

## بهبود اثر ضد باکتری عصاره پوست انار با نانوکیتوزان با استفاده از روش انکپسوله کردن در ساخت کاغذهای بهداشتی

### چکیده

با توسعه توجه به مسائل زیست‌محیطی و توجه هرچه بیشتر جامعه انسانی به مسائل بهداشتی استفاده از ترکیبات ضد باکتری دوستدار محیط‌زیست نظیر عصاره‌های گیاهی برای تولید کاغذهای ضد باکتری بسیار جالب توجه می‌باشد. از طرفی با توجه به فراربت بالای این ترکیبات دوستدار محیط‌زیست انتظار می‌رود کپسوله کردن آن‌ها در موادی نظیر کیتوزان بتواند موجب افزایش پایداری و کنترل رهائش آن‌ها در ساختار کاغذ شود. از این رو در این تحقیق عصاره اتانولی پوست انار در کیتوزان به روش انعقاد یونی کپسوله شد و با استفاده از روش اسپری روی سطح کاغذها اعمال شد. ویژگی‌های ساختاری عصاره پوست انار نظیر فنل کل، فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها بررسی شدند. همچنین ویژگی‌های ساختاری، ممانعتی نظیر فعالیت ضد باکتریایی و مقاومتی کاغذهای تهیه‌شده نیز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که با روش انعقاد یونی نانو کپسول‌هایی با ابعاد حدود ۱۶۰ نانومتر به دست آمدند که توانستند فعالیت ضد باکتری کاغذهای اصلاح‌شده را حدود ۳۵ میلی‌متر در برابر باکتری استفیلوکوکوس اورئوس افزایش دهند. علاوه بر این فعالیت ضد باکتری کاغذهای اصلاح‌شده با نانو کپسول‌ها حدود دو هفته بیشتر از کاغذهای اصلاح‌شده با عصاره خالص بود. از طرف دیگر حضور کیتوزان در ساختار نانو کپسول‌ها نیز منجر شد تا ویژگی‌های فیزیکی و مقاومتی کاغذهای اصلاح‌شده نیز بهبود یابند.

**واژگان کلیدی:** عصاره پوست انار، نانوکیتوزان، نانو کپسول کیتوزان - عصاره پوست انار، انعقاد یونی، کاغذ ضد باکتری.

پروانه نارچین<sup>۱\*</sup>  
احمد رضا سرائیان<sup>۲</sup>  
الیاس افرا<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری صنایع خمیر و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

<sup>۲</sup> دانشیار گروه مهندسی کاغذ، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

<sup>۳</sup> دانشیار گروه مهندسی کاغذ، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مسئول مکاتبات:

[parvnaan1369@yahoo.com](mailto:parvnaan1369@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۰

### مقدمه

با توجه به توسعه روز افزون توجه به مسائل زیست‌محیطی، استفاده از کاغذ به‌عنوان یک ماده زیست‌تخریب‌پذیر روز به روز در حال گسترش می‌باشد. کاغذها دارای مصارف گوناگونی می‌باشند که بسته به نوع کاربرد برخی ویژگی‌ها در آن‌ها از اهمیت بیشتری

برخوردار می‌باشد. یکی از مهم‌ترین انواع کاغذها، کاغذهای بهداشتی می‌باشند. از آنجاکه کاغذها از الیاف سلولزی تشکیل شده‌اند و این الیاف به‌عنوان یک منبع غنی از انرژی برای برخی از میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شود [۱] و از طرف دیگر با توسعه روزافزون توجه انسان‌ها به مسائل بهداشتی، ایجاد برخی ویژگی‌های جدید نظیر

پوست انار که تقریباً ۵۰ درصد از وزن آن را شامل می‌شود یک بخش غیرقابل خوراکی است و به‌طور وسیع در طب مردمی فرهنگ‌های زیادی استفاده می‌شود [۱۳]. با توجه به اینکه پوست‌ها مصرف نمی‌شوند و به‌ندرت درخواست می‌شوند، مقدار زیاد ترکیبات زیست فعال حاضر در این بخش‌های غیرقابل خوردنی می‌تواند برای اهداف مختلفی در توسعه محصولات ضد باکتری جدید استفاده شود [۱۴]. از این رو پوست انار می‌تواند گزینه خوبی برای ایجاد ویژگی‌های ضد میکروب طبیعی در کاغذهای بهداشتی باشد. عملکرد ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی مربوط به برخی ترکیبات فتوشیمیایی موجود در گیاهان است که از مهم‌ترین این ترکیبات، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در این عصاره‌ها می‌باشد.

ترکیبات فنولی متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که مسیرهای پنتوز فسفات<sup>۲</sup>، شیکیمات<sup>۳</sup> و فنیل پروپانویدها<sup>۴</sup> در گیاهان مشتق می‌شوند [۱۵]. این ترکیبات، یکی از گسترده‌ترین گروه‌های موجود در فتوشیمیایی‌ها هستند که از اهمیت فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی قابل توجه‌ای در گیاهان برخوردارند. این ترکیبات نقش مهمی در رشد و تکثیر، ایجاد حفاظت در برابر بیماری‌زها و شکارگرها [۱۶]، در کنار ایجاد ویژگی‌های رنگ و حسی میوه‌ها و سبزیجات دارند [۱۷].

فلاونوئیدها شامل گروه بزرگی از ترکیبات پلی فنولیک دارای ساختار بنزو-۷-پیرون<sup>۵</sup> هستند و در همه قسمت‌های گیاهان حضور دارند. آن‌ها از طریق مسیر فنیل پروپانوئید<sup>۶</sup> ساخته می‌شوند. گزارشات در دسترس نشان می‌دهند که متابولیت‌های ثانویه با طبیعت فنولی نظیر فلاونوئیدها مسئول تغییر فعالیت‌های داروشناسی هستند [۱۸، ۱۹]. فلاونوئیدها مواد فنولی هیدروکسیل‌دار شده هستند و توسط گیاهان در پاسخ به عفونت‌های میکروبی تولید می‌شوند [۲۰] و فعالیت‌های آن‌ها وابسته به ساختار آن‌ها می‌باشد.

ویژگی‌های ضد میکروبی در کاغذهای بهداشتی ضروری به نظر می‌رسد.

تاکنون ترکیبات مختلفی برای ایجاد ویژگی‌های ضد میکروبی در ساختار فیبری کاغذ مورد استفاده قرار گرفته‌اند نظیر نانو نقره [۲]، نانو دی‌اکسید روی [۳] و غیره که اکثر این مواد نانو ذرات فلزی می‌باشند که بسته به نوع ماده، مقدار مصرف آن‌ها تا حد مشخصی مجاز تلقی شده است و مقادیر بیشتر این ذرات سمی می‌باشند، البته لازم به ذکر است که این مجاز بودن دلالت بر بی‌خطر بودن آن‌ها نداشته و حضور هر مقداری از این مواد در بدن موجودات زنده و در طبیعت می‌تواند دارای اثرات جانبی باشد [۴، ۵ و ۶]. از این رو استفاده از ترکیبات ضد میکروب طبیعی که دوستدار محیط‌زیست باشند ترجیح داده می‌شود.

عصاره‌های گیاهی کلاسه‌ای از این مواد می‌باشند که طبق مطالعات انجام‌شده تاکنون در صنعت کاغذسازی راه نیافته‌اند اما راسته این تحقیقات در صنایع نساجی مشاهده شده است [۷، ۸ و ۹]. Muthu و همکاران در سال ۲۰۱۷ از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان ماده ضد میکروب روی پارچه جین استفاده کردند و اعلام کردند که پارچه پرداخت‌شده با عصاره‌های گیاهی اثر ضد باکتری قابل توجهی از خود نشان دادند. تاکنون گیاهان متنوعی از جنبه وجود خواص ضد میکروبی در برابر میکروارگانیسم‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند اما نسبتاً تعداد کمی از این گیاهان به‌اندازه کافی فعال و برای انسان غیر سمی بوده‌اند [۱۰]. از جمله این گیاهان می‌توان به گیاه آویشن، نعناع و رز ماری اشاره نمود که عصاره حاصل از این ترکیبات دارای رنگ قابل توجه‌ای می‌باشد که می‌تواند استفاده از آن‌ها را در کاغذهای بهداشتی به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروب محدود سازد. برخی تحقیقات علمی گزارش کرده‌اند که برخی پسماندهای گیاهی نظیر پوست انار دارای فعالیت‌های ضد میکروب قابل توجه‌ای می‌باشند [۱۱].

انار بانام علمی *Punica granatum* منبعی غنی از تانن‌ها، فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها و برخی آنتوسیانین‌ها مانند دلفینیدین‌ها<sup>۱</sup>، سیانیدین‌ها<sup>۲</sup> و غیره است [۱۲].

<sup>1</sup> Delphinidins

<sup>2</sup> Cyanidins

<sup>3</sup> Pentose phosphate

<sup>4</sup> Shikimate

<sup>5</sup> Phenylpropanoids

<sup>6</sup> Benzo-γ-pyrone

Phenylpropanoid

کاغذ باشد. روش‌های مختلفی برای تولید نانو کپسول‌ها استفاده شده است که از جمله این روش‌ها می‌توان به روش اسپری خشک، انعقاد حرارتی، انعقاد یونی و غیره. در بین روش‌های مذکور روش انعقاد یونی روش ساده‌ای می‌باشد که می‌تواند امکان کپسوله کردن عصاره پوست انار با کیتوزان را به سرعت فراهم سازد. از این رو در این تحقیق باهدف افزایش امکان استفاده از عصاره پوست انار برای ایجاد خواص ضد میکروبی سازگار با محیط‌زیست در کاغذ، از روش انعقاد یونی با کیتوزان استفاده گردید.

### مواد و روش‌ها

#### مواد

برای تهیه عصاره پوست انار، ۵ کیلو انار از باغی در شهرستان ساری خریداری شد، پوست انارها جداسازی و سایه خشک شدند. پوست‌های خشک شده با استفاده از دستگاه آسیاب برقی خرد شدند و برای عصاره‌گیری آماده شدند. برای تهیه نانوکیتوزان‌ها از میکروکیتوزان میکروکیتوزان ساخت شرکت نانو نوین پلیمر (ایران) استفاده شد. عامل اتصال عرضی مورد استفاده سدیم تری- پلی فسفات (NTPP) ساخت شرکت سیگما-آلدريج (آمریکا) به شماره مدل MFCD00003514 بود. برای ساخت کاغذهای بهداشتی از ترکیب الیاف کوتاه و الیاف بلند وارداتی استفاده شد که از کارخانه چوب و کاغذ مازندران خریداری شدند.

