

بررسی اثر نانو اکسید روی بر خواص فیزیکوشیمیایی و پارامترهای معادلات رشد میکروبی بایو کامپوزیت نشاسته سیب زمینی

صاحبعلی منافی^{۱*}، نسیم مهدوی میقان^۲، عبدالرضا محمدی نافچی^۳

۱- گروه مهندسی مواد، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، گروه مهندسی شیمی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

۳- گروه مهندسی صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۳

چکیده:

هدف از این پژوهش بررسی اثر نانوذرات اکسید روی بر خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی فیلم‌های بایونانو کامپوزیت نشاسته سیب زمینی می‌باشد. در این تحقیق فیلم‌های نشاسته‌ای ساپورت شده با نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های (۰، ۱، ۳ و ۵٪) با استفاده از روش کاستینگ تهیه شد. کلیه خواص فیزیکوشیمیایی به روش استاندارد ملی آمریکا (ASTM) و خواص ضد میکروبی به روش نفوذ بر سطح آگار و فلاسک چرخان انجام شد. خواص فیزیکوشیمیایی از قبیل میزان جذب آب، حلالیت در آب، محتوی رطوبت با افزایش میزان نانوذرات کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نشان داد. با افزایش غلظت نانوذرات در بایوپلیمر، خواص ضد میکروبی هم در حالت استاتیک و هم حالت دینامیک به خوبی نمایان بود. به طور کلی با توجه به بررسی‌های انجام شده، فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی نانوذرات اکسید روی قابلیت به کارگیری به عنوان بسته‌بندی فعال در صنایع غذایی را دارا می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: بایونانو کامپوزیت، نشاسته سیب زمینی، خواص ضد میکروبی، نانو اکسید روی، فیلم خوراکی

۱- مقدمه

افزایش نگرانی‌های زیست محیطی به همراه کاهش شدید منابع نفتی انگیزه تولید مواد جدیدی که با طبیعت سازگاری داشته و وابستگی به مواد نفتی نداشته باشند را دو چندان می‌کند. این مواد جدید بر پایه بیوتکنولوژی و محصولات کشاورزی نظیر ضایعات کشاورزی و فیبرهای طبیعی کربوهیدراتی متشکل از نشاسته، شکر و سلولز بوده و دارای قابلیت رقابت با محصولات بدست آمده از مواد نفتی در زمینه‌های بسته‌بندی، خودرو، ساختمان و لوازم مصرفی بوده و از صرفه اقتصادی برخوردار می‌باشند. پیش‌بینی می‌گردد که تولید مواد از مواد خام زیستی به ۱۸٪ تا سال (۲۰۲۰) و تا ۴۵٪ تا سال (۲۰۳۵) افزایش پیدا کند (۶). برای نگهداری محصولات غذایی و افزایش جذابیت ظاهری آنها، می‌توان از پوشش‌های خوراکی استفاده کرد (۱). فیلم‌های خوراکی به لایه نازکی از مواد خوراکی اطلاق می‌شود که به عنوان پوشش روی ماده غذایی استفاده می‌شود (۲). نشاسته که در طبیعت یافت می‌گردد به دلیل قیمت پایین و قابلیت تجدیدپذیر شونده و بازیافت زیستی یکی از مواد خام جذاب و مورد علاقه برای استفاده در پلیمرهای زیستی است. علاوه بر این حساسیت‌زا نبوده و به دلیل دارا بودن ویژگی‌های مکانیکی و مقاومت در برابر نفوذ گازها امکان بکارگیری و استفاده از آن در صنایع مختلف وجود دارد. نشاسته مخلوطی از آمیلوز و آمیلوپکتین می‌باشد (۷). مهم‌ترین منبع نشاسته ذرت است اما نشاسته گندم، برنج، تاپیوکا، سیب‌زمینی، کاساوا و غیره نیز وجود دارد. بزرگترین گرانول‌ها مربوط به سیب‌زمینی و کوچکترین آنها برنج است (۳). تولید نشاسته از سیب‌زمینی برای اولین بار در قرن ۱۸ انجام شد. در دانمارک از سال ۱۹۰۰ تولید نشاسته به صورت صنعتی آغاز گردید به طوری که ۷۵ درصد تولید سیب‌زمینی این کشور برای تولید نشاسته مصرف می‌شود و این کشور بالاترین میزان تولید سرانه نشاسته در جهان را داراست (۴). نانوذرات وقتی به پلیمر اضافه می‌شوند علاوه

