

بررسی خواص فیلم‌های بسته‌بندی نانوکامپوزیتی فعال ضد میکروبی حاوی نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده آلی

سیده‌هما فصیح‌نیا^۱، سیده‌ادی پیغمبردوست*^۲، سیدجمال‌الدین پیغمبردوست^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳. استادیار علوم و تکنولوژی پلیمر، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۲۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۱/۱۹)

چکیده

در این تحقیق، نانوکامپوزیت‌های پلیمری با افزودن نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده آلی به صورت فیلم بسته‌بندی تهیه شدند. خواص فیزیکی، مورفولوژی سطحی، و خواص مکانیکی فیلم‌های تولیدشده به ترتیب با آزمون‌های پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی، مقاومت کششی (TS)، و ازدیاد طول تا نقطه شکست (E) بررسی شدند. برای بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها از روش شمارش کلنی استفاده شد. نتایج آزمون میکروسکوپی الکترونی نحوه پخش نانوذرات خاک رس در بستر پلیمری را به صورت مناسب و یکنواخت نشان داد و تجمع نانوذرات خاک رس در مناطق گوناگون سطح شکست مشاهده نشد. نتایج آزمون مکانیکی فیلم‌ها نشان داد که افزودن نانوذرات باعث بهبود جزئی در خواص مکانیکی فیلم‌ها گردید اما اثر بهبوددهندگی معنی‌داری در استحکام و ازدیاد طول تا نقطه شکست مشاهده نشد. آزمون میکروبی نشان داد که دو نوع خاک رس Cloisite 15A و 20A در غلظت ۶ درصد فعالیت ضد میکروبی در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس داشتند. در زمینه باکتری اشیریشیا کلی همه انواع با مقادیر متفاوت از خاک رس خاصیت ضد میکروبی داشتند. خاک رس نوع Cloisite 30B در برابر استافیلوکوکوس اورئوس بی‌تأثیر بود، ولی همه مقادیر آن بیش از دو نوع دیگر در برابر اشیریشیا کلی فعالیت ضد میکروبی داشت.

کلیدواژگان: بسته‌بندی فعال، پلی‌اتیلن، رس، خواص ضد میکروبی.

مقدمه*

بسته‌بندی واسطه‌ای بین محصول تولیدشده و مشتری است که با کمک حفظ کیفیت اصلی محصولات بسته‌بندی‌شده اطلاعات و خصوصیات آن را برای مشتری فراهم می‌کند. مهم‌ترین عملکرد بسته‌بندی، به تأخیر انداختن نابودی ارزش محصولات غذایی، افزایش ماندگاری، و حفظ کیفیت و سلامتی غذاهای بسته‌بندی شده است. برای افزایش تأثیرگذاری این عملکرد بسته‌بندی، برخی عوامل فعال را با سیستم بسته‌بندی ترکیب می‌کنند. علاوه بر کاربردهای اساسی و بسیار بسته‌بندی فعال، بسته‌بندی ضد میکروبی^۱ رابطه نزدیک تری با بهبود سلامتی غذا دارد که دوره کمون یا تأخیر^۲ رشد میکروبی را افزایش می‌دهد و باعث کاهش سرعت رشد و شمارش نهایی می‌شود (Juneja, & Tewari, 2007). مواد پلیمری حاصل از مشتقات نفتی مانند

پلی‌اتیلن^۳، پلی‌پروپیلن^۴، و پلی‌استایرن^۵ مواد پلاستیکی قالب امروزی برای بسته‌بندی هستند که دلیل استفاده از آن‌ها استحکام بالا، وزن سبک، هزینه کم، فرایندپذیری آسان، و خواص محافظتی خوبشان در برابر آب است. در میان پلاستیک‌های پلی‌اولفینی، پلی‌اتیلن یکی از پرکاربردترین نوع است که دلیل آن فرایندپذیری عالی، خنثی بودن از نظر شیمیایی، ایمنی برای استفاده در موارد در تماس با مواد غذایی، ویژگی دوخت خوب با حرارت، و هزینه کم تولید است (Aroora & Padua, 2010; Rhim, 2012). معمول‌ترین ماده معدنی به کاررفته در ترکیب نانوکامپوزیت‌های استفاده‌شده در مواد بسته‌بندی، خاک رس نوع مونتموریلونیت^۶ است که به علت سازگاری با محیط، دسترسی آسان، و قیمت پایین، استفاده گسترده‌ای دارد. صفحات لایه‌ای رس روی یکدیگر انباشته می‌شوند و از طریق نیروهای واندروالسی فواصل ۱ نانومتر در کنار

