



## بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلمهای تهیه شده حاوی نانوذرات اکسید

### تیتانیوم با پایه پلی ساکارید آرد سویا

نویسندگان: داود سالارباشی<sup>۱</sup>، سید علی مرتضوی<sup>۲</sup>، مصطفی شهیدی نوقایی<sup>۳</sup>، بی بی صدیقه فضلای بزاز<sup>۴</sup>، ناصر

صداقت<sup>۵</sup>، محمد رمضانی<sup>۶</sup>، ایمان شهابی<sup>۷</sup>

۱. نویسنده مسئول: استادیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زرین دشت

تلفن تماس: ۰۹۳۳۵۴۰۴۰۲۸ Email: dsalarbashi@iauzarindasht.ac.ir

۲. استاد گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. استادیار گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد

۴. استاد مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۵. دانشیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

۶. استاد مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۷. استادیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زنجان

### چکیده

**مقدمه:** بیوپلیمرهای مشتق شده از منابع طبیعی که سهم زیادی از توجهات را در سال های اخیر بخود جلب نموده اند، بعنوان جایگزین های فیلم های پلاستیکی غیرزیست تخریب پذیر متداول در نظر گرفته می شوند چرا که هزینه آن ها پایین است و به آسانی از منابع تجدیدپذیر و زیست تخریب پذیر در دسترس اند. در این پژوهش، تاثیر غلظتهای مختلف اکسید تیتانیوم بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلم خوراکی بر پایه پلی ساکارید محلول دانه سویا بررسی گردید.

**روش بررسی:** فیلم های نانو کامپوزیتی با افزودن نانو ذرات اکسید تیتانیوم در غلظتهای مختلف (۵، ۱۰ و ۱۵ درصد بر پایه وزن خشک) به پلی ساکارید آرد سویا، تولید گردید. نانو کامپوزیت حاصل، با هدف بررسی ویژگی های فیزیکوشیمیایی و میکروبی به روش قالب ریزی محلول، سنتز شد.

**یافته ها:** با افزایش غلظت نانوذرات در فیلم ها، میزان رطوبت آنها به طور معنی داری کاهش یافت اما میزان مقاومت کششی آنها به طور معنی داری افزایش یافت. نانو اکسید تیتانیوم دارای اثر بازدارندگی زیادی بر روی باکتری باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس بود. فیلم های تولید شده، اثری بر روی حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی کپک ها نداشتند. با افزایش غلظت نانوذره اکسید تیتانیوم، درصد مهارکنندگی آن بر کپک پنسیلیوم اکسیانوسوم افزایش معنی دار نشان داد.

**نتیجه گیری:** نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید تیتانیوم می توانند در ماتریس پروتئینی سویا برای تولید فیلم استفاده گردند. فیلم کامپوزیتی تولید شده در این پژوهش را می توان برای کاربردهای غذایی و به عنوان ماده بسته بندی زیست تخریب پذیر استفاده نمود.

**واژه های کلیدی:** خصوصیات فیزیکوشیمیایی، خصوصیات میکروبی، نانو ذرات اکسید تیتانیوم، نانو کامپوزیت ها.

## طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال پانزدهم

شماره: چهارم

مهر و آبان ۱۳۹۵

شماره مسلسل: ۵۸

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۵/۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۷



## مقدمه

حساس به رطوبت بوده و نسبت به عبور انواع گازها، نفوذپذیری بالایی دارد (۵). خواص فیزیکی ضعیف و ویژگی‌های مکانیکی ضعیف این پلیمر زیستی، استفاده از آن‌ها صنعت بسته بندی محدود می‌کند و باید با استفاده از شیوه‌های نوین این محدودیت‌ها را جبران نمود (۶).

دی اکسید تیتانیوم که با نام های اکسید تیتانیوم IV یا تیتانیا شناخته می‌شود، دارای فرمول شیمیایی  $TiO_2$  است و زمانی که به عنوان رنگدانه مورد استفاده قرار می‌گیرد، نام های تیتانیوم سفید، رنگدانه سفید و C177891 به خود می‌گیرد. تمام خصوصیات دی اکسید تیتانیوم نیز در نانو دی اکسید تیتانیوم وجود دارد، با این تفاوت که اندازه ذرات آن بسیار کوچکتر است و از این رو قابلیت اثر گذاری بیشتری دارد، چرا که به واسطه کوچک بودن اندازه ذرات، سطح تماس بیشتر می‌شود و کارایی افزایش می‌یابد.

زمانی که اندازه ذرات  $TiO_2$  به مقیاس نانو کاهش می‌یابد، فعالیت فتوکاتالیستی می‌تواند افزایش یابد چرا که مساحت سطح موثر افزایش می‌یابد (۷).  $TiO_2$  اکسید فلزی خنثی است که اغلب به عنوان افزودنی رنگی نیز استفاده می‌شود. همچنین با دوز مشخصی به طور گسترده در مواد غذایی و لوازم آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود.

علاوه بر این با توجه به فعالیت های فتوکاتالیکی آن،  $TiO_2$  می‌تواند در ساخت فیلم های بر پایه بیوپلیمرها استفاده شود تا علیه میکروارگانیسم ها و آلرژن ها حفاظتی را فراهم کنند. با این حال ذرات  $TiO_2$  به آسانی کلوخه ای می‌شوند، بنابراین خصوصیات فیلم تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۸).