بر تقویت خواص پلیمر نظیر مقاومت در برابر نفوذ آب و کاهش حساسیت به رطوبت می‌توانند دارای فعالیت ضد میکروبی نیز باشند (۶). صنعت نانوتکنولوژی شامل تولیدات و کاربردهای بسیار متنوعی است. محصولات بسیاری با نانوتکنولوژی تولید شده‌اند و از لحاظ تجاری در دسترس هستند. این صنعت با تولیدات دیگری که هم اکنون در مرحله ساخت هستند و انتظار می‌رود در آینده نزدیک تجاری شوند به سرعت در حال رشد است. اکسید روی با ساختار هگزاگونال یک نیمه هادی است که در مقیاس نانو دارای خواصی از جمله فوتولومینسانس و لیزر، اپتیک غیر خطی و پیزوالکتریسته، حساسیت سطحی نسبت به جذب شونده‌ها، مقاومت غیرخطی بالا و پایداری مکانیکی خوب است (۵). خاصیت ضد میکروبی ترکیبات اکسید روی از گذشته بسیار دور شناخته شده و کاربردهای فراوانی در ضد عفونی کردن وسایل پزشکی، تصفیه آب، لوسیون‌ها و پمادهای ضدباکتری دارد (۹).

اوتارا و همکاران در سال (۲۰۰۲) نشان دادند که پوشش مواد غذایی با فیلم‌های خوراکی دارای مزایای زیادی است از جمله سلامتی و ویژگی‌های حسی و اقتصادی بودن و اینکه خود پوشش نیز دارای ارزش تغذیه‌ای است مانع فساد و آلودگی میکروبی می‌شوند و باعث استحکام و یکپارچگی مواد غذایی هستند (۱۰). محمدی و همکاران در سال ۲۰۱۳ به تهیه و ارزیابی فیلم‌های بایونانوکامپوزیت به وسیله نانولوله‌های ZnO پرداختند. در این تحقیق به بررسی نانولوله‌های ZnO بر روی ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، پایداری حرارتی، ممانعتی و ضد میکروبی فیلم‌های بایونانوکامپوزیت نشاسته ساگو و ژلاتین گاوی پرداختند. ZnO در غلظت‌های متفاوت به فیلم‌ها اضافه شد (۱ تا ۵٪ وزنی- وزنی کل ماده جامد) و همه فیلم‌ها با سوربیتول/گلیسرول به نسبت ۳:۱ به عنوان پلاستی‌سایزر ترکیب شدند. تلفیق ۵٪ نانوذرات ZnO به فیلم‌های نشاسته و ژلاتین باعث کاهش نفوذپذیری اکسیژن شد. میزان

۲- مواد و روش‌ها

نشاسته سیب زمینی با (۱۲٪ رطوبت) و نانو اکسید روی از شرکت SIM (در ناحیه پتنگ، مالزی) خریداری گردید. گلیسرول مایع و سوربیتول مایع از لیانگ (در ناحیه پتنگ مالزی) خریداری گردید. توئین از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. باکتری بیماری‌زا مورد استفاده اشرشیا کلی ATCC 25922 از مرکز رفرانس که از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال غرب کشور تهیه گردید.

۲-۱- تولید فیلم

برای تهیه فیلم، نخست دیسپرسیون تشکیل دهنده فیلم تهیه شد. برای تهیه محلول تشکیل دهنده فیلم از نشاسته، پلاستی‌سایزر و آب مقطر استفاده شد. در تهیه فیلم شاهد ابتدا محلول ۳٪ (وزنی-وزنی) نشاسته سیب زمینی تهیه شد و سپس به نسبت ۴۰٪ (وزنی-وزنی) پلاستی‌سایزر به نشاسته اضافه شد و به مقدار لازم آب مقطر اضافه شد تا محلول به وزن ۱۰۰ گرم رسید. محلول در حالی که دائماً به هم زده می‌شد، به مدت ۴۵ دقیقه در حرارت حدود 80°C برای کامل شدن فرایند ژلاتینه شدن نشاسته، نگه داشته شد و سپس محلول تا دمای حدود ($30-28^{\circ}\text{C}$) خنک شد و مقدار ۹۲ g از آن روی صفحاتی از جنس پلی متیل متاکریلات (با نام تجاری plexiglass) با ابعاد (16×16) ریخته شد و به مدت حدود ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه (دمای 25°C و رطوبت نسبی ۵۰) خشک شد و سپس از صفحات جدا شده و فیلم‌ها درون دسیکاتوری حاوی محلول نیتريت منیزیم اشباع، نگهداری شد. در تهیه فیلم‌های حاوی نانو اکسید روی تمام مراحل مانند فیلم شاهد می‌باشد با این تفاوت که از ۲۴ ساعت قبل مقدار مورد نظر (۱، ۳ و ۵٪) از نانو اکسید روی را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل کرده و بعد از ۲۴ ساعت در تهیه فیلم بجای آب مقطر از محلول آب و نانو اکسید روی استفاده می‌شود (۱۳).

