

(مقاله پژوهشی)

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

اسماعیل عطای صالحی^{۱*}، مریم سلطانی^۱

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

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۹

چکیده

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

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

*مسئول مکاتبات: eatayesalehi@yahoo.com

۱- مقدمه

دارای ارزش غذایی بوده و از فساد و آلودگی میکروبی جلوگیری می نمایند. افزایش زمان انبارداری میوه ها و سبزی ها، حفظ ظاهر مواد غذایی، جلوگیری از جذب رطوبت مواد غذایی و در نهایت جلوگیری از افت ترکیبات مغذی در اثر واکنش هایی مانند اکسایش از دیگر مزایای این پوشش ها است (۱۰). کیتین و کیتوزان از جمله ترکیب های طبیعی هستند که خواص ضد میکروبی آن ها توسط محقق های مختلف به اثبات رسیده است (۱). کیتین ساختاری بلوری، سخت و سفید رنگ دارد که به وفور در پوسته سخت پوستان، حشرات و میسلیم قارچ یافت می شود. محدوده وسیعی از میکروارگانیسم ها شامل باکتری های گرم مثبت، گرم منفی و کپک ها به کیتین حساس هستند (۲). بنابراین پژوهش حاضر با هدف تهیه پوشش خوراکی بر پایه زئین در حضور سطوح مختلف نانو ذرات کیتین و بررسی خصوصیات ساختاری و آنتی باکتریایی آن انجام گرفت.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه مواد

پودر زئین از شرکت سیگما-آلدریج، گلیسرول از شرکت مارک آلمان، پلی اتیلن گلاکول ۴۰۰۰ و اتانول ۹۶ درصد از شرکت دکتر مجللی ایران و سوش های باکتریایی اشیشا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس از بانک سوش باکتری دانشگاه علوم پزشکی گرگان تهیه شد. همچنین برای بررسی مورفولوژی و اندازه نانو ذرات از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Philips و XL30 ساخت کشور هلند و به منظور بررسی توزیع اندازه ذرات از دستگاه پراش دینامیکی نور (DLS) مدل Malvern ساخت کشور انگلیس استفاده شد. جهت طیف سنجی فیلم ها از طیف سنج مدل Spectrum RXI ساخت شرکت Perkin Elmer آمریکا استفاده شد و طیف های جذبی در گستره $4000-500 \text{ cm}^{-1}$ در تفکیک پذیری 5 cm^{-1} تعیین گردید

در سال های اخیر کاربرد پلیمرهای طبیعی مانند پلی لاکتیک اسید و زئین به همراه نانو ذرات برای افزایش خواص مکانیکی، فیزیکی و همچنین افزایش فعالیت ضد میکروبی در صنایع بسته بندی مورد توجه قرار گرفته است. با این حال مواد بسته بندی طبیعی که هم زمان مقاومت خوبی را دارا بوده و فعالیت ضد میکروبی قوی را ایجاد کنند، بسیار کم هستند. نانو ذرات از جمله موادی با عملکرد عالی هستند که فعالیت های ضد میکروبی آن ها مورد توجه قرار گرفته است. زئین بیوپلیمری نسبتا آب گریز با خواص ترموپلاستیکی می باشد که قابلیت تولید فیلم دارد. تانر و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر پوشش خوراکی زئین ذرت بر خواص کیفی زرد آلو را طی ۱۰ ماه ذخیره سازی در دماهای ۵ و ۲۰ درجه سانتی گراد را بررسی کردند و گزارش نمودند که بر اثر پوشش دهی تغییرات رنگ و شمارش کل باکتری های زنده در نمونه های پوشش دهی شده با زئین به میزان قابل ملاحظه ای در مقایسه با کنترل کاهش یافت (۹). کیتین موکوپلی ساکاریدی سفید، سخت و غیر الاستیک است که به سهولت از خرجنگ، میگو و میسلیم قارچ ها قابل تهیه است (۶). نانو ذرات کیتین دارای خواص ضد قارچی بوده و می توانند خواص ممانعت کنندگی فیلم ها و پوشش های خوراکی را افزایش دهند (۷). فیلم های حاصل از ترکیب نانو مواد و بیوپلیمرها و یا به اصطلاح نانو کامپوزیت های بیوپلیمری خواص کاربردی مطلوب تری از خود نشان می دهند که مهمترین آن ها افزایش مقاومت مکانیکی و کاهش نفوذ پذیری نسبت به بخار آب است. افزایش بازدارندگی در برابر نفوذ گازها، افزایش کارایی فیلم در استفاده به عنوان بسته بندی فعال، افزایش مقاومت حرارتی ماده بسته بندی و ایجاد شفافیت و بهبود خواص ظاهری فیلم از دیگر مزایای نانو کامپوزیت های بیوپلیمری می باشد (۸). همچنین به دلیل زیست تخریب پذیر بودن برخلاف فیلم های سنتزی باعث آلودگی محیط زیست نمی شوند و نیز