امروزه میلیون ها تن پلاستیک هر ساله در سراسر جهان تولید می‌شوند و تولید و مصرف آن ها روبه افزایش است. عدم قابلیت زیست تخریب پذیری آن ها سبب بروز مشکلات زیست محیطی جدی شده است. به همین دلیل، مواد زیست تخریب-پذیر، در طی چند دهه گذشته به عنوان جایگزینی برای پلیمرهای تجزیه ناپذیر، مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

بیوپلیمرهای مشتق شده از منابع طبیعی که سهم زیادی از توجهات را در سال های اخیر بخود جلب نموده اند، بعنوان جایگزین های فیلم های پلاستیکی غیرزیست تخریب پذیر متداول در نظر گرفته می‌شوند چرا که هزینه آن ها پایین است و به آسانی از منابع تجدیدپذیر و زیست تخریب پذیر در دسترس اند (۱-۲).

پلی ساکاریدها به دلیل فراوانی و قیمت کم، برای تولید اینگونه بسته بندی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما نفوذ پذیری بالا به گازها و مقاومت مکانیکی ضعیف، استفاده از این پلیمرها را در صنعت محدود می‌کند (۳). پلی ساکارید محلول دانه سویا، از مواد دیواره سلولی دانه های سویای استخراج می‌شود این پلی-ساکارید، دارای ساختاری مشابه پکتین بوده و و مشکل از ستون گالاکتورونان هموگالاکتو-رونان (آلفا) ۱-۴ گالاکتورونان) و رامنوگالاکتورونان (واحد های تکرار شونده آلفا ۱ و ۲ رامنوز و آلفا ۱ و ۴ گالاکتورونیک اسید) که توسط بتا ۱ و ۴ گالاکتان و آلفا ۱ و ۳ یا آلفا ۵-آرابینان شاخه دار، است (۴).

ویژگی های فیلم پذیری این ماده بسیار خوب بوده و قادر به تولید فیلم های قابل تجزیه با ویژگی فیزیکی و ساختاری مطلوب می‌باشد. با این حال، فیلم های تهیه شده از این پلی ساکارید



استفاده تجاری از نانو  $TiO_2$  بعنوان فتوکاتالیست در زمینه هایی چون تصفیه آب، پاکسازی هوا و استرلیزه کردن/ ضد عفونی کردن در دنیا فراگیر شده است. همچنین از  $TiO_2$  برای از بین بردن آلودگی های آلی چون پلی کلرو بی فیل، تولوئن، سورفکتانت ها، حشره کش ها و ترکیبات فنی، اسیدهای کربوکسیلی، سولفیدهای آروماتیک، هیدروکربن ها و رنگ های آلی استفاده می شود (۹-۱۰).

بنابراین انجام تحقیق جامع و کامل در مورد نانو کامپوزیت ها و کاربرد احتمالی آنها در صنایع بسته بندی کشور امری لازم و ضروری است. در این راستا، در این پژوهش ابتدا فیلم خوراکی بر پایه پلی ساکارید محلول دانه سویا با استفاده از غلظتهای مختلف اکسید تیتانیوم و به روش قالب ریزی تولید گردید. سپس تاثیر غلظتهای مختلف اکسید تیتانیوم بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلم تولیدی، بررسی گردید.

### روش بررسی

پلی ساکارید آرد سویا به عنوان ماتریس پلیمری پلی ساکاریدهای محلول در آب هستند که از دانه سویا استخراج می شوند و از شرکت روغن فوجی تهیه شد. نانو ذره اکسید تیتانیوم از شرکتسازین خریداری شد.

باکتری های مورد بررسی در این پژوهش شامل باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*, PTCC1247)، اشرشیاکلی (*Escherichia coli*, O157:H7EDL933)، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*), PTCC 1112, ATCC 6583 بودند که از مرکز PTCC کرج تهیه گردیدند. مخمر کاندیدا آلیکنز (*Candida albicans*) و کپک پنی سیلیوم اکسپانسونم

$TiO_2$  زمانی عملکرد مناسبی خواهد داشت که به خوبی در تمام محصول توزیع و پراکنده شده باشد. ذرات رنگ دهنده تیتان تمایل دارند که در طول فرآیند تولید و حتی نگهداری محصول، به یکدیگر چسبیده و در نتیجه به شکلی کلوخه یا توده هایی با اندازه هایی چند بار بزرگتر از اندازه مطلوب در محصول ظاهر می شوند.

تشکیل این توده، ظاهر و عملکرد محصول نهایی را تحت تاثیر قرار می دهد. توده های با اندازه ۳۰ میکرومتر و بیشتر از آن سبب ایجاد نقص در سطح محصول می شود. ایجاد خال، زدگی و رگه در سطح محصول از جمله این مشکلات است. همچنین ممکن است باعث ایجاد مشکلات فرآیندی نیز شود (۹). اطلاعات جامعی در طی ۲۰ سال گذشته راجع به خاصیت آنتی باکتریال فتوکاتالیستی تیتانیوم بدست آمده است.

اکسید تیتانیوم قادر است که هر نوع باکتری های گرم مثبت و منفی را از بین ببرد. هر چند که بر روی باکتری های گرم مثبت نسبت به گرم منفی کمتر تاثیر گذار است زیرا این گونه از باکتری ها قادرند حول خود پوسته محافظ تولید کنند غلظت موثر اکسید تیتانیوم برای کشتن باکتری ها بنا به سایر ذرات، شدت و طول موج نور مورد استفاده از ۱۰۰-۱۰۰۰ ppm متغیر است.