3. Polyethylene, PE
4. Polypropylene, PP
5. Polystyrene, PS
6. Montmorillonite (MMT)

* نویسنده مسئول: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

1. Antimicrobial Packaging
2. Lag Phase

روش تهیه نانوکامپوزیت‌ها و فیلم‌ها

برای مخلوط کردن مواد اولیه و انجام فرایند اکستروژن و تهیه نانوکامپوزیت مورد نظر، از اکسترودر تجاری PLATEK SM ساخت کشور کره استفاده شد. درجه حرارت مناطق گوناگون اکسترودر از قسمت تغذیه تا خروجی به ترتیب ۱۲۵، ۱۴۵، ۱۵۵، ۱۷۰، ۱۸۵، ۱۹۵، ۱۹۵، و ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. فشار اکسترودر ۱۲/۵ بار و دمای ذوب ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. پس از اطمینان از تمیز شدن مسیر و ایجاد شرایط مذکور، پلی‌اتیلن و نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده آلی با درصد‌های معین وزن‌شده به‌خوبی با هم مخلوط و از طریق قیف تغذیه وارد محفظه اکسترودر شدند. مواد طی عبور از اکسترودر ذوب و با اعمال انواع نیروهای برشی و فشار به‌طور کامل با هم مخلوط شدند. مذاب حاصل به‌صورت رشته از قالب انتهایی اکسترودر خارج شد و با عبور از حوضچه آب سرد، خنک شد و وارد دستگاه گرانول‌ساز گردید. برای تولید فیلم نیز از اکسترودر دوپچه همانند اکسترودر بخش کامپاند با نام Castiny ساخت کشور ایتالیا استفاده شد. در این مرحله گرانول‌های تهیه‌شده از قسمت تغذیه وارد دستگاه شدند و بعد از حرارت‌دهی و اختلاط، به‌صورت فیلمی نازک روی غلطک خنک‌کننده پخش شدند و همزمان با خنک‌شدن به‌وسیله چند غلتک سرد متوالی^۴ کشیده و در انتهای دستگاه به دور لوله‌ای چرخانده شد. دمای نواحی گوناگون این اکسترودر نیز به ترتیب ۲۳۹، ۲۳۹، ۲۲۳، ۲۲۳، ۲۱۸، ۲۱۵، ۱۸۵ درجه سانتی‌گراد بود. جدول ۱ ترکیب دقیق نمونه‌های نانوکامپوزیتی تهیه‌شده را نشان می‌دهد.

جدول ۱. ترکیب نمونه‌های تهیه‌شده

Cloisite 30B wt. %	Cloisite 20A wt. %	Cloisite 15A wt. %	LDPE-g-MA wt. %	LDPE wt. %	مقدار مواد تیمارها
۰	۰	۲	۲	۹۶	۱
۰	۰	۴	۴	۹۲	۲
۰	۰	۶	۶	۸۸	۳
۰	۲	۰	۲	۹۶	۴
۰	۴	۰	۴	۹۲	۵
۰	۶	۰	۶	۸۸	۶
۲	۰	۰	۲	۹۶	۷
۴	۰	۰	۴	۹۲	۸
۶	۰	۰	۶	۸۸	۹
۰	۰	۰	۰	۱۰۰	۱۰

4. Chill-Rolls

یکدیگر باقی می‌مانند. این فضاها اغلب با کاتیون‌ها و به‌طور معمول کاتیون‌های کلیایی و کلیایی خاکی مانند Na^+ و K^+ و ... اشغال می‌شوند و با ترکیب آلکیل آلومینیوم اصلاح و به نام خاک رس اصلاح‌شده آلی^۱ مطرح می‌شوند. جاگیری لایه‌های خاک رس در بین زنجیرهای پلیمری و برقراری برهمکنش‌های قوی، باعث تقویت شبکه پلیمری و بهبود خواص مکانیکی، بازدارندگی در برابر گازها، کاهش نفوذپذیری به بخار آب، افزایش مقاومت حرارتی، ایجاد خواص ضد میکروبی، و افزایش کارایی فیلم در استفاده به‌عنوان بسته‌بندی فعال در مواد غذایی می‌شود. ترکیب کردن مقدار جزئی خاک رس اصلاح‌شده آلی به پلی‌اتیلن تا حد زیادی خواص مکانیکی و حفاظتی آن را افزایش می‌دهد (Dadfar ; Azeredo, 2009 ; Nguyen & Baird, 2006). (et al., 2011).

مواد و روش‌ها

مواد استفاده‌شده در تهیه فیلم

برای تهیه ماتریس پلیمری، از پلیمر پلی‌اتیلن با دانسیته پایین گرید LH0075 محصول تولیدی شرکت پتروشیمی بندر امام استفاده شده است. خاک رس اصلاح‌شده آلی استفاده‌شده در این تحقیق از نوع Cloisite شامل Cloisite 15A، Cloisite 20A، و Cloisite 30B از شرکت Southern Clay آمریکا خریداری شد. برای افزایش سازگاری خاک رس با ماتریس پلی‌اتیلن، سازگارنده پلی‌اتیلن پیوندشده با مالئیک انیدرید به نسبت ۱:۱ خاک رس از شرکت کیمیا جاوید سپاهان تهیه شد.

مواد استفاده‌شده در آنالیزهای میکروبی

برای انجام آنالیزهای میکروبی از باکتری اشیریشیا کلی ATCC 25922 به‌عنوان نماینده میکروارگانیزم‌های گرم منفی و از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29523 به‌عنوان نماینده میکروارگانیزم‌های گرم مثبت استفاده شده است که از بخش میکروبی‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شدند. برای کشت این دو میکروارگانیزم، محیط‌های کشت اختصاصی وایولت رد بایل دکستروز آگار^۲ برای کشت اشیریشیا کلی و از محیط مانیتول سالت آگار^۳ برای کشت استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شدند. محیط کشت مانیتول سالت آگار از شرکت میرمدیا ایران و محیط کشت وایولت رد بایل آگار از شرکت شارلو ایتالیا تهیه شده‌اند.

