

تهیه فیلم نانوکامپوزیت سلولز باکتریایی/ پلی پیرول - اکسید روی و بررسی ویژگی‌های فیزیکی مکانیکی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن

سجاد پیرسا^{۱*}، توحید شموسی^۲، احسان مقدس کیا^۳

۱- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول (s.pirsa@urmia.ac.ir & pirs7@gmail.com)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه غیرانتفاعی آفاق ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی مراغه، ارومیه، ایران

چکیده

در این تحقیق نانوذرات پلی پیرول (PPy) و نانوکامپوزیت پلی پیرول-اکسید روی (PPy-ZnO) به روش شیمیایی روی فیلم سلولز باکتریایی در حضور کلرید آهن ۳ سنتز و فیلم‌های هادی الکتریسته تهیه شد. اندازه، شکل و مورفولوژی ذرات سنتز شده با استفاده از تکنیک میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان دادند پلی پیرول‌های سنتز شده کروی شکل و در ابعاد ۵۰-۱۵۰ نانومتر می‌باشند در حالی که ذرات نانوکامپوزیت پلی پیرول-اکسید روی دانه‌ای شکل بوده و در ابعاد ۳۰-۱۲۰ نانومتر می‌باشند. خواص مکانیکی شامل کرنش تا نقطه شکست و مقاومت کششی، خواص ضد میکروبی و ضد قارچی (باکتری اشرشیاکلی و قارچ اسپرژیلوس نایجر) و نیز خاصیت آنتی اکسیدانی و هدایت الکتریکی فیلم‌های تهیه شده مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج به دست آمده نشان داد که در پی اضافه کردن پلی پیرول مقاومت الکتریکی کاهش یافت در نتیجه جریان الکتریکی فیلم‌ها افزایش یافت. افزودن نانوذرات (پلی پیرول و اکسید روی) باعث تضعیف خواص مکانیکی (کرنش در نقطه شکست و مقاومت کششی) شده و استحکام کششی کاهش یافت. قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد فیلم سلولز باکتریایی با افزودن اکسید روی به طور قابل توجهی افزایش یافت. سنتز و افزایش زمان سنتز پلی پیرول روی فیلم سلولز تأثیر مثبت در ایجاد خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی فیلم‌ها داشت ولی نانوذرات اکسید روی بیشتر روی خاصیت ضد قارچی مؤثر می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۳۱

واژه‌های کلیدی

اکسید روی

پلی پیرول

خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی

سلولز باکتریایی

نانوساختار

مقدمه

(2008). سلولز باکتریایی^۱ یکی از پلیمرهای زیست تخریب پذیر می‌باشد که اخیراً در زمینه بسته بندی مواد غذایی و تولید بسته بندی‌های زیست تخریب پذیر و فعال، کاربرد بسیار زیادی پیدا کرده است. سلولز باکتریایی، پلی ساکاریدی میکروبی است که از ویژگی‌های منحصربه فردی برخوردار می‌باشد و توجه بسیاری از

افزایش تولید و حجم مصرف پلاستیک‌ها و پلیمرهای نفتی در زندگی روزمره بشر، منجر به تجمع حجم عظیمی از ضایعات پلاستیکی غیر قابل تجزیه شده و سبب ایجاد مشکلات زیست محیطی گسترده‌ای گردیده است. راه حل بنیادی برای حل مشکل زباله‌های پلیمری، تولید پلیمرهای زیست تخریب پذیر است (Siracusa et al.,

¹ Bacterial Cellulose

صنعتی شده است. همچنین اخیراً فعالیت‌های ضدسرطانی نانوکامپوزیت اکسید روی گزارش شده است (Attarad *et al.*, 2016). پلیمرهای رسانای الکتریکی به دلیل کاربردهای متعدد آنها نظیر باتری‌های قابل شارژ، پوشش‌های سطح، محافظ امواج الکترومغناطیسی، حسگرها، عضله‌های مصنوعی و پزشکی و نیز فیلم‌های هادی جریان جهت بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی به شدت مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار دارند. از جمله کاربردهای فیلم‌های رسانای الکتریکی می‌توان به بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی مانند بسته‌بندی گوشت‌ها، سبزی‌ها و میوه‌ها اشاره کرد. اگرچه پلیمرهای رسانای متعددی سنتز شده‌اند، اما پلی‌پیرول^۲ به دلیل خواص قابل توجه از جمله پایداری رسانایی بهتر و قابل کنترل بودن مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (نوری، ۱۳۸۸). پلی‌پیرول نیز مانند بسیاری از پلیمرهای رسانا در حلال‌های معمولی انحلال‌پذیر نیست. همچنین این ماده دیرگداز است زیرا قبل از ذوب تغییر ماهیت می‌دهد. این پلیمر به خاطر داشتن برخی ویژگی‌ها مانند هدایت الکتریکی مناسب، سنتز شیمیایی و الکتروشیمیایی آسان، غیرسمی بودن، زیست‌تخریب‌پذیر بودن، اصلاح بسیاری از فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر، ساخت حسگرهای یونی و گازی، اصلاح سطوح فلزی، جاذب‌های شیمیایی، فیلترهای شیمیایی و غیره مورد استفاده فراوان قرار می‌گیرد (عیسی‌زاده و خادمیان، ۱۳۸۵). پلی‌پیرول از تعدادی ساختارهای حلقه‌ای متصل به پیرول تشکیل شده و ثابت شده است که فعالیت ضدباکتری خوبی در برابر باکتری *اشرشیاکلی*^۳ دارد (Ebrahimi *et al.*, 2015).

برای یک بسته‌بندی فعال آنتی‌اکسیدانی این عیب بزرگی محسوب می‌شود که تمام آنتی‌اکسیدان موجود در آن در چند روز اول به ماده غذایی مهاجرت نموده و در ادامه مدت نگهداری ماده غذایی، فیلم هیچ‌گونه خاصیت آنتی‌اکسیدانی نداشته باشد. در مورد اکثر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی، نرخ رهایش با گذشت زمان کاهش یافته و میزان آنتی‌اکسیدان مهاجرت کرده، در زمان‌های اولیه بیشتر از زمان‌های نهایی نگهداری ماده غذایی می‌باشد. در واقع در رهایش کنترل شده، هدف، افزایش طول مدت زمان مهاجرت آنتی‌اکسیدان و