#### عصاره‌گیری

به منظور تهیه عصاره از پوست انار از روش آغشته سازی استفاده گردید. برای این منظور میزان ۱۰ گرم پودر پوست انار با ۱۰۰ cc اتانول ۸۰ درصد برای مدت ۷۲ ساعت روی شیکر دورانی ساخت شرکت پرزان پژوه (ایران)، تحت شرایط همزنی پیوسته با سرعت ۱۲۰ rpm قرار گرفت. پس از دوره نهفتگی، عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن به کمک دستگاه پمپ خلأ از پودرهای باقی مانده جداسازی شد [۷]. عصاره حاصل برای حذف حلال آلی به مدت ۲۴ ساعت در یک محیط تاریک تحت شرایط محیطی قرار گرفت [۲۴] و تا زمان استفاده بعدی در فریزر  $20^{\circ}\text{C}$  - نگه‌داری شدند.

با توجه به مطالب مذکور انتظار می‌رود افزودن این مواد به ساختار فیبری کاغذ بتواند به تولید کاغذهای با ویژگی‌های ضد میکروبی که سازگار با محیط‌زیست باشند و کمترین اثر سوء را روی بدن انسان و محیط‌زیست داشته باشند منجر گردد. برای افزودن این ترکیبات فعال به ساختار فیبری کاغذ روش‌های مختلفی وجود دارد نظیر افزودن به پایانه‌تر کاغذسازی و یا پوشش دهی سطح کاغذ با این ترکیبات فعال. از آنجاکه انتظار می‌رود در پایانه‌تر کاغذسازی این ترکیبات اتصال ضعیفی با ساختار فیبری کاغذ داشته باشند میزان هدر رفت آن‌ها بسیار زیاد خواهد بود. در نتیجه افزودن این ترکیبات به روش پوشش دهی مناسب‌تر می‌باشد. تحقیقات نشان داده‌اند که در روش‌های مختلف پوشش دهی روش اسپری کمترین میزان هدر رفت مواد را دارد [۲۱، ۲۲]. از این رو در این پژوهش از روش اسپری برای افزودن ترکیبات فعال عصاره گیاهی پوست انار استفاده شده است. در کنار تمام مزایای ذکر شده، استفاده از عصاره‌های گیاهی در ساختار فیبری کاغذ دارای محدودیت‌هایی است. ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره‌های گیاهی ترکیبات فراری می‌باشند که نسبت به دما به شدت حساس می‌باشند و از آنجاکه در فرآیند کاغذسازی از دما برای خشک کردن سریع این مواد روی کاغذ استفاده می‌شود استفاده از این مواد را برای سات کاغذهای ضد باکتری با محدود می‌سازد. امروزه پژوهش‌های زیادی برای حفظ و افزایش ماندگاری این ترکیبات فعال در عصاره‌های گیاهی به انجام رسیده است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها نانوکپسوله کردن عصاره‌های گیاهی می‌باشد. کپسوله کردن فرآیندی است که در آن مواد جامد، مایع یا گاز کوچک توسط یک پوسته پلیمری یا معدنی پوشیده می‌شوند. از مهم‌ترین کاربرد کپسوله کردن مواد، رهایی کنترل شده ترکیبات فعال، افزایش پایداری عطر مواد، افزایش پایداری فیزیکی و شیمیایی و بهبود عمر مفید مواد فعال و همچنین حفظ مواد فعال از در معرض قرار گرفتن با محیط اطراف می‌باشد [۲۳]. از این رو انتظار می‌رود انکپسوله کردن عصاره‌های گیاهی با موادی نظیر کیتوزان که در حال حاضر تحقیقات صورت پذیرفته روی آن در صنعت کاغذسازی بسیار زیاد می‌باشد بتواند روشی مؤثر برای حفظ ساختار عصاره پوست انار و امکان استفاده از آن به عنوان یک عامل ضد باکتری روی

هم خوردن افزوده شد. به منظور ایجاد ساختار کپسول و به دام اندازی ترکیبات فعال عصاره در ساختار پلیمری کیتوزان، میزان ۰/۱ نسبت به کیتوزان، محلول سدیم تری پلی فسفات به ترکیب مذکور افزوده شد و ترکیب حاصل برای مدت ۲۰ دقیقه تحت همزنی پیوسته قرار گرفتند. در مرحله بعد به منظور تشکیل ساختارهای نانومتری در کپسول‌های ایجاد شده، محلول حاصل برای مدت ۱۰ دقیقه تحت تیمار فراصوتی تحت حمام یخ قرار گرفت. نهایتاً محلول برای ۱ دور ۳۰ دقیقه‌ای با دور rpm ۱۰۰۰۰ تحت سانتریفیوژ قرار گرفت تا ذرات اضافه باقی مانده در محلول که در واکنش و تشکیل کپسول‌ها شرکت نکرده‌اند از محلول خارج شوند. نانوذرات تهیه شده مجدد تحت تیمار فراصوتی w ۳۵۰ قرار گرفتند تا محلولی از نانوذرات پراکنده در آب دیونیزه تهیه شود.

#### سنجش کارایی به دام اندازی عصاره گیاهی

کارایی درصد کپسوله شدن (EE) با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد [۲۶].

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{EE} = \frac{\text{فلاونوئید آزاد} - \text{فلاونوئید کل}}{\text{فلاونوئید کل}} \times 100\%$$

#### بررسی ویژگی‌های ساختاری عصاره پوست انار

در بررسی ویژگی‌های ساختاری عصاره پوست انار مقدار فنول کل بر اساس روش معرف فنول فولین-سیوکالتیوز<sup>۱</sup> با اندکی اصلاحات انجام شد [۲۷]. مقدار فنول کل (TPC) عصاره پوست انار با استفاده از منحنی کالیبراسیون گالیک اسید ( $R^2 = 0/992$ ) تخمین زده شد و به عنوان هم ارزش گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه و به عنوان (mg of GAE/g of dry weight (DW)) بیان شده است. مقدار فلاونوئید کل (TCF) عصاره پوست انار با روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم ( $\text{AlCl}_3$ ) طبق روش Bag و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی اصلاحات انجام شد. مقدار فلاونوئید کل (TPC) عصاره پوست انار با استفاده از منحنی کالیبراسیون کوئرستین ( $R^2 = 0/992$ ) تخمین زده شد و به عنوان هم ارزش کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه ((mg of Qe/g of dry weight (DW))

#### تهیه نانوکیتوزان

برای تهیه نانوکیتوزان‌ها میزان ۱ g میکروکیتوزان در ۱۰۰ cc استیک اسید ۱/۵ درصد برای مدت ۳۰ دقیقه تحت همزنی پیوسته با دور rpm ۱۰۰۰ تحت شرایط دمایی محیط قرار گرفت. سپس محلول حاصل برای مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دستگاه همزنایزر اولتراسونیک مدل UHP-100 ساخت شرکت توسعه فناوری مافوق صوت، تحت تیمار فراصوتی با فرکانس ۲۰ KHz و توان w ۲۰۰ قرار گرفت. پس از این مرحله میزان ۲۰ cc محلول آبی سدیم تری پلی فسفات (NTPP) با نسبت ۰/۱ نسبت به کیتوزان به عنوان عامل اتصال عرضی به صورت قطره‌ای به محلول کیتوزان در حال همزده شدن با همزن مغناطیسی اضافه شد. ترکیب حاصل برای ۳۰ دقیقه تحت تیمار فراصوتی قرار گرفت و نهایتاً برای ۳ دور ۱۵ دقیقه‌ای با دور rpm ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. نانوذرات تهیه شده برای جداسازی توده‌های نانوذرات تشکیل شده طی فرآیند سانتریفیوژ، برای مدت ۱۵ دقیقه تحت تیمار فراصوتی قرار گرفتند. به منظور حذف حباب‌های تشکیل شده محلول نانوذرات کیتوزان حاصل برای مدت ۲۴ ساعت در شرایط پایدار برای حذف حباب‌های هوا تشکیل شده در طول همزده حفظ شد [۲۵].

#### تهیه نانو کپسول کیتوزان- عصاره پوست انار

(Cs-PPE)

نانو کپسول‌های کیتوزان- عصاره پوست انار (CS-PPE) با روش ساده انعقاد یونی از ترکیب عصاره پوست انار و میکروکیتوزان تهیه شدند. برای این منظور در مرحله اول محلول بافر استات با pH=۴ تهیه شد. برای تهیه بافر استات از ترکیب استیک اسید و استات سدیم در آب دیونیزه استفاده شد. سپس از این محلول برای تهیه نانوکپسول CS-PPE استفاده شد. به منظور تهیه نانوکپسول CS-PPE، ۲۰۰ mg میکروکیتوزان در ۱۰۰ cc بافر استات تحت شرایط همزنی پیوسته با دور rpm ۱۰۰۰ در دمای محیط برای ۳۰ دقیقه همزده شد. سپس محلول حاصل برای مدت ۱۰ دقیقه تحت تیمار فراصوتی با فرکانس ۲۰ KHz با توان w ۲۰۰ قرار گرفت. در مرحله دوم ۲۰۰ mg عصاره پوست انار به محلول کیتوزان تحت

<sup>۱</sup> Folin-Ciocalteu's phenol reagent

### تهیه کاغذهای اصلاح شده

اصلاح کاغذها به روش اسپری صورت پذیرفت. برای این منظور مقدار مناسب از محلول نانو کپسول CS-PPE که بر اساس حداقل غلظت ممانعت عصاره پوست انار تعیین شد، عصاره پوست انار و محلول نانوکیتوزان تهیه شده با استفاده از یک اسپری دستی برای پوشاندن سطح کاغذ پایه مورد استفاده قرار گرفت. کاغذها در دمای محیط هوا خشک شدند.

### آزمون ضد باکتری

در انجام آزمون ضد باکتری از محیط کشت مایع BHIB<sup>۳</sup> (برند ایبرسکو) برای رشد باکتری‌ها و آماده‌سازی سوسپانسیون باکتری‌ها و از محیط کشت جامد مولر هینتون آگار<sup>۵</sup> (برند مرک) برای انجام آزمون ضد باکتری به روش هاله استفاده شد. ویژگی‌های ضد میکروبی کاغذهای اصلاح شده در برابر دو باکتری گرم منفی اشریشیاکولای (*E. coli* No. PPCC 1399) و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus* No. ATCC 25923) که سوش‌های مربوطه از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گرگان تهیه شدند مورد سنجش قرار گرفتند. برای این منظور از کاغذهای اصلاح شده نمونه‌هایی با قطر ۵ mm جداسازی شد. به دلیل پیشگیری از اثر منفی حرارت روی عملکرد ضد میکروبی عصاره پوست انار، برای استریل کردن کاغذها از اشعه UV استفاده شد.