1. Organo Clay, OC
2. Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBDA)
3. Mannitol Salt Agar (MSA)

تعیین مشخصات فیلم‌های تهیه‌شده

آنالیز پراش اشعه ایکس

مقاومت کششی (TS) و ازدیاد طول تا نقطه شکست (E) بررسی شد. استحکام کششی فیلم و درصد ازدیاد طول در نقطه شکست در دمای اتاق انجام شد و با توجه به روش اصلاح‌شده استاندارد ASTM D882 با دستگاه آزمون عمومی اینسترون (Instron) (Tiniusolsen) مدل H10KS 0721، انگلستان، معاونت غذا و داروی ارومیه) با میزان بارگذاری ۲۵۰ نیوتن انجام شد. فاصله دو فک ۵ سانتی‌متر و سرعت حرکت دو فک مقابل ۵۰۰ میلی‌متر بر دقیقه تنظیم شد. عرض نمونه‌ها ۱۵ میلی‌متر و طول آن‌ها کمی بیش از ۵ سانتی‌متر بود. اندازه‌گیری TS و E برای هر نمونه فیلم دو بار تکرار شد و نتایج به‌صورت میانگین نشان داده شد (Peacock, 2000; Arunvisut et al, 2007).

آنالیز آماری داده‌ها

برای آنالیز آماری تیمارها از نرم‌افزار Minitab 15 و تحلیل و ارزیابی One Way ANOVA در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0.05$) و آزمون توکی برای تأیید وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها استفاده شده است. آزمایش‌ها در دو تکرار انجام شد و نتایج به‌صورت میانگین دو تکرار بیان شده است. در زمینه بررسی آماری خواص مکانیکی نیز در نرم‌افزار Minitab 15 از آزمون T-Test برای مقایسه نمونه‌های تولیدشده استفاده شده است.

نتایج و بحث

آنالیز پراش اشعه ایکس

الگوهای پراش اشعه ایکس نمونه‌های تولیدشده در شکل ۱ نشان داده شده است. در الگوهای پراش اشعه ایکس هر نانوذره پیک‌هایی مشاهده می‌شود که مربوط به فواصل بین لایه‌های خاک رس (d_{001}) است که این فواصل با رابطه براگ^۱ محاسبه می‌شود. مقادیر فواصل بین لایه‌های سه نوع خاک رس خریداری‌شده با مقدار ادعا شده توسط شرکت سازنده بسیار مشابه بود که اعداد آنها در جدول ۲ آمده است.

با بررسی الگوهای پراش اشعه ایکس نمونه‌های نانوکامپوزیتی حاوی ۶ درصد وزنی هر سه نانوذره، بعد از اختلاط نانوذرات و بستر پلی‌اتیلنی به‌صورت پیک پهن مشاهده شد. وجود پیک پهن در الگوهای پراش اشعه ایکس نشان‌دهنده حالت ورقه‌ای کامل نیست، اگرچه در اکثر دسته‌های موازی نانوذرات رس به‌دلیل تنش‌های برشی زیاد در اکسترودر و نفوذ پلی‌اتیلن به داخل لایه‌های سیلیکاتی خاک رس صفحات دورتر

آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) نمونه‌های نانوکامپوزیتی تهیه‌شده دارای خاک رس با طیف‌سنج اشعه ایکس با منبع تشعشع Cu- α با طول موج $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ و ولتاژ کاری ۴۰ کیلوولت و جریان ۳۰ میلی‌آمپر انجام شد (مرکز زمین‌شناسی شمال غرب کشور). الگوهای پراش ایکس نمونه‌های آزمایش‌شده در محدوده 2 θ بین ۱۰° تا ۱۵° با اندازه گام $0.02^\circ/\text{sec}$ و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دست آمدند (Hotta & Paul, 2004).

میکروسکوپ الکترونی روبشی

آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای مشاهده سطح شکست نانوکامپوزیت‌ها انجام شد. برای دستیابی به سطح شکست مطلوب، نمونه‌ها در نیتروژن مایع قرار گرفتند. بعد از ترد شدن کامل آنها، دچار شکست شدند و سطح مقطع شکست آنها ابتدا با دستگاه پوشش‌دهی با لایه نازکی از طلا روکش‌دار شد و سپس توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (MIRA3 FEG-SEM ساخت شرکت Tescan جمهوری چک، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه تبریز) در ۳ کیلوولت در اتمسفر خنثی با $350\times$ بزرگ‌نمایی بررسی شد (Zhong et al, 2007).

آزمون‌های میکروبی

برای انجام آنالیزهای میکروبی، فیلم‌های تولیدشده به‌صورت دایره‌هایی با قطر ۵ سانتی‌متر با ضخامت یکسان بریده شد و دیسک‌های تهیه‌شده در داخل دو فالدکون ۱۵ سی‌سی استریل مجزا قرار گرفت. هر میکروارگانیسم به‌صورت مجزا در محیط کشت نوترینت برات به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به مقادیر اولیه مناسب ($10^9 \times 7/3$ برای /شیریشیا کلی و $10^8 \times 8$ برای /استافیلوکوکوس اورئوس) گرم‌خانه‌گذاری شد و پس از این مدت از هر کدام ۱۰ سی‌سی به داخل فالدکون‌های حاوی دیسک‌ها اضافه گردید. فالدکون‌های حاوی فیلم و میکروارگانیسم‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد و بعد از تهیه رقت مورد نظر (10^5 و 10^6) و کشت روی محیط مخصوص هر باکتری و گرم‌خانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در همان دما، شمارش تعداد کلنی‌های تشکیل‌شده در واحد میلی‌لیتر (cfu/ml) انجام گرفت (Rhim, 2012Hong &).