محققان به استفاده از این ترکیب در کاربردهای مختلف غذایی، پزشکی، صنعتی و حتی الکترونیکی معطوف شده است (Esa *et al.*, 2014). در حال حاضر، باکتری‌های مختلفی برای تولید سلولز استفاده می‌شوند اما استوباکتر *گزیلینیوم*^۱ به طور گسترده‌ای در تولید تجاری آن کاربرد دارد (Shi *et al.*, 2014). سلولز باکتریایی به دلیل دارا بودن خواص فیزیکی قوی، در صنایع غذایی به عنوان یک ژل‌کننده، قوام‌دهنده، پایدارکننده و اصلاح‌کننده بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد (Shi *et al.*, 2014). یکی از کاربردهای سلولز باکتریایی استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی است. در سال‌های اخیر، از این بیوپلیمر در تولید بسته‌بندی‌های فعال استفاده فراوانی شده است. بسته‌بندی فعال نوعی بسته‌بندی است که علاوه بر داشتن خواص بازدارندگی اصلی بسته‌بندی‌های معمول، با تغییر شرایط بسته‌بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های حسی ماده غذایی را بهبود می‌بخشد و در عین حال کیفیت ماده غذایی حفظ می‌گردد (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۹۳). نانوذرات اکسید روی به علت خواص فیزیکیوشیمیایی پایدار، غیرسمی و ارزان بودن به طور گسترده‌ای در تولید فیلم استفاده می‌شوند. علاوه بر این طبق گزارش‌های اخیر تولید هیدروژن پراکسید از سطح نانوذرات اکسید روی باعث بروز پدیده آنتی‌باکتریال در فیلم‌ها می‌شود (Zeng *et al.*, 2007). اکسید روی در مقایسه با نانوذرات نقره خواص غیرسمی و ظاهری سفید دارد. در نتیجه اکسید روی برای بهبود خواص پلیمرهای مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی بیشتر مورد توجه قرار می‌گیرد (Vigneshwaran *et al.*, 2006). خاصیت ضد میکروبی اکسید روی از گذشته بسیار دور شناخته شده و کاربردهای فراوانی در ضد عفونی کردن وسایل پزشکی، تصفیه آب، کرم‌ها، لوسیون‌ها و پمادهای ضدباکتری دارد. بنابراین از نانوذرات اکسید روی در فیلم‌های خوراکی استفاده می‌شود تا علاوه بر ایجاد خاصیت ضد میکروبی، خواص عملکردی بسته‌بندی بهبود یابد (Gajjar *et al.*, 2009). باتوجه به ویژگی‌های فراوان نانوذرات اکسید روی مانند: فتوکاتالیستی، پایداری فیزیکیوشیمیایی، ویژگی جذب‌کنندگی اشعه فرابنفش و مادون قرمز، رفتار نیمه‌هادی، غیرسمی بودن برای انسان و فعالیت‌های ضد میکروبی آنها باعث ارزش اقتصادی آنها در کاربردهای

^۲ Polypyrrole^۳ *E. Coli*^۱ *Acetobacter xillinum*

ارومیه برای بررسی ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها استفاده شد. مقاومت الکتریکی فیلم‌های تهیه‌شده با استفاه از مولتی‌متر دیجیتالی (ساخت چین) ثبت گردید.

تهیه فیلم سلولز باکتریایی اصلاح‌شده با اکسید روی - پلی پیرول

برای تهیه فیلم سلولز باکتریایی/اکسید روی-پلی پیرول، محلول پیرول و اکسید روی طبق طرح آزمایشی مرکب مرکزی و غلظت‌های صفر، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵۰، ۰/۰۷۵ و ۰/۱ مولار برای اکسید روی و نیز پیرول در زمان‌های ۱۵، ۲۶/۵، ۳۷، ۴۸/۵ و ۶۰ دقیقه (در دمای محیط) روی فیلم سلولز باکتریایی آماده (خریداری‌شده از شرکت نانوپلیمر ساری) سنتز شدند. جدول (۱) طرح آزمایشی مرکب مرکزی استفاده‌شده را نشان می‌دهد.

جدول ۱- طرح آزمایشی مرکب مرکزی

تیمار	غلظت پیرول (مولار)	غلظت اکسید روی (مولار)	زمان سنتز (دقیقه)
F1	۰/۰۵	۰/۰۵	۳۷
F2	۰/۱۰	۰/۰۰	۳۷
F3	۰/۱۰	۰/۰۰	۶۰
F4	۰/۰۳	۰/۰۸	۲۶/۵۰
F5	۰/۱۰	۰/۰۰	۱۵
F6	۰/۰۰	۰/۱۰	۱۵
F7	۰/۰۸	۰/۰۳	۴۸/۵۰
F8	۰/۱۰	۰/۰۰	۶۰
F9	۰/۰۵	۰/۰۵	۶۰
F10	۰/۱۰	۰/۰۰	۲۶/۵۰
F11	۰/۱۰	۰/۰۰	۶۰
F12	۰/۰۸	۰/۰۳	۲۶/۵۰
F13	۰/۰۰	۰/۱۰	۶۰
F14	۰/۰۰	۰/۱۰	۱۵
F15	۰/۰۵	۰/۰۵	۱۵
F16	۰/۰۰	۰/۱۰	۶۰
F17	۰/۰۳	۰/۰۸	۴۸/۵۰
F18	۰/۰۵	۰/۰۵	۶۰
F19	۰/۰۰	۰/۱۰	۳۷/۵۰
Blank	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰

برای این کار محلول پیرول، اکسید روی و کلرید آهن^۳ (سنتزکننده پیرول) تهیه‌شده در حجم معین آب‌مقطر، در درون پلیت ریخته‌شده و فیلم سلولزی در آن غوطه‌ور گردید. پلی پیرول و پلی پیرول-اکسید روی روی فیلم

همچنین قابل پیش‌بینی کردن نرخ رهایش می‌باشد. ابراهیمی‌اصل و همکاران (۲۰۱۵) فیلم زیست‌تخریب‌پذیر کیتوزان/پلی پیرول-اکسید روی را سنتز کرده و گزارش دادند که پلی پیرول و اکسید روی خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی و هدایت الکتریکی فیلم را افزایش می‌دهد. در این پژوهش، فیلم سلولز باکتریایی حاوی اکسید روی و پلی پیرول به‌منظور استفاده در بسته‌بندی فعال و ضد قارچی و ضد میکروبی و همچنین بسته‌بندی هوشمند (به دلیل تغییر مقاومت الکتریکی آن در معرض مواد فاسد غذایی) تولید شده است. هدف اصلی این پژوهش بررسی خواص مکانیکی، خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و هادی الکتریسیته بودن فیلم تولیدشده می‌باشد که در ادامه این تحقیق تأثیر فیلم سنتز شده روی افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی و بسته‌بندی هوشمند آنها مطالعه خواهد شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

پیرول استفاده‌شده قبل از مصرف تحت خلأ تقطیر شد و با کلرید آهن^۳ مورد استفاده قرار گرفت. مونومر پیرول^۱ از شرکت مرک تهیه شد و گلیسرول، اسید استیک، ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل-هیدرازیل^۲ (DPPH) و سایر ترکیبات آلی مورد استفاده از شرکت مرک و آلدریج تهیه شدند. این ترکیبات که از شرکت‌های مرک و آلدریج تهیه‌شده بودند بدون خالص‌سازی مجدد مورد استفاده قرار گرفتند. نانوذرات اکسید روی برای تهیه نانوکامپوزیت پلی پیرول-اکسید روی از شرکت آلدریج (MO, St. Louis, آمریکا) تهیه شد. فیلم سلولز باکتریایی نیز از شرکت نانو نوین پلیمر (ساری، ایران) تهیه و استفاده شد.