برای انجام آزمون ضد باکتری، ابتدا میزان اندکی از سوسپانسیون باکتری با غلظت نیم مک‌فارلند (تعداد تقریبی باکتری‌ها حدود  $10^8 \times 1/5$ )، با استفاده از چوب‌پنبه روی پلیت‌های مولر هینتون آگار گسترش داده شدند. سپس نمونه‌های کاغذ اصلاح شده، شاهد و همچنین نمونه‌های کنترل مثبت پنسیلین و جنتامیسین با استفاده از یک پنس استریل به روی محیط کشت‌های حاوی باکتری منتقل شدند. پلیت‌ها برای مدت ۲۴ ساعت به دستگاه انکوباتور با شرایط دمایی  $37^\circ\text{C}$  منتقل شدند. پس از گذشت دور نهفتگی هاله‌های ایجاد شده در اطراف

بیان شده است. ظرفیت تخلیه رادیکال آزاد عصاره پوست انار با استفاده از روش DPPH (۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل-هیدرازیل) اندازه‌گیری شد. درصد فعالیت تخلیه رادیکال آزاد DPPH با استفاده رابطه (۲) محاسبه شد.

$$\text{رابطه (۲)} \quad 100(Ac - As)/Ac = \text{درصد مهار رادیکال آزاد}$$

درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از مقدار جذب نمونه کنترل (Ac) و نمونه مورد بررسی (As) محاسبه شد. برای انجام این آزمون از منحنی استاندارد اسید آسکوربیک استفاده شد.

### تعیین حداقل غلظت بهینه عصاره پوست انار در

#### ایجاد فعالیت ضد میکروبی

به منظور سنجش کمترین غلظت مؤثر عصاره پوست انار در ایجاد ویژگی‌های ضد میکروبی، محلول‌هایی با غلظت  $900, 1200, 1500, 2000 \mu\text{g/ml}$  از عصاره پوست انار تهیه و ویژگی ضد میکروبی آن‌ها در برابر دو باکتری گرم منفی اشریشیاکولای (*E. coli*) و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین حداقل غلظت مؤثر PPE از محیط کشت مولر هینتون آگار و روش اندازه‌گیری ناحیه ممانعت از رشد باکتری استفاده شد.

### ساخت کاغذ پایه

برای ساخت کاغذها ابتدا الیاف برای رسیدن به درجه روانی مناسب کاغذهای بهداشتی طبق استاندارد ۲-om T240 آیین‌نامه تاپی<sup>۲</sup> تا درجه روانی  $25^\circ\text{SR}$  که بر اساس استاندارد کانادا (CSF) حدود ۵۰۰ ml می‌باشد پالایش شدند. کاغذهای دست‌ساز پایه با گراماژ  $35 \text{ g/m}^2$  با استفاده از دستگاه Sheet Former مدل 200-1 ساخت شرکت PTI اتریش و بر اساس استاندارد ۲-om T205 sp آیین‌نامه تاپی از ترکیب ۵۰ درصد الیاف کوتاه و ۵۰ درصد الیاف بلند وارداتی تهیه شدند.

<sup>3</sup> Brain Heart Infusion Broth

<sup>4</sup> Ibresco

<sup>5</sup> Mueller-Hinton agar

<sup>6</sup> Merck

<sup>1</sup> 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

<sup>2</sup> TAPPI

کشش خشک و مقاومت به کشش تر کاغذها به ترتیب طبق استانداردهای شماره ۰۱-om-۴۹۴ T و 10-om-456 T آیین‌نامه‌ی تاپی اندازه‌گیری شدند. برای ارزیابی معنی‌داری بین میانگین‌ها در این تحقیق از آزمون دانکن با سطح اعتماد ۹۵٪ استفاده شد که برای این منظور از نرم‌افزار SPSS 16 استفاده گشت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار EXCEL 2013 استفاده شد.

### نتایج و بحث

نتایج مربوط به آنالیز آزمون پراکندگی دینامیکی نانوذرات کیتوزان تهیه‌شده و نانوکپسول CS-PPE به ترتیب در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند. نتایج نشان دادند که اکثر نانوذرات کیتوزان فرآوری شده دارای ابعاد نانومتری می‌باشند و متوسط ابعاد این ذرات در محدوده ۶۱ نانومتر بوده است. در شکل ۱ مشاهده می‌شود که میزان جزئی از نانوذرات کیتوزان دارای ابعاد میکرومتری بوده‌اند که احتمالاً مربوط به برخی از تجمعات ایجادشده از نانوذرات کیتوزان می‌باشد که با توجه به استفاده از عامل اتصال عرضی سدیم تری‌پلی فسفات در فرآیند تولید نانوکیتوزان در طی مرحله سانتریفیوژ می‌تواند ایجادشده باشد. نتایج آزمون پراکندگی دینامیکی مربوط به نانو کپسول‌های فرآوری شده (شکل ۲) نشان داد که اکثر کپسول‌های فرآوری شده دارای ابعاد نانومتری بوده‌اند و متوسط ابعاد این ذرات در محدوده ۱۶۳ نانومتر بوده است. در تعریف نانوکپسوله کردن، مقیاس نانو تا ابعاد حدود ۲۰۰ نانومتر بیان شده است [۲۴، ۲۹]. از این رو نتایج آزمون پراکندگی دینامیکی نشان می‌دهند که ذرات فرآوری شده از ترکیب کیتوزان و عصاره پوست انار نانوکپسول می‌باشند.

هر یک از نمونه‌ها برحسب mm اندازه‌گیری شد. در این آزمون هر تیمار در سه تکرار برای هر یک از باکتری‌های گرم منفی *E.coli* و گرم مثبت *S.aureus* بررسی شدند [۲۸].

### آنالیز ویژگی‌های نانو ساختاری نانو کپسول CS-

PPE

به‌منظور بررسی ابعاد نانو کپسول‌ها و نانوکیتوزان سنتز شده از آزمون پراکندگی دینامیکی (DLS) استفاده شد. این آزمون توسط دستگاه Horiba ژاپن مدل SZ-100 دانشگاه تهران انجام شد. برای بررسی تشکیل پیوندهای شیمیایی جدید بین ترکیبات مختلف در ساختار نانوکپسولی و نانوکیتوزان تهیه‌شده از آزمون طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR) استفاده شد. این آزمون توسط دستگاه Bruker ساخت آلمان مدل Tensor II دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان بررسی شد. نحوه پراکنش و بررسی یکنواختی توزیع نانوکپسول، عصاره پوست انار و نانوکیتوزان روی سطح کاغذهای اصلاح‌شده با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) مورد بررسی قرار گرفتند. این تصاویر توسط دستگاه FESEM مدل MIRA3 TESCAN-XMU پژوهشگاه متالوژی رازی تهیه شدند.

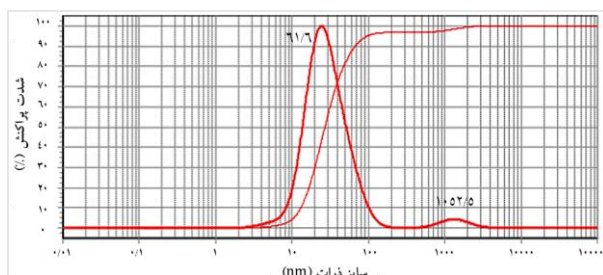
### بررسی ویژگی‌های فیزیکی و مقاومتی کاغذهای

اصلاح شده

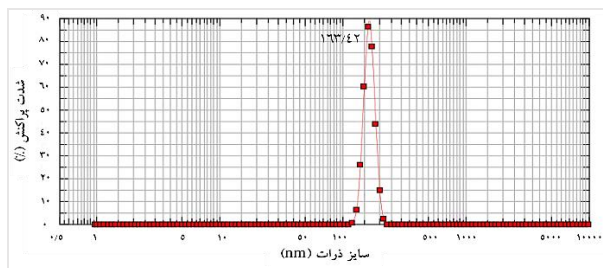
برخی از ویژگی‌های فیزیکی کاغذهای اصلاح شده نظیر جذب آب و مقاومت به عبور هوا به ترتیب طبق استانداردهای به‌شماره ۰۹-om-۴۴۱ T و ۹۶-om-۴۶۰ T آیین‌نامه تاپی، مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی ویژگی‌های مقاومتی کاغذهای اصلاح‌شده دو ویژگی مقاومت به

<sup>1</sup> Fourier Transform Infrared Spectroscopy

<sup>2</sup> Field Emission Scanning Electron Microscopy



شکل ۱- نتایج آنالیز آزمون پراکندگی دینامیکی نانوکیتوزان



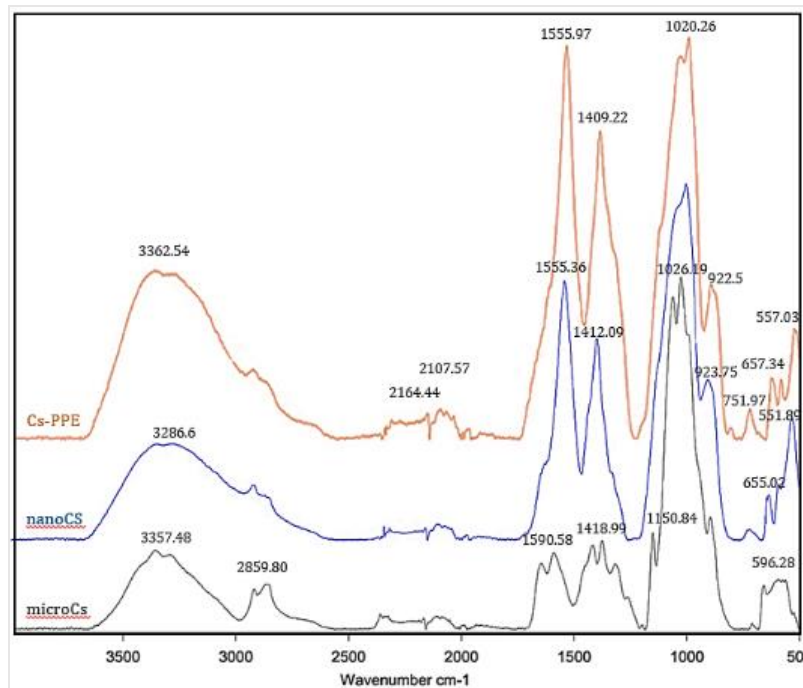
شکل ۲- نتایج آنالیز آزمون پراکندگی دینامیکی نانوکپسول کیتوزان - عصاره پوست انار (Cs-PPE)