آنالیز خواص مکانیکی

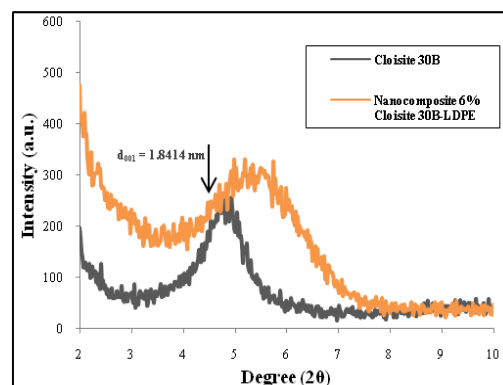
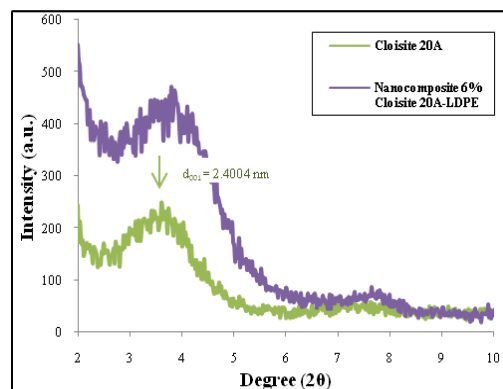
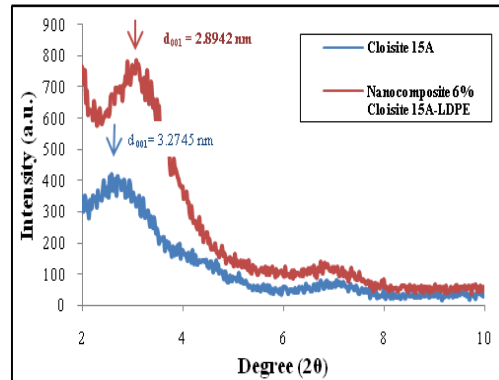
به‌منظور بررسی خواص مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیتی،

به اثبات می‌رساند. اگرچه انتظار می‌رفت ساختار نانوکامپوزیتی ایجادشده از نوع ورقه‌ای کامل باشد، ولی به دلیل عدم سازگاری کامل بستر پلی‌اتیلنی و نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده آلی و وجود پیک‌های پهن با زوایای ۲۰ی بیشتر، می‌توان نتیجه گرفت که ساختار ایجادشده از نوع لایه‌ای-ورقه‌ای است، به این معنی که در ۶۰-۷۰ درصد دسته‌های خاک رس به دلیل قرارگیری پلی‌اتیلن در بین لایه‌ها، فواصل صفحات افزایش یافته که باعث پهن شدن پیک شده است، ولی فاصله صفحات در ۳۰-۴۰ درصد دسته‌های باقی‌مانده به دلیل تنش‌های برشی بالا کمتر و باعث مشاهده پیک و حرکت آن به سمت زوایای بالاتر شده است که این مشاهدات در راستای یافته‌های (Hotta & Paul, 2004), Rhim (2009) و Rhim & Hong (2012) قرار داشت.

میکروسکوپ الکترونی روبشی

تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی با مقیاس ۱ میکرومتر برای نمونه‌های تولیدشده مربوط به نانوکامپوزیت‌های تهیه‌شده با مقدار ۴ درصد وزنی از هر نوع نانوذره خاک رس اصلاح‌شده آلی است که در شکل ۲ مشاهده می‌شود. با مقایسه تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه‌شده از سطح شکست نانوکامپوزیت‌ها و تصویر پلی‌اتیلن خالص دارای سطح صاف و یکنواخت، مشاهده می‌شود که در نانوکامپوزیت تهیه‌شده با خاک رس Cloisite 15A به دلیل سازگاری کم آن با ماتریس پلیمری، ساختاری درشت با تجمع ذرات دیده می‌شود که باعث زبری فیلم تولیدشده می‌شود. در تصویر مربوط به نانوکامپوزیت تهیه‌شده با خاک رس Cloisite 20A، سطحی صاف و پخش یکنواخت ذرات دیده می‌شود که به دلیل سازگاری بیشتر این نوع نانوذره با ماتریس پلی‌اتیلن دانسیته پایین است که فیلم تولیدی از این نوع نانوذره نیز سطحی صاف و شفاف و ظاهری مطلوب دارد که این نتایج با یافته‌های (Hong & Rhim, 2012) مشابه است. همچنین در تصویر حاصل از نانوکامپوزیت تولیدشده با خاک رس Cloisite 30B، ذرات کلوخه‌ای ریزتری مشاهده می‌شود که به دلیل سازگاری کمتر آن در مقایسه با خاک رس نوع 20A است که (Marini et al., 2010) نیز نتیجه مشابهی مشاهده کرده‌اند.