دستگاه‌ها

تصاویر با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترون روبشی^۳ (SEM) (مدل Tescan Vega-3، ساخت ژاپن) در پژوهشکده متالوژی رازی-تهران ثبت شد. دستگاه بافت‌سنج (مدل TA.XT Plus، Stable Micro Systems، ساخت ایالات متحده) در محل دانشکده کشاورزی دانشگاه

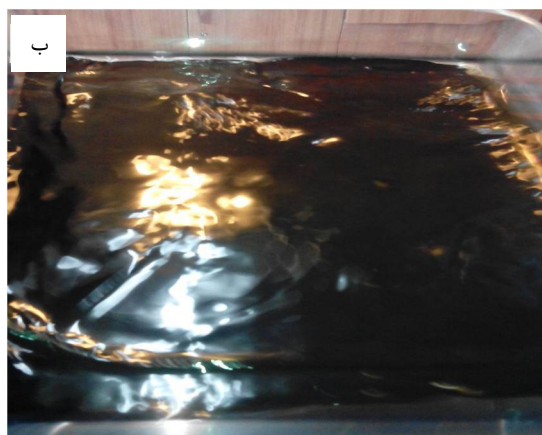
¹ Pyrrole

² 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

³ Scanning Electron Microscope

(۱) تصویر فیلم سلولز باکتریایی خالص و نمونه فیلم سلولز باکتریایی اصلاح شده با پلی پیرول و اکسید روی را نشان می دهد.

سلولز باکتریایی سنتز گردید و در نهایت بعد از تهیه، فیلم به مدت ۳ ساعت در دمای محیط خشک گردید که در حین فرایند خشک شدن تمامی نانوذرات پلی پیرول و اکسید روی در داخل فیلم سلولزی تثبیت می شود. شکل



شکل ۱- تصویر فیلم نانوالیاف سلولز باکتریایی (الف) و فیلم سلولز باکتریایی اصلاح شده با پلی پیرول-اکسید روی (ب)

رابطه (۱)

$$100 \times \frac{\text{فاصله تا نقطه شکست}}{\text{طول فیلم}} = \text{کرنش تا نقطه شکست (\%)}$$

رابطه (۲)

$$\text{مقاومت کششی (TS)} = \frac{\text{نیرو}}{\text{عرض فیلم} \times \text{ضخامت فیلم}}$$

در رابطه (۲) مقاومت کششی برحسب مگاپاسکال، نیرو برحسب نیوتن، ضخامت (d) و عرض فیلم (W) برحسب میلی متر می باشند (Lee et al., 2004).

تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی

توانایی از دست دادن اتم هیدروژن توسط ترکیبات فنولیک یا میزان بی رنگ کردن محلول بنفش ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل-هیدرازیل عصاره متانولی فیلمها مورد سنجش قرار گرفت. در این آزمون از DPPH به عنوان ترکیبات رادیکالی پایدار استفاده گردید. به منظور تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلمها از طریق قدرت خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH از روش Siripatrawan و Harte (2010) استفاده شد. میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-2100، ساخت آمریکا) در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلمها

اندازه گیری خواص مکانیکی فیلمها

آزمون تنش کرنش یکی از پرکاربردترین آزمونهای تعیین رفتار مکانیکی فیلمها می باشد. آزمونهای کشش با استفاده از دستگاه بافت سنج و طبق استاندارد شماره ۱۹-۲۲ (ASTM, 2010) در دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. برای اندازه گیری ویژگیهای مکانیکی فیلمهای تهیه شده، ۵ فیلم از فیلمهای تهیه شده براساس جدول (۱) انتخاب شدند. در فیلمهای انتخاب شده می توان اثر سه فاکتور غلظت پیرول و غلظت اکسید روی و نیز زمان سنتز کامپوزیت روی فیلم سلولز باکتریایی را بررسی کرد. برای این منظور فیلمها در ابعاد ۵×۱ سانتی متر توسط برشگر مخصوص فیلمها برش داده شد. فاصله بین دو فک دستگاه ۳ سانتی متر و سرعت حرکت فکها ۰/۸۳ میلی متر بر ثانیه تنظیم شد. فاکتورهای حداکثر نیروی شکست (برحسب نیوتن)، نسبت نیرو به زمان^۱ برحسب نیوتن بر ثانیه و فاصله تا نقطه شکست (میلی متر) به وسیله دستگاه محاسبه شد. فاکتورهای کرنش تا نقطه شکست (STB^۲) و مقاومت کششی (TS^۳) توسط رابطه (۱) و (۲) محاسبه شد (Lee et al., 2004).

¹ Gradient

² Strain to Break

³ Tensile Strength

فیلم‌های سلولز باکتریایی و نیز بررسی برهم‌کنش بین آنها می‌باشد. بدین‌منظور طبق جدول (۱) تعداد ۲۰ فیلم تهیه گردید. از بین فیلم‌های تهیه‌شده تعدادی از فیلم‌ها که تأثیر پیرول و اکسید روی را روی خواص مکانیکی و ضدباکتریایی و قارچی را نشان می‌دهد، انتخاب گردید. تحلیل و ارزیابی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Design Expert نسخه ۷ در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. از نرم‌افزار Design Expert جهت رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج و بحث

مطالعه مورفولوژی فیلم‌های تهیه‌شده

مورفولوژی سطحی فیلم‌های سلولز باکتریایی، پلی‌پیرول سنتز شده روی سطح فیلم سلولز باکتریایی، اکسید روی رشد داده‌شده روی فیلم سلولز باکتریایی و کامپوزیت پلی‌پیرول-اکسید روی سنتز شده روی فیلم سلولز باکتریایی در شکل (۲) نشان داده شده است. فیلم خالص سلولز باکتریایی (تصویر ۲-الف) دارای سطح صاف می‌باشد و شکل فیبرها به وضوح قابل تشخیص است. اندازه قطر نانوالیاف سلولز باکتریایی حدود ۴۰-۶۰ نانومتر می‌باشد، ساختار شبکه فیلم سلولز باکتریایی در شکل (۲-الف) شفاف و روشن است. چنین شبکه متخلخل از سلولز باکتریایی اجازه می‌دهد مولکول مهمان در سراسر فضای داخلی آن به راحتی پخش شود. شکل (۲-ب) ساختار مورفولوژی سلولز-پلی‌پیرول را نشان می‌دهد، واضح است که نانوفیبرهای سنتز شده با قطر تقریبی ۴۰-۶۰ نانومتر به خوبی از هم جدا شده‌اند، ابعاد بین نانوفیبر سلولزی و سلولز-پلی‌پیرول را می‌توان در شکل (۲-ب) به طور واضح مشاهده کرد، قسمتی که لایه‌های تقریباً یکنواخت پلی‌پیرول روی نانوفیبرهای سلولز باکتریایی پخش شدند، که در آن لایه پلی‌پیرول ضخامت تقریبی ۵۰ نانومتر دارد و روی فیبرهای سلولز پخش شده است (Wang *et al.*, 2013). تصاویر SEM از سطح ذرات ZnO که روی فیلم سلولز رشد کرده‌اند در شکل (۲-ج) نشان داده شده است. سلولز دارای سطح صاف می‌باشد که پس از رشد ZnO، ذرات میله‌مانند و ۸ ضلعی با اندازه ذرات ۱۰۰-۵۰ نانومتر به طور کامل سطح سلولز را پوشش داده‌اند. تصویر SEM از نانوکامپوزیت پلی‌پیرول-اکسید روی در شکل (۲-د) نشان داده شده است. اندازه ذرات ۱۰۰-۱۵۰ نانومتر می‌باشد و