رطوبت و توانایی جذب سطحی آب فیلم‌ها با افزایش میزان ZnO-nr کاهش پیدا کرد. ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها بیشتر از ۲۰٪ افزایش پیدا کرد. فیلم‌ها فعالیت ضد میکروبی خوبی علیه اشرشیا کلی از خود نشان دادند. نتایج نشان داد که بایونانو کامپوزیت‌ها بر پایه ZnO-nr قابلیت خوبی در صنعت مواد غذایی به عنوان مواد فعال بسته‌بندی داشتند (۱۱). Xiaofei و همکارانش (۲۰۰۹) به تهیه و بررسی خواص بایونانو کامپوزیت‌های نشاسته نخود فرنگی (GPS) پلاستیکی شده با گلیسرول/نشاسته-اکسید روی پرداختند. واکنش شدید بین نانوفیلر ZnO و ساختمان GPS به بهبود خواص بایونانو کامپوزیت کمک می‌کند. در مقدار کم بارگیری فیلر، نانو ZnO ویسکوزیته خمیر، دمای انتقال شیشه‌ای، نیروی کشش تسلیم و مدول یانگ نانو کامپوزیت-های نانو GPS/ZnO را افزایش می‌دهد. فیلم نانو اکسید روی جذب اشعه UV و ممانعت از نفوذ بخار آب را در مقایسه با GPS خالص بهبود داد. همچنین موجب بروز خواص ضد میکروبی بایو نانو کامپوزیت می‌شود (۱۲). Souza و همکارانش در سال ۲۰۱۳ به بررسی اشباع کردن فیلم‌های بایو کامپوزیت نشاسته از Cinnamaldehyde با استفاده از تکنولوژی سیال فوق بحرانی پرداخته و به این نتیجه رسیدند که افزودن این ماده سبب کاهش جذب و نفوذ آب در فیلم بایو کامپوزیت می‌گردد (۸).

در این تحقیق اکسید روی با غلظت‌های مختلف به بایو کامپوزیت نشاسته سیب زمینی افزوده شده و اثرات آن بر خواص فیزیکوشیمیایی و پارامترهای رشد میکروبی بررسی خواهد شد. هدف از این پژوهش بهبود خواص آنتی میکروبی و فیزیکوشیمیایی فیلم بایو کامپوزیت نشاسته سیب زمینی با افزودن نانو اکسید روی و بررسی تولید بسته‌بندی‌های فعال زیست تخریب پذیر بر مبنای خواص ضد میکروبی نانو اکسید روی می‌باشد.

۲-۲- تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند

استانداردهای مک فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسید سولفوریک ۱٪ و کلرید باریم ۱/۱۷۵٪ برای به دست آوردن یک محلول سولفات باریم با دانسیته نوری خاص تهیه می‌شود. معمولاً استاندارد ۰/۵ مک فارلند که حاوی ۹/۹۵ml اسیدسولفوریک ۱٪ و ۰/۰۵ کلرید باریم ۱/۱۷۵٪ می‌باشد بیشتر کاربرد دارد. استاندارد مک فارلند کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتری حاوی (۵/۱ cfu/ml) × ۱۰۸ ایجاد می‌کند. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری می‌باشد، بنابراین ۲۴ ساعت قبل از آزمایش از کشت ذخیره به محیط کشت شیب‌دار نوترینت آگار تلقیح انجام گردید سپس سطح کشت با محلول رینگر شسته شده و سوسپانسیون غلیظ میکروبی حاصل تا برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول ۰/۵ مک فارلند (جذب نوری ۰/۱۳۲ و درصد عبور نور ۷۴/۳ در طول موج ۶۰۰ nm) با رینگر رقیق گردید (۱۴).

۲-۳- بررسی اثر ضد میکروبی فیلم‌ها

۲-۳-۱- روش فلاسک

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی فیلم نشاسته سیب‌زمینی حاوی نانو اکسید روی بر باکتری های مورد بررسی، از کشت خطی و روش فلاسک استفاده گردید. برای اینکار در شرایط استریل و در زیر هود، ابتدا محیط کشت‌ها آماده گردید از باکتری‌ها معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه شده، ضمن انتقال به روی محیط کشت نوترینت آگار به وسیله میله L شکل استریل در سطح محیط کشت خطی گردید. در دمای °C ۳۷ درون انکوباتور استریل گردید بعد از گذشت ۲۴ ساعت فیلم‌های حاوی درصد‌های متفاوت نانو اکسید روی که با استفاده از پنس به محیط کشت مایع وارد گردید و مقدار ۰/۴ ml توئین و ۰/۱ ml از محیط کشت نوترینت برات به آن اضافه گردید. سپس مقداری از محلول را درون سل ریخته و جذب آنرا می‌گیریم هر دو ساعت یکبار این

کار را انجام می‌دهیم تا هنگامی که رشد باکتری‌ها به مرحله مرگ برسد. این عملیات با گذشت ۴۸ ساعت به پایان رسید (۱۴).

