختلف نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن موجب بهبود خصوصیات فیزیکی، ساختاری و عملکردی فیلم کیتوزان گردید. تعامل مناسب بین کیتوزان و نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن، باعث کاهش نفوذ پذیری به بخار آب فیلم کیتوزان و حلالیت آبی فیلم کیتوزان گردید. با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی و اسانس آویشن خصوصیات ممانعتی فیلم کیتوزان بهبود یافت، شفافیت فیلم کیتوزان با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی کاهش یافته ولی افزایش غلظت اسانس آویشن موجب افزایش شفافیت شد. نتایج حاصل از ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی نانو کامپوزیت ها نشان داد که افزایش غلظت نانو ذرات و اسانس موجب افزایش خاصیت ضد میکروبی گردید. بررسی خواص مکانیکی هم نشان داد که افزودن نانوذرات اکسید روی به ماتریکس فیلم کیتوزان باعث افزایش مقاومت کششی و کاهش کرنش تا نقطه شکست در نمونه های فیلم نسبت به اسانس آویشن گردید.

۸- منابع

1. Ghanbarzadeh, B., Almasi, H. (2011). **“Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid.”** International Journal of Biological Macromolecules, 48,44-49.
2. Teng, B , k. G. (2012). **“Formation and properties of clay-polymer complexes,”** 2nd ed., Vol. 4. Amsterdam: Elsevier, 2012.
3. Luo, Y ., and Wang. Q . (2013). **“Recent advances of chitosan and its derivatives for novel**

- characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film.**" *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1098-1104.
18. Zhang, Y., Kohler, N., & Zhang, M. (2002). "Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake." *Biomaterials*, 23(7), 1553-1561.
 19. Rosanny, S. C., Sarmento, M. V., Nogueira, F. A., Tonholo, J., Mortimer, R. J., Faez, R., & Ribeiro, A. S. (2014). "Enhancing the electrochromic response of polyaniline films by the preparation of hybrid materials based on polyaniline, chitosan and organically modified clay." *RSC Advances*, 4(29), 14948-14955.
 20. Yavuz, A. G., Uygun, A., & Bhethanabotla, V. R. (2009). "Substituted polyaniline/chitosan composites: Synthesis and characterization." *Carbohydrate Polymers*, 75(3), 448-453.
 21. Xu, X. H., Ren, G. L., Cheng, J., Liu, Q., Li, D. G., & Chen, Q. (2006). "Self-assembly of polyaniline-grafted chitosan/glucose oxidase nanolayered films for electrochemical biosensor applications." *Journal of materials science*, 41(15), 4974-4977.
 22. Hong R. Y., Li J. H., Chen L. L., Liu D. Q., Li H. Z., Zheng Y. and Ding J., (2009) "Synthesis, surface modification and photocatalytic property of ZnO nanoparticles", *Powder Technol.*, 13, pp. 426-432.
 23. Hong R. Y., Chen L. L., Li J. H., Li H. Z., Zheng Y. and Ding J., (2007). "Preparation and application of polystyrene-grafted ZnO biological macromolecules 59, 282- 289.
 11. Mogadas Kia, E., Alizadeh, M., Wrdast, M., Rezazad, M. (2016). "Synthesis of nanoplimate of absorbent surface molecular mold Cholesterol based on magnetic iron-silica particles and functional properties review," *Urmia Medical Journal Twenty-seventh volume*, 3, 231-239..
 12. Casariego, A., Souza, B., Cerqueira, M., Texeira, J., Cruz, Diaz, R., and Vicente, A. (2009). "Chitosan/clay films properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticales concentration." *Food Hydrocolloids* 23, 1895- 1902.
 13. Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., Miraki, R. (2013). "Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles." *International journal of biological macromolecules*, 54, 166-173.
 14. Saadatmand, M., Yazdanshenas, M., Rezaie Zarachi, S., Yousefi Tellouri, B. (2012). "Antimicrobial activity of chitosan-TiO₂ nanocomposite and its application on hospital sterilized gas." *Journal of Experimental Sciences*. Spring and Summer, 6, 1: 59-62.
 15. Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., & Zou, X. (2004). "Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles." *Carbohydrate research*, 339(16), 2693-2700.
 16. Abdeen, Z., & Mohammad, S. G. (2013). "Study of the adsorption efficiency of an eco-friendly carbohydrate polymer for contaminated aqueous solution by organophosphorus pesticide." *Open Journal of Organic Polymer Materials*, 4(1), 16-28.
 17. Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G., & Leng, X. (2011). "Fabrication and

- incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan.**" Journal of Food Engineering, 111(2), 343-350.
33. Rhim, J. W., Hong, S. I., Park, H. M., & Ng, P. K. (2006). "Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity." Journal of agricultural and food chemistry, 54(16), 5814-5822.
 35. Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F. (1999). "In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils." Applied Microbiology, 29, 130-135.
 36. Rhim, J. W. (2011). "Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films." Carbohydrate polymers, 86(2), 691-699.
 37. Chen, M. C., Yeh, G. H., & Chiang, B. H. (1996). "Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative." Journal of Food Processing and Preservation, 20, 379-390.
 - nanoparticles", Polym. Adv. Technol., 18, pp. 901-909.
 24. Shafei A, Abou-Okeil A. (2011). "ZnO/carboxymethyl chitosan bionano-composite to impart antibacterial and UV protection for cotton fabric." Carbohydr Polym.; 83(2):920-5.
 25. Roselli M, Finamore A, Garaguso I, Britti MS, Mengheri E. (2003). "Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by Escherichia coli." J Nutr; 133(12):4077-82.
 26. Wang, G. H. (1992). "Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan." Journal of Food Protection, 55 (11), 916-919.
 27. Pranoto, Y., Rakshit, S. K., & Salokhe, V. M. (2005). "Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin." LWT, 38, 859-865.
 28. 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.
 29. Garcia, M.A., Pinotti, A., Martino, M.N., and Zaritzky, N.E. (2004). "Characterization of composite hydrocolloid films." Carbohydrate Polymer, 56: 339-345.
 30. Rhim, J. W., & Kim, Y. T. (2014). "Biopolymer-based composite packaging materials with nanoparticles." In Innovations in Food Packaging (Second Edition) (pp. 413-442).
 31. Casariego, A., Souza, B., Cerqueira, M. M., Texeira, J., Cruz, Diaz, R., and Vicente, A. (2009). "Chitosan/clay films properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticales concentration." Food Hydrocolloids 23(7), 1895-1902.
 32. Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). "A novel active bionanocomposite film

آدرس نویسنده

تهران- صفادشت- میدان نبی اکرم(ص)-
 بلوار الغدیر دانشگاه آزاد اسلامی واحد
 صفادشت- کد پستی ۳۱۶۴۳۴۸۶۵۸