۲-۱-۱- تهیه ذرات نانوکیتین

برای تهیه ذرات نانوکیتین از روش آسیاب استفاده شد. برای این منظور ابتدا ۱۰ گرم از پودر میکرو فیبرهای کیتین به آب مقطر دیونیزه افزوده شد تا سوسپانسیون با غلظت یک درصد وزنی از میکرو فیبرها تهیه شود. سپس این سوسپانسیون برای مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق هم زده شد. در ادامه سوسپانسیون تهیه شده در داخل دستگاه آسیاب مکانیکی ریخته شده و ۱۵ سیکل با نرخ جریان ۱۰ لیتر بر دقیقه عبور داده شد تا ژل نانو ذرات کیتین تهیه شد. آنگاه سوسپانسیون به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد تا ژل نانو ذرات کیتین تهیه گردید.

۲-۱-۲- آماده سازی محلول نانوکیتین

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

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

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

۲-۱-۴- تولید فیلم زیست نانوکامپوزیتی ژئین

مطابق روش نانوکیتین بعد از اضافه کردن گلیسرول و پلی اتیلن گلیکول به محلول ژئین اضافه گردید و به مدت ۸ دقیقه عمل هم زدن به منظور پخش یکنواخت ذرات نانوکیتین صورت گرفت و فیلم مانند روش قبل خشک شد. فیلم های ژئین-نانوکیتین با میزان ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۷ درصد بر اساس وزن خشک ژئین آماده گردید.

R= نمونه شاهد

A= نمونه ژئین + ۰/۲٪ نانو کیتین

B= نمونه ژئین + ۰/۵٪ نانو کیتین

C= نمونه ژئین + ۰/۷٪ نانو کیتین

۲-۲- بررسی ویژگی های سطح شکست فیلم ها با استفاده**از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)**

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

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

جهت طیف سنجی فیلم ها از اسپکتروفوتومتر مدل Spectrum RXI ساخت شرکت Perkin Elmer آمریکا استفاده شد و طیف های جذبی در گستره ۴۰۰-۴۰۰۰ cm^{-۱} و در تفکیک پذیری ۴ cm^{-۱} تعیین گردید.

۲-۴- آزمون های بیولوژیکی**۲-۴-۱- استریل کردن فیلم ها**

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

۲-۴-۲- فعال سازی سوش های باکتریایی

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

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

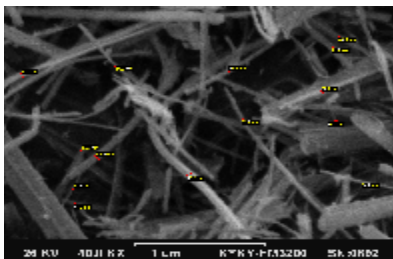
از طرح کاملاً تصادفی و آنالیز واریانس یک طرفه و زیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و در نهایت گروه بندی میانگین‌ها به کمک آزمون دانکن در سطح (۵ درصد) انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی نانو ذرات کیتین

۳-۱-۱- شکل شناسی و بررسی اندازه نانو ذرات کیتوزان

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



شکل ۱- تصویر SEM مربوط به نانو ذرات کیتین در مقیاس

۵۰۰nm

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

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

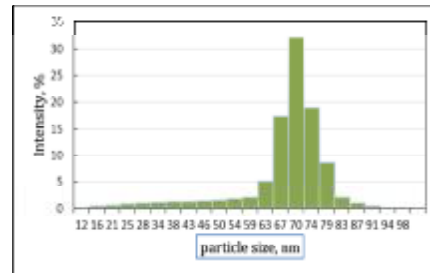
به منظور بررسی توزیع اندازه متوسط قطر نانو ذرات ساخته شده از دستگاه DLS استفاده گردید. شکل ۲ درصد فراوانی نانو ذرات کیتین را به عنوان تابعی از اندازه متوسط قطر نانو ذرات نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود بیشترین فراوانی نانو ذرات کیتین دارای قطر متوسطی حدود 70nm می‌باشند.