۲-۳-۲- روش دیسک دیفیوژن

بعد از ایزوله کردن باکتری، مقداری از کلونی باکتری را به وسیله پنس برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل می‌کنیم. باید در نظر داشت که چون، در تست آنتی بیوگرام میزان کدر بودن برای ما خیلی مهم است، بنابراین در انتخاب مقدار نمونه باید دقت کنیم تا نمونه را بیشتر یا کمتر از نیم مک فارلند برنذاریم. اگر میزان کدورت کمتر از نیم مک فارلند باشد، مقداری دیگر از نمونه را در سرم فیزیولوژی استریل حل و یا اگر میزان کدر بودن، بیشتر از نیم مک فارلند باشد در این صورت باید مقداری سرم فیزیولوژی استریل اضافه کرد تا به کدورت مناسب و برابر با نیم مک فارلند برسیم. بعد از تهیه محلول هموزن خود، با سوآپ استریل محلول را به هم زده و بعد از آبکشی کردن سوآپ، آن را به محیط کشت نوترینت آگار انتقال می‌دهیم و به طور کامل به وسیله سوآپ، محیط کشت را به صورت چمنی کشت می‌دهیم به طوری که هیچ محلی در محیط از قلم نیافتد. بعد از کشت، دیسک‌های آنتی بیوگرام که قبل از نیم ساعت از تست، بیرون یخچال قرار داده شده‌اند را انتخاب و بر روی محیط کشت انتقال می‌دهیم. نحوه قرار دادن دیسک‌ها در محیط کشت نوترینت آگار، به صورت دایره‌ای است و فاصله این دیسک‌ها از هم دیگر حدود ۱۲ میلیمتر می‌باشد و باید از دیواره هم فاصله داشته باشند. در ضمن فاصله این دیسک‌ها را می‌توان با توجه به تجربه خود کم و یا زیاد کنیم. بعد از قرار دادن دیسک‌ها، در پلیت را بسته و به مدت ۲۴ ساعت آنها را در دمای °C ۳۷ انکوبه می‌کنیم. بعد از ۲۴ ساعت پلیت را زیر چراغ بررسی می‌کنیم. آنگاه می‌باید قطر هاله عدم رشد را با خط‌کش اندازه‌گیری کرد (۱۴).

۲-۴-۴-۲- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

۲-۴-۲-۱- آزمون دانسیته

برای اندازه‌گیری میزان دانسیته تکه‌هایی از فیلم را به اندازه $(2 \times 3 \text{ cm})$ برش داد. نمونه‌ها را با ترازویی با دقت $(0/001)$ وزن کرده و با ریزسنج مدل insize میزان ضخامت هر فیلم را اندازه گرفته و در فرمول زیر قرار دهیم (۱۳).

$$\text{وزن فیلم} = \frac{\text{مساحت} \times \text{ضخامت}}{\text{دانسیته}}$$

۲-۴-۲-۲- آزمون رطوبت

برای بررسی میزان رطوبت ابتدا حدود 400 تا 600 mg از هر نمونه فیلم را با ترازویی با دقت $(0/001)$ وزن کرده (وزن اولیه) و در دسیکاتور حاوی کلرید کلسیم به مدت 24 ساعت قرار می‌دهیم سپس فیلم‌ها را مجدداً وزن می‌کنیم (وزن نهایی) سپس با استفاده از فرمول زیر میزان رطوبت را به دست می‌آوریم (۱۳). ه

$$\text{میزان رطوبت} = \frac{\text{وزن نهایی} - \text{وزن اولی}}{\text{وزن اولی}} \times 100$$

۲-۴-۲-۳- ظرفیت جذب آب (WAC)

برای بررسی میزان ظرفیت جذب آب تکه‌هایی از فیلم به اندازه 400 تا 600 میلی‌گرم توسط ترازو توزین گردید و در دسیکاتور محتوی کلرید کلسیم (برای صفر شدن رطوبت) به مدت 24 ساعت قرار گرفت نمونه‌ها با ترازویی با دقت $0/001$ توزین گردید در مرحله بعد فیلم‌ها را درون بشر حاوی 80 میلی‌لیتر آب دیونیزه به مدت یک ساعت قرار می‌گیرد و هر 20 دقیقه یکبار آنرا هم می‌زنیم سپس آنرا صاف کرده و خشک می‌کنیم و در مرحله بعد توزین می‌شود و در فرمول قرار می‌دهیم (۱۳).

