

سنتز و شناسایی نانو زیست کامپوزیت ضد میکروبی نقره/کیتوسان برای استفاده

در بسته‌بندی مواد غذایی به روش شیمیایی

سعیده ابراهیمی اصل^{۱*}، امیر زارعی^۲

۱. گروه نانو تکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران.

۲. گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران.

*نویسنده مسئول: Ebrahimi.nano@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۲۵

چکیده

کیتوسان یکی از پلی‌مرهای زیست تخریب‌پذیر و خواص ضد میکروبی مطلوب می‌باشد که تهیه فیلم و کامپوزیت آن بسیار آسان می‌باشد. در این تحقیق نانو ذرات نقره به روش شیمیایی در درون بستر بایوپلی‌مر کیتوسان زیست تخریب‌پذیر جهت کاهش میزان جذب رطوبت و افزایش خصلت ضد میکروبی آن به منظور استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی سنتز شد. نیترات نقره، سدیم برو هیدرید و کیتوسان به ترتیب به‌عنوان پیش ماده نقره، عامل کاهنده شیمیایی و ماده زمینه پلی‌مری مورد استفاده قرار گرفته است. ساختار و مورفولوژی فیلم سنتز شده توسط پراش اشعه-X و میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت ضد میکروبی فیلم نازک نانو ذرات نقره/کیتوسان به صورت تغییر قطر هاله عدم رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نیترات نقره بررسی شد. نتایج به‌دست آمده از بررسی کریستالوگرافی XRD نشان داد که ماکزیمم پیک‌های نانو ذرات نقره مربوط به فازهای (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۳۱۱) و (۲۲۲) در سطوح کریستالوگرافی بوده و وجه غالب کریستال‌های نقره مکعبی می‌باشد. تصاویر میکروسکوپی SEM نشان‌دهنده پراکندگی یکنواخت نانو ذرات در درون فیلم پلی‌مری می‌باشد. نتایج میکروبی به‌دست آمده نشان داد که نانو ذرات نقره در محلول کیتوسان فعالیت ضد باکتری بالایی در برابر باکتری‌های گرم منفی دارد. این اثر ضد باکتریایی نانو کامپوزیت سنتز شده در غلظت ۰/۱۵ mol/L از نیترات نقره از سایر غلظت‌ها بیش‌تر است. بررسی تاثیر نانو ذرات نقره بر میزان جذب رطوبت در فیلم مورد بررسی نشان داد که با افزایش میزان نیترات نقره از صفر تا ۰/۱۵ mol/L، میزان WVP کاهش داشته و از ۷/۶٪ تا ۵/۷٪ g/m.h.Pa تغییر می‌نماید.

واژگان کلیدی: نانو بایوکامپوزیت، آنتی باکتریال، بسته‌بندی فعال، کیتوسان.

مقدمه

ایفا کند. نانو کامپوزیت‌های فلزی با ترکیب نانو ذرات فلزی و فیلم پلی‌مری اخیراً مورد توجه زیادی قرار گرفته‌است. در میان پلی‌مرها، پلی‌مرهای زیست تخریب‌پذیر طبیعی به طور

نسل جدیدی از بسته‌بندی مواد غذایی شامل موادی با خواص ضد میکروبی است. این فن‌آوری بسته‌بندی می‌تواند نقش مهمی در افزایش ماندگاری مواد غذایی و ایمنی آن

در این پژوهش، ساختار کروی از نانو ذرات نقره به روش شیمیایی ساده و ارزان قیمت در بستر کیتوسان و در محلول آبی و با استفاده از سدیم بورو هیدرید به عنوان احیاکننده سنتز شد. سپس توانایی نانو بایو کامپوزیت سنتز شده آنتیباکتریال به منظور استفاده در بسته بندی مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

نیتترات نقره (۹۹٪/۹۸، مرک آلمان) تهیه و بدون خالص-سازی مورد استفاده قرار گرفت. NaBH_4 (۹۹٪/۵)، سیگما آلدریج)، کیتوسان با وزن مولکولی کم و اسید استیک منجمد (۹۹٪، سیگما آلدریج) تهیه شد. باکتری‌های گرم مثبت: استرپتوکوک (ATCC 19615) A / اپیدرمیدیس S (ATCC 12228)، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25922) سرئوس B (ATCC 11788) و گرم منفی: شریشیا کلی (ATCC 25923)، انتروکوکوس فکالیس (ATCC 29212)، سالمونلا (ATCC 14028)، سودوموناس (ATCC 27853)، مورد استفاده برای سنجش خاصیت ضد باکتری از شرکت بهار افشان با مسئولیت محدود در ایران تهیه شد.