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

۲-۴-۳- ارزیابی خواص ضد باکتریایی فیلم نانو کامپوزیت

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

در این مطالعه از روش ریخته گری جهت تهیه فیلم ها استفاده شده است، از مزایای مهم این روش تهیه فیلم می توان به کم هزینه بودن، تهیه آسان، سهولت دسترسی مواد مورد آزمایش و تبخیر سریع حلال می توان اشاره کرد.



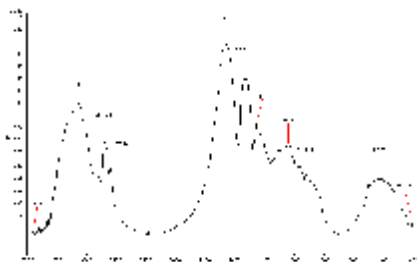
شکل ۲- توزیع اندازه ذرات نانو کتین توسط دستگاه DLS

۲-۳- آماده سازی فیلم های نانو کامپوزیت زئین

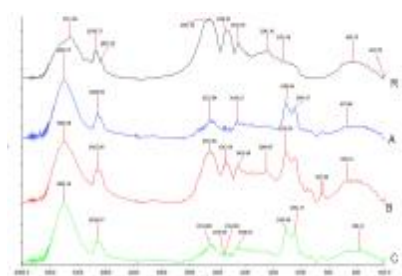


شکل ۳- فیلم شاهد و نانو مواد با درصد های مختلف

با اکسیژن گروه هیدروکسیل نانو کتین و همچنین برهم کنش و هیدروژن متصل به آمید و هیدوکسیل کتین با اکسیژن های آمینو اسید های موجود در پروتئین زئین می باشد است که پیوند هیدروژنی برقرار شده و با همدیگر برهم کنش داده اند که منجر به جابجایی شده است.



شکل ۴- طیف FT-IR فیلم زئین



شکل ۵- طیف FT-IR فیلم زئین و فیلم های حاوی نانوالیاف کتین

همان طور که در شکل ۳ ملاحظه می شود از مقایسه فیلم زئین خالص با بیوکامپوزیت های حاوی زئین و نانو کتین شفافیت کامپوزیت ها تغییر چندانی نکرده است که این دلالت بر آن دارد که ذرات نانو به طور یکنواخت و خوب در ماده زمینه زئین پخش شده و تشکیل کلوخه و تجمع نداده اند و ذرات افزوده شده (نانو کامپوزیت زئین و نانو کتین) در ابعاد نانو بوده که سبب کدری فیلم ها نشده است.

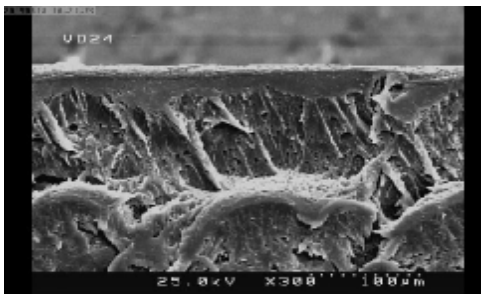
۳-۳- طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوری به FTIR

با توجه به شکل ۴ در طیف جذبی زئین خالص دو پیک شاخص دارد این دو پیک مربوط به 3311 و 1251 cm^{-1} می باشد که پیک 3311 cm^{-1} مربوط به پیوندهای آمین (N-H) با شدت نسبتاً خوب است و پیک 1251 cm^{-1} مربوط به پیوندهای آمینی (C-N) با شدت متوسط می باشد ضمناً پیک مربوط به گروه کربونیل آمیدی زئین در ناحیه cm^{-1} ۱۶۵۵ مشخص است در شکل ۵ همانطور که قابل مشاهده است برای فیلم های نانو کامپوزیتی حاوی نانو کتین پیک ها از اعداد موجی 3311 به 3399 cm^{-1} و از 1251 به 1259 cm^{-1} جابجا شده اند که ناشی از برهم کنش هیدروکسیل کتین با گروه های کربونیل (CO) و هیدروژن آمیدی زنجیره پروتئین