به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه (۳) محاسبه گردید (Siripatrawan & Harte, 2010).
رابطه (۳)

$$= \text{درصد خاصیت آنتی‌اکسیدانی} \\ = \frac{(\text{جذب شاهد} - \text{جذب محلول رادیکالی})}{\text{جذب محلول رادیکالی}} \times 100$$

اندازه‌گیری مقاومت الکتریکی فیلم‌ها

برای اندازه‌گیری مقاومت الکتریکی فیلم‌های تهیه‌شده از دستگاه مولتی‌متر (مدل Escort، ساخت چین) استفاده گردید. دستگاه روی مقاومت‌سنج تنظیم شد و دو الکتروود دستگاه با فاصله ۱ سانتی‌متر از یکدیگر روی فیلم‌ها قرار گرفت، سپس مقدار مقاومت الکتریکی از روی دستگاه خوانده و ثبت گردید.

بررسی خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی فیلم‌ها

۲ میلی‌لیتر از مایه کشت باکتری *اشرشیاکلی* و قارچ *آسپرژیلوس نایجر*^۱ حاوی حدود ۱۰^۶-۱۰^۵ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر عدد از باکتری و قارچ از دانشگاه ارومیه تهیه گردید. فیلم‌های تولید شده به صورت دایره‌هایی با قطر ۳ میلی‌متر بریده شد. برای کشت *اشرشیاکلی* از محیط کشت نوترینت آگار^۲ و برای کشت *آسپرژیلوس* از محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA)^۳ استفاده گردید. بعد از کشت باکتری و قارچ مدنظر روی محیط‌های کشت مخصوص قطعه‌های فیلم بریده‌شده روی سطح کشت قرار داده شد. بعد از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مقدار هاله‌های ایجاد شده دور فیلم ۳ بار از زاویه‌های مختلف اندازه‌گیری گردید و میانگین آنها ثبت شد. این آزمایش سه بار تکرار گردید (سعادت‌مند و همکاران، ۱۳۹۱).

تحلیل آماری

برای بررسی اثر پارامترهای مستقل (غلظت اکسید روی، غلظت پیرول و زمان سنتز) روی مقاومت الکتریکی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی از طرح آماری مرکب مرکزی استفاده شد. هدف از طراحی این آزمایش بررسی اثر غلظت اکسید روی، غلظت پیرول و زمان سنتز روی

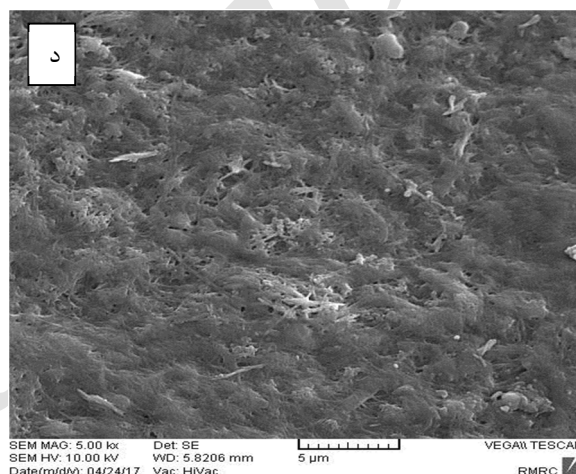
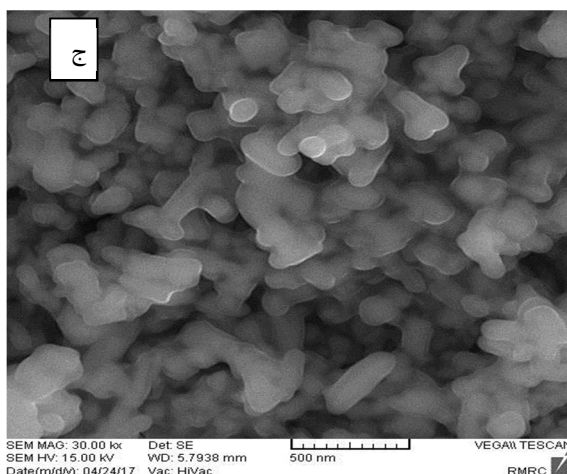
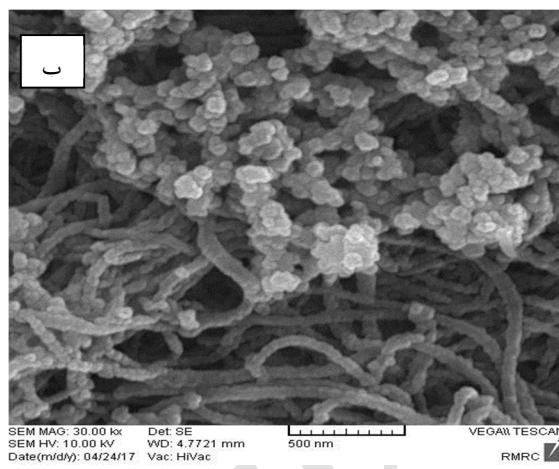
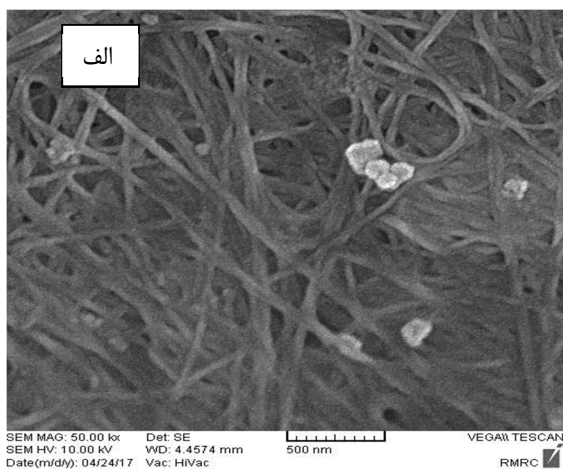
^۱ *Aspergillus niger*

^۲ Nutrient agar

^۳ Potato Dextrose Agar

به صورت یکنواخت روی سطح سلولز باکتریایی رشد می‌کند.