خاصیت آنتی باکتریال اکسید تیتانیوم وابسته به تولید گونه های اکسیژن فعال مخصوصا رادیکال های آزاد هیدروکسیل و پراکسید می باشد که به ترتیب تحت تابش اشعه UV-A از واکنش های اکسیداسیون و احیا تولید می شوند (۱۰). در سال های اخیر به علت ویژگی های جالب فتوکاتالیستی کریستال های دی اکسید تیتانیوم تحقیقات زیادی گزارش شده است.



نمونه‌ها قبل از انجام آزمایش بمدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵ درصد قرار داده شد. سرعت کشش نیز ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه بود (۱۱). مقدار مقاومت کششی از روی منحنیهای تنش - کرنش بدست آمدند.

محیط کشت آگاردار مورد استفاده در آزمون درصد مهارکنندگی کپک ها، محیط کشت اختصاصی Sabro dextrose Agar (SDA) است.

نانوذرات اکسیدتیتانیوم، ابتدا به روش دیسپرسیون نانو ذرات در محیط کشت مایع، در محلول های استریل شده کازئینات سدیم ۲۰ درصد و Bovine Serum Albumin (BSA) ۲۰ درصد مخلوط می گردد. سپس با توجه به اینکه محیط کشت آگاردار SDA، بعد از اتوکلاو سرد و منجمد می گردد جهت اضافه نمودن نانو ذرات دیسپرس شده در محلول های ۲۰ درصد کازئینات و BSA در محیط کشت SDA، ابتدا محیط کشت SDA را در مایکروویو ذوب کرده و در ادامه محلول های حاوی نانو ذرات را به محیط کشت SDA ۱۰ اضافه نموده و بلافاصله عمل دیسپرسیون در اولتراتراکس به مدت ۱ دقیقه، با توجه به منجمد شدن سریع محیط کشت SDA صورت می گیرد. بعد از آماده شدن محلول حاوی نانو ذره دیسپرس شده در محیط کشت SDA و کازئینات سدیم و یا BSA، ۱۲ سی سی به پلیت اول منتقل می شود.

در ادامه جهت سایر رقت ها به تعداد رقت هایی که بایستی تهیه کنیم، باید لوله آزمایش بزرگ، استریل شده وجود داشته باشد، که در هر کدام ۱۲ سی سی از محیط کشت SDA ذوب شده در مایکروویو اضافه کرده و سپس جهت جلوگیری از منجمد شدن محیط کشت SDA، لوله های آزمایش حاوی محیط

(Pencilliumexpansum) و آسپرژیلوس نایجر (Aspergillusniger) مورد بررسی بودند که از مواد غذایی ایزوله و تهیه شدند.

فیلم ها با استفاده از روش قالب ریزی و مطابق روش Tajik همکاران در سال ۲۰۱۳ با اندکی اصلاح تهیه شدند (۴). برای تهیه محلول ۱ درصد از این فیلم، مقدار ۱ گرم (w/v) پلی- ساکارید را در ۱۰۰ میلی لیتر آب ریخته و با هم زدن مغناطیسی در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد.

برای نرم شدن فیلم های تولیدی، مقدار ۲۵ درصد وزن ماده خشک آن ها گلیسرول به عنوان پلاستی سایزر اضافه گردید. هم زمان نسبت های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد از نانو ذرات اکسید تیتانیوم به محلول اضافه شد. محلول ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شبانه روز گرمخانه گذاری شد. بعد از خشک شدن فیلم ها جدا شدند و برای آزمایش های بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد نگهداری شدند.

ضخامت فیلم به وسیله یک میکرومتر دستی با دقت ۰/۰۱ mm در حداقل ۱۰ نقطه تصادفی هر فیلم اندازه گیری شد. میانگین ضخامت نقاط مختلف هر فیلم در محاسبات خاصیت مکانیکی مورد استفاده قرار گرفت.

مقدار رطوبت فیلم ها از طریق خشک کردن آنها در یک آون با دمای ۱۰۴ درجه سانتی‌گراد، تا رسیدن به یک وزن ثابت انجام گرفت. برای انجام تست کشش بر روی فیلم ها، نمونه های مستطیلی به ابعاد ۶ سانتی متر در ۱ سانتی متر تهیه و آزمون کشش طبق استاندارد ASTM D882 و با استفاده از دستگاه بافت سنج (Texture analyzer, model QTS 25 kg, CNS ) انجام شد. (Farnell, Hertfordshire, UK)



لذا، علاوه بر قطر هاله در روز هفتم، قطر هاله کپک در روز اول گرمخانه گذاری باید اندازه گیری شود.

زمانی که عدد صورت کسر تقسیم بر مخرج برابر ۱ باشد یا به عبارت دیگر، قطر هاله ی رشد کپک در محیط کشت SDA حاوی درصد مشخص نانوذره، برابر قطر دهانه پیت پاستور باشد، نشان دهنده ی عدم رشد کپک خواهد بود. کپک های مورد بررسی در این پژوهش پنی سیلیوم اکسپانوم و آسپرژیلوس نایجر بودند (۱۲).

چنانچه براساس محاسبات، در یکی از محیط کشت های SDA، حاوی نانوذره به ۱۰ درصد= MGI برسیم، این محیط کشت حاوی نانوذره و درصد های بیشتر نانوذره در محیط کشت SDA، برای تهیه کشت ۷ روزه کپک در محیط کشت SDA جدید استفاده خواهد شد، چنانچه در کشت های هفت روزه مورد نظر جدید، کپک رشد داشته و تشکیل هاله دهد، نشان دهنده عدم نابودی کپک با وجود جلوگیری از رشد آن در حضور درصد مشخص نانوذره خواهد بود.