$$\text{WAC} = \frac{\text{وزن آب جذب شده}}{\text{وزن خشک فیلم}}$$

۲-۴-۴-۲- آزمون حلالیت در آب

برای اندازه‌گیری میزان حلالیت در آب، نخست به میزان حدود 400 تا 600 میلی‌گرم از هر نمونه فیلم توزین شد و درون شیشه ساعت قرار گرفته و سپس به دقت توسط ترازوی دیجیتال توزین شد. سپس فیلم‌ها را به مدت 1 ساعت درون بشری که 80 میلی‌لیتر آب دیونیزه در آن ریخته شده بود و هر 20 دقیقه یکبار آنرا به آرامی هم می‌زنیم قرار می‌دهیم و سپس محلول را توسط صافی صاف می‌کنیم. در مرحله بعد کاغذ صافی همراه با فیلم، به مدت 24 ساعت درون آون 40°C نگهداری گردید و مجدداً توزین شد (۱۵).

$$\text{حلالیت} = \frac{\text{وزن خشک شده نهایی فیلم} - \text{وزن خشک شده اولیه فیلم}}{\text{وزن خشک شده اولیه فیلم}}$$

۲-۵-۲- تجزیه و تحلیل آماری

از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه برای تعیین وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5% به کمک نرم‌افزار GraphPad Prism 6 استفاده شد. همچنین برای ترسیم نمودار رشد میکروبی از نرم‌افزار MS Excel 2010 استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی اثر نانوذرات بر خواص ظاهری فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی

فیلم‌های تهیه شده، فیلم‌های کاملاً یکنواخت بودند که نانوذرات اکسید روی به طور یک دست در آن پخش شده بودند. سطح زیرین فیلم‌ها براق بودند، فیلم‌ها به راحتی و بدون هیچ ابزاری از سطح پلیت قالب‌گیری جدا شدند. ضخامت در نقاط مختلف تقریباً یکسان بوده و با افزایش درصد نانوذرات تأثیری روی ضخامت فیلم‌ها مشاهده نشد. این در حالی است که روی رنگ ظاهری فیلم‌ها تأثیر واضحی داشت. در بررسی حاضر فیلم‌های نشاسته

۳-۲- بررسی اثر نانوذرات بر ضخامت فیلم‌های نشاسته

سیب‌زمینی

برای اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها از ریزسنج دستی استفاده شد که ضخامت کلی فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی بدست آمده، با اضافه کردن نانوذرات بدون تغییر باقی ماند. مقادیر میانگین ضخامت کلی فیلم ۰/۱۵-۰/۱۳ میلی‌متر می‌باشد و در جدول ۱ نشان داده شده است.

سیب‌زمینی خالص آماده شده به صورت انعطاف‌پذیر پایدار شفاف بودند. در حالیکه فیلم‌های حاوی نانو اکسید روی سفید مایل به کمی زرد رنگ بودند و در ظاهر غیر شفاف بودند. افزایش در ظاهر شیری رنگ غیر شفاف با افزایش در میزان نانوذرات مشاهده شد.

جدول ۱- میانگین ضخامت فیلم‌های شاهد و نمونه‌های حاوی نانوذرات

نوع نمونه	ضخامت
۰٪ (نمونه شاهد)	۰/۱۴ ± ۰/۰۲ (a)
۱٪ نانو اکسید روی	۰/۱۴ ± ۰/۰۳ (a)
۳٪ نانو اکسید روی	۰/۱۳ ± ۰/۰۲ (a)
۵٪ نانو اکسید روی	۰/۱۴ ± ۰/۰۳ (a)

داده‌ها بیانگر میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. مشابه بودن حروف لاتین بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۵ می‌باشد.

می‌دهد. محتوای رطوبت فیلم‌ها به طور معنی‌داری با افزایش درصد نانوذرات از ۵٪ تا ۳٪ کاهش پیدا می‌کند. کاهش محتوای رطوبت فیلم‌ها در اثر افزودن ذرات نانو را نیز می‌توان به پر شدن فضاهای خالی بین بایوپلیمرها توسط نانوذرات نسبت داد.

۳-۳- بررسی اثر نانوذرات بر خواص فیزیکوشیمیایی

فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی

۳-۳-۱- اثر نانوذرات اکسید روی بر محتوای رطوبت

فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی

جدول ۲ محتوای رطوبت را برای فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی و نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی را نشان

جدول ۲- محتوای رطوبت فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی نشاسته سیب‌زمینی

درصد حضور نانوذرات (%)	محتوای رطوبت (در رطوبت نسبی ۰/۵۸)
۰	۵/۰۸۱ ± ۰/۱۱ (a)
۱	۵/۳۲ ± ۰/۲۱ (a)
۳	۴/۰۱ ± ۰/۱۵ (b)
۵	۳/۵۱ ± ۰/۱۳ (d)

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. اختلاف در حروف لاتین بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۵ می‌باشد.