روی سلولز باکتریایی رشد کرده‌اند. مورفولوژی سطحی به وضوح نشان داد نانوذرات پلی‌پیرول و اکسید روی



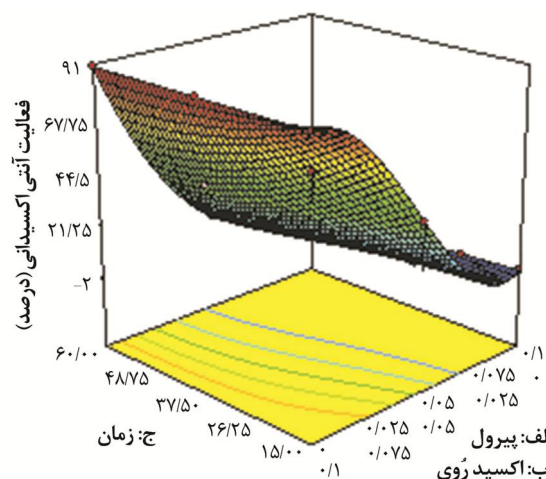
شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی مربوط به نمونه فیلم‌های سلولز خالص (الف)، سلولز-پلی‌پیرول (ب)، سلولز-اکسید روی (ج) و سلولز/پلی‌پیرول-اکسید روی (د)

بسته‌بندی مواد غذایی و بسته‌بندی‌های هوشمند هستند. در مطالعه سنسورهای گاز براساس پلیمرهای هدایت‌شده، Pirsā و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که در سنسورهای گاز مبتنی بر پلی‌پیرول مقاومت الکتریکی با قراردادن اسید، پایه یا ترکیبات طبیعی فرار تغییر می‌کند. با استفاده از فیلم‌های سلولز باکتریایی/پلی‌پیرول، سلولز باکتریایی/اکسید روی و سلولز باکتریایی/پلی‌پیرول/اکسید روی در بسته‌بندی مواد غذایی، امکان تعیین ترکیبات فرار از مواد غذایی (بوی مواد غذایی)، زمان ذخیره مواد غذایی و دمای نگهداری مواد غذایی وجود خواهد داشت. علاوه بر این، با استفاده از فیلم‌های ارائه‌شده در بسته‌بندی مواد غذایی، می‌توان غلظت مواد فرار را با مطالعه هدایت الکتریکی فیلم‌ها برآورد کرد. بین هدایت الکتریکی و

خواص مقاومت الکتریکی

مقاومت الکتریکی فیلم‌های سلولز/پلی‌پیرول و سلولز/پلی‌پیرول-اکسید روی به‌عنوان عامل بسیار مهمی که می‌تواند در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی، بسته‌بندی هوشمند، حسگرهای بی‌حس‌کننده، سنسور گاز و غیره مورد استفاده قرار گیرد، مورد بررسی قرار گرفت. مقاومت الکتریکی فیلم‌های مختلف، ثبت شد و اثر زمان و مدت زمان پلیمریزاسیون پلی‌پیرول و اکسید روی مورد بررسی قرار گرفت. شکل (۳) منحنی مقاومت الکتریکی نسبت به غلظت پیرول و اکسید روی را نشان می‌دهد. فیلم‌های سنتز شده شامل سلولز باکتریایی/پلی‌پیرول، سلولز باکتریایی/اکسید روی و سلولز باکتریایی/پلی‌پیرول/اکسید روی دارای ظرفیت بسیار بالایی برای استفاده در

افزایش غلظت اکسید روی در ماتریس نانوکامپوزیت تأثیر معنی داری روی خاصیت آنتی اکسیدانی دارد ($P < 0.05$). پلی پیرول نیز اثر معنی داری بر فعالیت آنتی اکسیدانی فیلمها داشت از ۸۰ تا ۳۰ درصد قدرت آنتی اکسیدانی را نشان داد که با افزایش غلظت پیرول و زمان پلیمریزاسیون قدرت آنتی اکسیدانی فیلم کاهش یافت. زمان پلیمریزاسیون پلی پیرول و زمان رسوب ZnO تأثیر قابل توجهی بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارند، در هر دو مورد افزایش زمان، فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهد. نتایج تحقیقها نیز حاکی از افزایش قدرت آنتی اکسیدانی در اثر افزودن اکسید روی به ماتریس پلیمری فیلمها می باشد (Emamifar et al., 2010).



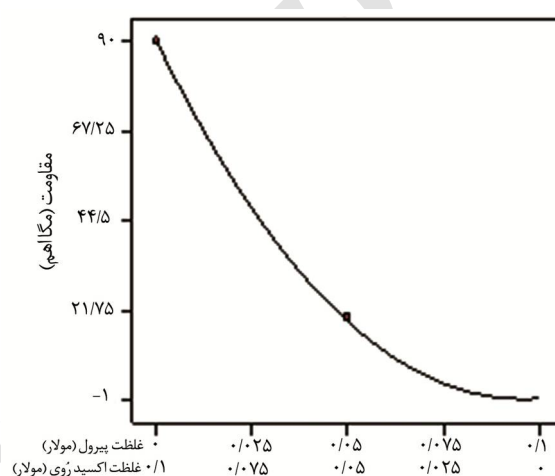
شکل ۴- منحنی سه بُعدی تأثیر غلظت اکسید روی و پلی پیرول روی خاصیت آنتی اکسیدانی فیلمها

خواص مکانیکی

از بین فیلمهای تهیه شده مطابق جدول (۱) تعدادی فیلم که اثر پیرول، اکسید روی و مدت زمان سنتز روی خواص مکانیکی را نشان می دهد، انتخاب شد. شکل (۵) منحنی نیروی کشش فیلمها نسبت به زمان کشش و نقطه شکست و نیز منحنی ستونی کرنش در نقطه شکست (STB) و مقاومت کششی (TS) را نشان می دهند.

نتایج به دست آمده از شکل (۵) نشان می دهد که سنتز اکسید روی، پلی پیرول و کامپوزیت اکسید روی-پلی پیرول روی خواص مکانیکی فیلم سلولز باکتریایی مؤثر می باشد. براین اساس ترسیب اکسید روی؛ روی سطح فیلم، کرنش در نقطه شکست و مقاومت کششی فیلم را تا حدودی کاهش می دهد که علت این امر را می توان به پرکردن

برخی پارامترها در بسته بندی شامل بوی غذا، دما، فشار، ترکیبات فرار، زمان ذخیره سازی و غیره می توان رابطه خطی برقرار کرد و از این رابطه خطی برای تخمین مدت زمان و دمای نگهداری و سایر پارامترهای محصولات غذایی استفاده کرد (Ram et al., 2005). نتایج شکل (۳) نشان می دهد که افزایش غلظت پیرول باعث کاهش مقاومت الکتریکی و افزایش شدت جریان الکتریکی می شود که در بسته بندی های هوشمند (براساس تغییرات مقاومت الکتریکی) بالابودن میزان هدایت الکتریکی حساسیت فیلم نسبت به تغییرات محیطی را افزایش می دهد.