چنانچه در کشت ۷ روزه ای از کپک، هاله تشکیل نگردد، نشان دهنده ی نابودی کپک در حضور درصد مشخص نانوذره خواهد بود و کمترین درصدی از نانوذره که نابودی کپک و عدم تشکیل هاله در آن مشاهده گردد به عنوان درصد حداقل کشندگی کپک (MBC) شناخته می شود (۱۲).

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی در باکتری ها و مخمرها، از چاهک های حاوی محیط کشت Broth و باکتری و مخمر تلقیح شده که بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری و اضافه شدن نمک تترازولیوم، به رنگ قرمز تغییر ندادند را با استفاده از آنس

کشت SDA را در جا لوله ای و در درون آب ۷۰-۸۰ درجه سانتی گراد حمام آب نکه می داریم.

رقت های دیگر شامل : ۱/۲۵ mg/ml، ۲/۵ mg/ml، ۵ mg/ml و ۱۰ mg/ml بودند. جهت تهیه کشت ۷ روزه از کپک ها جهت آزمون درصد مهارکنندگی، ابتدا از محیط کشت اصلی حاوی کپک های رشد کرده با سرست پاستور، یک دایره برش خورده از این محیط کشت تهیه کرده و به وسط یک پلیت حاوی محیط کشت SDA، اضافه می کنیم. سپس به مدت ۷ روز در انکوباتور نگهداری می کنیم.

جهت نمونه شاهد در آزمون درصد مهارکنندگی کپک ها یک دایره برش خورده از کشت اول ۷ روزه کپک ها، به مرکز یک پلیت که فقط حاوی محیط کشت SDA بوده منتقل می کنیم و به مدت ۷ روز در انکوباتور نکه داری می کنیم. بعد از ۷ روز، قطر هاله های ایجاد شده از رشد کپک ها در پلیت های کشت شده با استفاده از ابزار اندازه گیری کولیس انجام می شود.

با استفاده از قطر هاله های اندازه گیری شده و براساس فرمول زیر، زمانی که نسبت ۱۰۰٪ در مورد قطر هاله یکی از پلیت های حاوی نانوذره و محیط کشت SDA حاصل شود، درصد مهارکنندگی نانوذره اکسید تیتانیوم مشخص شده است.

قطر هاله ی کپک مورد نظر محیط کشت فاقد نانوذره (قطر هاله کنترل) =  $d_c$

قطر هاله ی کپک مورد نظر در محیط کشت حاوی نانوذرات دیسپرس شده =  $d_t$  (۵)

درصد مهارکنندگی رشد میسل های کپک (MGI) =  $\frac{(d_c - d_t)}{d_c} \times 100$



حلقوی، به یک محیط کشت آگاردار عمومی مانند MHA (Mullen Hinton Agar) منتقل می‌کنیم.

چنانچه بعد از یک روز گرمخانه گذاری در رقت موردنظر، باکتری و مخمر رشد کرده باشند، نشان می‌دهد که نانوذره در این درصد با وجود جلوگیری از رشد باکتری یا مخمر، قادر به نابود کردن آنها نبوده است. اما چنانچه در محیط کشت آگاردار کشت یک روزه، باکتری یا مخمر رشدی نداشته باشد و تشکیل کلونی هم نداده باشد، نشان دهنده نابودی آنها است و حداقل درصدی از نانوذره که باکتری یا مخمر را نابود کند، حداقل غلظت کشندگی محسوب می‌گردد.

باکتری‌های مورد بررسی در این آزمون شامل اشرشیاکلی، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بودند. مخمر مورد ارزیابی نیز کاندیدا آلیکنز بود (۱۳).

جهت دیسپرسیون نانوذره اکسید تیتانیوم از پودر محیط کشت BSA به عنوان سورفاکتانت استفاده گردید. بعد از اتوکلاو نمودن محلول ۲۰ درصد محیط کشت BSA، نانوذرات را به محلول‌ها اضافه و با دستگاه اولتراترکس و سپس اولتراسوند دیسپرس نمودیم.

در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه، علاوه بر ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت حاوی نانوذره، ۱۰ میکرولیتر از رقت ۱۰۶ هر کدام از باکتری‌ها و مخمر منتقل گردید. جهت مشخص نمودن، حداقل بازدارندگی مخمر و باکتری‌ها در بین درصدهای مختلف نانوذره مورد بررسی از معرف نمک تترازولیوم استفاده گردید. محلول نمک تترازولیوم در برابر تغییر اسیدیته محیط کشت و کاهش pH تغییر رنگ به قرمز می‌دهد.

چنانچه حضور نانوذرات در درصد مشخص مورد بررسی قادر به جلوگیری از رشد مخمر یا باکتری‌ها نباشد، مخمر و باکتری در نتیجه مصرف ترکیبات قندی محیط کشت و فرآیند تخمیر تولید اسید نموده و در نتیجه pH محیط کاهش می‌یابد.

در چنین شرایطی محلول نمک تترازولیوم تغییر رنگ به قرمز داده و نشان دهنده ی رشد مخمر یا باکتری در چاهک حاوی نانوذره است. به عبارت دیگر، تغییر رنگ نمک تترازولیوم به قرمز نشان دهنده توانایی رشد مخمر یا باکتری با وجود نانوذره و عدم تغییر رنگ تترازولیوم، نشان دهنده رقتی از نانوذره بود که مانع از رشد مخمر یا باکتری شده و در نتیجه pH محیط کشت تغییر نکرده است.

