

تهیه و ارزیابی بایو نانو کامپوزیت بر پایه پلی ساکارید سویا/نانو دی اکسید سیلیسیم/عصاره اسپند

تara Mofriyan^۱, Sahablu Manavi^{۲*}

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه مهندسی شیمی- بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهروود، شاهروود، ایران

۲- دانشیار گروه مهندسی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهروود، شاهروود، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۹/۱۷)

چکیده

در این تحقیق فیلم‌های پلی ساکارید سویا تقویت شده با عصاره اسپند و درصد ثابتی از نانو دی اکسید سیلیسیم عامل دار با استفاده از روش کاستینگ تهیه شد. ترکیب شامل ۴ ٪ پلی ساکارید سویا و ۴ ٪ وزنی مخلوط گلیسرول و سوربیتول به نسبت ۳/۱ به عنوان پلاستی‌سایزر به همراه ۰/۳ ٪ وزنی نانو دی اکسید سیلیسیم و عصاره اسپند با غلطت‌های ۵-۱۵٪ حجمی بود. خواص فیزیکی، ویژگی‌های مماثلتی شامل نفوذپذیری نسبت به بخار آب و اکسیژن، میزان جذب و عبور نور UV، ویژگی‌های مکانیکی و خواص ضدمیکروبی فیلم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلطت عصاره اسپند میزان جذب آب از ۱/۷۵ تا ۱/۹۶ g/g dry film (g/g)، محتوای رطوبت از ۳/۶۱ تا ۵/۱۸٪، نفوذپذیری نسبت به بخار آب از ۷/۰۳ تا ۱۰/۳۱٪ (g/m.s.Pa) افزایش معنی داری ($p < 0.05$) داشت و بر روی میزان نفوذپذیری نسبت به اکسیژن تاثیر معنی داری نداشت. آزمون‌های مکانیکی بیانگر آن بود که با افزایش غلطت عصاره اسپند استحکام کششی از ۱۶/۰۱ تا ۲۰/۰۸٪ (MPa) و مدول یانگ از ۵۰۰ (MPa) کاهش معنی داری ($p < 0.05$) داشت و درصد کشیدگی از ۱۹/۱۲٪ تا ۲۳/۲٪ افزایش یافت. فیلم‌ها خاصیت ضدمیکروبی خوبی علیه باکتری اشرشیاکلی ATCC 25922 و استافیلوکوکوس آرثروس ATCC 25923 از طریق روش فلاسک چرخان از خود نشان دادند. نتایج بیانگر آن بود که از فیلم‌های بایو نانو کامپوزیت بر پایه پلی ساکارید سویا می‌توان در بسته‌بندی مواد غذایی استفاده کرد.

کلید واژگان: عصاره اسپند، پلی ساکارید سویا، نانو دی اکسید سیلیسیم، فیلم‌های بایو نانو کامپوزیت، خواص ضدمیکروبی

در ساخت سایر فیلم‌های نانو کامپوزیت گردیده است [۷،۸،۹]، از این نانو ماده جهت رفع برخی از معایب ذکر شده در پلی ساکارید سویا استفاده شده است. سیلیسیم دی اکسید یا سیلیکا فراوان ترین ماده سازنده پوسته زمین می‌باشد، این ترکیب ساختاری شبیه الماس با فرمول شیمیایی SiO_2 دارد و ماده‌ای بلوری و سفید رنگ است. باید توجه داشت، فرآوری نامناسب و آلودگی میکروبی ماندگاری ماده غذایی را کاهش می‌دهد و منجر به افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از مصرف غذا می‌گردد. به همین دلیل پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه ساخت بسته‌بندی‌های فعال و دارای عوامل ضدمیکروب صورت گرفته است [۱۰،۱۱]. ویژگی مطلوب یک ترکیب ضدمیکروب مورد استفاده در بسته‌بندی‌های مواد غذایی این است که باید در برابر دامنه گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها در غلظت کم موثر باشد و موجب هیچ گونه تغییر در ویژگی‌های حسی فرآورده نشود، همچنین مقرنون به صرفه بوده و با قوانین مورد تایید سازمان‌های نظارت کننده هم خوانوی داشته باشد [۱۲]. امروزه با توجه به آثار جانبی و معایب استفاده از ترکیبات نگهدارنده شیمیایی، گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی را می‌توان به جای آن‌ها برای حفظ و نگهداری مواد غذایی مختلف استفاده کرد. با توجه به این که گیاه اسپند در بردارنده مواد ضدمیکروبی از نوع فلاونوئیدها و آکالائوئیدها می‌باشد، لذا استفاده از این عصاره در مواد غذایی به عنوان یک ترکیب ضدمیکروب طبیعی به جای مواد نگهدارنده مصنوعی یک امر مفید و مؤثر به نظر می‌رسد [۱۳]. در این تحقیق، عصاره اسپند با غلظت‌های مختلف به بايو نانو کامپوزیت پلی ساکارید سویا و نانو دی اکسید سیلیسیم افزوده شد و اثرات آن بر خواص فیزیکی، ممانعتی، میزان جذب و عبور UV، مکانیکی و خواص ضدمیکروبی علیه باکتری‌های بیماری‌زای اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آرثوس مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

پلی ساکارید سویا و نانو دی اکسید سیلیسیم از شرکت سیگما تهیه شد. گلیسرول و سوربیتول مایع از لیانگ Traco (در ناحیه پنگ مالزی)، توئین، نیتریت منیزیم و کلرید کلسیم اشیاع از مرک آلمان خریداری گردید. محیط کشت تریپتون براث، نوتریت