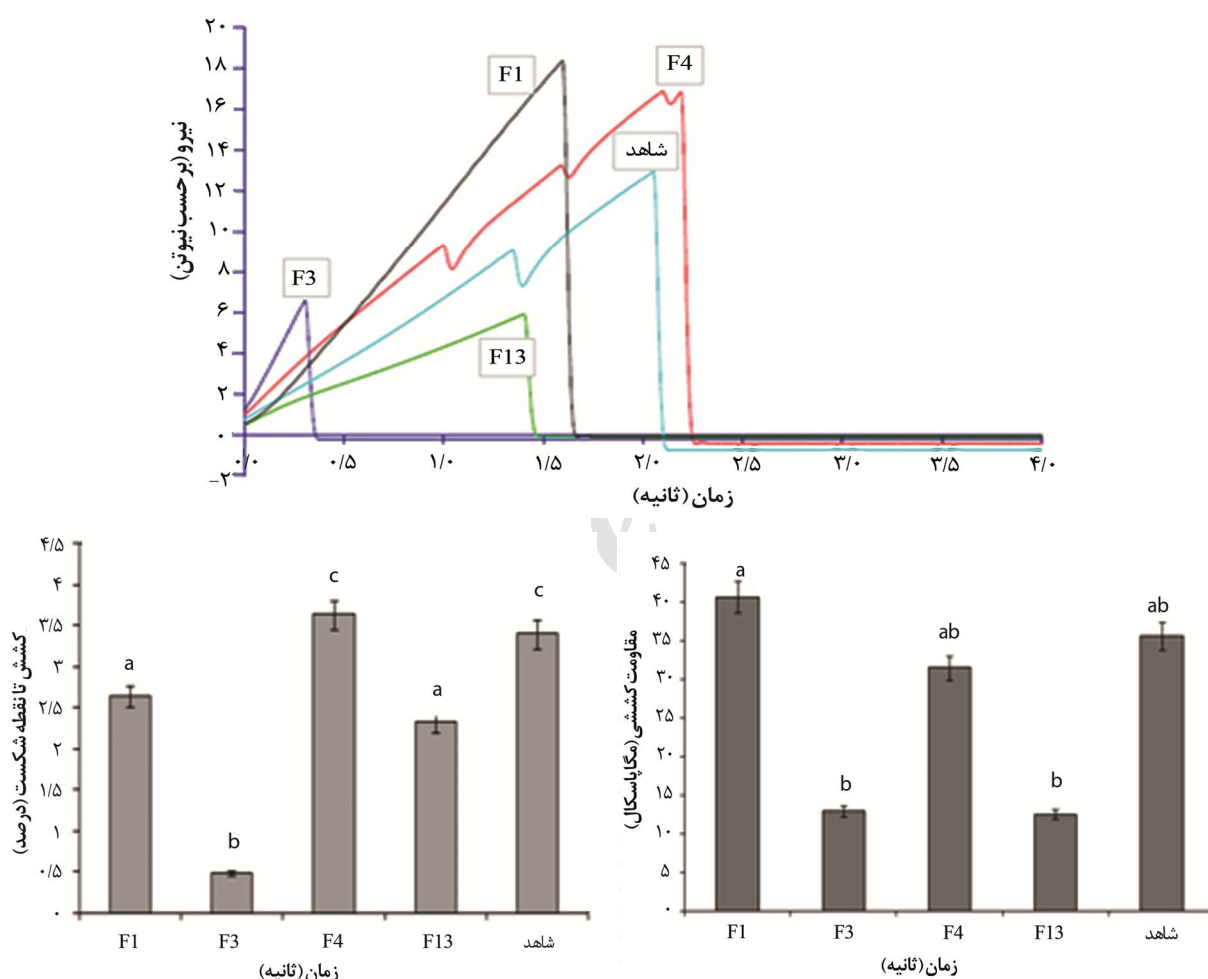
شکل ۳- نمودار خطی تأثیر غلظت پیرول و اکسید روی بر مقاومت الکتریکی (MΩ) فیلمها

تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی فیلمها

اساس این تست بر پایه احیاء و تغییر رنگ رادیکال DPPH به رنگ زرد در حضور مواد آنتی اکسیدانی می باشد. در این تست وجود آنتی اکسیدان باعث تبدیل رادیکال DPPH به یک ترکیب زرد رنگ به نام دی فنیل هیدرازیل می گردد که شدت این واکنش بستگی به توانایی اهدای هیدروژن ماده آنتی اکسیدانی می باشد. سرانجام کاهش رنگ موجب کاهش در میزان جذب اسپکتروفوتومتری می گردد. اکسید روی ویژگی آنتی اکسیدانی بالایی را از خود نشان داد. فیلم حاوی ۰/۱ درصد وزنی اکسید روی با زمان سنتز ۶۰ دقیقه، حدود ۸۹/۲۵ درصد قدرت به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) را دارا می باشد که به عنوان معیاری برای بررسی قدرت آنتی اکسیدانی می باشد. شکل (۴) نشان می دهد که

فیزیکی آن را پایین می‌آورد و همچنین باتوجه به اینکه پلی‌پیرول یک پلیمر ترد و شکننده می‌باشد قرار گرفتن این پلیمرها در فضای بین پلیمرهای سلولز نیز منجر به کاهش شدید کشش تا نقطه شکست می‌شود. نتایج این تحقیق تقریباً مشابه نتایج به دست آمده در کارهای مشابه می‌باشد که درستی نتایج به دست آمده را تأیید می‌کند (Hyun-u et al., 2014; Jinhui et al., 2013).

زنجیره پلیمری داخل سلولز توسط اکسید روی نسبت داد که در نهایت باعث می‌شود انعطاف پذیری و مقاومت فیزیکی فیلم سلولزی کاهش یابد. سنتر پلی‌پیرول نیز به شدت فیلم کرنش در نقطه شکست و مقاومت کششی فیلم را کاهش می‌دهد که شاید علت این کاهش شدید این باشد که پیوندهای جدیدی بین پلیمرهای پیروول و سلولز شکل می‌گیرد که این پیوندها به نوبت خود پیوندهای بین پلیمرهای سلولز را کاهش داده و مقاومت



شکل ۵- منحنی نیروی کشش نسبت به زمان کشش فیلم‌ها، منحنی کرنش در نقطه شکست (STB) و مقاومت کششی (TS) فیلم‌ها. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

ضدقارچی فیلم‌های تولیدشده در برابر قارچ *آسپرژیلوس نایجر* و جدول (۳) فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌ها در حضور باکتری *اشرشیاکلی* مورد مطالعه را نشان می‌دهد. فیلم شاهد (سلولز باکتریایی) هیچ اثر بازدارندگی روی قارچ *آسپرژیلوس* و باکتری *اشرشیاکلی* نشان نداد. افزودن اکسید روی و پلی‌پیرول منجر به ایجاد نواحی شفاف

آزمون ضد میکروبی

برای بررسی اثر غلظت اکسید روی و غلظت پیروول و نیز زمان سنتر روی فعالیت ضد میکروبی و ضدقارچی فیلم‌های تهیه شده، از بین فیلم‌های تهیه شده مطابق جدول (۱) چندین فیلم انتخاب شده و آزمون‌های ضد میکروبی و ضدقارچی روی آنها انجام پذیرفت. جدول (۲) فعالیت

مطابقت دارد. میزان هاله ایجاد شده در شکل های (۶) و (۷) نشان داده شده است. فعالیت ضد میکروبی بیشتر به غلظت میزان نانوذرات بستگی دارد. همچنین پلی پیروول از تعدادی ساختارهای حلقه ای متصل به پیروول تشکیل شده است و ثابت شده فعالیت ضد میکروبی خوبی در برابر اشرشیاکلی دارد (Ebrahimiasl et al., 2015).