سوسپانسیون کیتوسان (۱۰۰ میلی‌لیتر، ۰/۵ درصد وزنی) توسط انحلال در ۰/۱ درصد وزنی از محلول اسید استیک ($\text{pH} \sim 3/53$) با هم‌زدن ثابت به مدت ۹۰ دقیقه تهیه شد. محلول نیتترات نقره به هر نمونه از سوسپانسیون کیتوسان تهیه شده جهت سنتز محلول نیتترات نقره/کیتوسان اضافه شد. غلظت نیتترات نقره در نمونه‌ها شامل ۰/۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۱۵ (مول/لیتر) بود. محلول تازه‌ی سدیم برو هیدرید ($4 \times 10^{-2} \text{ M}$) آماده و به سوسپانسیون اضافه شد تا محلولی با نسبت ثابت مولی از نیتترات نقره/سدیم برو هیدرید به دست آید. پس از افزودن عامل کاهنده، محلول با

گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند که دارای مزایایی از جمله: قابلیت خوردن، زیست سازگاری، ظاهری جذاب، غیر سمی بودن، غیر آلاینده بودن و کم هزینه بودن می‌باشند (Imran et al., 2010). از میان پلی‌مرهای طبیعی، کیتوسان به‌عنوان یک بیو پلی‌مر کاتیونی به طور گسترده، برای کاربردهای مختلف با توجه به زیست فعال بودن عالی آن، و حلالیت در محیط آبی و مانع بودن در برابر نفوذ اکسیژن، بسیار مورد بررسی و توجه قرار گرفته‌است. در نتیجه، در حال حاضر انواع کاربردهای بالقوه‌ای را در محصولات پزشکی (Darder et al., 2005) فیلم بسته بندی مواد غذایی، جایگزینی استخوان و پوست مصنوعی دارا می‌باشد (Chaudhry et al., 2008).

از میان نانو ذرات فلزی نیز، نانو ذرات نقره مدت زیادی است که به‌عنوان ماده‌ی ضد میکروبی شناخته شده است (Lok et al., 2006). فعالیت ضد میکروبی این نانو ذرات ممکن است به چند مکانیسم مرتبط باشد که مکانیسم‌های تخریب ساختار غشاء سلول (Sawai et al., 1998; 2003; 2008)، هم‌چنین انتشار یون از سطح نانو ذرات و مرگ باکتری به علت اتصال به غشای سلول گزارش شده‌است (Sondi et al., 2004; Feng et al., 2000). اما با توجه به هزینه‌های بالای تهیه و سنتز این نانو ذرات دامنه کاربرد آن‌ها محدود شده‌است. بنابراین دستیابی به روش‌های ساده و کم هزینه در سنتز این نانو ذرات در بستر پلی‌مر می‌تواند هزینه‌های آن را کاهش دهد و نیز مشکلات توزیع و کلوخه‌ای شدن نانو ذرات را در ترکیب با پلی‌مر زمینه مرتفع نماید. با توجه به تحقیقات گسترده نسبت به نانو ذرات نقره و کیتوسان و خواص ضد میکروبی آن، کاربرد نانو کامپوزیت کیتوسان/نقره برای بسته بندی مواد غذایی تا کنون مورد بررسی قرار نگرفته‌است.

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

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} \times X$$

که در آن X ضخامت فیلم، P فشار بخار آب خالص، R_1 رطوبت نسبی در دسیکاتور، R_2 رطوبت نسبی در داخل ویال می‌باشد.