باکتری‌های مورد بررسی در این پژوهش شامل اشرشیاکلی، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بودند. مخمر مورد ارزیابی نیز کاندیدا آلیکنز بود (۱۳).

آنالیزهای آماری اختلاف بین تیمارهای مختلف، براساس طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد. با توجه به بررسی نسبت‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد از نانوذرات اکسید تیتانیوم، تعداد کل نمونه‌ها ۴ مورد بود. کلیه آزمایشات در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون دانکن با استفاده از نرم افزار مینی تب نسخه ۱۶ انجام شد.

#### یافته‌ها

نتایج حاصل از ارزیابی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های تولید شده حاوی نانوذرات اکسید تیتانیوم در جدول ۱ نشان داده شده است.



جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم های حاوی نانوذرات اکسید تیتانیوم

غلظت نانوذره (درصد)	میزان رطوبت (درصد)	ضخامت (mm)	مقاومت کششی (MPa)
۰	۲۱/۰۲±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۰۰۰۲۰±۰/۰۰۰۰۰۳ <sup>a</sup>	۱۲/۷۱±۰/۰۲ <sup>d</sup>
۵	۱۷/۴۲±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۰/۰۰۰۱۸±۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>b</sup>	۱۵/۴۷±۰/۰۲ <sup>c</sup>
۱۰	۱۷/۲۶±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۰/۰۰۰۱۶±۰/۰۰۰۰۰۴ <sup>c</sup>	۱۶/۱۹±۰/۰۲ <sup>b</sup>
۱۵	۱۷/۰۲±۰/۰۴ <sup>d</sup>	۰/۰۰۰۱۴±۰/۰۰۰۰۰۵ <sup>d</sup>	۱۷/۱۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>

میانگین‌های موجود در هر ستون و با یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار هستند ( $P < 0/05$ )؛ داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار از هر پارامتر  $\pm$  انحراف از معیار.

نتایج نشان داد که باکتری استافیلوکوکوسراورئوس بیشترین حساسیت را در برابر نانوذره اکسید تیتانیوم داشته و حضور نسبت ۴ میلی‌گرم از نانوذره در هر میلی لیتر محیط کشت MHB در ترکیب با پودر پلی ساکاریدی SPSS باعث نابودی این باکتری می‌گردد.

از سوی دیگر درصد‌های مختلف نانوذره اکسید تیتانیوم بین ۰/۰۰۸ تا ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر، تاثیری بر روی رشد باکتری اشرشیاکلیه عنوان یکی از مشکل ساز ترین باکتری‌ها در صنعت غذا، نداشته است.

نانواکسید تیتانیوم دارای اثر بازدارندگی زیادی بر رویدو باکتری باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس بود و در غلظت های بسیار پایین باعث توقف رشد باکتری های نام برده گردید ( $MIC < 0/008$ ).

اثر بازدارندگی و کشندگی نانو اکسید تیتانیوم بر روی مخمر کاندیدا آلبیکانز در غلظت های کمتر از ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر، مشابه اثر آن بر باکتری اشرشیاکلی، قابل توجه نبود.

ضخامت فیلم‌ها با افزایش مقدار نانو اکسید تیتانیوم کاهش می‌یابد. به گونه‌ای که ضخامت مذکور از ۰/۰۰۰۲۰ میلی متر برای فیلم کنترل به ۰/۰۰۰۱۴ میلی متر برای فیلم حاوی ۱۵ درصد وزنی از نانوذرات اکسید تیتانیوم کاهش پیدا کرده است. میزان رطوبت فیلم پلی ساکاریدی پایه در آب، ۲۱/۰۲ درصد تعیین شد. با افزایش میزان نانوذرات در فیلم‌ها، میزان رطوبت موجود در آنها به طور معنی داری کاهش یافت.

میزان مقاومت کششی برای فیلم خالص ۱۲/۷۱ مگاپاسکال درصد بود. بعد از اضافه کردن سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم به فیلم‌ها، میزان مقاومت کششی آنها به طور معنی داری افزایش یافت؛ به طوری که از ۱۵/۴۷ مگاپاسکال در سطح ۵ درصد تا ۱۷/۱۷ مگاپاسکال در سطح ۱۵ درصد، تغییر یافت.

حداکثر کشش در نقطه پارگی تغییر معنی داری نداشت. میزان قدرت کششی در فیلم های حاوی ۱۰ و ۱۵ درصد از نانوذره، به ترتیب ۲۹/۹۰ و ۲۹/۸۲ مگاپاسکال بود. نتایج حاصل از آزمون های میکروبی بر روی فیلم های تولید شده در این پژوهش، در جدول ۲ گزارش شده است.