۳۶۰۰ پهن تر شده‌اند [۳۰]. پیک مشاهده شده در باند  $\text{cm}^{-1}$  ۲۸۵۹<sup>۱</sup> در ساختار میکروکیتوزان مربوط به گروه آلکانی (C-H) می‌باشد که افزودن سدیم تری پلی فسفات کوتاه و تقریباً با پیک OH و NH یکی شده است که نشان دهنده تغییرات ایجاد شده در این ناحیه است. علاوه بر این، پیک مشاهده شده در باند  $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۹۰ مربوط به ارتعاش کششی C=C یک حلقه آروماتیک و N-H خمشی در گروه  $\text{NHCOCH}_3$  امید نوع دوم کیتوزان می‌شود که یکی از مشخصه‌های اصلی کیتوزان می‌باشد [۳۱]، این باند در نانوکیتوزان و نانوکپسول CS-PPE به  $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۵۵ تغییر یافت که می‌تواند مربوط به برهمکنش گروه‌های قطبی مختلف ترکیبات فعال با گروه هیدروکسیل سدیم تری پلی فسفات باشد به طوری که Kosaraju و همکاران (۲۰۰۶) پیک‌های مشاهده شده در این ناحیه را به برهمکنش گروه‌های هیدروکسیل / کربونیل / آلدهید عصاره با گروه‌های آمینو کیتوزان نسبت دادند. این پیک‌ها در ساختار نانوکیتوزان و نانوکپسول به شدت بلند و کشیده شدند که نشان دهنده تشکیل پیوندهای قوی در این ناحیه می‌باشد [۳۲]. کاهش باند  $\text{cm}^{-1}$  ۱۴۲۲ به  $\text{cm}^{-1}$  ۱۴۱۲ در نانوکیتوزان و  $\text{cm}^{-1}$  ۱۴۰۹ در نانوکپسول مربوط به جایگزینی برخی یون‌های  $\text{Na}^+$  برای گروه‌های آمینو کیتوزان اطراف گروه کربونیل نسبت داده شده است [۳۳]. اتصال گلیکوزیدی که اطراف  $\text{cm}^{-1}$  ۱۱۵۰ در میکروکیتوزان وجود داشته در

آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه تکنولوژی برای شناسایی ترکیب شیمیایی مواد است، که اطلاعات ارزشمندی را در ارتباط با برآورد اتصالات ایجاد شده در اثر برهمکنش شیمیایی برون و درونی مولکولی بین ترکیبات کیتوزان، زیست نانوکامپوزیت عصاره پوست انار و عامل اتصال عرضی فراهم می‌سازد. در شکل ۳ طیف‌های آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه مربوط به میکروکیتوزان (microCs)، نانوکیتوزان فرآوری شده (nanoCs) و نانوکپسول کیتوزان - عصاره پوست انار (Cs-PPE) نشان داده شده است. در طیف آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه مربوط به نمونه microCS یک باند پهن متمرکز اطراف  $\text{cm}^{-1}$  ۳۳۵۷ مشاهده می‌شود که به حالت کششی گروه‌های OH و N-H کششی امید II نسبت داده شده است. این پیک در طیف مربوط به nanoCS به باند بالاتر  $\text{cm}^{-1}$  ۳۲۸۶ و در نانوکپسول CS-PPE به باند پایین‌تر  $\text{cm}^{-1}$  ۳۳۶۲ انتقال یافت که نشان دهنده تغییرات در ساختار کیتوزان در نتیجه افزودن عامل اتصال عرضی سدیم تری پلی فسفات می‌باشد. این تغییرات می‌تواند به برهمکنش گروه‌های OH و NH کیتوزان با سدیم تری پلی فسفات نسبت داده شود همچنین این باند در نانوکیتوزان و نانوکپسول پهن تر شده است که می‌تواند به سهم کیتوزان خالص نسبت داده شود که باندهای کششی O-H و N-H در ناحیه ۳۰۰۰ تا

فوریه نشان می‌دهند که در نتیجه تشکیل نانوکیتوزان و همچنین نانوکپسول CS-PPE گروه‌های واکنش‌گر کیتوزان (OH و NH) به شدت درگیر واکنش شده‌اند و تغییرات قابل توجه‌ای در پیوندها و ساختار درون و برون مولکولی آن‌ها صورت پذیرفته است.

ساختار نانوکیتوزان و نانوکپسول حذف شد و با پیک اتصالات C-O-C یکی شد [۳۴، ۳۵]. باند مشاهده شده در  $1026 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به اتصال C-O-C می‌باشد که در نانوکیتوزان و نانوکپسول به  $1019 \text{ cm}^{-1}$  و  $1020 \text{ cm}^{-1}$  تغییر کرد. نتایج آنالیز آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل

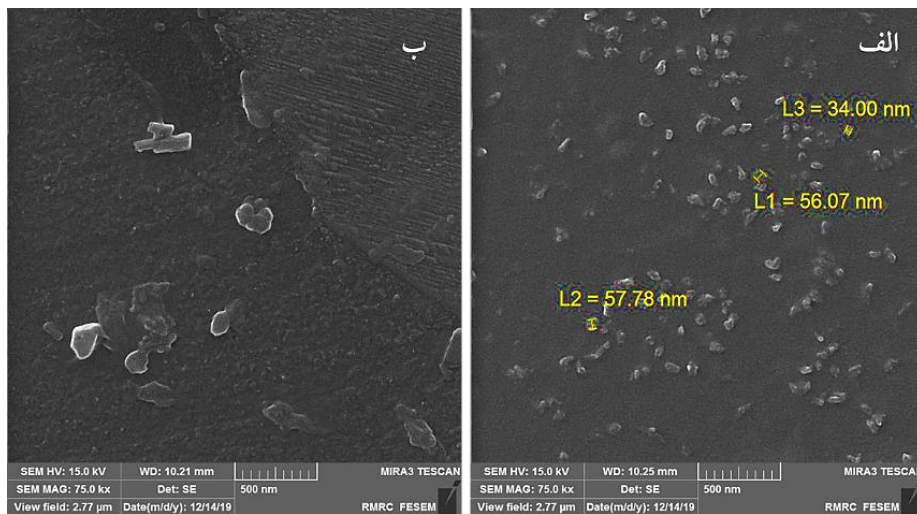


شکل ۳- نمودار آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) مربوط به میکروکیتوزان (microCs)، نانوکیتوزان فرآوری شده (nanoCs) و نانوکپسول کیتوزان- عصاره پوست انار (Cs-PPE)

مربوط به نمونه نانوکیتوزان مشاهده شد مربوط به توده تجمع یافته از ذرات نانوکیتوزان می‌باشد. همچنین تصویر (۴ الف) نشان می‌دهد که نانوذرات کیتوزان فرآوری شده دارای پراکنش ابعاد و شکل نسبتاً یکنواختی می‌باشند. شکل (۴ ب) تصویر FESEM از نانوکپسول Cs-PPE می‌باشد که نشان می‌دهد نانوکپسول‌های فرآوری شده دارای ساختار بی‌شکلی می‌باشند و ابعاد آن‌ها عموماً در محدوده زیر ۲۰۰ نانومتر می‌باشد و با نتایج آزمون پراکندگی دینامیکی حاصل از این مواد کاملاً مطابقت دارد.

ابعاد و شکل ساختاری نانوکیتوزان و نانوکپسول‌های فرآوری شده با استفاده از تصاویر FESEM مورد بررسی قرار گرفتند. شکل (۴ الف) تصویر FESEM از محلول نانوکیتوزان فرآوری شده می‌باشد. در این تصویر مشاهده می‌شود که تمام ذرات نانوکیتوزان فرآوری شده در مقیاس نانومتری قرار دارند و ابعاد این ذرات با نتایج حاصل از آزمون پراکندگی دینامیکی مطابقت کامل دارد. همچنین با توجه به این تصویر می‌توان اذعان داشت که پیک مربوط به ابعاد میکرومتری که در آزمون پراکندگی دینامیکی

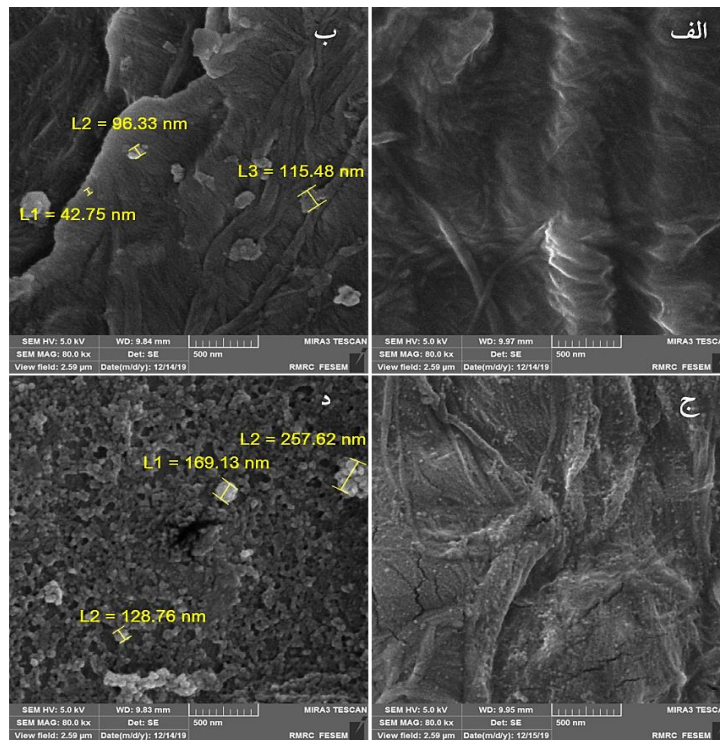




شکل ۴- تصاویر FESEM از نانوکیتوزان فرآوری شده (الف) و نانوکپسول کیتوزان - عصاره پوست انار (Cs-PPE) (ب)

باشند و ابعادی در حدود ۵ تا ۱۰ نانومتر را دارا می‌باشند و با روش اسپری توانستند توزیع کاملاً یکنواخت و پوششی مناسب را روی سطح الیاف داشته باشند که این می‌تواند تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای روی عملکرد هرچه بهتر ذرات تشکیل‌دهنده عصاره پوست انار در پی داشته باشد. شکل (۵ د) نحوه پراکنش نانوکپسول‌های Cs-PPE را روی سطح الیاف نشان می‌دهد. در این تصویر مشاهده می‌شود که نانوکپسول‌های فرآوری شده به‌طور کامل سطح الیاف را پوشش داده‌اند و روش اسپری توانسته عملکرد مطلوبی در پراکنش یکنواخت نانوکپسول‌ها روی سطح کاغذ داشته باشد. در این تصویر مشاهده می‌شود که کپسول‌های تشکیل‌شده دارای شکل ثابتی نبوده‌اند و در واقع ساختار کپسولی شکل‌گرفته از نوع توده‌ای بوده است. همچنین در این تصویر مشاهده می‌شود که نانوکپسول‌های حاصل عموماً ابعادی در محدوده زیر ۲۰۰ نانومتر داشته‌اند.