آزمون پراش اشعه ایکس

برای انجام آزمون پراش اشعه ایکس، سامانه مولد پرتو X در 40 kV و 40 mA تنظیم شد و نمونه‌ها در معرض پرتو X با طول موج 0.154 nm قرار گرفتند. پرتوهای بازتابشی از نمونه، در دمای محیط و در محدوده زاویه 2θ برابر $10^\circ - 80^\circ$ جمع‌آوری و نمودار مربوط به شدت بازتابش آن‌ها رسم شد. سرعت انجام آزمون $4^\circ/\text{min}$ و اندازه گام‌ها 0.2° بود.

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای انجام آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی و بررسی ریز ساختار و مورفولوژی فیلم تهیه شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Hitachi S3000N) در ولتاژ 15 kV استفاده شد. مقایسه مورفولوژی ساختار فیلم تهیه شده و نیز چگونگی توزیع نانو ذرات نقره در بستر پلی‌مر با میکروسکوپی الکترونی روبشی انجام شد.

هم‌زن مغناطیسی به مدت یک ساعت دیگر هم زده شد. سوسپانسیون نقره/ بایوکامپوزیت کیتوسان به‌دست آمده سپس سانتریفیوژ شده، چهار بار با استفاده از آب دو بار تقطیر شسته شد. در ادامه، حدود 50 میلی‌لیتر از محلول، داخل سینی‌های شیشه‌ای ریخته شد تا پس از خشک شدن فیلمی با ضخامت حدود $0.1 \pm 0.09 \text{ mm}$ تولید شود. در ادامه این سینی‌ها در آون در دمای 40°C درجه سانتی‌گراد به مدت 4 ساعت خشک گردید.

اندازه‌گیری مقدار جذب رطوبت

برای اندازه‌گیری آهنگ انتقال بخار آب، از روش اندازه‌گیری استاندارد E96 ASTM (Mohanty et al., 2000) استفاده شد. برای این کار ویال‌های مخصوصی با قطر 2 cm و ارتفاع 4.5 cm به کار رفتند. در درپوش این ویال‌ها منافذ مخصوصی با قطر 2 cm و ارتفاع 4.5 cm به کار رفته‌اند. در درپوش این ویال‌ها منافذی به قطر 8 mm قرار دارد که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار می‌گیرد. 3 گرم سولفات کلسیم که رطوبت نسبی آن صفر است در داخل ویال‌ها قرار داده شد. ابتدا فیلم‌ها در رطوبت نسبی 55% که توسط نیتريت کلسیم ایجاد شده بود به مدت 24 ساعت واجد شرایط شدند و سپس قطعه‌ای از فیلم بریده شده و در درپوش ویال قرار گرفته و بر روی ویال بسته شد. ویال‌ها همراه با محتویاتشان توزین شده و درون دسیکاتوری حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار گرفتند. سولفات پتاسیم اشباع در دمای 25°C ، رطوبت نسبی 97% ایجاد می‌کند. دسیکاتور در درون انکوباتور قرار گرفت و به مدت چهار روز هر چند ساعت یک‌بار وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ویال‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت

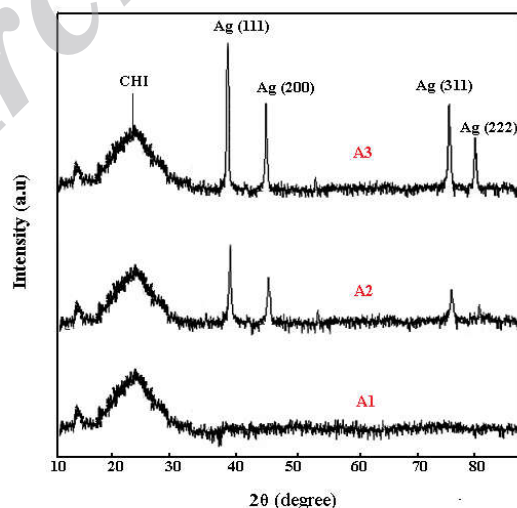
بررسی فعالیت ضد میکروبی

فعالیت ضد باکتریایی سوسپانسیون تهیه شده از نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از محیط کشت مولر هینتون آگار با تعیین قطر هاله عدم رشد تشکیل شده در اطراف چاهک، که مطابق با استانداردهای کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه بالینی (NCCLS 2000) می‌باشد مورد بررسی قرار گرفت. پلیت‌ها به طور متوسط حاوی ۲۰ میلی‌لیتر مولر هینتون بوده که باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آن کشت داده شدند. زمان کشت قطع شد و ۲۰ میکرولیتر از محلول بایو نانو کامپوزیت به آن اضافه شد. پلیت‌ها پس از آن در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. آنتی‌بیوتیک استریپتومايسين به‌عنوان کنترل کننده‌ی مثبت و دی متیل سولفواکسید به‌عنوان یک کنترل کننده‌ی منفی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