۱- مقدمه

امروزه آلودگی‌های ناشی از پلیمرهای سنتزی، توجه همگان را به استفاده از مواد زیست تخریب‌پذیر^۱ معطوف کرده است و در طی دو دهه اخیر مطالعه بر روی مواد زیست تخریب‌پذیر حاصل از پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها گسترش وسیعی یافته است [۱]. در این تحقیق پلیمر زیستی که در تهیه فیلم‌های بايو نانو کامپوزیت استفاده شده، پلی ساکارید سویا می‌باشد که یک پلی ساکارید حلal در آب است و از سویا استخراج و تصفیه شده و قادر به تشکیل فیلم سطحی قوی با ضخامت ۳۰-۷۰ نانومتر است [۲]. فیلم‌های بر پایه پلی ساکارید، نسبتاً سفت هستند، برای غلبه بر این شکنندگی و افزایش کارایی، انعطاف‌پذیری و نرم‌کنندگی زیادشان، معمولاً پلی یول‌ها به شکل وسیع استفاده می‌شود که گلیسرول یکی از معروف‌ترین آن‌ها است که یک نرم‌کننده هیدروفیلیک است. پلی ساکارید سویا به دلیل دارا بودن برخی معایب نمی‌تواند به تنهایی فیلم مطلوبی تولید کند. خاصیت آبدوستی شدید این پلیمر زیستی و مقاومت ضعیف فیلم در برابر رطوبت و همچنین خواص مکانیکی ضعیف آن در مقایسه با پلیمرهای سنتزی، مهمترین معایب فیلم پلی ساکارید سویا می‌باشند که باعث محدود شدن استفاده از این بیopolymer در زمینه‌های مختلف می‌شود [۳،۴]. از جمله راهکارهای جدید برای بسته‌بندی مواد غذایی و قابلیت‌های آن‌ها شود و در نتیجه، حصول اطمینان از این‌می مواد غذایی و حمایت از مصرف کننده را در پی داشته باشد استفاده از فناوری نانو است [۵]. نانو کامپوزیت‌ها را می‌توان با پلیمرهای ترموست و یا ترمoplاست (پلی اتیلن، پلی پروپیلن، پلی آمیدها، پلی استایرن، و پلی متیل متاکریلات) تولید کرد. این مواد به شدت واکنش‌پذیر هستند و اغلب در بسته‌بندی مواد غذایی به کار می‌روند. بطور کلی، هدف از به کارگیری آن‌ها افزایش مقاومت مکانیکی، کاهش وزن، افزایش مقاومت به حرارت، ممانعت بهتر در برابر CO_2 , UV, O_2 ، رطوبت، قابلیت بازیافت بهتر و محافظت بیشتر از محصول است [۶]. با توجه به تحقیقات انجام شده در زمینه کاربرد مطلوب نانو دی اکسید سیلیسیم که منجر به بهبود ویژگی‌های فیزیکی و ممانعتی

1. Biodegradable

اکسید سیلیسیم تاثیری بر ویژگی‌های فیلم نداشته است)، سپس ۴ پلی ساکارید سویا، مخلوط ۳ به ۱، گلیسروول-سوربیتول در ۴۰٪ (وزنی کل ماده جامد خشک) به عنوان پلاستی‌سایزر اضافه شد، انتخاب این نرم‌کننده‌ها بر اساس تحقیقات محمدی در ارتباط با بالاترین میزان پایداری حرارتی این مخلوط می‌باشد [۱۵]. به میزان ۱۰٪ حجمی عصاره، توئین و در نهایت عصاره اسپند با نسبت‌های (۵، ۱۰ و ۱۵٪ حجمی) را به محلول از قبل تهیه شده اضافه کرده و یک مگنت داخل ظرف گذاشته و روی ظرف به وسیله فویل پوشانده شد و آن را روی هیتر با ۲۵۰ rpm (جهت جلوگیری از تشکیل کف) قرار داده و بعد از اینکه دما به ۵۰ °C رسید به مدت ۴۵ min در همین دما نگه داشته، سپس تا دمای حدود ۳۰ °C (دمای محیط) آن را خنک کرده و مقدار ۵۰ g (این میزان بستگی به غلظت محلول تهیه شده داشته تا بتواند سطح یکنواختی بر روی پلیت ایجاد کند) از آن روی صفحاتی از جنس پلی متیل متاکریلات (با نام تجاری Plexiglass) با ابعاد ۱۶×۱۶ cm² و ضخامت ۲ mm ریخته شد و به مدت حدود ۲۴ h در شرایط آزمایشگاه (دمای ۲۵ °C و رطوبت نسبی ۵۸±۵٪) نگه داشته و فیلم‌های تهیه شده در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم اشباع به منظور تعادل رطوبتی قرار داده شد. نمونه‌های کنترل فاقد عصاره نیز تهیه شده و در همان شرایط نگهداری شدند. همه فیلم‌ها از جمله شاهد در دو نسخه تهیه گردیدند.

۴-۲- ضخامت فیلم*

ضخامت هر یک از فیلم‌ها با ریزسنج مدل insize با قدرت تفکیک ۰/۰۰۲ mm به طور تصادفی در ۵ موقعیت تعیین و میانگین آن‌ها برای محاسبه استفاده گردید.

۵-۲- حلالت در آب^۳

حلالت فیلم‌ها در آب با توجه به روش Maizura با برخی تغییرات مشخص شد [۱۶]. نخست تکه‌هایی از هر فیلم (۲×۳ cm²) به میزان ۴۰۰ mg تا ۶۰۰ تو زین شد و در دسیکاتور حاوی کلرید کلسیم (۰٪ RH) به مدت ۲۴ h نگهداری شد. مجدداً نمونه‌ها با ترازو با دقت g توزین شد، سپس فیلم‌ها به

براث و نوترینت آکار به همراه سایر مواد شیمیایی مورد نیاز از گرید آزمایشگاهی تهیه شد.

۱-۲- باکتری‌های مورد استفاده و روش نگهداری آن‌ها

باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق اشرشیاکلی ATCC 25922 و استافیلکوکوس آرئوس ATCC 25923 بوده که از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال غرب ایران تهیه گردیدند. باکتری‌ها بطور جداگانه در محیط کشت شب‌دار نوترینت آکار کشت داده شده و در دمای ۴ °C نگهداری شدند. به منظور حفظ قابلیت زیستی باکتری‌ها، هر بیست روز کشت مجدد آن‌ها انجام گردید.

۲-۲- تهیه عصاره اسپند به روش Extraction

ابتدا ۴۰ g اسپند را آسیاب کرده و داخل کاغذ صافی که اطراف آن منگنه شده ریخته و سپس داخل بشر حاوی ۱۰۰ cc حلال ۲۵ cc آب مقطر، ۱۲ cc کلروفرم و ۶۳ cc متانول) قرار داده و سر بشر را با فویل پوشانده و به مدت ۲۴ h در دمای ۴۰ °C در محیط نگهداری شد، سپس کاغذهای صافی را از بشر خارج کرده و توسط دستگاه روتاری که در دمای ۴۰ °C تقطیم شده به مدت ۲۰ min، متانول و کلروفرم آن را تبخیر کرده و عصاره اسپند استخراج شده را در یخچال با دمای ۴ °C نگهداری کرده و سپس از آن فیلم تهیه شد [۱۶].

۳-۲- تهیه فیلم‌های حاوی عصاره اسپند

محلول تشكیل دهنده فیلم با یو نانو کامپوزیت حاوی پلی ساکارید سویا به عنوان پایه فیلم، نانو دی اکسید سیلیسیم، عصاره اسپند، پلاستی‌سایزر، توئین و آب مقطر به روش کاستینگ تهیه شد. در ابتدا به علت حلالت پایین نانو دی اکسید سیلیسیم در آب، ۲۴ h قبل از تهیه محلول مورد نظر، (از کل ماده جامد خشک) نانو دی اکسید سیلیسیم عامل دار شده را در ۵۰ ml آب مقطر در یک ارلن پراکنده کرده (محدود بودن درصد مورد استفاده از نانو ذرات تا سقف ۵٪ وزنی از کل ماده جامد) به دلیل هتروژن نمودن بافت فیلم‌ها از محدودیت‌های این تحقیق می‌باشد. با تکرار آزمایش مشخص گردید افزودن بیش از ۳٪ از نانو دی