برای اطمینان از نحوه پخش مناسب نانوذرات خاک رس در ماتریس پلیمری، نقشه اشعه ایکس از نمونه‌ها نیز تهیه شد. شکل ۳ نشان‌دهنده نقشه اشعه ایکس نانوذرات خاک رس در نانوکامپوزیت‌ها است، همان‌طور که مشاهده می‌شود تقریباً نحوه پخش نانوذرات خاک مناسب است و تجمع و آگلومریزاسیون در مناطق گوناگون سطح شکست ظاهراً مشاهده نمی‌شود.

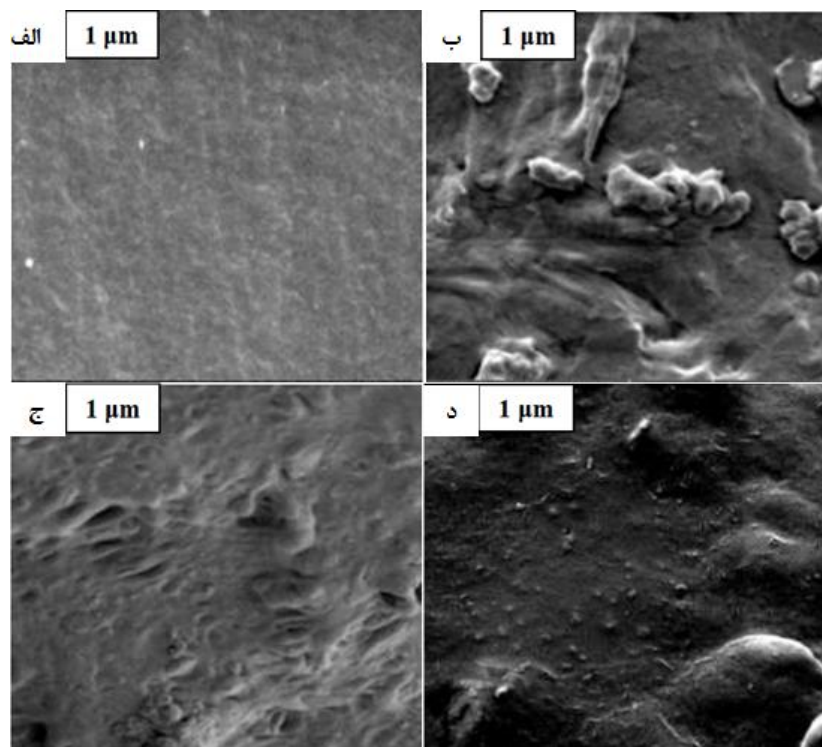


شکل ۱. الگوهای پراش اشعه ایکس نانوکامپوزیت‌های LDPE-OMMT

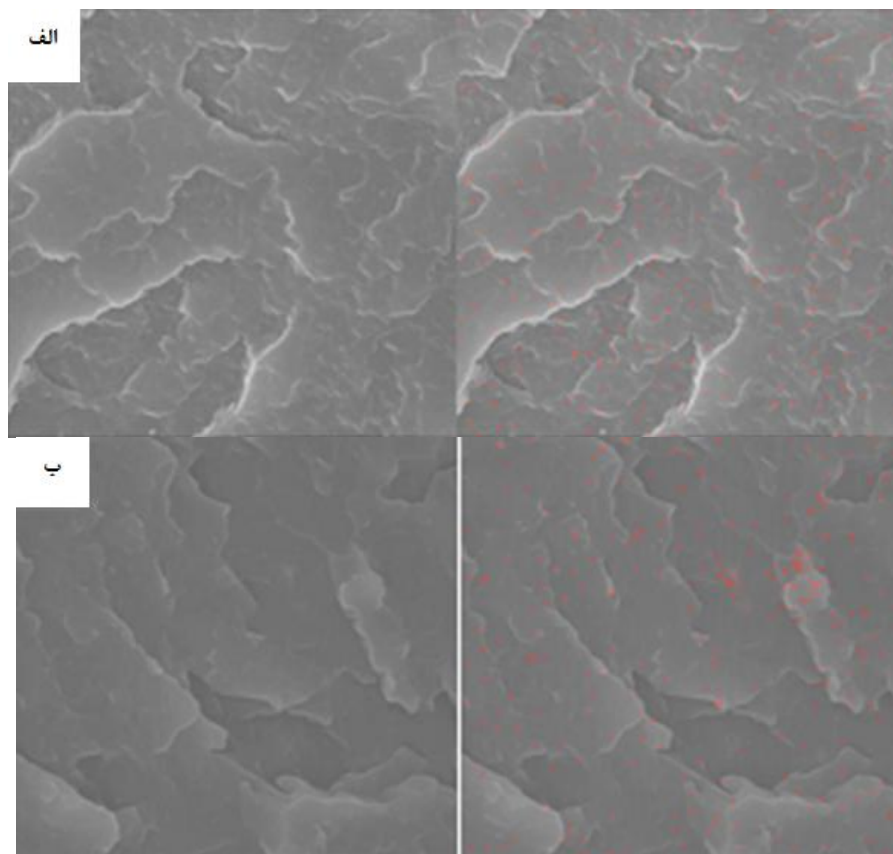
جدول ۲. مقایسه مقدار d_{001} نانوذرات در الگوهای پراش اشعه ایکس

نوع Cloisite	d_{001} حاصل از آنالیز XRD (nm)	d_{001} ادعای شرکت سازنده (nm)
15 A	۳٫۲۷	۳٫۱۵
20 A	۲٫۴۰	۲٫۴۲
30 B	۱٫۸۴	۱٫۸۵