پراش اشعه ایکس

شکل ۱ الگوی پراش اشعه-X برای فیلم نقره/کیتوسان و فیلم کیتوسان خالص را نشان می‌دهد. الگوی پراش اشعه X- فیلم کیتوسان یک پیک پهن که ناشی از ساختار آمورف کیتوسان است نشان می‌دهد. این پیک مطابقت خوبی با الگوهای پراش به دست آمده برای فیلم کیتوسان دارد (Mitchell et al., 1987; Kassim et al., 1992). شاخص‌های میلر در بالای هر پیک نشان داده شده‌است. الگوهای پراش فیلم نانو بایو کامپوزیت نقره/کیتوسان نشان می‌دهد که ماکزیمم پیک‌های جذبی مشاهده شده برای نانو ذرات نقره مربوط به فازهای (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۳۱۱) و (۲۲۲) در سطوح کریستالوگرافی بوده و وجه غالب کریستال‌های نقره، مکعبی می‌باشد. اندازه کریستال‌های نانو ذرات نقره تولید شده در فیلم نقره/کیتوسان با استفاده از فرمول شرر برای پیک (۱۱۱) در 2θ ی ۳۸,۳۷ درجه برابر با ۲۴ نانومتر محاسبه شد.



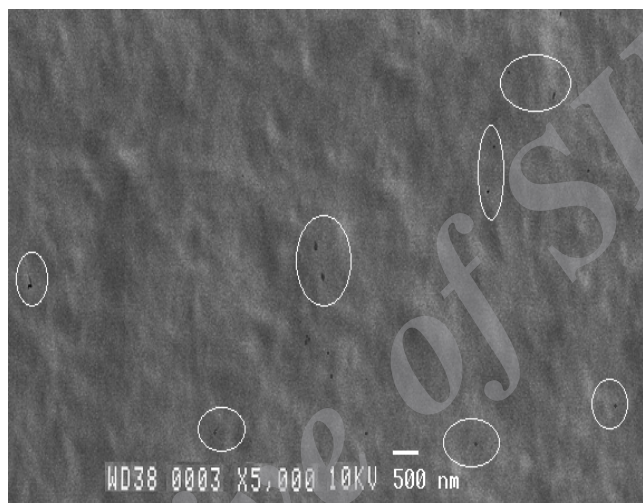
شکل ۱- الگوی پراش اشعه X کیتوسان (A₁) و نانو بایو کامپوزیت نقره/کیتوسان در غلظت‌های مختلف نیترات نقره، (A₂) ۰/۱۵ mol/L و

و (A₃) ۰/۱۵ mol/L

میکروسکوپی الکترونی

فیلم نانو بایو کامپوزیت نقره/کیتوسان به منظور مطالعه ریخت‌شناسی سطح توسط SEM مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۲ تصویر SEM از نانو بایو کامپوزیت نقره/کیتوسان را نشان می‌دهد که در آن نانو ذرات نقره به صورت نقاط مشکی

کوچک دیده می‌شوند. پستی و بلندی‌های ریز مشاهده شده در سطح فیلم مورد مطالعه با SEM مربوط به زبری سطحی فیلم می‌باشد که در تمامی فیلم‌های کیتوسانی قابل مشاهده است. همچنین نانو ذرات به طور یکنواخت در ماتریس پلی‌مر توزیع شده است.



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی از فیلم نانو بایو کامپوزیت نقره/کیتوسان (0.15 mol/L نیترات نقره).