2. Thickness

3. solubility in water

اصلاح روش کاپ گرامتریک بر اساس ASTM E96-05 [۱۸] و روش یانگ و همکارانش برای تعیین میزان نفوذپذیری در فیلم‌ها استفاده شد [۱۹]. در این آزمون کاپ‌ها با آب پر شد و شکاف‌ها حدود $1/5 \text{ cm}$ بین سطح فیلم و آب بود. فیلم‌ها به اندازه دهانه کاپ بریده و به کمک پارافیلم بر روی کاپ نگه داشته شد. در ابتدا وزن اولیه کاپ‌ها با ترازو با دقت 0.001 g اندازه‌گیری شد و سپس درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل (خشک‌کن) که در دمای 0°C بود، در مدت 1 h در آون فعال شده بود، برای تولید رطوبت نسبی٪ قرار گرفت. پس از آن هر دو ساعت یک بار نمونه‌ها توزین شد تا 5 نقطه این روند ادامه داشت. سپس از نمودار وزن بدست آمده در مقابل زمان برای تعیین WVTR استفاده شد. شبیه قسمت خطی این نمودار نشان دهنده مقدار حالت پایدار از نفوذ بخار آب در میان فیلم در هر واحد زمان (g/h) بود. طبق معادله 4 WVP فیلم توسط ضرب کردن WVTR در ضخامت متوسط فیلم و تقسیم آن بر فشار بخار آب در سطح فیلم محاسبه شد.

$$\text{WVP} = \text{WVTR} \times t/A \times P_{\text{sat.water at } 25^\circ\text{C}} \quad (4)$$

۹-۲- نفوذپذیری به اکسیژن ^۸ (OP)

اندازه‌گیری‌های نفوذپذیری به اکسیژن بر روی فیلم‌ها توسط MoconOxtran 2/21 (Minneapolis, USA) یک سنسور کالریمتریک (CouloxAir®) و نرم افزار نفوذپذیری WinPermTM انجام شد. اندازه‌گیری‌ها با استفاده از روش استاندارد ASTM D3985-05 مورد ارزیابی قرار گرفتند [۲۰]. فیلم‌ها درون پوشش فویل آلومینیوم با یک فضای باز 2 cm^2 روی یک سل دیفیوژن قرار داده شدند. آزمون در دمای 0°C 5 ، فشار اتمسفری و رطوبت نسبی٪ 50 انجام گرفت و 21°C اکسیژن به عنوان تست گاز استفاده شد. اکسیژن منتقل شده از میان فیلم‌ها با استفاده از حمل کننده گاز (N_2/H_2) به سنسورهای کالریمتریک عبور داده شد. حمل کننده خارجی هر یک ساعت یکبار برای رسیدن به حالت پایدار انتقال اکسیژن، اندازه‌گیری شد. ضریب نفوذپذیری در $\text{cc-mil}/(\text{m}^2 \text{ day})$ بر اساس نرخ انتقال اکسیژن در حالت ثابت با در نظر گرفتن ضخامت فیلم محاسبه شد.

7. water vapour permeability (WVP)
8. Oxygen permeability

مدت 1 h درون 4 بشر 100 ml آب دیونیزه در آن ریخته شده بود، نگهداری شد و با فویل آلومینیومی روی بشرها پوشیده شد و در این بین هر 20 min نمونه‌ها هم زده شد. کاغذ صافی برای ثابت شدن وزن در آون در دمای 0°C به مدت 40 h قرار گرفت و سپس کاغذ صافی تو زین شد و آن را روی گذاشته و محلول روی آن ریخته شد، سپس کاغذ صافی همراه با فیلم، 24 h درون آون 0°C نگهداری شد و سپس مجدداً تو زین شد. نمونه‌ها در 3 بار تکرار اندازه‌گیری شدند و درصد حلالیت طبق معادله 1 محاسبه شد.

$$(1) \quad 100 \times (\text{وزن اولیه فیلم} - \text{وزن فیلم خشک شده}) / \text{درصد حلالیت}$$

$$2- قابلیت جذب آب ^4$$

با توجه به حساسیت بالای پلی ساکارید سویا^۵ (SSPS) نسبت به آب و با توجه به اینکه با گذشت مدت زمان طولانی حلالیت این ماده در آب بسیار زیاد بوده، بنابراین از روش متفاوت برای این آزمون استفاده شد. نخست تکه‌هایی از هر فیلم ($2 \times 3 \text{ cm}^2$) به میزان حدود 400 mg تا 600 mg تو زین شد، سپس فیلم‌ها را روی شیشه ساعت قرار داده و آن‌ها را به مدت 24 h داخل دسیکاتور که حاوی آب شهری بوده گذاشته و مجدداً فیلم‌ها تو زین شد و از طریق معادله 2 میزان جذب آب بدست آمد.

$$(2) \quad \text{وزن اولیه فیلم} / \text{وزن آب جذب شده} = \text{WAC}$$

۷-۲- محتوای رطوبت ^۶

اندازه‌گیری میزان رطوبت با توجه به روش Ammala و همکارانش مشخص شد [۱۷]. پس از رسیدن فیلم‌ها به تعادل رطوبتی، نخست تکه‌هایی از هر فیلم ($2 \times 3 \text{ cm}^2$) به میزان 400 mg تا 600 mg تو زین شد و در دسیکاتور حاوی کلرید کلسیم (به منظور صفر شدن رطوبت) قرار گرفت، سپس در آون با دمای 30°C به مدت 24 h تا رسیدن به وزن ثابت حرارت داده شد. طبق معادله 3 از میزان کاهش وزن نمونه‌ها (M_2)، نسبت به نمونه اولیه (M_1)، درصد رطوبت تعیین شد.

$$(3) \quad M_C = (M_1 - M_2/M_1) \times 100$$

۸-۲- نفوذپذیری نسبت به بخار آب ^۷

4. Water absorption capacity (WAC)

5. Soluble soybean polysaccharide

6. Moisture uptake

کلنی برداشته و داخل لوله آزمایش حاوی محیط کشت مایع قرار داده و آن را در انکوباتور در دمای 37°C Nutrient broth به مدت ۲۴ h نگهداری کرده تا باکتری در محیط مایع رشد کند، بعد از این زمان محلول داخل لوله آزمایش می‌بایست کدر و غیر شفاف شده باشد. بعد از این مرحله ۸ قطعه ($2 \times 1/5 \text{ cm}^3$) از هر فیلم بریده و زیر نور UV استریل کرده و درون ۱۰۰ ml محیط کشت (Tryptone soy broth (TSB) قرار داده، سپس $4/4$ g تؤئین 8.80% استریل شده و 1 cc از اشرشیاکلی و 1 cc استافیلکوکوس آرئوس رشد یافته در محیط Nutrient broth را به محیط اضافه کرده و آن را داخل انکوباتور شیکردار در دمای 37°C 150 rpm قرار داده و هر دو ساعت یک بار توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 600 نانومتر، جذب آن گرفته شود.