۳-۳-۲- اثر نانو ذرات اکسید روی بر حلالیت در آب

فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی

حلالیت در آب یک فاکتور مهم در تعریف کاربردهای ممکن برای فیلم‌های بایوپلیمر کامپوزیت است. بیشتر بایوپلیمرها در حالت طبیعی خود به رطوبت حساس و محلول در آب هستند که می‌توان با روش‌های مختلف مانند گنجانده شدن اجزای چربی از منشاء خوراکی در فیلم، کامپوزیت پروتئین-چربی، استفاده از نانو ذرات با ایجاد پیوندهای عرضی حلالیت را کاهش داد. جدول ۳ درصد حلالیت در آب را برای فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی و نمونه‌های حاوی نانو ذرات اکسید روی را نشان می‌دهد. همان گونه که از نتایج پیداست انحلال پذیری فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی با افزایش میزان نانو ذرات کاهش می‌یابد. نشاسته خالص به علت

آبدوست بودن، محلول در آب است. حضور گروه‌های هیدروکسیل و حلالیت بالا به پلاستی‌سایزرها هیپیدروفیل (سوربیتول/گلیسرول) نسبت داده شود که برای ایجاد انعطاف پذیری کافی به فیلم‌ها افزوده شده است. با اضافه کردن نانو ذرات اکسید روی به شبکه فیلم کاهش مشاهده شده در انحلال پذیری آب را می‌توان به تشکیل پیوندهای هیدروژنی قوی بین شبکه نشاسته‌ای و ذرات نانو نسبت داد. انحلال پذیری پایین آب ویژگی مطلوبی برای بسته‌بندی مواد غذایی است. چون فیلم‌های بسته‌بندی با چنین ویژگی می‌توانند در برابر شرایط با رطوبت بالا مقاوم باشند.

جدول ۳- درصد حلالیت در آب فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی نشاسته سیب‌زمینی

درصد حلالیت	درصد حضور نانو ذرات (%)
۲۳/۱۰ ± ۱/۰۱ (a)	۰
۲۱/۱۶ ± ۱/۰۱ (b)	۱
۱۹/۸۹ ± ۱/۲۲ (c)	۳
۱۹/۲۰ ± ۱/۱۱ (c)	۵

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. اختلاف در حروف لاتین بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

۳-۳-۳- اثر نانو ذرات اکسید روی بر قابلیت جذب آب

فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی

جدول ۴ قابلیت جذب آب را برای فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی و نمونه‌های حاوی نانو ذرات اکسید روی را نشان می‌دهد. همان گونه که مشخص است با اضافه کردن ذرات نانو در فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی جذب آب (WAC) به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) کاهش می‌یابد. جذب رطوبت به

دلیل گروه‌های هیدروکسیل موجود در بایوپلیمرها مثل نشاسته است که با آب پیوند برقرار می‌کند. در این تحقیق با افزودن نانو ذرات در ماتریکس بایوپلیمر گروه‌های هیدروکسیل قابل دسترس برای مولکول‌های آب کاهش پیدا می‌کنند. در نتیجه سبب کاهش خاصیت آبدوستی فیلم‌های نشاسته‌ای می‌شوند.

جدول ۴- قابلیت جذب آب فیلم های بایونانو کامپوزیتی نشاسته سیب زمینی

درصد حضور نانوذرات (%)	قابلیت جذب آب (گرم آب به ازای هر گرم ماده خشک)
۰	۲/۴۳ ± ۰/۰۷ (a)
۱	۲/۲۸ ± ۰/۱۸ (b)
۳	۱/۹۱ ± ۰/۱۰ (b)
۵	۱/۵۴ ± ۰/۱۲ (c)

داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می باشد. اختلاف در حروف لاتین بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین میانگین ها در سطح احتمال ۵٪ می باشد.

اثر افزودن نانوذرات اکسید روی تفاوت معنی داری نشان نداد. این یافته می تواند مربوط به تغییرات در درصد محتوای رطوبت داشته باشد. از آنجا که تغییرات محتوای رطوبت در مورد فیلم نشاسته چندان قابل توجه نمی باشد، دانسیته هم تغییر معنی داری را نشان نداد.

