

## مطالعه تاثیر نانوفیبر سلولز باکتریایی بر خواص فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان-نانونقره و تعیین غلظت بهینه آن با روش سطح پاسخ

هاله جعفری<sup>۱</sup>، میرخلیل پیروزی فرد<sup>۲\*</sup>، محمد علیزاده خالدآباد<sup>۳</sup> و هادی الماسی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۲/۰۶)

### چکیده

در این پژوهش اثر نانو ذرات نقره (AgNPs) در سطح ۱٪ وزنی و غلظت‌های مختلف نانوفیبر سلولز باکتریایی (BCNF) (۶-۱/۵٪ وزنی) بر روی خواص کششی (استحکام کششی (TS)، ازدیاد طول در نقطه شکست (EB) و مدول یانگ (YM))، نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)، حلالیت، تورم، خواص رنگی و ویژگی‌های ساختاری و حرارتی فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین مقدار بهینه نانو پرکننده BCNF از روش سطح پاسخ (RSM) تک عاملی استفاده گردید. هدف از بهینه سازی، به حداکثر رساندن TS، YM، EB، L در کنار کاهش WVP، حلالیت و تورم بود. نتایج نشان داد که افزودن AgNPs بر روی ویژگی‌های مکانیکی و رنگی فیلم‌های کیتوزان تاثیر منفی داشت. اما افزودن BCNF باعث بهبود ویژگی‌های فیلم‌های نانوکامپوزیت کیتوزان-نانونقره گردید. کمترین میزان WVP، حلالیت و تورم فیلم‌های نانوکامپوزیت به ترتیب در سطح ۶، ۴ و ۲٪ وزنی BCNF بود. با در نظر گرفتن تمامی پارامترهای فیزیکی و مکانیکی، مقدار بهینه محاسبه شده برای BCNF، ۴/۵۵٪ بود. تصاویر SEM نشان داد BCNF بطور یکنواخت در ماتریس پلیمر پخش شده است. آزمون DSC نیز نشان داد که با افزودن BCNF، خواص حرارتی فیلم کیتوزان بهبود می یابد.

کلید واژگان: فیلم کیتوزان، نانوکامپوزیت، نانوذرات نقره، نانوفیبر سلولز باکتریایی، بهینه سازی.

\* مسئول مکاتبات: k.pirouzifard@yahoo.com

## ۱- مقدمه

کیتین و کیتوزان (CS) از گروه پلی ساکاریدهای خطی متشکل از نسبت‌های مختلف واحدهای N-استیل-۲-آمینو-۲-دی اکسی-D-گلوکز (N استیل گلوکز آمین) و ۲-آمینو-۲-دی اکسی-D-گلوکز (N-گلوکز آمین) هستند که بوسیله پیوند (۴ → ۱)β بهم وصل شده اند. زمانی که تعداد واحدهای N-استیل-گلوکز آمین بالاتر از ۵۰٪ است، بیوپلیمر کیتین نامیده می‌شود. اما، هنگامی که تعداد واحدهای N-استیل-گلوکز آمین پایین تر است، از عنوان کیتوزان استفاده می‌گردد [۳-۱]. میزان تولید کیتین در سال بیش از ۱۰ میلیون تن تخمین زده می‌شود. اگر چه کیتین برای اولین بار در سال ۱۸۱۱ (در حدود ۳۰ سال زودتر از سلولز) از قارچ‌های *Braconnot* جدا شد اما برعکس سلولز تا مدت‌های طولانی بعنوان بیومس بدون استفاده باقی ماند [۱ و ۴]. کیتین و به خصوص کیتوزان به عنوان یک آمینو پلی ساکارید طبیعی که دارای ساختمان بی نظیر و خصوصیتی چند منظوره هستند به طور وسیعی در پزشکی و صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرند [۵].