۲- تجزیه و تحلیل آماری ۱۳-

آزمایش‌ها به جز در مورد خواص مکانیکی که در ۵ مرتبه تکرار شد در سایر اندازه‌گیری‌ها در ۳ مرتبه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. از آزمون‌های تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه و توکی (یا دانکن) برای ویژگی‌های فیزیکی، ممانتعی، مکانیکی و سایر پارامترهای مختلف در میان انواع مختلف فیلم در سطح معنی‌دار ۵٪ به کار برده شد. تجزیه و تحلیل با استفاده از GraphPad Prism نسخه ۶، انجام شد.

٣- نتایج و بحث

۱-۳ - ضخامت فیلم‌ها

ضخامت کلی فیلم‌های بایو نانوکامپوزیتی بدست آمده، با اضافه کردن عصاره تغییر معنی داری نداشت. مطابق جدول ۱، ضخامت فیلم‌ها بین 0.11 mm تا 0.13 mm متغیر بوده و با افزایش غلظت عصاره، ضخامت فیلم‌ها افزایش یافت، البته این افزایش از نظر آماری معنی دار نبوده است ($p > 0.05$). آگویره و همکاران نیز گزارش کردند که تلفیق روغن‌های گیاهی تاثیری بر روی ضخامت فیلم‌های پر و تغییر ندارد [۲۴].

۱۰-۲- بررسی میزان جذب و عبور نور

اندازه‌گیری میزان جذب و عبور UV با استفاده از روش محمدی نافچی و همکارانش تعیین شد [۲۱]. اشعه ماوراء بنفش برای هر دو طیف جذب و عبور برای فیلم‌های بایونانو کامپوزیت (در ابعاد $1 \times 5 \text{ cm}^2$) با استفاده از اسپکتروفوتومتر مدل UV-Visible Unicam 8625 شاهد از ۲۰۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر ثبت شد.

۱۱-۲ خواص مکانیکی

از روش ASTM D882-10 با کمی تغییرات، جهت اندازه-گیری ویژگی‌های مکانیکی تحت شرایط استاندارد استفاده شد [۲۲]. فیلم‌ها به طول ۱۰۰ mm و عرض ۲۰ mm بریده و به مدت ۴۸ h در دمای 23°C و رطوبت نسبی ۵۳٪ نگهداری شدند. دستگاه آنالیز بافت (TA.XT2, Stable MicroSystem, Surrey, UK) به منظور اندازه-گیری ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها بکار گرفته شد. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک به ترتیب ۱ mm/s و ۵۰ mm تعيين شد. افزایش طول تا نقطه شکست، مدول یانگ و مقاومت کششی، از تغییر شکل فیلم و نیروی داده شده ثبت شده توسط نرم افزار محاسبه شد. هر نمونه در ۵ بار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱۲-۲- بررسی خواص ضد میکروبی عصاره

اسپند در فیلم‌ها

بررسی فعالیت ضد میکروبی بر روی فیلم‌ها با استفاده از روش جوکار و همکارانش انجام شد [۲۳]. در این روش از تست فلاسک برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها استفاده شد. باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آرئوس از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال غرب کشور تهیه شد، سپس تک کلنی از هر باکتری برداشته و کشت خطی روی محیط کشت Nutrient agar انجام داده تا باکتری فعال شود، پس از کشت آن را داخل انکوباتور 37°C به مدت ۲۴ h گذاشته تا باکتری رشد کند و سپس آن را در دمای 4°C نگهداری کرده و از باکتری فعال شده توسط لوب استریا، تک

Table 2 Water solubility average of SSPS and nanoSiO₂ films incorporated with various concentration of harmful essence

Solubility (%)	Harmal essence (%)
97.23±1.19 a	0
98.08±1.14 b	5
98.92±1.13 b	10
99.01±1.09 b	15

Values are mean ($n = 5$) \pm SD. Different letters in each represent significant difference at 5% level of probability among SSPS films.

۳-۳- بررسی میزان جذب آب

با افزودن عصاره گیاه اسپند، میزان جذب آب فیلم‌های پلی ساکارید سویا مطابق شکل ۱، از ۱/۹۶ تا ۱/۷۵ (g/g dry film) (g/g dry film)، از $p < 0.05$ ، که این افزایش معنی‌داری یافت (p < 0.05)، که این افزایش به دلیل وجود ماهیت آبدوستی عصاره اسپند می‌باشد. داده‌ها با نتایج بدست آمده از تحقیقات قبرززاده مطابقت داشته [۳۰]، همچنین تحقیقات سالاریاشی بر روی فیلم‌های پلی ساکارید سویا نشان داد که افزودن روغن گیاهی ZEO باعث کاهش جذب آب و MEO منجر به افزایش میزان جذب آب شد [۲۵].

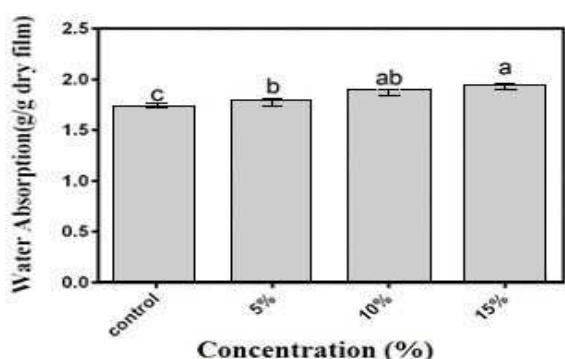


Fig 1 Water absorption capacity of SSPS and nanoSiO₂ films and effects of harmful essence on WAC of films in water. Values are means \pm SE ($n = 5$). Different letters are significantly different at ($P < 0.05$).

۴-۴- بررسی میزان رطوبت

میزان رطوبت در ماده غذایی از پارامترهای مهم بوده و می‌تواند نشان دهنده تازگی ماده غذایی، کنترل کننده رشد میکروبی و

Table 1 Thickness average of SSPS and nanoSiO₂ films incorporated with various concentration of harmful essence

Harmal essence (%)	Thickness (mm)
0	0.11±0.01 a
5	0.11±0.02 a
10	0.12±0.01 a
15	0.13±0.02 a

Values are mean ($n = 5$) \pm SD. Different letters in each represent significant difference at 5% level of probability among SSPS films.

۲-۴- میزان حلایت در آب

نتایج این آزمون افزایش میزان حلایت از ۹۷/۲۳٪ تا ۹۹/۰۱٪ با افزودن عصاره اسپند از ۰-۱۵٪ حجمی را نشان داد که این افزایش مطابق جدول ۲، به صورت معنی‌دار نبوده ($p > 0.05$)، زیرا SSPS ماده‌ای حلال در آب و آبدوست بوده که حضور پیتیدهای خطی در آب و حلایت بالا، می‌تواند به علت حضور پلاستی‌سایرها هیدروفیل باشد که برای ایجاد انعطاف‌پذیری کافی به فیلم‌ها افزوده شده است. همچنین پیوند درون مولکولی پلی ساکارید با ترکیبات فنولیکی با وزن مولکولی بالا باعث شکستن برخی پیوندهای فیلم در طی حلایت شده، زیرا خواص مولکولی ترکیبات فنولیک بر کشش ماتریس فیلم‌ها اثر می‌گذارد. اگر چه حلایت بالا نشان‌گر عدم پایداری در برابر آب می‌باشد، ولی در بعضی موارد مانند بسته‌بندی wrap، حلایت بالا نشان دهنده قابلیت زیست تخریب‌پذیری است که می‌تواند به عنوان یک مزیت به شمار آید، این مورد زمانی کار آمد است که فیلم یا پوشش همزمان با ماده غذایی مصرف شود [۲۵]. داده‌های بدست عصاره‌ها به فیلم‌های HPP باعث افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) حلایت در آب گردید [۲۸]. در تحقیقی دیگر احمدی بیان کرد، افزایش میزان گلیسرول در فیلم‌ها می‌تواند باعث افزایش میزان حلایت در آب شود [۲۹].