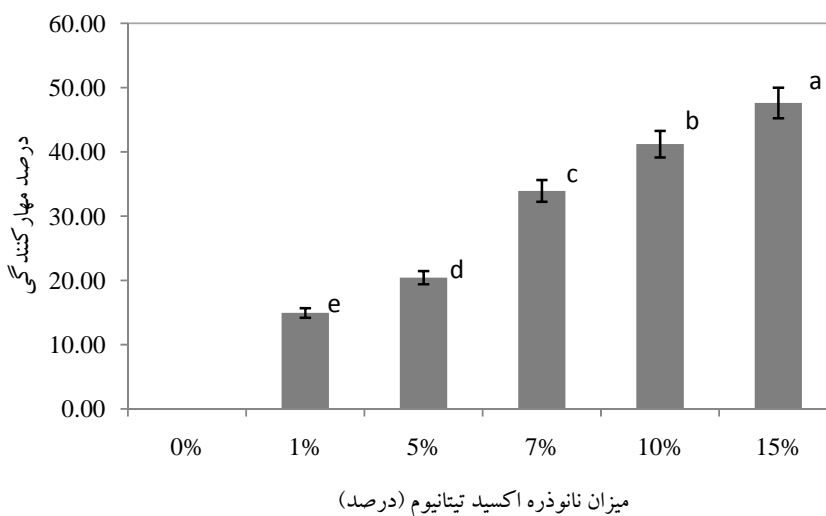
همانطور که مشخص است، فیلم های تولید شده، اثری بر روی  
 حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی کپک ها نداشتند و اثر  
 بازدارندگی و کشندگی نانو اکسید تیتانیوم بر روی آنها در  
 غلظت های کمتر از ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر، قابل توجه نبود.

جدول ۲: تاثیر فیلم های حاوی نانو ذرات اکسید تیتانیوم بر حداقل بازدارندگی و کشندگی میکروارگانیسم ها

نام میکروارگانیسم	حداقل غلظت کشندگی (mg/mL)	حداقل غلظت بازدارندگی (mg/mL)
باسیلوس سرئوس	۴/۵	۰/۰۰۸
اشرشیاکلی	۲۰	۲۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۴	۰/۰۰۸
کاندیدا آلیبکنز	۲۰	۲۰
پنیسیلیوم اکسپانسونم	۲۰	۲۰
آسپرژیلوس نایچر	۲۰	۲۰

پنیسیلیوم اکسپانسونم در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور  
 که مشخص است، با افزایش غلظت نانو ذره اکسید تیتانیوم،  
 درصد مهار کنندگی بر این کپک افزایش معنی داری داشت.

به همین دلیل درصد مهار کنندگی نانو ذرات اکسید تیتانیوم بر  
 روی آنها مورد بررسی قرار گرفت. اثر آن بر کپک آسپرژیلوس  
 نایچر فاقد درصد مهار کنندگی بود. درصد مهار کنندگی آن بر



شکل ۱: درصد مهار کنندگی فیلم های حاوی نانو ذرات اکسید تیتانیوم بر روی کپک پنی سیلیوم اکسپانسونم





## بحث و نتیجه گیری

ضحامت فیلم حاوی نانوذرات در تمام درصدهای اضافه شده نسبت به فیلم فاقد نانوذره کمتر است. با افزایش درصد نانوذرات میزان ضحامت فیلم کاهش یافت.

بر این اساس می توان نتیجه گرفت که نانوذرات اکسید تیتانیوم باعث افزایش تراکم ساختار فیلم پلی-ساکارید شده است. با تکیه بر نتایج تحقیقات پیش از این می توان نتیجه گرفت که بسته به نوع پلیمر و نانو ذره افزوده شده تأثیر متفاوتی در ضحامت فیلم مورد بررسی مشاهده می شود به گونه ای که در برخی موارد افزودن نانو ذره باعث کاهش ضحامت، و یا افزایش ضحامت شده است و در بعضی موارد این ضحامت ثابت مانده است (۱۴).

بنابراین می توان نتیجه گرفت که نانوذرات اثرات متفاوتی بر ضحامت دارند. انتظار می رود که بر اساس نتایج فوق افزودن نانوذرات اکسید تیتانیوم با تراکم ترکردن فیلم پلی-ساکاریدی بر نفوذ پذیری، خواص کششی و سایر مشخصه های فیزیکی تأثیر مثبت داشته باشد که در ادامه مورد بررسی قرار می گیرد.

رطوبت از خصوصیات مهم در کاربرد بیوپلیمری است که ارتباط مستقیمی با مقاومت فیلم تولید شده در برابر آب دارند. رطوبت یکی از خصوصیات عملکردی فیلم های تولید شده از مواد بیوپلیمری است که مرتبط با آبدوستی و آب گریزی مواد تشکیل دهنده می باشد. فیلم های بر پایه پلی-ساکارید سویا، به طور ذاتی دارای قابلیت جذب بسیار زیاد آب هستند. دلیل کاهش رطوبت در فیلم های تولید شده در این پژوهش، با خاصیت هیدروفوبی نانوذرات مرتبط می باشد.

نانوذرات  $TiO_2$  به طور طبیعی، آبدوستی پائین تری نسبت به پروتئین سویا دارند. بنابراین، مخلوط نمودن نانوذرات اکسید تیتانیوم با پروتئین سویا می تواند مقاومت فیلم ها در برابر آب را افزایش دهد. بنابراین، با افزودن  $TiO_2$  که ماده ای نامحلول در آب است، شاهد کاهش میزان رطوبت در فیلم های نانوکامپوزیتی خواهیم بود (۱۵).

به دلیل اینکه مواد پلیمری از جمله فیلم ها ممکن است در حین استفاده، تحت تنش های مختلف قرار گیرند، لذا تعیین خواص مکانیکی نه تنها از جنبه علمی، بلکه از لحاظ تکنولوژیکی و کاربردی نیز حائز اهمیت است (۱۴).