اخیرا تلاش‌های بسیاری برای توسعه بسته بندی‌های نوین با هدف بهبود کیفیت و ایمنی صورت گرفته است. بویژه طراحی سیستم‌های فعال ضد میکروبی مورد توجه زیادی قرار گرفته است [۶]. کیتوزان بدلیل داشتن ویژگی‌هایی نظیر زیست سازگاری، زیست تجزیه پذیری، ویژگی ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی در کنار توانایی تولید فیلم، گزینه مناسبی برای بسته بندی مواد غذایی محسوب می‌شود. فیلم کیتوزان نسبت به آب نفوذپذیری متوسط و نسبت به اکسیژن بازدارندگی خوبی دارد. همچنین فیلم‌های کیتوزان محکم، انعطاف پذیر و شفاف و مقاوم به چربی هستند [۷].

به منظور تقویت و بهبود خواص فیلم زیست تخریب پذیر کیتوزان از تقویت کننده‌های مختلفی استفاده می‌شود. یک دسته از این مواد نانوپرکننده‌های بر پایه سلولز می‌باشد. سلولز باکتریایی (BC) که توسط باکتری‌های تولید کننده استیک اسید مانند *استوباکتریازایینوس*<sup>۱</sup> و *استوباکتر هانسنی*<sup>۲</sup> تولید می‌شود دارای همان فرمول مولکولی سلولز گیاهی است اما ساختار منحصر به فرد و شبکه متخلخل پیچیده سه بعدی دارد. بدلیل

ساختار منحصر به فرد، BC ویژگی‌های برجسته ای مانند خلوص بالا، درجه بالای پلیمریزاسیون (تا ۸۰۰۰)، تبلور زیاد (۷۰-۸۰٪) و پایداری مکانیکی بالایی دارد که کاملا متفاوت از سلولز گیاهی است [۸]. یکی دیگر از ویژگی‌های قابل توجه، داشتن نسبت بُعد بالا و فراوانی گروه‌های هیدروکسیل فعال هست که آن را برای ترکیب با نانوساختارهای مختلف بوسیله فراهم کردن برهمکنش قدرتمند بین BC با نانو ذرات غیر آلی و پلیمری مناسب می‌سازد [۹]. در طی سال‌های اخیر، نانوفیبر سلولز باکتریایی (BCNF) در تولید نانوکامپوزیت‌های پلیمری و بیوپلیمری مختلف مورد استفاده قرار گرفته است که نتایج آنها حاکی از بهبود خواص کاربردی فیلم‌ها در اثر افزودن BCNF می‌باشد [۱۴-۱۰].

بسته بندی ضد میکروبی یکی از امیدوار کننده ترین فن آوری های بسته بندی فعال مواد غذایی است که اغلب با اختلاط و یا تثبیت عوامل ضد میکروبی قوی به سیستم بسته بندی حاصل می‌شود. مهمترین هدف از بسته بندی ضد میکروبی عبارت است از دستیابی به غذاهای با کیفیت بالا، ایمنی و ماندگاری طولانی بوسیله کاهش، مهار و یا تعویق رشد میکروارگانیسم هایی که ممکن است در مواد غذایی بسته بندی شده و یا در خود مواد بسته بندی وجود داشته باشند بدون اینکه از مواد افزودنی زیادی در ترکیب ماده غذایی استفاده شود [۱۵].

مواد آلی و غیر آلی مختلفی به عنوان عوامل ضد میکروبی برای بسته بندی استفاده شده است. با این حال، مقاومت حرارتی پایین مواد آلی، استفاده گسترده آنها را در سیستم‌های بسته بندی مواد غذایی محدود می‌کند. در مقابل، نانو ذرات فلزی غیر آلی، مانند نانوذرات اکسید طلا، نقره، روی و مس، با ثبات تر بوده، همچنین دارای نسبت سطح به حجم بالا و واکنش پذیری سطحی افزایش یافته هستند [۱۶]. در نتیجه نانوذرات فلزی به طور گسترده ای در صنعت در طی دو دهه گذشته استفاده شده است. از میان نانوذرات فلزی، نانوذرات نقره (AgNPs) به دلیل داشتن اثر ضد میکروبی قابل توجه در برابر طیف گسترده‌ای از پاتوژن‌های منتقله از غذا، در بخش بسته بندی مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. AgNP در ترکیب فیلم‌های بیوپلیمری مختلف مورد استفاده قرار گرفته و تاثیر ضد میکروبی فیلم‌های حاصل، اثبات شده است [۲۱-۱۷].