آزمون‌های میکروبی

میزان هاله عدم رشد برای نانو ذرات نقره/کیتوسان تولید شده در برابر باکتری‌های گرم منفی و مثبت تست شده و در جدول ۱ و شکل ۳ ارائه شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که نانو ذرات نقره در محلول کیتوسان فعالیت

ضد باکتری بالایی در برابر باکتری‌های گرم منفی نشان داده و در مقابل باکتری‌های گرم مثبت فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان نمی‌دهد.

جدول ۱- میانگین هاله عدم رشد برای کیتوسان /نانو بایو کامپوزیت نقره در غلظت های مختلف از $AgNO_3$.

نوع باکتری	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)		کنترل مثبت (میلی متر)
	Cts/AgNPs (0.015 mol/L)	Cts/AgNPs (0.15 mol/L)	SM
	<i>S.aureus</i>	NA	NA
<i>B.cereus</i>	NA	NA	21.2
<i>S.epidermidis</i>	NA	NA	29.1
<i>Strept A</i>	NA	NA	29.1
<i>E.coli</i>	5.0	2.3	21.2
<i>E.Faecalis</i>	7.4	13.1	29.1
<i>Salmonella</i>	9.5	17.0	29.1
<i>P.aeruginosa</i>	11.0	21.1	21.2

Note: SM; Streptomycine; NA; not appear

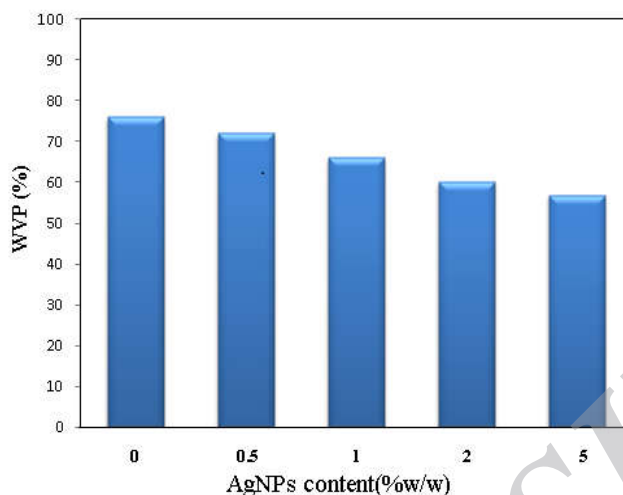


شکل ۳- فعالیت ضد باکتریایی نانو کامپوزیت در غلظت های مختلف از نیترات نقره در روش انتشار دیواره.

میزان نفوذ پذیری فیلم به رطوبت (WVP)

رطوبت فیلم آمیخته شده مشاهده شد. میزان جذب رطوبت برای فیلم خالص کیتوسان ۷۶٪ می باشد. با افزایش ۵/۰٪ وزنی/وزنی از نانو ذرات نقره این عدد به $۶۸ \pm ۰/۹$ کاهش می یابد.

تاثیر نانو ذرات نقره در میزان نفوذپذیری فیلم کیتوسان و کیتوسان/نقره به رطوبت در غلظت های مختلف نیترات نقره در شکل ۴ نشان داده شده است. جذب رطوبت فیلم کیتوسان با توجه به خصلت آب دوست بودن این ترکیب در رطوبت نسبی ۷۵٪، مقدار ۴۵/۴۲٪ بود. با افزودن ۵/۰، ۱، ۲ و ۵٪ وزنی/ وزنی از نانو ذرات نقره، کاهش در مقدار جذب



شکل ۴- تاثیر میزان نانو ذرات نقره بر روی درصد نفوذپذیری نسبت به رطوبت در فیلم نانو کامپوزیت نقره/ کیتوسان.

بحث

باشد. میانگین قطر نانو ذرات در این روش تقریباً $3.54 \pm 28,20$ نانومتر مشاهده شد. این نتایج با نتایج به دست آمده از کریستالوگرافی مطابقت خوبی نشان می دهد. بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانو بایو کامپوزیت نقره/ کیتوسان در غلظت های مختلف از نیترات نقره نشان می دهد که فعالیت این فیلم در برابر باکتری های گرم منفی قابل ملاحظه است. مکانیسم های متعددی برای فعالیت ضد باکتری نانوذرات استدلال می شود از جمله انتشار اجزاء اکسیژن جهت تخریب ساختار سلول و یا انتشار یون از سطح نانو ذرات و اتصال به غشای سلول است (Morones et al., 2005; Lee et al., 2003; Sawai et al., 2006; Lok et al., 2005). نتایج به دست آمده این نظریه را که پروتئین لیپو پلی ساکارید موجود در دیواره سلول باکتری دلیل متفاوت بودن خواص ضد میکروبی نانو ذرات در مقابل باکتری های گرم مثبت و منفی است را تقویت می کند. در واقع اتصال نانو ذرات نقره به این پروتئین ها در باکتری های گرم منفی دلیل خاصیت ضد میکروبی آن می باشد.