[۳۲]. نتایج نشان دادند که افزایش غلظت عصاره گیاه اسپند از ۰-۱۵٪ حجمی در ماتریس پلیمر، میزان نفوذپذیری به بخار آب را از $10^{0.31}$ تا $10^{-0.7}$ (g/m.s.Pax⁻¹) افزایش داد و این نشانگر این است که ترکیبات موجود در عصاره گیاه اسپند ساختار منظم زنجیره‌های پلیمری فیلم‌های پلی ساکارید سویا را بر هم زده است. این پدیده نرخ عبور بخار آب از میان فیلم‌های بايو نانوکامپوزیت را مطابق شکل ۳، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) افزایش داد. نتایج بدست آمده با نتایج تحقیقات زینووپیادو مطابقت داشته [۳۳] و آثارس به این نتیجه رسید که اضافه کردن ترکیبات هیدروفوییک به فرمولاسیون نمی‌تواند تاثیری بر کاهش WVP فیلم‌ها داشته باشد [۳۴].

ایجاد کننده بافت و طعم مناسب باشد [۹]. مطابق شکل ۲ با افزودن عصاره گیاه اسپند میزان رطوبت فیلم‌های پلی ساکارید سویا به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) افزایش یافت، که این احتمال وجود دارد، این افزایش به علت تعامل میان پلاستی‌سایزر، ماتریس بیopolymerها و عصاره اسپند، باشد. داده‌ها با نتایج بدست آمده از تحقیقات جوکی مطابقت داشته، او بیان کرد افزودن ۰.۲٪ حجمی عصاره پونه کوهی باعث افزایش میزان رطوبت از ۱۸/۶٪ تا ۱۹/۳٪ گردید، که نشان دهنده فروپاشی شبکه فیلم بوده است [۳۱]. همچنین آگویره اظهار داشت، این افزایش می‌تواند به علت دانسیته پایین در شبکه پلیمری به وسیله حضور عصاره پونه، در اثر شباهت در ساختار گلیسرول و پلی فنول‌ها باشد [۲۷].

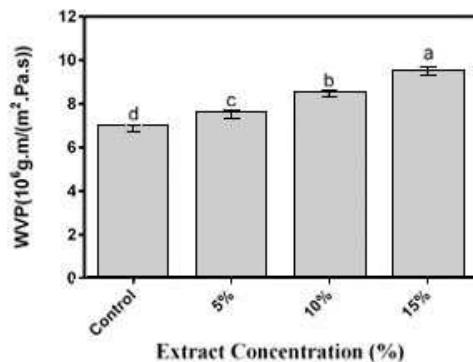


Fig 3 Effect of different percentage of harmful essence on water vapor permeability of SSPS and nanoSiO₂ films. Values are means \pm SE (n = 5). Different letters are significantly different at (P < 0.05).

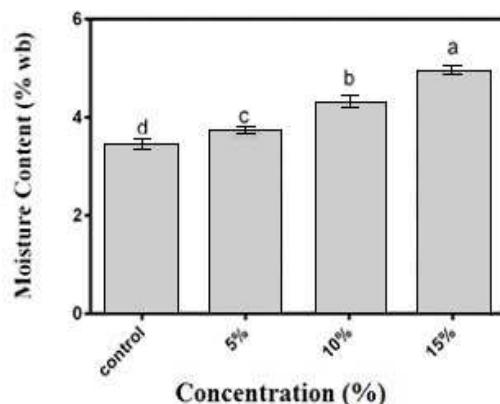


Fig 2 Effect of different percentage of harmful essence on moisture content (%) of SSPS and nanoSiO₂ films. Values are means \pm SE (n = 5). Different letters are significantly different at (P < 0.05).

۶- بررسی میزان نفوذپذیری به اکسیژن

نتایج در شکل ۴ نشان داد، افزایش غلظت عصاره اسپند و افزودن درصد ثابتی نانو SiO₂ بر روی میزان نفوذپذیری به اکسیژن تاثیر معنی‌داری ($p<0.05$) نداشت. این میزان بین فیلم شاهد و فیلم از ۰.۳۶٪ تا ۵/۲۷ (cc-mil/(m² day)) بیشتر محسوس بوده است و این نتیجه بیانگر این است که ترکیبات فنولی عصاره اسپند تاثیری بر روند کاهش میزان OP نداشته است.

۷- بررسی میزان نفوذپذیری به بخار آب

خاصیت نفوذپذیری پلیمرها، ارتباط مستقیمی با خاصیت هیدروفیل یا هیدروفوب بودن ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها، فرآیند و نحوه تولید پلیمر، نوع و مقدار افزودنی‌ها به پلیمر، وجود منافذ و ترک خوردگی و در نهایت ساختار پلیمر دارد.

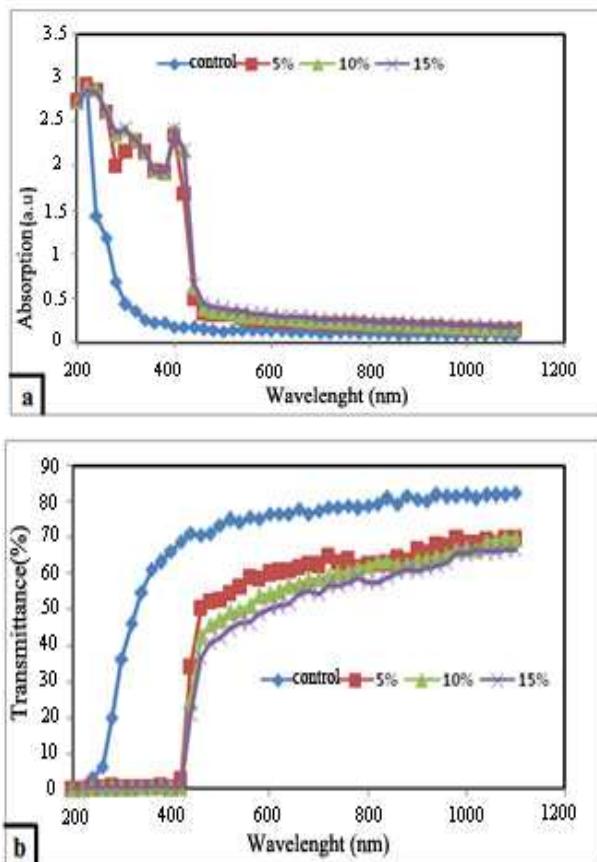


Fig 5 UV-vis absorbtion (a) and transmission spectra (b) for SSPS bionanocomposite films of the films incorporated with different percentage of harmful essence in the range of (200–1100 nm).