تصاویر FESEM تهیه‌شده از سطح کاغذهای اصلاح‌شده در شکل ۵ نشان داده‌شده است. تصویر (۴ الف) سطح الیاف بدون تیمار را نشان می‌دهد که به‌وضوح مشاهده می‌شود الیاف عاری از هرگونه ماده افزوده‌شده‌ای می‌باشند. در تصویر (ب) که مربوط به کاغذ پوشش‌دهی شده با نانوکیتوزان می‌باشد مشاهده می‌شود که بخش زیادی از نانوذرات کیتوزان به‌صورت توده‌های تجمع‌یافته روی سطح الیاف نشست کرده‌اند و ذراتی در محدوده ابعادی بالای ۱۰۰ نانومتر را ایجاد کرده‌اند. این نحوه پراکنش نانوذرات روی سطح الیاف موجب عدم یکنواختی توزیع بخش زیادی از نانوذرات کیتوزان روی سطح الیاف شده است که می‌توان منجر به کاهش عملکرد مطلوب آن‌ها در کاغذهای اصلاح‌شده با نانوذرات کیتوزان گردد. شکل (۵ ج) توزیع یکنواخت عصاره گیاهی پوست انار را روی سطح الیاف نشان می‌دهد. در این تصویر مشاهده می‌شود که ذرات عصاره انار دارای ابعاد بسیار ریزی می‌-



شکل ۵- تصاویر FESEM از سطح کاغذ شاهد (الف)، کاغذ اسپری شده با نانوکیتوزان (ب)، کاغذ اسپری شده با عصاره پوست انار (ج) و کاغذ اسپری شده با نانوکپسول کیتوزان - عصاره پوست انار (Cs-PPE) (د)

جدول ۱- ترکیبات فعال موجود در عصاره پوست انار برحسب منحنی استانداردهای مربوطه

نوع ترکیبات فعال موجود در هر گرم عصاره پوست انار	مقدار مواد	فرمول محاسبه گالیک اسید	فرمول محاسبه کوئرستین
فنول کل	۵/۸۲۵ mg	$y = 71/889x + 0/0027$	-
فلاونوئید کل	۱/۴۶۸ mg	-	$y = 19/938x + 0/0657$

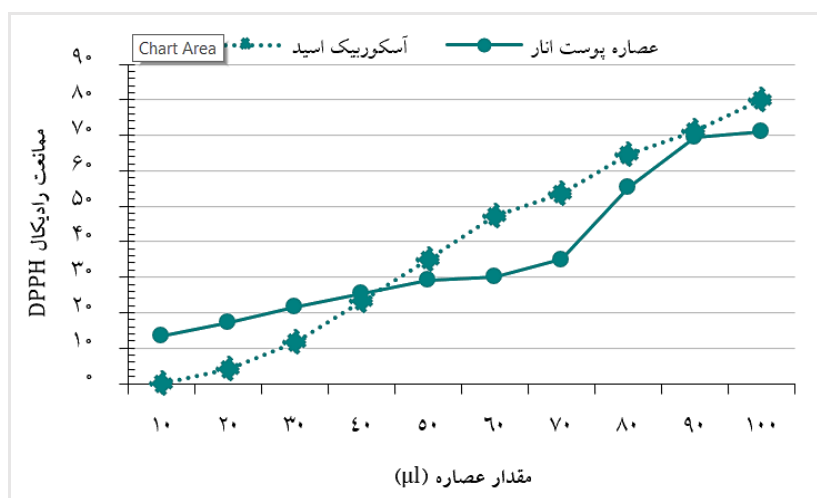
دهند که سهم ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در هر گرم پوست انار بسیار قابل توجه می‌باشد که می‌تواند تأثیر قابل توجهی در عملکرد ضد میکروب این عصاره‌های گیاهی داشته باشد.

شکل ۶ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار نسبت به اسید آسکوربیک به‌عنوان یک ماده مرجع دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالا را نشان می‌دهد. در شکل ۶ مشاهده می‌شود که اثر ممانعتی عصاره پوست انار در تخلیه رادیکال آزاد در غلظت‌های مختلف بسیار نزدیک به اثر ممانعتی آسکوربیک اسید بوده است. به طوری که در غلظت‌های پایین تا غلظت ۳۰ میکرولیتر اثر ممانعتی عصاره پوست انار بیشتر از اثر ممانعتی آسکوربیک اسید بوده است. در غلظت‌های ۴۰ تا ۸۰ میکرولیتر عملکرد آسکوربیک اسید در ایجاد اثر ممانعتی روی تخلیه رادیکال-

اندازه‌گیری میزان فنول کل موجود در هر گرم پوست انار با استفاده از منحنی کالیبراسیون گالیک اسید صورت پذیرفت. از این رو بر اساس معادله حاصل از منحنی رگرسیون گالیک اسید ( $y = 71/889x + 0/0027$ ) میزان فنول کل موجود در عصاره پوست انار به‌عنوان هم ارزش گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه (mg of GAE/g of dry weight (DW) محاسبه شد که برابر با ۵/۸۲۵ mg در هر گرم پوست انار خشک به‌دست آمد (جدول ۱). سنجش میزان فلاونوئید کل در هر گرم پوست انار خشک بر اساس منحنی کالیبراسیون کوئرستین صورت پذیرفت که بر اساس معادله به‌دست‌آمده از منحنی رگرسیون کوئرستین که برابر با  $y = 19/938x + 0/0657$  بوده است مقدار فلاونوئید کل موجود در یک گرم پوست انار ۱/۴۶۸ تخمین زده شد (جدول ۱). این نتایج نشان می-

باشد. کارایی به دام اندازی عصاره گیاهی پوست انار در نانوکپسول Cs-EPP براساس میزان فلاونوئید موجود در عصاره و فلاونوئید آزاد شده طی فرآیند کپسوله کردن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که میزان فلاونوئید کل برای ۲۰۰ میلی گرم عصاره خشک معادل ۰/۸۱۹ mg و میزان فلاونوئید آزاد موجود در محلول جداسازی شده از مرحله سانتریفیوژ ۰/۱۳۸ mg به دست آمده آمد. از این رو بر اساس فرمول زیر مشخص شد که کارایی به دام اندازی این فرآیند کپسوله کردن معادل ۸۳/۲ درصد بود.

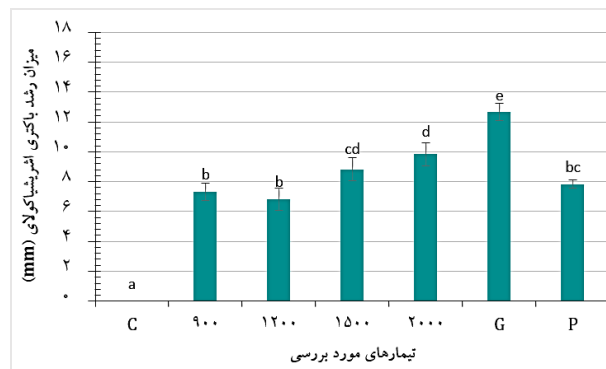
های آزاد بیشتر بوده است اما بازهم در غلظت‌های بالای ۸۰ میکرولیتر عملکرد ممانعتی عصاره پوست انار افزایش یافت و به عملکرد آسکوربیک اسید بسیار نزدیک شد. این مشاهدات نشان می‌دهد که عصاره پوست انار قابلیت بسیار بالایی برای استفاده به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی قوی در مصارف دارویی و درمانی به خصوص برای داروهای سرطانی دارد [۳۶، ۳۷]. از این اعمال آن به عنوان یک عامل ضد میکروب روی سطح کاغذ می‌تواند اثر قابل توجه‌ای برای ممانعت از ایجاد سرطانی پوستی نیز داشته



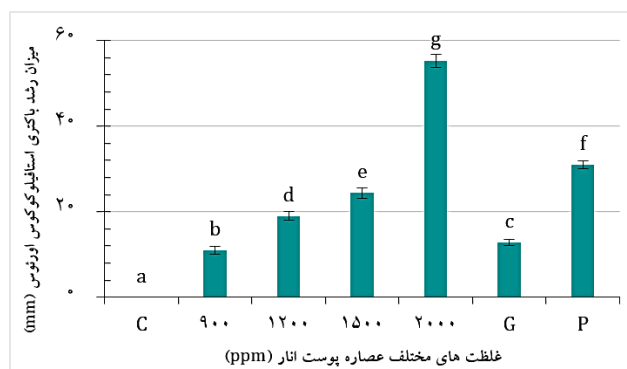
شکل ۶- نمودار اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار

گرم مثبت *S.aureus* مؤثرتر بوده است و توانست هاله‌های وسیع‌تری را در اطراف نمونه‌ها تشکیل دهد. از آنجاکه اختلاف عملکرد ضد میکروبی بین دو غلظت ۱۵۰۰ ppm و ۲۰۰۰ ppm در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بسیار قابل توجه بوده است به طوری که با افزایش غلظت از ۱۵۰۰ به ۲۰۰۰ ppm قطر هاله‌های تشکیل شده بیش از دو برابر شدند و از ۲۴ به ۵۵ mm رسیدند. از این رو غلظت ۲۰۰۰ به عنوان غلظت بهینه برای ادامه آزمایش انتخاب گردید.

شکل ۷ و ۸ فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار در برابر دو باکتری گرم منفی اشریشیاکولای و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس را نشان می‌دهند. نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره پوست انار هاله‌های تشکیل در اطراف نمونه‌های کاغذ آغشته به این عصاره‌ها افزایش یافت که این مشاهده نشان می‌دهد میزان عملکرد ضد میکروبی آن‌ها در برابر باکتری‌ها بیشتر شده است. از مقایسه دو نمودار مشاهده می‌شود که به طور کلی عصاره پوست انار روی رشد باکتری



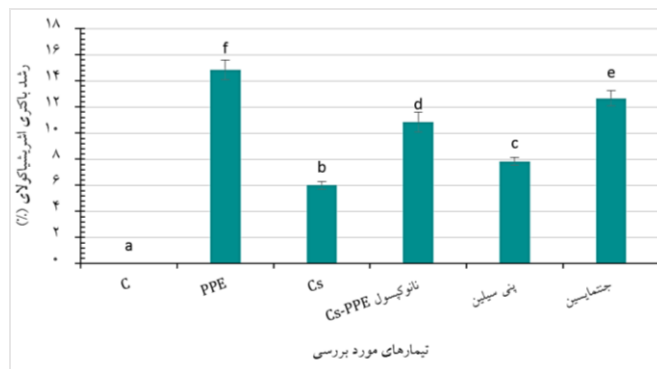
شکل ۷- تغییرات میزان رشد باکتری گرم منفی اشریشیاکولای در نتیجه تغییر غلظت محلول عصاره پوست انار (PPE)



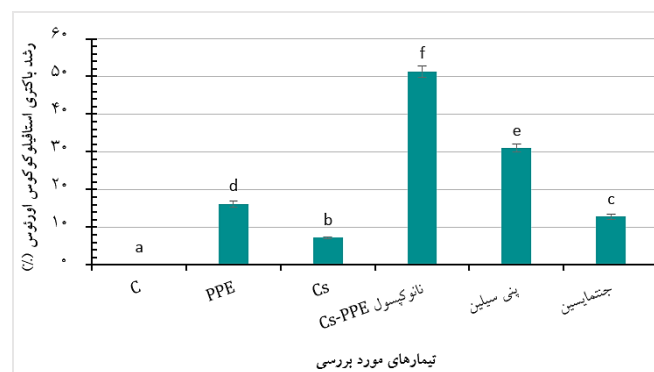
شکل ۸- تغییرات میزان رشد باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در نتیجه تغییر غلظت محلول عصاره پوست انار (PPE)