نانو ذرات نقره با موفقیت از محلول نیترات نقره/ کیتوسان در غلظت های مختلف از نیترات نقره با استفاده از سدیم برو هیدرید به عنوان عامل کاهنده ی شیمیایی بدون هیچ گونه عملیات حرارتی تهیه گردید. تجزیه و تحلیل XRD تایید کرد که سطوح کریستالوگرافی کریستال های نقره سنتز شده در درون فیلم از نوع مکعبی بودند. برای تمام نمونه ها، فاز اصلی بلور نقره بود و فازهای دیگری به صورت ناخالصی در الگوهای XRD مشاهده نشد. هم چنین نتایج نشان داد که شدت بازتاب های (۱۱۱)، (۲۰۰) و (۳۱۱) که ناشی از نانو ذرات نقره می باشد، با افزایش نانو ذرات نقره (AgNPs) در ماتریس جامد افزایش یافت.

تصاویر SEM به دست آمده از میکروسکوپی الکترونی روبشی نشان می دهد که توزیع نانو ذرات نقره در نانو بایو کامپوزیت کیتوسان/ نقره یکنواخت است. با توجه به اینکه میکروسکوپی الکترونی روبشی تصویری از سطح فیلم تهیه شده ارائه می نماید، بنابراین از نانو ذرات نقره پراکنده شده در درون فیلم تصویر روشنی ارائه نمی نماید. تنها پراکندگی متوازن در سطح فیلم و اندازه نانو ذرات قابل مشاهده می -

غذایی در مدت زمان کوتاه‌تر خواهد شد. برای زنده ماندن باکتری‌ها معمولاً به مینیمم میزان فعالیت ۰/۹۱ و برای رشد قارچ‌ها به مینیمم ۰/۷ نیاز است. برای سال‌های متمادی، دانشمندان سعی در بازداری رشد باکتری‌ها با کنترل میزان رطوبت نموده‌اند. نتیجتاً، نیازی برای افزایش اطلاعاتی در مورد خواص مقاومتی بسیاری از مواد مورد استفاده برای بسته‌بندی نسبت به آب وجود دارد تا بتوان زمان ماندگاری آن‌ها را افزایش داد. طبیعت آب‌دوست فیلم‌های پلی ساکارید، مقاومت آن‌ها را در عبور آب کم‌تر می‌نماید. کیتوسان نیز به‌عنوان یکی از مشتقات پلی ساکارید، علی‌رغم داشتن فعالیت ضد میکروبی قابل ملاحظه، نسبت به نفوذ آب مقاومت کم‌تری نشان می‌دهد. حضور نانو ذرات نقره در ماتریس این پلی‌مر موجب کاهش میزان نفوذپذیری این پلی‌مر نسبت به رطوبت خواهد شد.

نتایج بررسی میزان رطوبت عبور داده شده از فیلم نیز نشان داد که عبور رطوبت با افزایش میزان نانو ذرات کاهش می‌یابد. با افزایش میزان نانو ذرات نقره از ۰/۵٪ به ۵٪ کاهش در میزان جذب رطوبت فیلم کامپوزیت تهیه شده مشاهده شد. کم‌ترین مقدار جذب رطوبت در غلظت ۵٪ نانو ذرات در فیلم‌ها مشاهده شد. دلیل این کاهش را می‌توان به ایجاد ساختار منسجم‌تر با پیوستگی زیاد و فضاهای آزاد کم‌تر در اثر افزودن نانو ذرات و همچنین آب‌دوستی کم‌تر پرکننده‌ها نسبت به ماتریس نسبت داد که نفوذپذیری رطوبت را به داخل زمینه فیلم کاهش می‌دهد. به‌علاوه حضور نانو ذرات نقره در ماتریس پلی‌مر، مسیر پر پیچ و خمی را برای عبور مولکول‌های آب فراهم می‌کند بنابراین سرعت انتشار را کندتر می‌کند و در نتیجه نفوذپذیری را کاهش می‌دهد (Okamoto et al., 2005; Angles et al., 2001).