فیلم های خالص پلی ساکارید سویا از لحاظ بافت، به دلیل استفاده از نرم کننده افزوده شده، بسیار انعطاف پذیر بود. با افزودن نانوذرات اکسید تیتانیوم، فیلمی با قدرت کششی بیشتر به وجود آمد. از نتایج بدست آمده در جدول ۱ می توان به این نتیجه رسید که فیلم پلی ساکارید سویا خالص نسبت به فیلم تولید شده با نانوذرات، ضعیف تر و شکننده تر است. افزایش مقاومت کششی فیلم ها را می توان به بر هم کنش بین مولکول های پروتئین های سویا و اکسید تیتانیوم نسبت داد.

بر هم کنش های ممکن، مستلزم ایجاد جاذبه الکترواستاتیکی بین گروه های با بار منفی کربوکسیلیک یا گروه های سولفیدریلی اسید های آمینه پروتئین های سویا و کمپلکس با بار مثبت تیتانیوم-آب در حین ایجاد فیلم اکسید تیتانیوم-پروتئین سویا می باشد. ایجاد پیوند هیدروژنی ممکن است در افزایش خصوصیات کششی فیلم ها نقش داشته باشد (۱۰). افزودن نانوذرات با افزایش مقدار کدورت فیلم ها، میزان شفافیت را



باکتریایی، یکپارچگی غشا، تداخل با فسفوریلاسیون اکسیداتیو و در نتیجه مرگ سلولی می شوند (۱۷).

۲- خصوصیات فسفر کاتالیتیکی  $TiO_2$  که اثر مستقیمی در زمینه ریشه کن کردن باکتریایی دارند. فعالیت های فتوکالیتیکی ضدباکتریایی توسط پراکسیداسیون لیپید همراه می شوند که منجر به افزایش سیالیت غشا و تخریب یکپارچگی سلولی می شود (۱۸).

این سیستم های خاص می توانند *S. P. aeruginosa*، *E.coli*، *C.albicans*، *Enterococcus facium*، *aureus* و در نهایت را از بین ببرند. همچنین مشاهده شده است که  $TiO_2$  فعالیت ضدبیوفیلمی بالقوه ای در مقابل بیوفیلم های قارچی تولید شده توسط گونه های استاندارد *Candida albicans* مقاوم به فلوکونازول نشان می دهد (۱۷).

کامبالا و همکاران (۲۰۰۹) نیز اثرات ضد میکروبی فیلم های خوراکی حاوی نانو ذرات اکسید تیتانیوم را گزارش نمودند (۱۹).

بکارگیری فیلم های تولید شده در این پژوهش، سبب کاهش پسماندهای بسته بندی، حفظ تازگی ماده غذایی و افزایش دوره ماندگاری محصولات غذایی میگردد و منجر به بهبود برخی ویژگی ها نظیر افزایش مقاومت در برابر صدمات مکانیکی، حرارتی، نفوذ حلال و گازها، کاهش وزن بسته، افزایش شفافیت و زمان ماندگاری در مقایسه با انواع تجاری در سطح میکروبی می گردد.

کاهش داد که به دلیل افزایش کلوخه ای شدن نانو ذرات در درصد های بالای نانوذره در فیلم بود. (۱۶)

تاجیک و همکاران (۲۰۱۳) نتایج مشابهی در مورد خصوصیات فیزیکوشیمیایی فیلم خوراکی بر پایه پلی ساکارید های سویا ارائه نمودند و بیان کردند که پلی ساکارید های محلول پروتئین سویا، می توانند به خوبی در بسته بندی مواد غذایی استفاده گردد (۴).

زلفی و همکاران (۲۰۱۴) نیز تاثیر نانو ذرات اکسید تیتانیوم بر فیلم خوراکی تولید شده از پروتئین آب پنیر را بررسی کرده و پس از حصول نتایج بهبود دهنده ذرات اکسید تیتانیوم، استفاده از آنها را به عنوان مواد موثر در بسته بندی مواد غذایی و سیستم های دارورسانی پیشنهاد نمودند (۱۵).

ارزیابی توانایی فیلم های تولید شده در مقابله با میکروارگانیسم ها نشان داد که فیلم تولید شده حاوی نانو ذرات اکسید تیتانیوم تاثیری بر کپک ها و مخمرها نداشته است و از بین باکتری ها نیز دارای اثر بازدارندگی بر روی سه باکتری باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. بنابراین برای پوشش دهی مواد غذایی که با این سه باکتری مواجه هستند به خوبی می توان از آن استفاده نمود.

فعالیت های ضد باکتریایی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم حداقل از طریق دو مکانیسم انجام می شود:

۱- گونه های واکنش پذیر با اکسیژن را در یک فرآیند به نام اتوکاتالیز تولید می کنند که سبب تخریب غشاهای سلولی