۸-۳- بررسی خواص مکانیکی

نتایج نشان دادند، هنگامی که غلظت عصاره اسپند در فیلم‌های SSPS از ۰ تا ۱۵٪ افزایش می‌یابد، با توجه به شکل ۶-۲(a)، مقاومت به کشش این فیلم‌ها به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) از ۲۰۰۸ تا ۱۶۰۱ (MPa) کاهش یافت. افزودن عصاره منجر به افزایش درصد طول فیلم در لحظه پاره شدن گردید. میزان درصد کشیدگی مطابق شکل ۶-۲(b) با افزایش غلظت عصاره، به جز فیلم ۵٪ که تاثیر معنی‌داری روی افزایش درصد کشیدگی نداشت و با افزایش غلظت عصاره تا ۱۵٪ به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) از ۱۹۱۲ تا ۲۳۲۳٪ افزایش یافت. دلیل این افزایش را کاهش واکنش بین مولکولی در ساختار فیلم و افزایش سیالیت پلیمر در نتیجه تداخل مولکول‌های عصاره با فیلم می‌توان بیان کرد. میزان

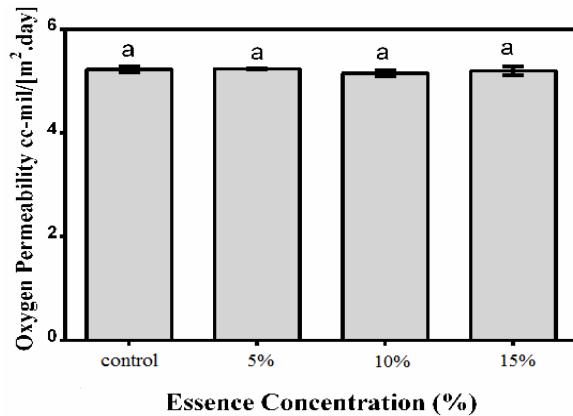


Fig 4 Effect of different percentage of harmful essence on oxygen permeability $\text{cc} \cdot \text{mil}/[\text{m}^2 \cdot \text{day}]$ of SSPS and nano SiO_2 films. Values are means \pm SE ($n = 5$). Different letters are significantly different at ($P < 0.05$).

۷-۳- بررسی میزان جذب و عبور نور

ماوراء بنفس

با توجه به شکل ۵، میزان جذب در بازه ۲۰۰–۱۱۰۰ nm مشخص شده است که با افزایش غلظت عصاره اسپند در فیلم SSPS، میزان جذب بسیار افزایش یافت، که این اثر بیشتر در بازه UV (۴۰۰–۲۰۰ nm) مشاهده گردید که بیانگر موثر بودن اثر عصاره در میزان جذب UV می‌باشد، زیرا وجود مواد موثره (ترکیبات فنولی) در عصاره علت افزایش جذب می‌باشد و این افزایش با مقایسه فیلم شاهد و فیلم‌های حاوی عصاره کاملاً محسوس است ولی افزایش میزان جذب بین فیلم‌های ۵–۱۵٪ به علت افزایش میزان رنگ فیلم‌ها زیاد نبوده است. شکل ۶، بیانگر درصد عبور نور در بازه UV-Visible می‌باشد. همان‌طور که مشخص است، در اثر افزودن عصاره اسپند میزان عبور نور به خصوص در ناحیه UV نسبت به فیلم شاهد بسیار کاهش پیدا کرده است. یافته‌ها نشان می‌دهند، ماتریس بیوپلیمر تقویت شده با عصاره اسپند و نانو دی اکسید سیلیسیم می‌تواند به عنوان فیلم‌های محافظ UV در بسته‌بندی‌های صنعتی برای مواد غذایی و دارویی استفاده شود.

نتیجه سختی فیلم‌ها کم شد. معمولاً مدول یانگ به صورت معنی‌دار با مقاومت به کشش رابطه مستقیم دارد. این نتایج با نتایج پایرس و شجاعی مطابقت دارد [۲۸، ۱].

مدول یانگ (نسبت تنش به کرنش در ناحیه خطی) با افزایش غلظت عصاره اسپند تا ۱۵٪، به صورت معنی‌دار ($P < 0.05$) کاهش یافت و در مطابق شکل ۶-۳ از ۸۰۰ تا ۵۰۰ (MPa) می‌باشد.

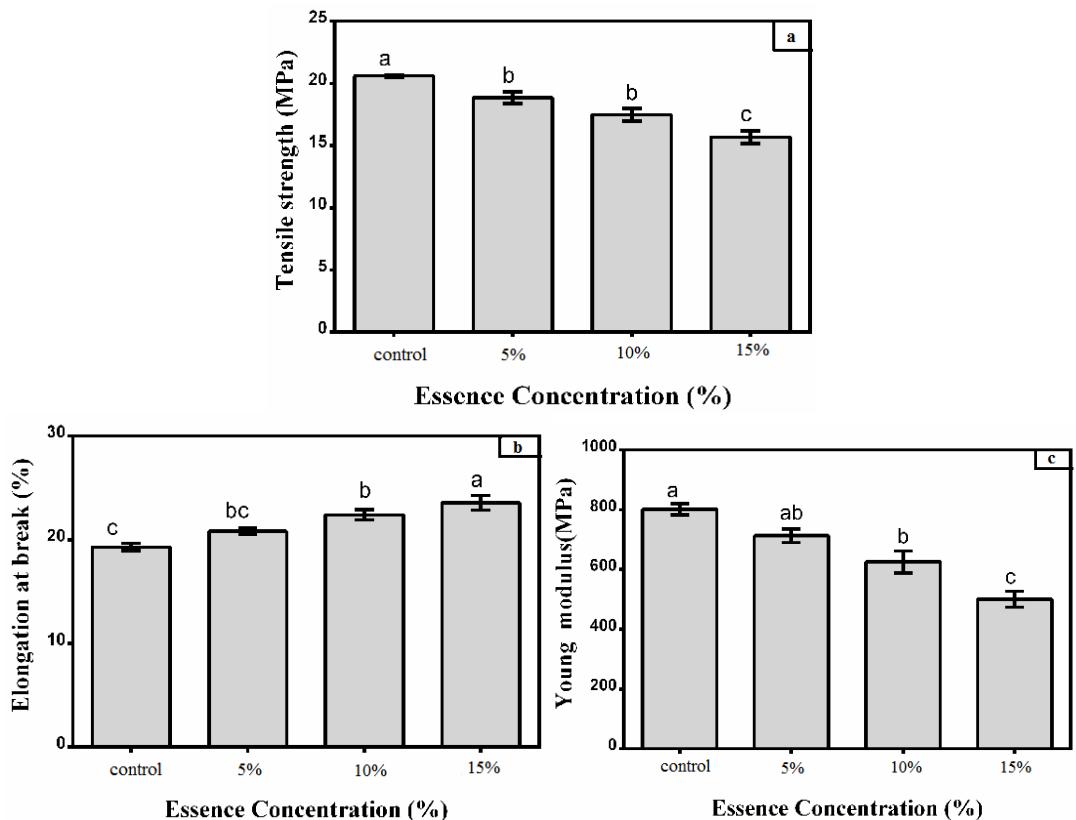


Fig 6 Tensile strength (a), Elongation at break (b) and Young's modulus (c) of the SSPS based films incorporated with various harmful essence concentrations. Values are means \pm SE ($n = 5$). Different letters are significantly different at ($P < 0.05$).