Paralikar و همکاران (۲۰۰۸) و Svagan و همکاران

با توجه به اثر ضد باکتریایی قابل قبول فیلم نانو بایو کامپوزیت نقره/کیتوسان در مقابل باکتری‌های گرم منفی که موجب فساد غذاها و عفونت‌های بالینی است، می‌توان از آن به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی تجاری استفاده نمود.

هم‌چنین استفاده از این فیلم در بسته‌بندی مواد غذایی می‌تواند به دلیل ممانعت از رشد میکروبی باعث افزایش ماندگاری مواد غذایی گردد. هم‌چنین با توجه به این‌که این نانو ذرات در درون ماده غذایی نفوذ نمی‌کند نسبت به روش‌های مشابه که نانو ذرات به درون مواد غذایی افزوده می‌شود به لحاظ حفظ سلامت و بهداشت مواد غذایی مناسب‌تر است. ابراهیمی و همکاران در بررسی خواص ضد میکروبی کامپوزیت‌های کیتوسان و پلی‌پایرول، حضور کیتوسان و نانو ذرات را باعث افزایش خصلت ضد میکروبی فیلم سنتز شده گزارش کردند (Ebrahimiasl et al., 2015). علاوه بر آن، از آن‌جایی که کیتوسان یک ماده زیست تخریب‌پذیر است، حضور آن علاوه بر افزایش خواص ضد میکروبی فیلم سنتز شده، موجب تخریب سریع فیلم در محیط زیست خواهد شد. Longano و همکاران خواص ضد میکروبی نانو کامپوزیت مس را بررسی نمودند که برای بسته‌بندی مواد غذایی به کار برده می‌شود. آنان از نانو ذرات مس تولید شده با استفاده از اشعه لیزر در درون ماتریس پلی لاکتیک اسید به‌عنوان یک پلی‌مر زیست تخریب‌پذیر برای تولید این کامپوزیت بهره گرفتند. نتایج به‌دست آمده توسط آنان نشان‌دهنده فعالیت ضد میکروبی این کامپوزیت در مقابل باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (Longano et al., 2012).

آب یکی از فاکتورهای نامطلوب و زیان‌آور در محیط است. افزایش میزان فعالیت آب در مواد موجب رشد بیش‌تر میکروارگانیسم‌ها خواهد شد و بنابراین موجب فساد مواد

(۲۰۰۹) هم دریافتند که این ویژگی بازدارندگی فیلم‌های پلی‌مری، با افزودن نانو ذرات بهبود می‌یابد.

منابع

1. Angles, M.N., and Dufresne, A. 2001. Plasticized starch/Tunicin whiskers nanocomposites, mechanical behavior. *Macromolecules*. 34: 2921-2931.
2. Chaudhry, Q., Scotte, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., and Castle, L. 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Addit Contam*. 25: 241-258.
3. Darder, M., Colilla, M., and Ruiz-Hitzky, E. 2005. Chitosan-clay nanocomposites: Application as electrochemical sensors. *Appl Clay Sci*. 28: 199-208.
4. Ebrahimiasl, S., Zakaria, A., Kassim, A., and Basri, S.N. 2015. Novel conductive polypyrrole/zinc oxide/chitosan bionanocomposite: synthesis, characterization, antioxidant, and antibacterial activities. *Int J Nanomedicine*. 10: 217-227.
5. Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T. N., and Kim, J.O. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*. 52: 662-668.
6. Imran, M., El-Fahmy, S., Revol-Junelles, A.M., and Desobry, S. 2010. Cellulose derivative based active coatings: effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Carbohydrate Polymers*. 81: 219-225.
7. Kassim, A., Block, H., Davis, F.J., and Mitchell, G.R. 1992. Anisotropic films of polypyrrole formed electrochemically using a non-planar dopant. *J Mater Chem*. 2: 987-988.
8. Lee, D., Cohen, R.E., and Rubner, M.F. 2005. Antibacterial properties of Ag nanoparticle loaded multilayers and formation of magnetically directed antibacterial microparticles. *Langmuir*. 21: 9651-9659.
9. Lok, C.N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q.Y., Yu, W.Y., Sun, H., et al. 2006. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J Proteome Res*. 5: 916-924.
10. Longano, D., Ditaranto N., Cioffi, N., Niso, F., Sibillano, T., Ancona, A., Conte, A., Nobile, M., Sabbatini, L., and Torsi, L. 2012. Analytical characterization of