دهند که به‌وضوح در تصاویر FESEM شکل ۵ قابل مشاهده می‌باشد. پس‌ازاین کاغذها، کاغذهای اصلاح‌شده با نانوکپسول CS-PPE، با تشکیل هاله‌ای به قطر حدود ۱۱ mm، بیشترین اثر ضد میکروبی را داشته است. در مقابل در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود که بیشترین اثر ضد باکتریایی در بین کاغذهای اصلاح‌شده مربوط به کاغذ اسپری شده با نانوکپسول CS-PPE، با تشکیل هاله‌ای به قطر متوسط ۵۱ mm، بوده است. از مقایسه دو شکل ۹ و ۱۰ مشاهده می‌شود که عملکرد ضد میکروبی تمامی تیمارها روی باکتری گرم مثبت *S. aureus* به‌طور قابل توجهی بیشتر از باکتری گرم منفی *E. coli* بوده است. تحقیقات نشان داده‌اند که باکتری‌های گرم منفی نسبت به عصاره‌های گیاهی مقاوم‌تر می‌باشند، زیرا ساختار دیواره سلولی آب‌دوست باکتری‌های گرم منفی اساساً از یک لیپوپلی ساکارید (LPS) تشکیل شده است که می‌تواند از نفوذ ترکیبات آب‌گریز فولی موجود در عصاره‌های گیاهی به داخل غشاء سلول هدف جلوگیری کند [۳۸] و این موضوع تأییدکننده نتایج حاصل از این پژوهش می‌باشد.

شکل ۹ و ۱۰ به ترتیب تغییرات میزان رشد باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* در اثر عملکرد ضد میکروبی کاغذهای اصلاح‌شده را نشان می‌دهند. همان‌طور که در این تصاویر مشاهده می‌شود کاغذ شاهد هیچ اثر ممانعتی نسبت به رشد باکتری‌ها از خود نشان نداده است. در این دو شکل مشاهده می‌شود که کیتوزان به میزان بسیار جزئی توانست مانع از رشد باکتری‌ها گردد و به ترتیب هاله‌هایی با قطر حدود ۶ و ۷ mm در برابر دو باکتری *E. coli* و *S. aureus* تشکیل دهد. از طرف دیگر در شکل ۹ مشاهده می‌شود که اثر ضد باکتریایی عصاره پوست انار روی باکتری *E. coli* نسبت به نمونه‌های کنترل مثبت پنی‌سیلین و جنتامایسین بیشتر بوده است و بیشترین اثر ضد باکتریایی را در میان کاغذهای اصلاح‌شده به خود اختصاص داده است، علت این مشاهده را می‌توان به میزان عصاره در دسترس روی سطح کاغذ نسبت داد. در کاغذهای اصلاح‌شده با عصاره تمام ترکیبات فعال موجود در عصاره روی سطح کاغذ و در تماس با باکتری‌های موجود در محیط کشت قرار دارند از این‌رو عملکرد قوی‌تری را در جلوگیری از رشد باکتری‌ها از خود نشان می‌-



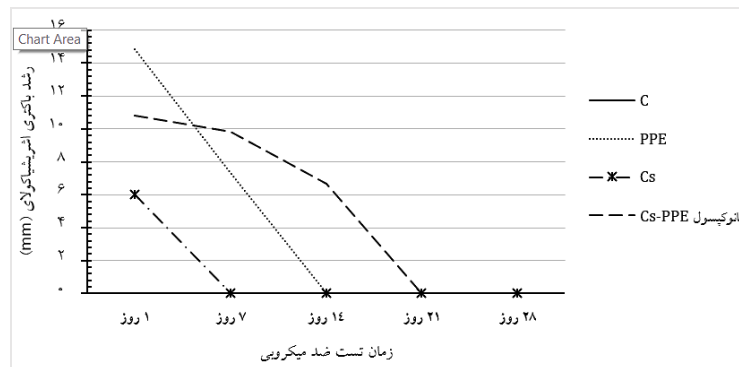
شکل ۹- تغییرات میزان رشد باکتری اشیریشیاکولای در برابر کاغذ شاهد (C) (کنترل منفی)، پنی سیلین و جنتامیسین (کنترل مثبت) و کاغذهای اصلاح شده با کیتوزان (Cs)، عصاره پوست انار (PPE) و نانوکپسول کیتوزان - عصاره پوست انار (Cs-PPE)



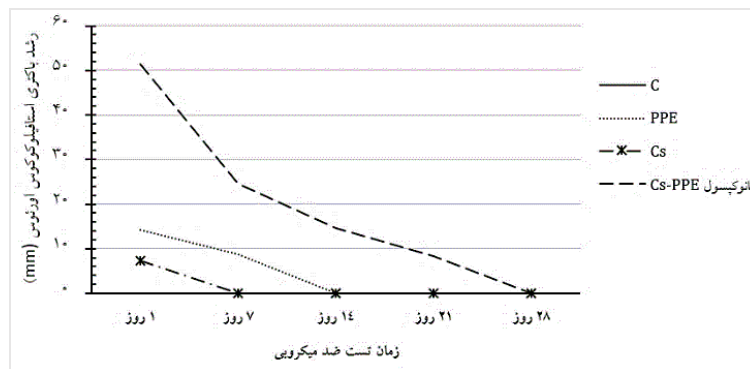
شکل ۱۰- تغییرات میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در برابر کاغذ شاهد (C) (کنترل منفی)، پنی سیلین و جنتامیسین (کنترل مثبت) و کاغذهای اصلاح شده با کیتوزان (Cs)، عصاره پوست انار (PPE) و نانوکپسول کیتوزان - عصاره پوست انار (Cs-PPE)

خود نشان دادند. نتایج مربوط به نانوکپسول های تهیه شده نشان می دهد که انکپسوله کردن عصاره پوست انار با نانوکیتوزان توانسته حدود یک هفته در برابر باکتری *E.coli* و حدود دو هفته در برابر باکتری *S.aureus* عملکرد ضد میکروبی کاغذهای اصلاح شده را افزایش دهد. علت این مشاهده را می توان به رهایش کنترل شده ترکیبات فعال عصاره پوست انار از ساختار انکپسوله شده است آن ها در نانوذرات کیتوزان نسبت داد.

شکل ۱۱ و ۱۲ عملکرد ضد باکتریایی کاغذهای اصلاح شده در طول یک ماه را نشان می دهند. همان طور که مشاهده می شود نانوذرات کیتوزان میزان عملکرد ضد باکتریایی محدودی از خود نشان دادند و توانستند ویژگی ضد میکروبی خود را تنها برای زمان کمتر از یک هفته حفظ کنند در حالی که عملکرد ضد باکتریایی کاغذهای اصلاح شده با عصاره پوست انار خالص بیشتر بوده و این کاغذها تا حدود دو هفته ویژگی ضد باکتری از



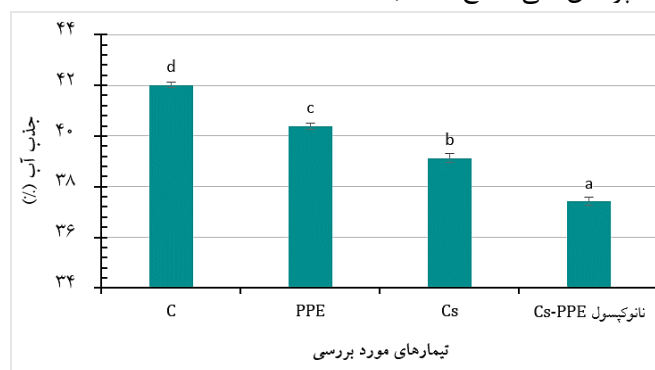
شکل ۹- تغییرات میزان رشد باکتری اشیریشیاکولای در نتیجه فعالیت ضد باکتری کاغذهای اصلاح شده در طول یک ماه



شکل ۱۰- تغییرات میزان رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نتیجه فعالیت ضد باکتری کاغذهای اصلاح شده در طول یک ماه

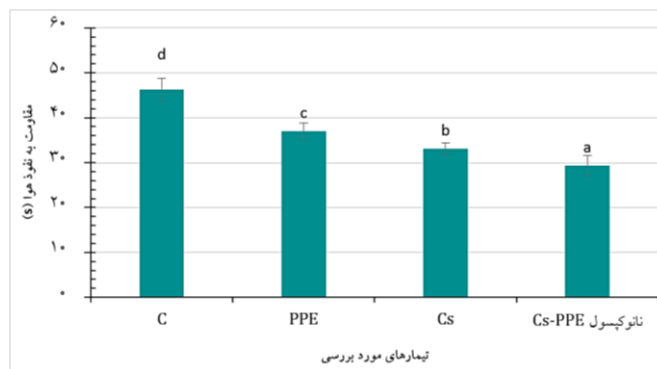
یک ترکیب آبدوست هم صورت پذیرد، چون که تخلخل سطحی کاغذ کاهش یافته است میزان جذب آب کاغذ کاهش می یابد [۴۰]. در نتیجه، کاغذهایی که با نانوذرات کیتوزان نیز پوشش دهی شدند جذب آب کمتری نسبت به کاغذ شاهد داشتند و از آنجاکه ابعاد این ذرات نسبت به ذرات عصاره پوست انار بزرگ تر بوده است به میزان بیشتری تخلخل کاغذ را کاهش داده اند و در نتیجه جذب آب کاغذ پوشش دهی شده با این نانوذرات نیز کمتر بوده است. از طرف دیگر نتایج نشان می دهند که کاغذهای پوشش دهی شده با نانوکپسول CS-PPE جذب آب کمتری نسبت به بقیه کاغذها داشته اند که علت این مشاهده را می توان به تلفیق ویژگی آبریزی ذرات تشکیل دهنده عصاره و کاهش تخلخل در نتیجه حضور نانوذرات کیتوزان نسبت داد. کاهش میزان جذب آب در کاغذهای بهداشتی به عنوان یک محدودیت استفاده از این ذرات در کاغذ می تواند مطرح گردد که برای کاغذهای اصلاح شده با نانوکپسول CS-PPE حدود ۴ درصد بوده است.