کاهش پیدا کند حاکی از بازدارندگی بیشتر است زیرا فاز تاخیر افزایش و فاز لگاریتمی کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج شکل ۷-۳(b)، در غلظت ۱۵٪، عصاره اسپند بیشترین سطح بازدارندگی نسبت به باکتری استافیلوکوکوس آرئوس را نشان می‌دهد. با مقایسه دو نمودار مشخص شد، عصاره اسپند در برابر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس آرئوس مؤثرتر از باکتری گرم منفی اشرشیاکلی بوده، علت این پدیده تفاوت ساختار دیواره سلولی این دو نوع باکتری است. بسیاری از محققین نیز طی تحقیقات خود به این نتیجه دست یافتند که عصاره‌ها و انسان‌های مختلف بر روی باکتری‌های گرم مثبت موثرتر هستند [۳۵، ۳۶، ۳۷].

۹-۳- بررسی خواص ضدمیکروبی

در نمودار روند رشد باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آرئوس در بازه زمانی ۱۵ ساعت در برابر فیلم‌های ضدمیکروبی نشان داده شده است. همان‌گونه که از نتایج به خوبی پیداست، پلی ساکارید سویا/نانو دی اکسید سیلیسیم/عصاره اسپند باعث افزایش فاز تاخیر شده و تا حد زیادی فاز لگاریتمی را کاهش داده‌اند. همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره اسپند، سینتیک رشد میکروبی به طور قابل توجهی کاهش پیدا می‌کند. هر چه سینتیک رشد میکروبی بیشتر به سمت پایین

خود خواص ضدمیکروبی در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیاکلی نشان داد. بنابراین این فیلم‌ها می‌توانند به عنوان بسته‌بندی فعال در پوشش‌های خوراکی و بسته‌بندی محصولات غذایی و کشاورزی عمل کنند.

۵- منابع

- [1] Shojaee, S., Abadi, A., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M. Hosseini, S. M., Khaksar, R. (2013), Characterization of antioxidant-antimicrobial carrageenan films containing Satureja hortensis essential oil. International Journal of Biological Macromolecules 52, 116–124.
- [2] Chivero, P., Gohtani, S., Ikeda, S., Nakamura, A. (2014), The structure of soy soluble polysaccharide in aqueous solution. Food Hydrocolloids 35, 279e286.
- [3] Tajik, S., Maghsoudlou, Y., Khodaiyan, F., Jafari, S.M., Ghasemlou, M., Aalami., M. (2013), Soluble soybean polysaccharide: A new carbohydrate to make a biodegradable film for sustainable green packaging. journal of carbohydrate polymers 97, 817-824.
- [4] Sothornvit, R., & Krochta, J. M. (2001), Plasticizer effect on mechanical properties of lactoglobulin films. Journal of Food Engineering, 50, 149–155.
- [5] H. Wei, Y. YanJun, L. NingTao& W. LiBing. (2011), Application and safety assessment for nano-composite materials in food packaging. Chinese Science Bulletin, Vol.56 No.12 pp: 1216–1225.
- [6] Greßler, S., Gazsó, A., Simkó, M., Nentwich, M., And Fiedeler, U. (2010), Nanoparticles and nanostructured materials in the food industry. No. 004en.
- [7] M. Wu, M. Wang, M. Ge, Investigation into the performance and mechanism of SiO₂ nanoparticles and starch composite films, Journal of the Textile Institute, 100 (2009) 254 - 259.
- [8] M. Wu, Y. Wang, M. Wang, M. Ge, Effect of SiO₂ Nanoparticles on the Wear Resistance of Starch Films, Fibers text. East. Eur., 16 (2008) 96-99.

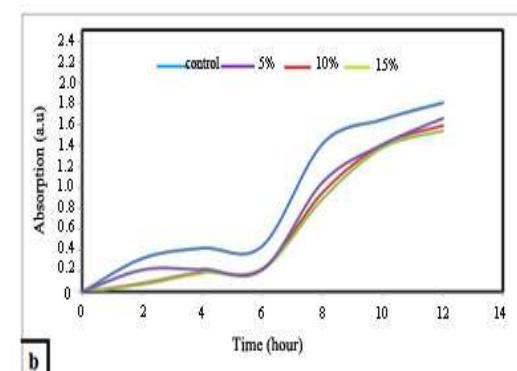
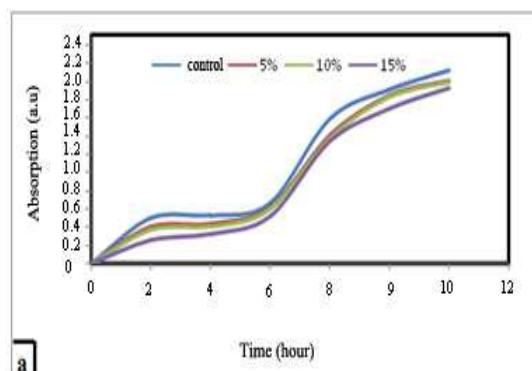


Fig 7 The growth curves result for *Escherichia coli* (a) and the growth curves for *Staphylococcus aureus* of the SSPS based films incorporated with various harmful essence concentrations.

۶- نتیجه‌گیری

عصاره اسپند با غلظت‌های بین ۱۰-۱۵٪ حجمی در بافت فیلم‌های بایو نانو کامپوزیتی پلی ساکارید سویا/نانو دی اکسید سیلیسیم وارد شده و خواص عمومی و اختصاصی فیلم‌های خوراکی ارزیابی شد. نتایج نشان دادند که افزایش غلظت عصاره گیاه اسپند و درصد ثابتی از نانو دی اکسید سیلیسیم در ماتریس پلیمر، ویژگی‌های فیزیکی و ممانعتی را افزایش داد و این نشانگر این است که ترکیبات موجود در عصاره گیاه اسپند ساختار منظم زنجیره‌های پلیمری فیلم‌های پلی ساکارید سویا را بر هم زده است. عصاره اسپند با اثر خوب بر فیلم ترکیبی پلی ساکارید سویا باعث کاهش عبوردهی و افزایش جذب نور در نواحی فربنفش شده و ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها را بهبود بخشید. به خوبی از