- laser-generated copper nanoparticles for antibacterial composite food packaging. *Anal Bioanal Chem.* 403: 1179-1186.
11. Mitchell G.R., and Geri, A. 1987. Molecular organisation of electrochemically prepared conducting polypyrrole films. *J Phys Appl Phys.* 20: 1346-1353.
 12. Mohanty, A.K., Misra, M., and Hinrichsen, G. 2000. Biofibres, biodegradable polymer and composites: an overview. *J Macromol Mater Eng.* 276: 277- 124.
 13. Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., and Camacho, A. 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnol.* 16: 2346-2353.
 14. Okamoto, M., Mallapragada, S., and Narasimhan, B. 2005. Handbook of biodegradable polymeric materials and their applications. *American Sci.* 1-45.
 15. Paralikar, S.A., Simonsen, J., and Lombardi, J. 2008. Polyvinyl alcohol / cellulose nanocrystal barrier membranes. *J Membrane Sci.* 320: 248-58.
 16. Sawai, J. 2003. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. *J Microbiol Methods.* 54: 177-182.
 17. Sawai, J., Shoji, S., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., and Shimizu, M. 1998. Hydrogen peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry. *J Ferment Bioeng.* 86: 5.
 18. Sawai, J., and Yoshikawa, T. 2004. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *J Appl Microbiol.* 96: 803-809.
 19. Sawai, J. 2003. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. *J Microbiol Methods.* 54: 177-182.
 20. Sondi, I., and Salopek-Sondi, B. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci.* 275: 177-182.
 21. Svagan, A.J., Hedenqvist, M.S., and Berglund, L. 2009. Reduced water vapour sorption in cellulose nanocomposites with starch matrix. *Compos Sci Technol.* 69: 500-506.

Synthesis and Characterization of Ag/Chitosan Nanobiocomposite by Chemical Method and Investigation of its Application for Food Packaging

Ebrahimi Asl S^{1*}, Zarei A²

1. Department of Nanotechnology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.
2. Department of chemistry, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

*Corresponding author: *Ebrahimi.nano@yahoo.com*

Abstract

Chitosan is a biodegradable and antibacterial polymer with simple preparation methods. The main problem of its film is its poor mechanical stability and amphiphilic structure. In this research Ag nanoparticles was synthesized in the matrix of chitosan (biopolymer) to reduce humidity absorbance and increase mechanical stability for application in food packaging. AgNO₃ and Na₂H₂B₄ and chitosan was used as precursors. The characteristic of nanoparticles and film was studied by X-Ray diffraction pattern. Surface morphology of the film was studied using scanning electron microscopy. The result of the X-ray diffraction analysis showed that the maximum absorbance of the silver nanoparticles belongs to (111), (200), (311) and (222) direction and the domain phase of silver crystals are cubic. Scanning electron microscopy image revealed homogenous distribution of nanoparticles in polymer film. The microbial results showed an antibacterial effect for Ag nanoparticles in chitosan solution against gram negative bacteria. Furthermore, it didn't show any effect against gram positive bacteria. Antibacterial activity of the composite was studied by the inhibition zone effect against Gram positive and gram negative using Muller-Hinton agar in different concentration of AgNO₃. The result demonstrated that the maximum antibacterial activity was observed in the concentration of 0.15 mol/L. The effect of nanoparticles in the humidity absorbance of the film was investigated. WVP was decreased from 7.6% to 5.7% g/m.h.Pa.

Keyword: Chitosan, Nanobiocomposite, Food packaging, Chemical synthesis.