در بررسی ویژگی جذب آب نتایج نشان می دهند که در تمام تیمارها جذب آب کاغذها به طور قابل توجهی کاهش یافته است. عصاره های گیاهی دارای مقادیر زیادی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی هستند که این ترکیبات ذاتاً آبریز می باشند. از این رو حضور این ترکیبات به عنوان یک پوشش روی سطح کاغذ موجب کاهش جذب آب کاغذ می شود. از طرف دیگر از آنجاکه این ترکیبات روی سطح الیاف را می پوشانند دسترس پذیری گروه های هیدروکسیل الیاف به آب را نیز کاهش می دهند که این امر نیز به نوبه خود منجر به کاهش هرچه بیشتر در جذب آب الیاف می گردد. در شکل ۱۳ مشاهده می شود که حضور نانوذرات کیتوزان نیز در سطح الیاف میزان جذب آب کاغذها را کاهش داده است در حالی که این ذرات خود دارای ساختار آبدوستی می باشند [۳۹]. مهم ترین عامل مؤثر روی ویژگی جذب آب ساختار فیبری کاغذ، تخلخل موجود بین ذرات فیبر به هم پیوسته در این ساختار می باشد. عمل پوشش دهی ساختار کاغذ حجم زیادی از این تخلخل را کاهش می دهد. از این رو، چنانچه پوشش دهی سطح کاغذ با



شکل ۱۱- تغییرات جذب آب کاغذهای اصلاح شده

مؤثرتری منافذ سطحی کاغذ را پر کنند. دومین ترکیب مؤثر روی کاهش نفوذ هوا از ساختار فیبری کاغذ پوشش-دهی سطح کاغذها با نانوکیتوزان بوده است. همانطور که در تصاویر FESEM نیز مشاهده شد، پوشش‌دهی سطح کاغذ با اسپری توانست یک لایه نسبتاً یکنواختی روی سطح کاغذ ایجاد نماید که این لایه با کاهش تخلخل سطحی کاغذ اثر قابل توجهی روی میزان نفوذپذیری هوا از کاغذها گذاشته است [۴۱].



شکل ۱۴- تغییرات مقاومت به نفوذ هوا کاغذهای اصلاح‌شده

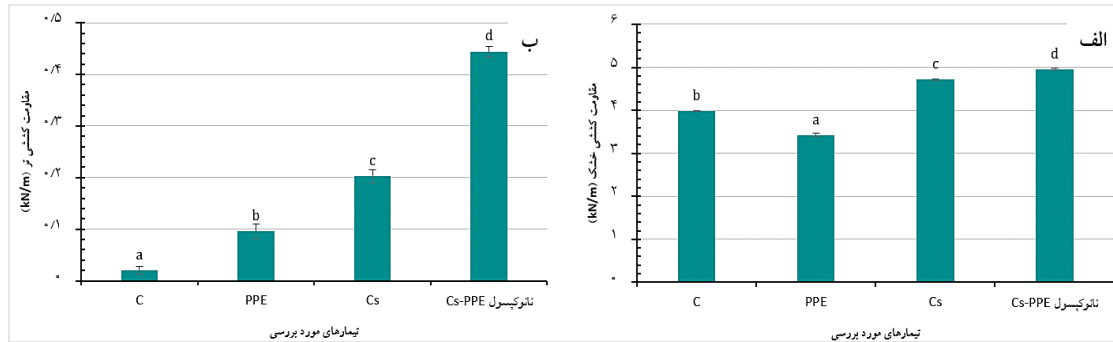
کاشی کاغذ را کاهش می‌دهد [۳۶]. در مقابل نتایج نشان می‌دهند که تمامی کاغذهای پوشش‌دهی شده با کیتوزان به‌طور قابل توجهی مقاومت کاشی بیشتری نسبت به کاغذ شاهد داشته‌اند. تحقیقات نشان داده‌اند که کیتوزان زیست پلیمری است که حضور یک لایه از آن روی سطح کاغذ به‌عنوان پوشش، می‌تواند به‌طور قابل توجهی مقاومت کاشی کاغذ را بهبود بخشد [۴۲]. Pereda و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تجمع بوجود آمده بین دو ماکرومولکول (سلولز و کیتوزان) دلیل اصلی افزایش مقاومت کاشی در این نوع کاغذها می‌باشد [۴۳]. Zakaria و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر پوشش کیتوزان روی ویژگی‌های مقاومتی و ضدباکتریایی کاغذ، رفتار مشابهی را در ویژگی مقاومت به کاشی کاغذهای اصلاح شده مشاهده کردند. نتایج مربوط به مقاومت کاشی تر کاغذها نشان می‌دهند که مقاومت کاشی تر تمام کاغذها نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است و این افزایش در کاغذهای اصلاح‌شده با نانوکیتوسول نسبت به سایر کاغذها بیشتر بوده است [۴۴]. Allan و همکاران (۱۹۷۷) در بررسی اثر کیتوزان روی ویژگی‌های کاغذ،

شکل ۱۴ نتایج مربوط به تغییرات نفوذپذیری هوا در کاغذهای اصلاح‌شده را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهند که در تمام کاغذها میزان نفوذپذیری هوا به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است. همان‌طور که در نمودار ۱۴ مشاهده می‌شود بیشترین مقاومت به نفوذ هوا مربوط به کاغذهای پوشش‌دهی شده با نانوکیتوسول CS-PPE بوده است که نسبت به سایر ترکیبات پوشش‌دهی شده روی سطح کاغذ ابعاد بیشتری داشته‌اند و توانسته‌اند به‌طور

با توجه به نوع کاربرد کاغذهای بهداشتی، از مهم‌ترین ویژگی‌های مقاومتی آن‌ها، مقاومت به کاشی می‌باشد. از این رو در این تحقیق ویژگی مقاومت به کاشی کاغذها در حالت خشک و تر مورد بررسی قرار گرفت. شکل (۱۵-الف) مقاومت به کاشی کاغذ در حالت خشک و شکل (۱۵-ب) مقاومت به کاشی کاغذ در حالت تر را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهند که تغییرات اعمال شده روی سطح کاغذها تأثیر قابل توجهی روی مقاومت به کاشی کاغذها در هر دو حالت خشک و تر داشته است. در شکل (۱۵-الف) مشاهده می‌شود که اسپری عصاره خالص روی سطح کاغذ موجب کاهش مقاومت کاشی کاغذ نهایی شده است. عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات آبگریزی می‌باشند که ممکن است در فرآیند پوشش‌دهی که سطح کاغذ خیس می‌شود، با قرار گرفتن در بین الیاف سطحی موجب کاهش پیوندهای هیدروژنی سطحی کاغذ و در نتیجه کاهش مقاومت کاشی کاغذ پوشش‌دهی شده شوند. از طرف دیگر واکنش‌دهی ایجاد شده در الیاف سلولزی از طریق نفوذ حلال به‌میزان قابل توجهی مانع ایجاد برهمکنش بین فیبری می‌شود و از این رو مقاومت

کیتوزان می‌تواند به علت حضور عامل اتصال عرضی سدیم تری پلی فسفات در ترکیب آن‌ها باشد که باعث افزایش پیوندهای شکل گرفته بین نانوکپسول و نانوذرات کیتوزان با ساختاری فیبری کاغذ شده باشد.

گزارش کردند که اسپری کیتوزان روی سطح کاغذ باعث بهبود قابل توجهی در مقاومت تر کاغذها شده است که با نتایج این پژوهش کاملاً مطابقت دارد [۴۵، ۴۶]. افزایش مقاومت کششی تر کاغذهای اصلاح شده با نانوکپسول و



شکل ۱۲- تغییرات مقاومت به کشش خشک (الف) و مقاومت به کشش تر (ب) در کاغذهای اصلاح شده

کنند. از طرف دیگر نتایج نشان دادند که نانوکپسوله کردن عصاره‌های گیاهی با نانوکیتوزان می‌تواند از طریق کنترل نحوه پراکنش این ذرات در محیط، روشی مؤثر برای افزایش زمان عملکرد ضد باکتری آن‌ها باشد. علاوه بر این نتایج این پژوهش نشان دادند که نانوکپسوله کردن عصاره پوست انار با کیتوزان و اعمال آن با روش اسپری روی سطح کاغذ، می‌تواند به طور قابل توجه ویژگی‌های مقاومتی و ممانعتی کاغذهای حاصل را بهبود بخشد. در واقع نتایج این پژوهش نشان دادند که تنها معضل استفاده از نانوکپسول‌های کیتوزان- عصاره پوست انار در تولید کاغذهای ضد باکتری کاهش میزان جذب آب این کاغذها می‌باشد که البته با توجه به نتایج چیزی حدود ۴ درصد می‌باشد و در کنار کلیه مزایای استفاده از این ترکیبات در ساخت کاغذها نظیر افزایش مقاومت‌های کششی، ایجاد خواص ضد باکتریایی زیاد و همچنین ترکیبات دوستدار محیط زیست بودن تا حدودی قابل چشم‌پوشی می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

این پژوهش باهدف تولید کاغذهای ضد باکتری دوستدار محیط‌زیست با عملکردی مؤثر در طول زمان به-انجام رسید. با توجه به افزایش روزافزون توجه جوامع انسانی به ترکیبات دوستدار محیط‌زیست در این پژوهش از عصاره‌های گیاهی که امروزه در زمینه‌های مختلف علمی بسیار مورد توجه می‌باشند استفاده گردید. از آنجاکه ترکیبات فعال موجود در عصاره‌های گیاهی مواد فراری می‌باشند و ممکن است زمانی که در تماس با محیط هستند بسیار سریع از بین روند، از روش انکپسوله کردن با کیتوزان برای افزایش ماندگاری آن‌ها استفاده گردید. نتایج نشان دادند که عصاره پوست انار دارای مقادیر بسیار از ترکیبات فعال مؤثر در ایجاد خواص ضد باکتریایی روی هر دو گونه باکتری گرم منفی و گرم مثبت می‌باشد اما این عملکرد بسیار محدود بوده و کاغذهای تولیدشده تنها برای یک هفته می‌توانند ویژگی ضد باکتریایی خود را حفظ