- plasticized-pea starch/ZnO-carboxy methyl cellulose sodium nanocomposites. *Bioresource Technology*, 100, 2832-2841.
- [20] ASTM, (2005) "Standard test methods for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor d 3985 -05", Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA.
- [21] Mohammadi Nafchi, A., Moradpour, M., Saeidi, M., Alias, A. (2014), Effects of nanorod-rich ZnO on rheological, sorption isotherm, and physicochemical properties of bovine gelatin films. *LWT - Food Science and Technology*, 142e149.
- [22] ASTM, (2010), Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting D882-10, in: Annual book of ASTM standards, Philadelphia, PA.
- [23] Jokar, M., Russly, A. R., Nor Azowa, I., Luqman Chuah, A., Chin Ping, T. (2012), Melt Production and Antimicrobial Efficiency of Low-Density Polyethylene (LDPE)-Silver Nanocomposite Film. *Food Bioprocess Technol*, 5:719–728.
- [24] Aguirre, A., Borneo, R., & Leon, A. E. (2013), Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience*, 1, 2–9.
- [25] Salarbashi, D., Tajik, S., Ghasemlou, M., Shojaee, S., Shahidi, M., Khaksar, R. (2013), Characterization of soluble soybean polysaccharide film incorporated essential oil intended for food packaging. *Carbohydrate Polymers* 98, 1127-1136.
- [26] M. Maizura, A. Fazilah, M.H. Norziah, A.A. Karim. Antibacterial Activity and Mechanical Properties of Partially Hydrolyzed Sago Starch-Alginate Edible Film Containing Lemongrass Oil. *Journal of Food Science* 72(2007) C324–C330
- [27] Aguirre, B., & León, R. E. (2013). Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience*, 1,2e9.
- [28] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M.L., Marques. A. (2013), Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical,
- [9] Voon, H., C., Bhat, R., Azhar, M., E., Liang, M., T. (2010), Effect of addition of Halloysite Nanoclay and SiO₂ Nanoparticles on Barrier and Mechanical properties of Bovine Gelatin Films. *Food Bioprocess Technol*.
- [10] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M.L., Marques, A. (2013), Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids* 30, 224e231.
- [11] Yu, Z., Xiaoyong, S., Yunfei, L. (2011), Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. *Carbohydrate Polymers* 84, 335–342.
- [12] Kerry.J.P, Ogrady.M.N. (2006), Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review, *Meat Science* p:113-130.
- [13] Sarfaraz, K, M., Fazal. (2011), Medicinal and Pharmacological Potential of Harmala (*Peganum harmala* L.) Seeds. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 585-599.
- [14] Shiryanpour, S., Mohammadi Nafchi, A., Nahidi, F. (2013), Investigation of peganum harmala exteact on physicochemical, mechanical, antimicrobial and properties of edible films based on sago starch. Islamic Azad University, Damghan Branch.
- [15] M.N. Abdorreza, L.H. Cheng, A.A. Karim, Effects of plasticizers on thermal properties and heat sealability of sago starch films, *Food Hydrocolloid.*, 25 (2011) 56-60.
- [16] Maizura, M., Fazilah, A., Norziah, M., Karim, A. (2007), Antibacterial Activity and Mechanical Properties of Partially Hydrolyzed Sago Starch-Alginate Edible Film Containing Lemongrass Oil. *J. Food Sci.*, 72 C324-C330.
- [17] Ammala, A., Hill, A. J., Meakin, P., Pas, S. J., Turney, T. W. (2002), Degadation studies of polyolefins incorporating transparent nanoparticulate zinc oxide uv stabilizers. *Nanoparticle Research*, Vol 4, 167-174.
- [18] ASTM, (2005), Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials E96/E96M-05. In Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA.
- [19] Yu J., Yang J., Liu B., Ma X. (2009), Preparation and characterization of glycerol

- containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 82, 338–345.
- [34] Atares, L., De Jesús, C., Talens, P., & Chiralt, A. (2010). Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 99(3), 384–391.
- [35] Pranoto, Y., Rakshit, S. K., and Salokhe, V. M. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT*, 38: 859–865.
- [36] Seydim, A. C. and Sarikus, G. (2006). antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food research international*, 39: 639 – 644.
- [37] Salarbashi, D., Tajik, S., Ghasemlou, M., Shojaee, S., Shahidi, M., Khaksar, R., Ghasemlou, M., Moayyed, H. (2014), Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporated Zataria multiflora Boiss and Mentha pulegium essential oils. *Journal of Food chemistry* 146, 614-622.
- antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids* 30, 224e231.
- [29] Ahmadi, R., Kalbasi-Ashtari, A., Oromiehie, A., Yarmand, M. S., & Jahandideh, F. (2012). Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk.). *Journal of Food Engineering*, 109, 745–751.
- [30] Ghanbarzadeh, B., & Almasi, H. (2011), Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(1), 44–49.
- [31] Jouki,M., Yazdi,F., Mortazavi, S, A., Koocheki, A. (2014). Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids* 36 , 9e19.
- [32] Vascones, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J., Gerschenson, L. N. (2009), Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coating. *Food research. Int.* 42: 762-769.
- [33] Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, C. P., & Biliaderis, C. G. (2009), Physico-chemical properties of whey protein isolate films

Preparation and characterization of bio-nanocomposite based on SSPS/nano-SiO₂/ harmal essence

Mozaffarian, T.¹ Manafi, S. A.^{2*}

1. Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

2. Department of Engineering, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

(Received: 2015/02/28 Accepted: 2015/12/08)

In this research casting method was used to prepare soluble soybean polysaccharide (SSPS), based bio-nanocomposite films with nano SiO₂ and harmal essence as the reinforcing materials. The composition included 4 g SSPS with 40% (w/w of total solid) of a mixture of the sorbitol/glycerol (weight ratio of 3 to 1 as plasticizer) with nano SiO₂ (3% wt.) and harmal essence with different concentrations (5-15% vol). Physical properties, barrier properties such as water vapour permeability (WVP) and oxygen permeability (OP), mechanical properties, UV-visible spectra and antimicrobial activity of the films were measured. Results showed that by increasing the concentration of harmal essence, WAC from 1.75 to 1.96 (g/g dry film), Moisture uptake from 3.61 to 5.18% and WVP increased ($P<0.05$) from 7.03 to 10.31 (g/m.s.P $\times 10^{-6}$) and had no effect on the OP.). Results of mechanical properties showed that by increasing the concentration of harmal essence, Tensile strength and modul yang were decreased from 20.08 to 16.01 MPa and 800 to 500 MPa, and elongation at break increased from 19.12 to 23.2%. The films displayed an excellent antimicrobial activity against Escherichia coli ATCC 25922 and Staphylococcus aureus ATCC 25923 was evaluated by shake flask test. The results indicated that SSPS, based bio-nanocomposite films could be a promising food-packaging material.

Keywords: Bio-nanocomposite films, Harmal essence, Soluble soybean polysaccharide, Nano SiO₂, Antimicrobial activity

* Corresponding Author E-Mail Address: ali_manafi2005@yahoo.com