۳-۴- آنالیز میکروسکوپی الکترونی روبشی

از تصاویر SEM برای بررسی میزان سازگاری نانو ذره کیتین و توزیع و پراکنش ذرات در بستر پلیمر استفاده شد. همان طوری که در شکل ۶ مشاهده می شود نانو ذرات کیتین در سطح بستر پلیمر به خوبی پراکنده می باشند و فواصل و حفره های اطراف نانو ذره کیتین با بستر پلیمری زئین مشاهده نمی شود که این چسبندگی را همانطور که قبلا توضیح داده شد می توان ناشی از بر هم کنش بین گروه های عاملی نانو کیتین (هیدورکسیل و گروه آمیدی) با گروه های عاملی زنجیر زئین که خود دارای گروه های عاملی آمیدی ناشی از آمینو اسیدها می باشد ناشی دانست. لکه سفید مشخص شده می تواند یا ناشی از ناخالصی حین تهیه تصویر باشد یا اینکه در قسمتی از سطح پلیمر نانو کیتین ها تشکیل کلوخه داده و از هم دیگر خوب تفکیک نشده اند. این تجمع و کلوخه شدن را در درصد های بیشتر نانو کیتین ۱ درصد می توان در شکل ۷ مشاهده نمود. وجود حفره مشاهده شده در تصاویر می تواند ناشی از خروج حلال به هنگام تبخیر و خشک شدن از قسمت های درونی نمونه فیلم باشد.

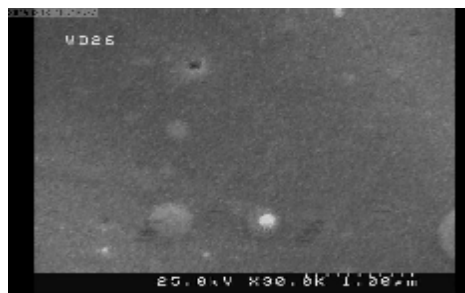
در شکل ۷ تصویر شکست سطح مقطع فیلم نمایش داده شده است همان طوری که در تصویر مشخص می باشد اطراف نانو کیتین را به مقدار زیادی پلیمر زئین در بر گرفته و نانو ذره از داخل پلیمر بیرون نرزه است بلکه اطراف نانو کیتین پلیمر چسبیده شده که همان طوری که بیان شد ناشی از چسبندگی خوب نانو کیتین به بستر پلیمری است اما حضور حفره و شکاف در شکل می تواند ناشی از خروج حلال بعد از تهیه نانو کامپوزیت باشد که بعد از فرار و تبخیر حلال از درون بستر پلیمر جای آن حفره ایجاد شده است که در صورت تهیه فیلم به روش مذاب و نه ریخته گری به روش اکسترودر این مشکل برطرف خواهد شد.



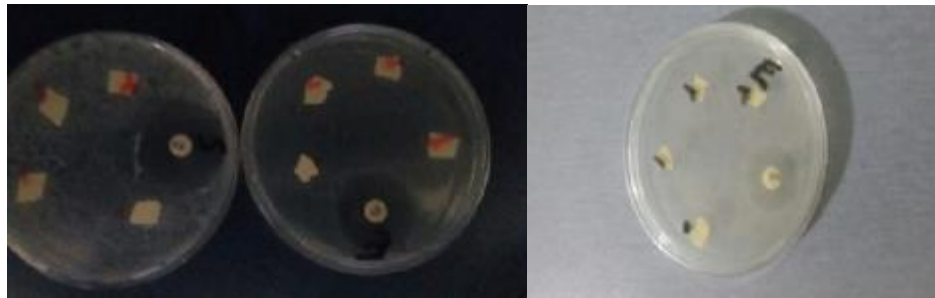
شکل ۷- تصویر الکترونی روبشی فیلم نانو کامپوزیت حاوی ۰/۷ درصد نانو کیتین تصاویر از سطح شکست نمونه

۳-۵- آنالیز ضد میکروبی فیلم های نانو کامپوزیت

نتایج آزمون عدم هاله رشد برای فیلم نانو کامپوزیت های مختلف در شکل ۸ نشان داده شده است همان طوری که در شکل مشخص می باشد در اطراف تمام نمونه های حاوی نانو کامپوزیت و نمونه حاوی آنتی بیوتیک ایجاد هاله عدم رشد باکتری مشخص می باشد که ملاک مقایسه خاصیت آنتی باکتریالی اندازه این هاله می باشد و نشان می دهد که وجود نانو کیتین در فیلم همانند آنتی بیوتیک باعث خاصیت آنتی باکتریالی نمونه های فیلم زین شده است.



شکل ۶- تصویر الکترونی روبشی فیلم نانو کامپوزیت حاوی ۰/۷ درصد نانو کیتین تصاویر از سطح نمونه



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

از نانو ذره در فیلم برای دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به صورت کلی با هم اختلاف معنی داری ندارند.