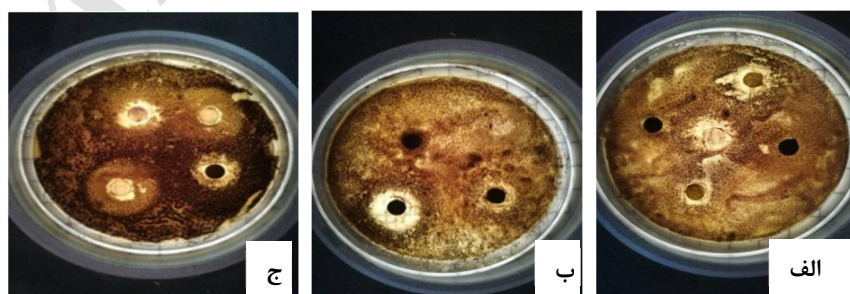
بازدارندگی در اطراف فیلم ها شد. بیشترین بازدارندگی در نمونه های حاوی ۰/۰۵ درصد پلی پیروول و ۰/۰۵ درصد اکسید روی مشاهده گردید. که علت این پدیده، تولید گونه های اکسیژن فعال بر سطح نانوذرات می باشد. که با نفوذ به داخل سلول باکتری باعث مرگ سلول می شوند. نتایج به دست آمده با نتایج Nawaz و همکاران (۲۰۱۱)

جدول ۲- فعالیت ضدقارچی فیلم های تولید شده در برابر قارچ آسپرژیلوس نایجر

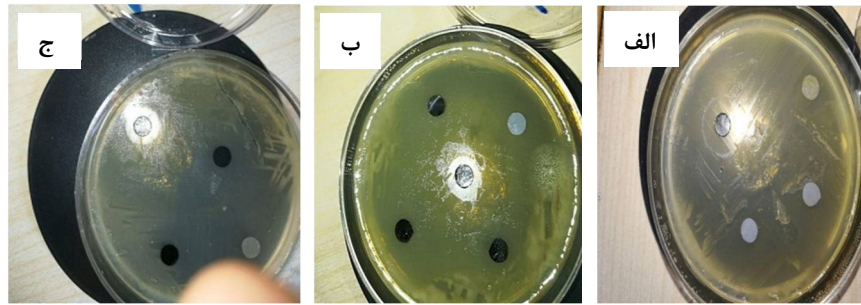
تیمار	غلظت اکسید روی	غلظت پیروول	زمان سنتز (ثانیه)	قطر فیلم (میلی متر)	قطر هاله تشکیل شده (میلی متر)	تفاضل قطر هاله و فیلم (میلی متر)	مساحت هاله mm^2 (میلی متر مربع)
Blank	-	-	-	۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
F9	۰/۰۵	۰/۰۵	۶۰	۳	۱۳/۵۰	۱۰/۵۰	۸۶/۵۴±۰/۱۲
F13	۰/۱۰	۰/۰۰	۶۰	۳	۸/۱۰	۵/۱۰	۲۳/۷۴±۰/۱۵
F17	۰/۰۸	۰/۰۳	۴۵	۳	۵/۵۰	۲/۵۰	۴/۹۰±۰/۱۰
F1	۰/۰۵	۰/۰۵	۴۵	۳	۱۰/۰۰	۷/۰۰	۳۸/۴۶±۰/۰۸
F19	۰/۱۰	۰/۰۰	۴۵	۳	۴/۵۰	۱/۵۰	۱/۷۶±۰/۱۵

جدول ۳- فعالیت ضد میکروبی فیلم های تولید شده در برابر باکتری اشرشیاکلی

تیمار	درصد اکسید روی	درصد پلی پیروول	زمان سنتز (ثانیه)	قطر فیلم (میلی متر)	قطر هاله تشکیل شده (میلی متر)	تفاضل قطر هاله و فیلم (میلی متر)	مساحت هاله mm^2 (میلی متر مربع)
نمونه شاهد	-	-	-	۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
۱۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۴۵	۳	۶/۳۰	۳/۳۰	۸/۵۴±۰/۰۸
۹	۰/۰۵	۰/۰۵	۶۰	۳	۸/۸۰	۵/۸۰	۲۶/۴۰±۰/۱۰
۱	۰/۰۵	۰/۰۵	۴۵	۳	۶/۴۰	۳/۴۰	۹/۰۷±۰/۱۲
۱۳	۰/۱۰	۰/۰۰	۶۰	۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
۱۷	۰/۰۸	۰/۰۳	۴۵	۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰



شکل ۶- فعالیت ضدقارچی فیلم ها: (الف) هاله ایجاد شده اطراف فیلم ۱۹ و عدم هاله اطراف فیلم بلانک، (ب) هاله ایجاد شده اطراف فیلم ۹ و (ج) هاله ایجاد شده اطراف فیلم های ۱۳، ۱۷ و ۱



شکل ۷- فعالیت ضدباکتری فیلم‌ها: (الف) هاله ایجادشده اطراف فیلم ۹ و عدم ایجاد هاله اطراف فیلم بلانک، (ب) هاله ایجادشده اطراف فیلم ۱۵ و عدم هاله اطراف فیلم ۱۳ و (ج) هاله ایجادشده اطراف فیلم ۱ و عدم ایجاد هاله اطراف فیلم ۱۷

نتیجه گیری

می‌باشد. با اضافه کردن پلی‌پیرول مقاومت الکتریکی کاهش یافت در نتیجه هدایت الکتریکی فیلم‌ها افزایش یافت. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد پلی‌پیرول و اکسید روی دارای پتانسیل بالایی جهت استفاده به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان و ماده ضد میکروبی و قارچی در نگهداری مواد غذایی بوده و با افزودن این نانوذرات به فیلم سلولز باکتریایی، می‌توان یک فیلم زیست‌تخریب‌پذیر با رهایش کنترل‌شده به‌منظور استفاده در بسته‌بندی غذاهای حساس به اکسیداسیون و میکروبی تولید نمود. همچنین باتوجه به خاصیت هادی الکتریسیته‌بودن پلی‌پیرول و با در نظر گرفتن این موضوع که هدایت الکتریکی فیلم تحت شرایط اکسیداسیونی مختلف تغییر می‌یابد، می‌توان از این فیلم‌ها در بسته‌بندی هوشمند محصولات غذایی استفاده کرد.