## References

- 1- Avella M, De Vlieger JJ, Errico ME, Fischer S, Vacca P, Volpe MG. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chemistry*. 2005;93(3):467-74
- 2- Davis G, Song J. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Industrial Crops and Products*. 2006;23(2):147-61
- 3- Tharanathan R. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in food science & technology*. 2003;14(3):71-8
- 4- Tajik S, Maghsoudlou Y, Khodaiyan F, Jafari SM, Ghasemlou M, Aalami M. Soluble soybean polysaccharide: A new carbohydrate to make a biodegradable film for sustainable green packaging. *Carbohydrate Polymers*. 2013;97(2):817-24[Persian]
- 5- Nakamura A, Takahashi T, Yoshida R, Maeda H, Corredig M. Emulsifying properties of soybean soluble polysaccharide. *Food Hydrocolloids*. 2004;18(5):795-803
- 6- Weiss J, Takhistov P, McClements DJ. Functional materials in food nanotechnology. *Journal of food science*. 2006;71(9):R107-R16
- 7- Tazawa M, Okada M, Yoshimura K, Ikezawa S. Photo-catalytic heat mirror with a thick titanium dioxide layer. *Solar energy materials and solar cells*. 2004;84(1):159-70
- 8- Okada M, Tazawa M, Jin P, Yamada Y, Yoshimura K. Fabrication of photocatalytic heat-mirror with TiO<sub>2</sub>/TiN/TiO<sub>2</sub> stacked layers. *Vacuum*. 2006;80(7):732-5
- 9- Kubacka A, Serrano C, Ferrer M, Lünsdorf H, Bielecki P, Cerrada ML, et al. High-performance dual-action polymer-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films via melting processing. *Nano Letters*. 2007;7(8):2529-2534
- 10- Zhou J, Wang S, Gunasekaran S. Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Journal of food science*. 2009;74(7):N50-N6
- 11- ASTM. Standard methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D; 1989
- 12- Salarbashi D, Bazzaz BSF, Karimkhani MM, Noghabi ZS, Khanzadeh F, Sahebkar A. Oil stability index and biological activities of *Achillea biebersteinii* and *Achillea wilhelmsii* extracts as influenced by various ultrasound intensities. *Industrial Crops and Products*. 2014; 55, 163-172[Persian]
- 13- Biswal SK. Anti-microbial activities of soya protein isolate (SPI)/ cloisite C30B (MMT) nanocomposite film. *Journal of Asian Scientific Research*. 2012;2(9):539-46
- 14- Li Y, Jiang Y, Liu F, Ren F, Zhao G, Leng X. Fabrication and characterization of TiO<sub>2</sub>/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*. 2011;25(5):1098-104
- 15- Zolfi M, Khodaiyan F, Mousavi M, Hashemi M. Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films. *International journal of biological macromolecules*. 2014;65:340-345[Persian]



- 16- Shojaee-Aliabadi S., Mohammadifar, MA., Hosseini, H., Mohammadi, A., Ghasemlou, M. Hosseini, S-M., Haghshenas, M., Khaksa, R. Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with *Zataria multiflora* essential oil and nanoclay. *International Journal of Bio Macromolecules*. 2014;69, 282-289.
- 17- Roy AS, Parveen A, Koppalkar AR, Prasad MA. Effect of nano-titanium dioxide with different antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 2010;1(01):37
- 18- Blecher K, Nasir A, Friedman A. The growing role of nanotechnology in combating infectious disease. *Virulence*. 2011;2(5):395-401
- 19- Kambala VSR, Naidu R. Disinfection Studies on TiO<sub>2</sub> Thin Films Prepared by a Sol-Gel Method. *Journal of biomedical nanotechnology*. 2009;5(1):121-9



Received:2015/7/25

Accepted:2015/9/29

## Investigation of physicochemical and microbiological characteristics of prepared films containing nanoparticles of titanium oxide based on soy flour polysaccharide

SalarBashi D(Ph.D)<sup>1</sup>, Mortazavi SA(Ph.D)<sup>2</sup>, ShahidiNoghabi M(Ph.D)<sup>3</sup>, FazliBazzaz BS(Ph.D)<sup>4</sup>, Sedaghat N(Ph.D)<sup>5</sup>, Ramezani M(Ph.D)<sup>6</sup>,Shahabi E(Ph.D)<sup>7</sup>

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, ZarinDasht Branch, Islamic Azad University, ZarinDasht, Iran
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3. Assistant Professor, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad-Quchan Highway, Mashhad, Iran
4. Professor, Biotechnology Research Center and School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
5. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
6. Professor, Pharmaceutical Research Center, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
7. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

### Abstract

**Introduction:** The natural derived biopolymers are highly interested in recent years. These polymers are considering as the alternative for un-biodegradable plastic films. This is due to the low cost and their availability from biodegradable and renewable sources. In this study, the effect of different concentrations of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on physicochemical and microbiological characteristics of prepared edible films based on soy flour soluble polysaccharide was investigated.

**Method:** The nanocomposite films were prepared by adding the TiO<sub>2</sub> nanoparticles (5, 10 and 15% / db) to the soy flour. In order to investigate the physicochemical and microbiological properties, the resulted nanocomposite films were synthesized based on the casting method.

**Results:** When the content of nanoparticles increased, the moisture content and solubility of the film specimens were significantly decreased, whereas the mechanical resistance was significantly increased. TiO<sub>2</sub> nanoparticle was highly effective against *basillus cereus* and *staphylococcus aureus*. Meanwhile, MIC and MBC of molds were not affected by these films. MIC for *penicilium expansum* was significantly affected when the TiO<sub>2</sub> nanoparticles increased.

**Conclusion:** the results indicated that TiO<sub>2</sub> nanoparticles are applicable into the polysaccharide soy films. The nanocomposite film developed in the current study could be used in food applications and as a biodegradable film.

**Keywords:** Physicochemical properties, Biological characteristics, Titanium Oxide nanoparticles, Nanocomposites.

### This Paper Should be Cited as:

SalarBashi D(Ph.D), Mortazavi SA(Ph.D), ShahidiNoghabi M(Ph.D), FazliBazzaz BS(Ph.D), Sedaghat N(Ph.D), Ramezani M(Ph.D). Investigation of physicochemical and microbiological characteristics.....  
Journal Toloobehdasht