نتایج جدول ۱ نشان می دهد که اگر چه با افزایش مقدار نانو کیتین در زین مقدار قطر هاله عدم رشد افزایش داشته است ولی تفاوتی بین میانگین قطر هاله ممانعت از رشد حاصل

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

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

لایه پلیمری غیر قابل نفوذ روی سطح از انتقال مواد مغذی ضروری به درون سلول جلوگیری کرده و باعث مرگ سلولی می شود (۳). از آن جایی که آبدوستی باکتری گرم منفی بیشتر می باشد حساسیت آن به کیتین افزایش می یابد. غشای باکتری گرم منفی مانند اشرشیاکلی از لیپوساکاریدهای حاوی گروه های فسفات و پیروفسفات تشکیل شده که باعث منفی شدن بار سطحی سلول می شود. دیواره سلولی می تواند از طریق برهم کنش الکترواستاتیکی به کیتین متصل شده و هر چه مقدار کیتین بیشتر باشد تغییرات ایجاد شده در ساختار و نفوذ پذیری غشایی سلولی بیشتر خواهد شد (۴). تمام این ملاحظات با این شواهد که فعالیت ضد میکروبی فیلم نانوکیتین در برابر اشرشیاکلی بیشتر از استافیلوکوکوس است مطابقت دارد.

آنالیز داده ها نشان داد که نانو فیلم حاوی ۰/۷ درصد وزنی نانو کیتین (تیمار C) بیشترین اثر بازدارندگی را بر اشرشیاکلی داشت. در باکتری اشرشیاکلی اثر بازدارندگی مقدار ۰/۷ درصد نانو کیتین در فیلم نانو کامپوزیت زین با اثر بازدارندگی جنتامایسین بر این باکتری تقریباً یکسان بود و تفاوت معنی داری نشان نداد. در مورد باکتری اشرشیاکلی تاثیر بازدارنده در مقدار ۰/۷ درصد نانو کیتین در فیلم بیشتر از جنتامایسین بود ولی در مقادیر ۰/۲ و ۰/۵ درصد نانو کیتین در فیلم تفاوت معنی داری نشان نداد. مطالعات نشان می دهد کیتین به علت داشتن گروه های آمیدی دارای بار مثبت و غشاهای سلولی بار منفی بر هم کنش دارد که منجر به تراوش مواد پروتئینی و دیگر مواد درون سلولی میکروارگانیسم ها می شود (۵). همچنین گمان می رود که کیتین با تشکیل یک

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

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

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

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

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

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

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

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

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

۴- نتیجه گیری

از مقایسه فیلم زئین خالص با بیوکامپوزیت های حاوی زئین و نانوکیتین شفافیت کامپوزیت ها تغییر چندانی نکرده است که این دلالت بر آن دارد که ذرات نانو به طور یکنواخت و خوب در ماده زمینه زئین پخش شده و تشکیل کلوخه و تجمع نداده اند و ذرات افزوده شده (نانوکامپوزیت زئین و نانوکیتین) در ابعاد نانو بوده که سبب کدوری فیلم ها نشده است. این چسبندگی را می توان ناشی از برهم کنش بین گروه های عاملی نانو کیتین (هیدورکسیل و گروه آمیدی) با گروه های عاملی زنجیر زئین که خود دارای گروه های عاملی آمیدی ناشی از آمینو اسیدها می باشد ناشی دانست. آنالیز داده های مربوط به آزمون آنتی باکتریالی نشان داد که نانو فیلم حاوی ۰/۷ درصد وزنی نانو کیتین (تیمار C) بیشترین اثر بازدارندگی را بر اشرشیاکلی داشته است همچنین تیمار حاوی ۰/۷ که تفاوت آن با باکتری استافیلوکوکوس با فیلم حاوی ۰/۲ درصد نانو کیتین معنی دار بود. در باکتری اشرشیاکلی اثر بازدارندگی مقدار ۰/۷ درصد نانو کیتین در فیلم نانو کامپوزیت زئین با اثر بازدارندگی جنتامایسین بر این باکتری تقریباً یکسان بود و تفاوت معنی داری نشان نداد. در مورد باکتری اشرشیاکلی تاثیر بازدارنده در مقدار ۰/۷ درصد نانو کیتین در فیلم بیشتر از جنتامایسین بود ولی در مقادیر ۰/۲ و ۰/۵ درصد نانو کیتین در فیلم تفاوت معنی داری نشان نداد.

۵- منابع

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

(Original Research Paper)

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

Esameil Ataye Salehi^{1*}, Maryam Soltani¹

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

Received:19/01/2019

Accepted:18/05/2019

Abstract

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

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

*Corresponding Author: eatayesalehi@yahoo.com