شده‌اند. اما این بازشدگی لایه‌های نانوذرات رس به حدی نبوده است که حالت موازی صفحات را به‌طور کامل برهم زند و عدم مشاهده پیک ایجاد شود. علاوه بر این، بعضی از لایه‌های خاک رس در عمل اختلاط مذاب از هم باز نشده‌اند و تحت تأثیر تنش‌های برشی واردشده فواصل آنها کمتر نیز شده است که جابه‌جایی پیک پهن به سمت زوایای ۲۰ی بیشتر، این موضوع را



شکل ۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی، الف) LDPE، ب) LDPE-Cloisite 15A، ج) LDPE-Cloisite 20A، و د) LDPE-Cloisite 30B



شکل ۳. نقشه اشعه ایکس همراه با تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوکامپوزیت‌های حاوی ۴ درصد وزنی خاک رس نوع الف) Cloisite 20A، و ب) Cloisite 30B

نتایج خواص مکانیکی

استحکام کششی (TS) و ازدیاد طول در نقطه شکست (E) در جهت متقاطع (TD^1) هر یک از فیلم‌های حاوی ۶ درصد از نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده آلی بررسی شد. بررسی نتایج مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیتی نشان می‌دهد که با اضافه کردن نانوذرات اثر زیادی در استحکام و ازدیاد طول تا نقطه شکست مشاهده نمی‌شود، اگرچه افزودن این ترکیبات باعث بهبود جزئی در مقادیر مقاومت کششی گردید. مقادیر مربوط به ازدیاد تا نقطه شکست نیز در مقایسه با نمونه شاهد افزایش نشان داد ولی این افزایش مقدار گرچه از نظر عددی شایان توجه است، ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌دار نشان نداد ($p > 0.05$)، جدول (۳). تأثیرات جزئی افزودن نانوذرات در فرمولاسیون روی خواص مکانیکی فیلم‌های پلی‌اتیلنی می‌تواند به علت سازگاری کم و عدم برقراری پیوندهای شیمیایی قوی بین نانوذرات و ماتریس پلیمری باشد. بر همین اساس، طبق نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی، به دلیل سازگاری بیشتر خاک رس اصلاح‌شده آلی نوع 20A با ماتریس LDPE، بهبود خواص مکانیکی در فیلم حاوی این نانورس بیشتر از دو نوع دیگر بوده است.

نتایج آزمون میکروبی

طبق مطالعات انجام‌شده با نرم‌افزار Minitab، مشخص شد که تفاوت معنی‌داری بین فعالیت ضد میکروبی پلی‌اتیلن خالص با نانوکامپوزیت‌های تولیدشده از نانوذرات خاک رس نوع Cloisite 15A در مقادیر ۲ و ۴ درصد وزنی در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود نداشت ($p > 0.05$)، ولی درباره ۶ درصد وزنی از این نوع خاک رس این تفاوت با ضریب تعیین ۹۷/۰۴ درصد معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$). در زمینه باکتری *اشریشیا کلی* هر سه مقدار نانوذره با پلی‌اتیلن خالص خاصیت ضد میکروبی از خود نشان دادند، ولی بین دو مقدار ۴ و ۶ درصد وزنی معنی‌دار نبود و این دو مقدار در مقایسه با مقدار ۲ درصد وزنی خاصیت ضد میکروبی بیشتری اعمال کرده‌اند ($p < 0.05$). مقادیر مربوط به فعالیت باکتری‌ها در فیلم پلی‌اتیلن خالص نیز برای *استافیلوکوکوس اورئوس* $0.10367 \pm$ ، $0.1173 \pm$ و برای *اشریشیا کلی* $9.86 \pm$ (Log cfu/ml) است. نتایج میکروبی به دست‌آمده در جداول ۴ و ۵ به ترتیب برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* آمده است.

در مورد خاک رس نوع Cloisite 20A در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* بین نمونه‌های حاوی ۲ و ۴ درصد وزنی از این نانوذره با پلی‌اتیلن خالص تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و هیچ گونه خاصیت ضد میکروبی مشاهده نشد، ولی مقدار ۶ درصد وزنی خاصیت ضد میکروبی شایان توجهی ایجاد کرده بود ($R^2 = 89.67$ ، $p < 0.05$). در زمینه باکتری *اشریشیا کلی* نیز مشخص شد که بین تمام مقادیر این نانوذره با نمونه شاهد با ضریب تعیین ۹۹/۱۸ درصد و $p < 0.05$ خاصیت ضد میکروبی اعمال می‌کند، ولی بین مقادیر گوناگون آن از نظر برتری تأثیر ضد میکروبی تفاوتی مشاهده نشده است. نتایج به دست‌آمده در این تحقیق در مورد این نانوذره مخالف نتایج کارهای تحقیقاتی مشابه انجام شده محققانی همچون Rhim (2009)، (2009) Sothornvit et al. و Hong & Rhim (2012) است که در این بررسی‌ها هیچ گونه خاصیت ضد میکروبی در نانوذره خاک رس اصلاح‌شده آلی نوع Cloisite 20A مشاهده نشده است. درباره فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نوع 30B نیز در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد که همه مقادیر خاصیت ضد میکروبی ندارند ($p > 0.05$)، ولی فعالیت ضد میکروبی این نانوذره در برابر *اشریشیا کلی* بسیار شدید با ضریب تعیین بالا (۹۹/۸۴ درصد) بین تمام مقادیر و پلی‌اتیلن شاهد بوده است، ولی در بین مقادیر متفاوت آن از نظر بازدارندگی تفاوت چندانی به چشم نخورده است ($p > 0.05$). اثر ضد میکروبی این نانوذره در تحقیقات گوناگون نیز به اثبات رسیده است (Rhim & Hong, 2008; Sothornvit et al., 2009; Nigmatullin et al., 2012). احتمالاً تفاوت نانوذرات در اعمال چنین خواصی به دلیل نوع اصلاح‌کننده آلی، مقدار آن و نوع زنجیر طویل مربوط به هر نانوذره و همچنین نوع میکروارگانیسم آزمایش‌شده است. مشاهده می‌شود که اثر ضد میکروبی نانوذرات بر میکروارگانیسم گرم منفی آزمایش‌شده بیشتر از نوع گرم مثبت است که این امر به دلیل ضخیم بودن دیواره پپتیدوگلیکان این میکروارگانیسم‌ها و اثر محافظتی آن در بقای سلول است. از بین همه نمونه‌ها، نمونه حاوی ۶ درصد وزنی خاک رس نوع 20A بهترین نمونه برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و نمونه حاوی ۶ درصد وزنی خاک رس نوع 30B بهترین نمونه برای *اشریشیا کلی* بوده است. در شکل ۴ تصاویر از بین رفتن یا تشکیل کلونی‌های هر کدام از باکتری‌ها با نانوکامپوزیت‌های حاوی خواص ضد میکروبی نشان داده شده است.