۳-۳-۴- اثر نانوذرات اکسید روی بر دانسیته فیلم های نشاسته سیب زمینی
جدول ۵ دانسیته را برای فیلم های نشاسته سیب زمینی و نمونه های حاوی نانوذرات اکسید روی را نشان می دهد. همانگونه که از نتایج پیداست، دانسیته فیلم های نشاسته سیب زمینی حدود ۱/۵ گرم بر سانتیمتر مکعب می باشد و در

جدول ۵- دانسیته فیلم های بایونانو کامپوزیتی نشاسته سیب زمینی

درصد حضور نانوذرات (%)	دانسیته (گرم بر سانتی متر مکعب)
۰	۱/۴۳ ± ۰/۰۷ (a)
۱	۱/۵۸ ± ۰/۱۸ (a)
۳	۱/۳۱ ± ۰/۱۰ (a)
۵	۱/۲۴ ± ۰/۱۲ (a)

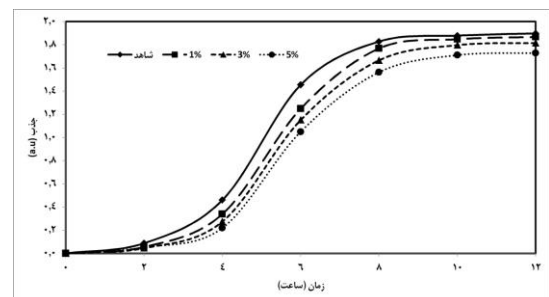
داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می باشد. اختلاف در حروف لاتین بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین میانگین ها در سطح احتمال ۵٪ می باشد.

۳-۴- بررسی اثر ضد میکروبی

۳-۴-۱- روش فلاسک

منحنی رشد میکروبی بر اساس زمان دارای چهار فاز می‌باشد. فاز تاخیر، که در این فاز میکروارگانیسم خود را با محیط سازگار کرده و آماده رشد می‌شود. فاز لگاریتمی، که در این فاز سلول میکروب به صورت لگاریتمی شروع به تکثیر کرده و جمعیت آن افزایش می‌یابد. فاز سکون، در این فاز شرایط محیطی و میزان غذا برای میکروارگانیسم محدود شده و جمعیت تولیدی با جمعیت مرده برابر شده و در این حالت تعداد کل میکروارگانیسم ثابت می‌ماند. فاز مرگ، که در این فاز پس از وقفه بوجود آمده در فاز سکون و در صورتی که غذای کافی برای میکروارگانیسم وجود نداشته باشد جمعیت آنها شروع به کاهش خواهد نمود. در صورتی که یک ماده خاصیت ضد میکروبی داشته باشد، می‌تواند هم فاز تاخیر را به تعویق اندازد و هم میزان حداکثری جمعیت را در فاز لگاریتمی کاهش دهد.

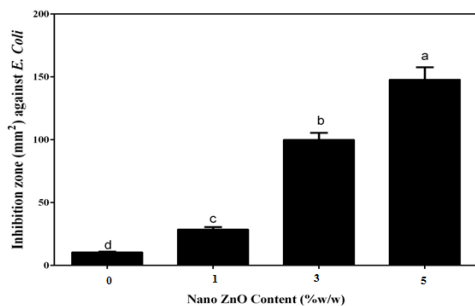
در شکل ۱ روند رشد باکتری اشرشیا کلی در این پژوهش در بازه زمانی ۱۲ ساعت در برابر فیلم‌های ضد میکروبی آمده است. همانگونه که از نتایج به خوبی پیداست بایونانو کامپوزیت‌های نشاسته سیب زمینی/نانو اکسید روی هم باعث افزایش فاز تاخیر شده و هم تا حدود زیادی فاز لگاریتمی را کاهش داده‌اند.



شکل ۱- نمودار رشد میکروبی اشرشیا کلی در برابر بایونانو کامپوزیت نشاسته سیب زمینی/اکسید روی در غلظت‌های مختلف.

۳-۴-۲- روش دیسک دیفیوژن

فیلم‌های بایونانو کامپوزیت حاوی اکسید روی توانایی بازدارندگی در برابر اشرشیا کلی را دارا است. بر اساس مطالعات انجام شده هر چه هاله شفاف در اطراف فیلم بیشتر باشد حاکی از توانایی بیشتر فیلم در بازدارندگی رشد میکروبی است. با افزایش محتوی نانوذرات هاله عدم رشد به طور قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند. بنابراین می‌توان گفت که فیلم‌های ساپورت شده با این نانوذرات می‌توانند همانند یک بسته‌بندی فعال علیه میکروارگانیسم‌ها عمل کنند (شکل ۹).



شکل ۲- اثر نانوذرات اکسید روی بر ناحیه بازدارندگی فیلم‌های نشاسته‌ای علیه اشرشیا کلی نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می‌باشند.