## منابع

- [1] Sukumaran, R. K., Singhanian, R. R. and Pandey, A., 2005. Microbial celluloses-production, application and challenges. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64: 832-844.
- [2] Yazdani, O., Asadpour, G., Rasooly Garmaroody, E., and Imani, R., 2014. Effect of cationic polyacrylamide and antibacterial nanosilver on bank-note paper properties. *Lignocellulose* 3(1): 3-14.
- [3] Varaprasad, K., Raghavendra, G. M., Jayaramudu, T. and Seo, J., 2016. Nano zinc oxide-sodium alginate antibacterial cellulose fibres. *Carbohydrate Polymers*, 135: 349-355.
- [4] Luoma, S. N., 2008. Silver nanotechnologies and the environment: old problems or new challenges? Project on Emerging Nanotechnologies is supported by the pew charitable trusts. Woodrow Wilson International Center for Scholars or the pew charitable trusts.
- [5] Lansdown, A. B. G., 2007. Critical observations on the neurotoxicity of silver. *Critical reviews in toxicology*, 37(3): 237-250.
- [6] García-Alonso, J., Khan, F. R., Misra, S. K., Turmaine, M., Smith, B. D., Rainbow, P.S., Luoma, S.N. and Valsami-Jones, E., 2011. Cellular internalization of silver nanoparticles in gut epithelia of the estuarine polychaete *Nereis diversicolor*. *Environmental science and technology*, 45(10): 4630-4636.
- [7] Chandrasekar, S., Vijayakumar, S., Rajendran, R., Rajesh, R. and Elayarajah, B., 2013. Herbal-chitosan nanocomposites for durable antibacterial finishing on cotton materials. *International Journal of Biopharmaceutics*, 4(3): 219-224.
- [8] Prateepthong, D. and Komboonchoo, S., 2015. Preparation and Characterization of Polyurethane Nanocapsules Containing *Cassia alata* Linn. Extract. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 6(3): 206-210.
- [9] Ahamed, H. M., Rajendran, R., Balakumar, C. and Jayakumar, S., 2012. Prevention of Diaper Dermatitis in Baby Diapers with Nanoencapsulated Natural Extracts. *Proceedings of the 4th International Conference on Nanostructures (ICNS4) 12-14 March, Kish Island, I.R. Iran.* 867-869.
- [10] Izzo, A. A., 2004. Drug interactions with St. John's wort (*Hypericum perforation*): a review of the clinical evidence. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 42: 139-148.
- [11] Pagliarulo, C., De Vito, V., Picariello, G., Colicchio, R., Pastore, G., Salvatore, P. and Volpe, M. G., 2016. Inhibitory effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) Polyphenol extracts on the bacterial growth and survival of clinical isolates of pathogenic *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Food Chemistry*, 190: 824-831.
- [12] Li, Y. F., Guo, C. J., Yang, J. J., Wei, J. Y., Xu, J. and Cheng S., 2006. Evaluation of Antioxidant Properties of Pomegranate Peel Extract in Comparison with Pomegranate Pulp Extract. *Food Chem.*, 96: 254-260.
- [13] Reddy, M., Gupta, S., Jacob, M., Khan, S. and Ferreir, D., 2007. Antioxidant, Antimalarial and Antimicrobial Activities of Tannin-Rich Fractions, Ellagitannins and Phenolic Acids from *Punica granatum* L. *Planta Med.*, 73: 461-467.
- [14] Mansour, E., Ben Khaled, A., Lachiheb, B., Abid, M., Bachar, Kh. and Ferchichi, A., 2013. Phenolic Compounds, Antioxidant, and Antibacterial Activities of Peel Extract from Tunisian Pomegranate. *Journal of Agricultural Sciences and Technology*, 15: 1393-1403.
- [15] Randhir, R., Lin, Y.-T., and Shetty, K., 2004. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13: 295-307.

- [16] Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317–333.
- [17] Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C., and Shahidi, F., 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1410–1416.
- [18] Mahomoodally, M. F., Gurib-Fakim, A. and Subratty, A. H., 2005. Antimicrobial activities and phytochemical profiles of endemic medicinal plants of Mauritius. *Pharmaceutical Biology*, 43(3): 237–242.
- [19] Pandey, A. K., 2007. Anti-staphylococcal activity of a pan-tropical aggressive and obnoxious weed *Pariheniumhisterophorus*: an in vitro study. *National Academy Science Letters*, 30(11-12): 383–386.
- [20] Dixon, R.A., Dey, P.M. and Lamb, C.J., 1983. Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 55: 1–136.
- [21] Chiu, P. E., and Lai, L. S., 2010. Antimicrobial activities of tapioca starch/decolorized hsian-tso leaf gum coatings containing green tea extracts in fruit-based salads, romaine hearts and pork slices. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1-2): 23-30.
- [22] Carey, T., Jones, C., Le Moal, F., Deganello, D. and Torrisi, F., 2018. Spray-Coating Thin Films on Three-Dimensional Surfaces for a Semitransparent Capacitive-Touch Device. *ACS applied materials and interfaces*, 10(23): 19948-19956.
- [23] Sumithra, M., and Vasugi Raaja, N., 2012. Micro-encapsulation and nano-encapsulation of denim Fabrics with herbal extracts. *Indian Journal of Fibres and Textile Research*, 37: 321.
- [24] Deepa, V., Sridhar, R., Neelakanta Reddy, P. and Balakrishna Murthy, P., 2012. Development, characterization, efficacy and repeated dose toxicity of nanoemulsified ethanolic extract of *Enicostemma littorale* in Streptozotocin-induced diabetes rats. *International Journal of Phytomedicine*, 4: 70-89.
- [25] Feyzioglu, G. C. and Tornuk, F., 2016. Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. *LWT - Food Science and Technology*, DOI: 10.1016/j.lwt.2016.02.037.
- [26] Othman, N., Masarudin, M., Kuen, C., Dasuan, N., and Abdullah, L., 2018. Synthesis and Optimization of Chitosan Nanoparticles Loaded with L-Ascorbic Acid and Thymoquinone. *Nanomaterials*, 8(11): 920.
- [27] Singleton, V. L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R. M., 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology*, 299: 152-178. Academic press.
- [28] Goncalves, F. A., Andrade Neto, M., Bezerra, J. N. S., Macrae, A., Sousa, O. V., Fonteles-Filho, A. A. and Vieira, R. H.S.F., 2008. Antibacterial activity of guava, *Psidium guajava* linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER). *Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine*, 50(1): 11-15.
- [29] Nurkhasanah, N., Yuwono, T., Hayu Nurani, L., Ikhwan Rizki, M., and Kraisintu, K., 2015. The Delevopment of chitosan nanoparticles from *Hibiscus sabdariffa* L Calyx Extract from Indonesia and Thailand. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(5): 1855-1861.
- [30] Zakaria, S., Chia, C. H., Ahmad, W. H. W., Kaco, H., Chook, S. W., and Chan, C. H., 2015. Mechanical and antibacterial properties of paper coated with chitosan. *Sains Malays*, 44: 905-911.
- [31] Duman, F. and Kaya, M., 2016. Crayfish chitosan for microencapsulation of coriander (*Coriandrum Sativum* L.) essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 125–133.

- [32] Kosaraju, S. L., D'ath, L., and Lawrence, A., 2006. Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. *Carbohydrate polymers*, 64(2), 163-167.
- [33] Anbinder, P. S., Deladino, L., Navarro, A. S., Amalvy, J. I., Martino, M. N., 2011. Yerba Mate Extract Encapsulation with Alginate and Chitosan Systems: Interactions between Active Compound Encapsulation Polymers. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 1, 80-87.
- [34] Deladino, L., Anbinder, P. S., Navarro, A. S., and Martino, M. N., 2008. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate polymers*, 71(1): 126-134.
- [35] Zhang, Y., Yang, Y., Tang, K., Hu, X., and Zou, G., 2008. Physicochemical characterization and antioxidant activity of quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 107(2): 891-897.
- [36] Fischer, U. A., Carle, R., and Kammerer, D. R., 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food chemistry*, 127(2): 807-821.
- [37] Chaudhary, A. and Rahul, S. N., 2017. Antibacterial Activity of *Punica granatum* (Pomegranate) Fruit Peel Extract against Pathogenic and Drug Resistance Bacterial Strains. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12): 3802-3807.
- [38] Bajpai, V. K., Rahman, A., and Kang, S. C., 2008. Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 125(2): 117-122.
- [39] Liu, Y., Wang, S., and Zhang, R., 2017. Composite poly (lactic acid)/chitosan nanofibrous scaffolds for cardiac tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*, 103: 1130-1137.
- [40] Muryeti, Pratiwi, F. E., Yuniastuti, R. T., and Budimulyani, E., (2019, November). The effect of chitosan into paper properties in papermaking. In *AIP Conference Proceedings*, 2175(1): 020058. AIP Publishing.
- [41] Lavoine, N., Desloges, I., Khelifi, B. and Bras, J., 2014. Impact of different coating processes of microfibrillated cellulose on the mechanical and barrier properties of paper. *Journal of Material Science*, 49: 2879-2893.
- [42] Rastogi, V. K. and Samyn, P., 2015. Bio-Based Coatings for Paper Applications. *Coatings*, 5: 887-930. Doi: 10.3390/coatings5040887.
- [43] Fernandes, S.C.M., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Desbrie`res, J., Gandini, A. and Neto, C.P., 2010. Production of coated papers with improved properties by using a water-soluble chitosan derivative. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 49: 6432-6438.
- [44] Pereda, M., Aranguren, M. I., and Marcovich, N.E., 2008. Characterization of chitosan/caseinate films. *Journal of Applied Polymer Science*, 107: 1080-1090.
- [45] Allan, G. G., Fox, J. R., Crosby, G. D., and Sarkanen, K. V., 1977. Chitosan, a mediator for fiber-water interactions in paper. *College of Forest Resources*, 125: 243- 260.
- [46] Bobu, E., Nicu, R., Obrocea, P., Ardelean, E., Dunca, S. and Bălăeș, T., 2016. Antimicrobial properties of coatings based on chitosan derivatives for applications in sustainable paper conservation. *Cellulose Chemistry and Technology*, 50 (5-6): 689-699.

## Improving the Antibacterial Effect of Pomegranate Peel Extract with Nano-chitosan Using Encapsulation Technique in Sanitary Papermaking

### Abstract

By developing attention to environmental issues and to the increasing attention of human society to health issues the use of environmentally friendly antibacterial compounds such as plant extracts for the production of antibacterial paper is very interesting. On the other hand, due to the high volatility of these environmentally friendly compounds, it is expected that encapsulating them in materials such as chitosan can increase their stability and control of release into the paper structure. Therefore, in this study, ethanolic extract of pomegranate peel in chitosan was encapsulated by ion gelation method and applied to the surface of the paper by spray method. The structural properties of pomegranate peel extract such as total phenol, total flavonoid and their antioxidant activity were investigated. Structural, barrier such as antibacterial activity and resistance properties of the prepared paper were also investigated. The results showed that nanocapsules of about 160 nm were obtained by ion gelation method, which were able to increase the antibacterial activity of the modified paper by about 35 mm against *Staphylococcus aureus*. In addition, the antibacterial activity of nanocapsule-modified paper was about two weeks higher than that of pure extract-modified paper. On the other hand, the presence of chitosan in the structure of nanocapsules also led to improved physical and resistance properties of the modified paper.

**Keywords:** Pomegranate Peel Extract, Nano- Chitosan, Chitosan- Pomegranate Peel Extract Nanocapsule, Ionic Gelation, Antibacterial Paper.

**P. Narchin<sup>1\*</sup>**  
**A. R. Saraeian<sup>2</sup>**  
**E. Afra<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Ph.D. candidate of pulp and paper industries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

<sup>2</sup> Associate Professor of pulp and paper industries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

<sup>3</sup> Associate Professor of pulp and paper industries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Corresponding author:  
[parynaan1369@yahoo.com](mailto:parynaan1369@yahoo.com)

Received: 2020/01/26  
Accepted: 2020/04/08