جدول ۳. نتایج آزمون‌های مکانیکی برای نانوکامپوزیت‌های حاوی ۶ درصد نانورس اصلاح‌شده آلی

از دیداد طول تا نقطه شکست (E)(درصد)	مقاومت کششی (TS)(MPa)	آزمون مکانیکی نوع فیلم (نانوذره)
۳۴۰٫۱	۸٫۵۳	Cloisite 15A
۳۷۸	۹٫۳۹	Cloisite 20A
۲۹۲٫۹	۷٫۹۷	Cloisite 30B
۹۰٫۹	۶٫۴۷	پلی اتیلن خالص (شاهد)

* نتایج به صورت میانگین دو تکرار گزارش شده است.

جدول ۴. نتایج ترکیب تیمارهای تهیه‌شده برای بررسی مقایسه فعالیت ضد میکروبی نانوذرات در برابر استافیلوکوکوس اورئوس

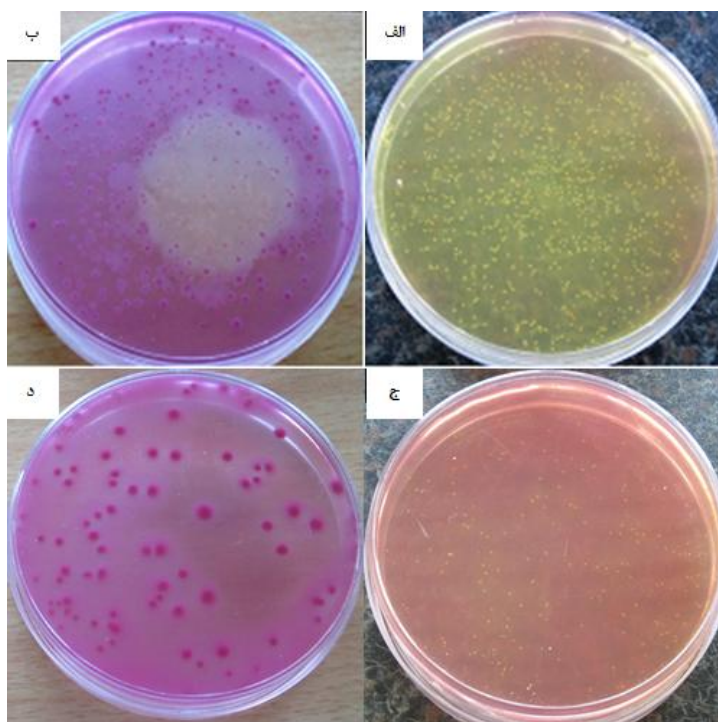
درصد وزنی (Log cfu/ml)	درصد وزنی (Log cfu/ml)	درصد وزنی (Log cfu/ml)	مقدار نانوذره نوع فیلم (نانوذره)
۸٫۷۴ ± ۰٫۰۲	۸٫۹۷ ± ۰٫۰۰	۸٫۹۲ ± ۰٫۰۰	Cloisite 15A
۸٫۳۴ ± ۰٫۲۲	۸٫۸۶ ± ۰٫۰۰	۸٫۸۷ ± ۰٫۰۳	Cloisite 20A
۸٫۷۳ ± ۰٫۰۹	۸٫۵۷ ± ۰٫۳۰	۸٫۷۱ ± ۰٫۰۵	Cloisite 30B

* نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار از دو تکرار گزارش شده است.