۴- نتیجه گیری

در مطالعه حاضر نانوذرات اکسید روی با غلظت‌های بین ۰ تا ۵٪ در بافت فیلم بایوپلیمری نشاسته سیب زمینی وارد شده و خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی ارزیابی شد. نانوذرات باعث کاهش میزان رطوبت فیلم‌های نشاسته سیب زمینی شد. افزودن نانوذرات میزان قابلیت جذب آب و همچنین حلالیت فیلم‌ها را کاهش داد. با ورود نانوذرات به بافت بایوپلیمری نشاسته سیب زمینی خواص آن به خوبی در درصد‌های بسیار پایین تحت تاثیر قرار گرفته است. این نانوذرات علاوه بر اینکه خوراکی هستند خواص ضد میکروبی بسیار خوبی از خود نشان می‌دهند. این خواص

Process Engineering, Dearborn, MI, USA, Sept. 12–14, 2000. Full paper published in the Proceedings, pp. 189–196.

8) Xie, E.P. Peter, J. Halleya, L.A. 2013. Starch-based nano-biocomposites. Progress in Polymer Science, 38: 1590–1628.

9) Li, X.H. and Xing, Y.G. 2010. Antibacterial and Physical Properties of Poly (vinyl chloride)-based Film Coated with ZnO Nanoparticles. Food Science and Technology International, 16: 1-9.

10) Orujaliyan, F. Kasrakermanshahi, R. Azizi, M. and Basami, M.R. 2011. Antibacterial effect of essential oils of three plants against pathogens important medicinal food microdilution method. Iranian Journal of medicinal and aromatic plants research, 2: 133-146.

11) Nafchi, A.M. Nassiri, R. Sheibani, S. Ariffin, F. and Karim, A.A. 2013. Preparation and characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide. Carbohydrate Polymers, 96: 233-239.

12) Honga, R.Y. and et al. 2009. Effects of ZnO nanoparticles on the mechanical and antibacterial properties of polyurethane coatings. Progress in Organic Coatings, 64(2): 504–509.

13) Nafchi, M. Hoseinzadeh, A. and Mechanical, M. 2012. Properties of sago starch-derived antimicrobial films containing oregano extract. The second national seminar on food security.

14) Jokar, M. Russly, A.R. Nor-Azowa, I. Luqman Chuah, A. and Chin Ping, T. 2012. Melt Production and Antimicrobial Efficiency of Low-Density Polyethylene (LDPE)-Silver Nanocomposite Film. Food Bioprocess Technol, 5: 719–728.

15) Maizura, M. Fazilah, A. Norziah, M.H. and Karim, A.A. 2008. Short Communication Antibacterial Activity of Modified Sago Starch-Alginate Based Edible Film Incorporated with Lemongrass (Cymbopogon citratus) Oil, International Food Research Journal, 15(2): 233-236.

ضد میکروبی هم در روش دیسک دیفیوژن و هم در روش فلاسک به وضوح بارز است. خواص ضد میکروبی بسیار عالی این بایونانو کامپوزیت و همچنین در دسترس بودن و ارزان بودن، آنها را به عنوان گزینه های بسیار مناسب برای تهیه بسته بندی های فعال خوراکی پیشنهاد می کند.

۵- منابع

۱) ایران منش، م. ۱۳۸۷، پوشش ها و فیلم خوراکی، مجله فناوری و توسعه صنعت بسته بندی، سال چهارم، شماره ۳۵، خرداد ماه ۱۳۸۷.

۲) قنبرزاده، ب. الماسی، ه. و زاهدی، ی. ۱۳۸۸، بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی و دارویی، فصل اول، انتشارات دانشگاه صنعتی امیر کبیر، پلی تکنیک تهران، ۲۰-۱.

۳) قنبرزاده، ب. رزمی راد، ا. الماسی، ه. زاهدی، ی. ۱۳۸۸، مروری بر خواص کاربردی فیلم های خوراکی حاصل از پروتئین های آب پنیر، مجله مهندسی شیمی ایران، شماره ۴۱، ۳۱-۲۰.

۴) یقبنانی، م. محمدزاده، ج. ۱۳۸۴. بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی نشاسته ارقام غالب سیب زمینی منطقه گلستان (۱۳۸۹). فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران. دوره ۲. شماره ۲. زمستان.

۵) کاوش، م. معلمیان، ح. کوتی، م. ۱۳۹۰. سنتز و شناسایی نانوذرات اکسید روی به روش تجزیه آبی - حرارتی. مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی. سال ۲۱. شماره ۸۰.

6) Amar, K. Manjusri, M. and Lawrence T. 2005. Natural fibers, Biopolymers, and Biocomposites, Taylor & Francis Group. pp. 1-102.

7) Misra, M., Mohanty, A.K., and Drzal, L.T. 2000. Environmentally-Friendly Composites from Jute and Mater-Bi, SAMPE, Society for the Advancement of Material and