پلی‌پیرول نانوساختار (۵۰ تا ۱۵۰ نانومتر) و نانوکامپوزیت پلی‌پیرول-اکسید روی (۳۰ تا ۱۲۰ نانومتر) روی فیلم سلولز باکتریایی به روش شیمیایی و در دمای محیط سنتز گردید. از طرح مرکب مرکزی برای بررسی اثر غلظت پیروول و غلظت اکسید روی و نیز زمان سنتز نانوکامپوزیت بر ویژگی آنتی‌اکسیدانی و هدایت الکتریکی فیلم‌های تهیه‌شده استفاده شد. ویژگی‌های ضد میکروبی، ضد قارچی و مکانیکی فیلم‌های تهیه‌شده نیز بررسی گردید. سنتز پلی‌پیرول و نیز افزایش زمان سنتز پلیمر تأثیر مثبت در ایجاد خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی فیلم‌ها داشت و با افزایش غلظت پیروول و نیز زمان سنتز آن خواص ضد میکروبی و ضد قارچی فیلم‌ها افزایش یافت ولی نانوذرات اکسید روی بیشتر روی خاصیت ضد قارچی مؤثر

منابع

- سعادت‌مند، م.، یزدان‌شناس، م.، رضایی زراچی، س. و یوسفی تلوری، ب. ۱۳۹۱. خاصیت ضد میکروبی نانوکامپوزیت کیتوزان-TiO₂ و به‌کارگیری آن روی گاز استریل بیمارستانی. مجله علوم آزمایشگاهی. ۶(۱): ۵۹-۶۲.
- عیسی‌زاده، ح. و خادمیان، م. ۱۳۸۵. تهیه پلی‌پیرول و کامپوزیت‌های آن در محلول‌های گوناگون با استفاده از مواد افزودنی مختلف و مطالعه شکل‌شناسی و رسانندگی فیلم تهیه شده. مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، ۱۹(۲): ۱۳۶-۱۳۱.
- قنبرزاده، ب.، پزشکی نجف‌آبادی، الف. و الماسی، ه. ۱۳۹۰. فیلم‌های خوراکی فعال در بسته‌بندی مواد غذایی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۸(۳۲): ۱۲۳-۱۳۵.
- نوری، م. ۱۳۸۸. مطالعه رسانایی الکتریکی نخ‌های پوشش‌یافته با پلی‌آنیلین و پلی‌پیرول زیر کشش. مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، ۲۲(۵): ۳۷۳-۳۷۹.

ASTM. 2010. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-10. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

- Attarad, A., Sidra, A., Qaisar, M., Sania, N., Shams, M.F., Madiha, A., Phyll, A.R., & Zia, M. 2016. Zinc impregnated cellulose nanocomposites: synthesis, characterization and applications. *Journal of Physical and Chemistry of Solids*, 98:174-182.
- Ebrahimiasl, S., Azmi, Z., Anuar, K., & Sri, N.B. 2015. Novel conductive polypyrrole/ zinc oxide/ chitosan bionanocomposite: synthesis characterization, antioxidant, and antibacterial activities. *International Journal of Nanomedicine*, 10:217-227.
- Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., & Soleimani-Zad, S. 2010. Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. *Food Control*, 22: 408-413.
- Esa, F., Tasirin, S.M., & Rahman, N.A. 2014. Overview of Bacterial cellulose production and application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2:113-119.
- Gajjar, P., Pettee, B., Britt, D.W., Huang, W., Johnson, W.P., & Anderson, A.J. 2009. Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440. *Journal of Biological Engineering*, 3(9):1-13.
- Hyun-U, K., Seongcheol, M., Seung-Ki, M., & Gi-Woo, K. 2014. Fabrication of cellulose ZnO hybrid nanocomposite and its strain sensing behavior. *Materials*, 7:7000-7009.
- Jinhui, P., Xin, L., Xueming, Z., Yuying, W., & Runcang, S. 2013. Fabrication of cellulose film with enhanced mechanical properties in ionic liquid 1-Allyl-3-methylimidazolium chloride (amimcl). *Materials*, 6:1270-1284.
- Lee, C.H., An, D.S., Lee, S.C., Park, H.J., & Lee, D.S. 2004. A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and alpha-tocopherol. *Journal of Food Engineering*, 62: 323-329.
- Nawaz, H.R., Solangi, B.A., Zehra, B., & Nadeem, U. 2011. Preparation of nano zinc oxide and its application in leather as a retanning and antibacterial agent. *Canadian Journal on Scientific and Industrial Research*, 2:164-170.
- Pirsa, S., Shamus, T., & Kia, E.M. 2018. Smart films based on bacterial cellulose nanofibers modified by conductive polypyrrole and zinc oxide nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(34):46617.
- Ram, M.K., Yavuz, O., Lahsangah, V., & Aldissi, M. 2005. CO gas sensing from ultrathin nano-composite conducting polymer film. *Sensors and Actuators B*, 106: 750-757.
- Shi, Z., Zhang, Y., Phillips, G.O., & Yang, G. 2014. Utilization of bacterial cellulose in food. *Food Hydrocolloids*, 35: 539-545.
- Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., & Rosa, M.D. 2008. Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19:634-643.
- Siripatrawan, U., & Harte, B.R. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24:770-775.
- Vigneshwaran, N., Kumar, S., Kathe, A., Varadarajan, P.V., & Prasad, V. 2006. Functional finishing of cotton fabrics using zinc oxide-soluble starch nanocomposites. *Nanotechnology*, 17: 5087-5095.
- Wang, H., Bian, L., Zhou, P., Tang, J., & Tang, W. 2013. Core-sheath structured bacterial cellulose/polypyrrole nanocomposites with excellent conductivity as. *Journal of Material Chemistry A*, 1:578-584.
- 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.

Preparing of Bacterial Cellulose/Polypyrrole-Zinc Oxide Nanocomposite Film and Studying its Physicomechanical, Antimicrobial and Antioxidant Properties

Sajad Pirsā^{1*}, Tohid Shamusī², Ehsan Moghaddas Kia³

1- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

* Corresponding author (Pirsā7@gmail.com & S.pirsā@urmia.ac.ir)

2- MSc. Graduated, Department of Food Science and Technology, Afagh Higher Education Institute, Urmia, Iran

3- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran

Abstract

In this research, polypyrrole (PPy) and polypyrrole-zinc oxide (PPy-ZnO) nanocomposites were synthesized by chemical method on the bacterial cellulose film in the presence of Iron chloride III. The size, shape and morphology of the synthesized particles were studied using scanning electron microscopy. The results showed that the polypyrrole particles (60-150 nm) are spherical in shape, while the nanoparticles of polypyrrole-Zinc oxide are granular in shape and are in the range of 30-120 nm. Mechanical properties including, strain to break and tensile strength and antimicrobial-antifungal properties, as well as antioxidant properties and electrical conductivity of the films were studied. The results showed that the addition of polypyrrole decreased the electrical resistance, resulting in an increase in the electrical current of the film. The addition of nanoparticles reduced the mechanical properties and decreased the tensile strength. The inhibitory power of free radicals of the film increased with the addition of zinc oxide. The synthesis and increase of the polypyrrole synthesis time on a cellulose film had a positive effect on the antimicrobial and antifungal properties of films, but zinc oxide nanoparticles were more effective on antifungal properties.

Keywords: Antimicrobial and Antioxidant Properties, Bacterial Cellulose, Nanostructure, Polypyrrole, Zinc Oxide