جدول ۵. نتایج ترکیب تیمارهای تهیه‌شده برای بررسی مقایسه فعالیت ضد میکروبی نانوذرات در برابر اشریشیا کلی

۶درصد وزنی (Log cfu/ml)	۴درصد وزنی (Log cfu/ml)	۲درصد وزنی (Log cfu/ml)	مقدار نانوذره نوع فیلم (نانوذره)
۸٫۸۸ ± ۰٫۰۵	۸٫۸۱ ± ۰٫۰۰	۹٫۵۴ ± ۰٫۰۱	Cloisite 15A
۸٫۷۶ ± ۰٫۱۱	۸٫۸۵ ± ۰٫۰۳	۸٫۸۲ ± ۰٫۰۰	Cloisite 20A
۸٫۷۹ ± ۰٫۰۵	۸٫۸۰ ± ۰٫۰۰	۸٫۷۰ ± ۰٫۰۰	Cloisite 30B

* نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار از دو تکرار گزارش شده است.



شکل ۴. نتایج میکروبی فیلم‌های تولیدی پلی اتیلنی خالص برای: الف) استافیلوکوکوس اورئوس (رقت ۱۰^۸)، ب) اشریشیا کلی (رقت ۱۰^۹) و بهترین نمونه‌های نانوکامپوزیتی حاصل در برابر، ج) استافیلوکوکوس اورئوس با نمونه LDPE-6% Cloisite 30B، (رقت ۱۰^۶)، و د) اشریشیا کلی با نمونه LDPE-6% Cloisite 20A. (رقت ۱۰^۷)

نتیجه‌گیری

دو نوع دیگر در برابر *اشریشیا کلی* فعالیت ضد میکروبی دارد. از بین همه نمونه‌ها، نمونه حاوی ۶ درصد وزنی خاک رس نوع 20A بهترین نمونه برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و نمونه حاوی ۶ درصد وزنی خاک رس نوع 30B بهترین نمونه برای *اشریشیا کلی* بوده است. همچنین نتایج مربوط به خواص مکانیکی فیلم‌ها تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نشان نداد. بدین معنی که در صورت استفاده از نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده آلی در تولید نانوکامپوزیت‌های پلی‌اتیلنی، علاوه بر حفظ خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم، فیلم‌های تولیدشده خواص ضد میکروبی نیز خواهند داشت.

در بررسی ویژگی‌های فیزیکی مشخص شد که خاک رس نوع Cloisite 20A به دلیل سازگاری بهتر با ماتریس پلی‌اتیلن به صورت یکنواخت در ماتریس پلیمری پخش شده و ظاهری صاف ایجاد کرده است. نتایج ضد میکروبی نشان داد که مقادیر ۲ و ۴ درصد دو نوع خاک رس Cloisite 15A و 20A فعالیت ضد میکروبی در مقابل *استافیلوکوکوس اورئوس* نداشتند، ولی مقادیر ۶ درصد آنها خاصیت ضد میکروبی اعمال کرده است. در باکتری *اشریشیا کلی* همه مقادیر خاک رس خاصیت ضد میکروبی داشتند. خاک رس نوع Cloisite 30B در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* بی‌تأثیر بود ولی همه مقادیر آن بیش از

REFERENCES

- Arora A., Padua G.W. (2010). Review: Nanocomposites in food packaging. *Journal of Food Science*, 75(1), 43-49.
- Arunvisut S., Phummanee S., Somwangthanaroj A., (2007). Effect of clay on mechanical and gas barrier properties of blown film LDPE/clay nanocomposites. *Applied Polymer Science*, 106, 2210-2217.
- Azeredo H. M.C de. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42, 1240-1253.
- Dadfar S.M.A., Alemzadeh I, Dadfar S.M.R., Vosoughi M. (2011). Studies on the oxygen barrier and mechanical properties of low density polyethylene/organo clay nanocomposite films in the presence of ethylene vinyl acetate copolymer as a new type of compatibilizer. *Materials and Design*, 32, 1806-1813.
- Hong S., Rhim J.W. (2012). Preparation and properties of melt-intercalated linear low density polyethylene/clay nanocomposite films prepared by blow extrusion. *LWT - Food Science and Technology*, 48, 43-51.
- Hotta S, Paul D.R, (2004). 'Nanocomposites formed from linear low density polyethylene and Organoclays'. *Polymer* 45, 7639-7654.
- Marini J., Branciforti M.C., Vercelino Alves R.M, Suman Bretas R.E. (2010). Effect of EVA as compatibilizer on the mechanical properties, permeability characteristics, lamellae orientation, and long period of blown films of HDPE/clay nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* 118, 3340-3350.
- Nigmatullin R., Gao F., Konovalova V. (2008). Polymer-layered silicate nanocomposites in the design of antimicrobial materials. *Master Science*, 43, 5728-5733.
- Nguyen Q. T., Baird D. G. (2006). Preparation of Polymer-Clay Nanocomposites and Their Properties. *Advances in Polymer Technology*, Vol 25(4), 270-285.
- Peacock A.J., (2000). 'Handbook of polyethylene: Structures, properties, and applications'. Marcel Dekker, 1-6.
- Rhim J.W. (2009). Biopolymer-based antimicrobial nanocomposite films. *Food Science and Technology*, 612-617.
- Sothornvit R., Rhim J.W., Hong S. (2009). Effect of nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films. *Journal of Food Engineering*, 91, 468-473.
- Tewari G. and Juneja V.K. (2007). *Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation*. Blackwell Publishing, 169-185.
- Zhong Y., Janes D., Zheng Y., Hetzer M., Kee D., (2007). Mechanical and oxygen barrier properties of organoclay-polyethylene nanocomposite films. *Polymer Engineering and Science*, 1101-1107.