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر غلظت BCNF بر روی ویژگی‌های فیزیکومکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیت CS-AgNP

1. *Acetobacter xylinus*  
2. *Acetobacter hansenii*

قطر ۷mm قرار داده شد. داخل ویال ۳g سولفات کلسیم قرار داده شد و درپوش آن بسته شد. ویالها بعد از توزین، درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع نمک پتاسیم سولفات (RH=۹۷٪) در دمای ۲۵°C قرار داده شدند. وزن ویالها هر ۳ ساعت یکبار بمدت ۲۴ ساعت اندازه گیری شد. منحنی تغییر وزن ویالها با گذشت زمان رسم شد و شیب خط با رگرسیون خطی محاسبه گردید. نرخ انتقال بخار آب (WVTR) از تقسیم شیب قسمت خطی منحنی بر مساحت منفذ درپوش ویال محاسبه شد. سپس WVP فیلم با استفاده از رابطه ۱ تعیین گردید:

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} \times L$$

L: ضخامت فیلم (m)

P: فشار بخار آب خالص در ۲۵°C (۳/۱۶۹ kPa)

R<sub>1</sub>: رطوبت نسبی در دسیکاتور (۹۷٪)

R<sub>2</sub>: رطوبت نسبی در داخل ویال (۰٪)

#### ۲-۴- اندازه گیری میزان حلالیت در آب (WS)

نمونه‌های فیلم در ابعاد ۲×۲cm تهیه شد و برای رسیدن به وزن خشک اولیه، به مدت ۶ ساعت در ۱۱۰°C قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از توزین (W1) در داخل ظروف دربدار حاوی ۵۰ ml آب مقطر غوطه ور شدند. ظروف درحالیکه به صورت مقطعی همزده می‌شدند، در دمای ۲۵°C به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفتند. سپس فیلم‌ها از داخل آب خارج و دوباره به مدت ۶ ساعت در ۱۱۰°C قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. با توزین دوباره نمونه‌ها، وزن خشک نهایی (W2) به دست آمد. درصد حلالیت در آب از رابطه ۲ محاسبه گردید:

$$\%WS = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

#### ۲-۵- اندازه گیری میزان تورم (swelling)

میزان تورم فیلم کیتوزان و نانوکامپوزیت‌های آن از طریق تعیین جذب آب توسط آنها مطابق با روش لاورنا و همکاران [۲۲] انجام گرفت. نمونه‌های فیلم به صورت قطعات کوچک (۲×۲cm) برش داده شده، به مدت یک شب در دسیکاتور گذاشته شدند. نمونه‌ها برای تعیین وزن خشک اولیه (W<sub>d</sub>) توزین شده و سپس در بشر حاوی ۵۰ ml آب مقطر به مدت ۳ ساعت قرار داده شدند. پس از گرفتن آب سطحی فیلم‌ها بوسیله کاغذ صافی،

و تعیین مقدار بهینه BCNF با استفاده از طرح آزمایشی سطح پاسخ (RSM) تک عاملی می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

پودر کیتوزان با وزن مولکولی متوسط و درجه استیل زدایی بالای ۷۵٪ از شرکت سیگما (آلمان) تهیه شد. محلول کلونیدی ppm ۴۰۰۰ نانو نقره با خلوص ۹۹/۹۹٪ و اندازه ذرات ۲۰nm از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (مشهد) خریداری شد. نانوفیبر سلولز باکتریایی بصورت ژل سفید با ماده خشک ۱/۳۳٪ از شرکت نانو نوین پلیمر (ساری) خریداری گردید. استیک اسید و گلیسرول از شرکت شارلو (اسپانیا) تهیه شد.

### ۲-۲- تهیه فیلم‌ها

برای تولید فیلم‌ها از روش ریخته گری استفاده گردید. محلول ۲٪ کیتوزان در استیک اسید ۱٪، در دمای ۹۰°C بمدت نیم ساعت هم زده شد. برای حذف ناخالصی‌ها و مواد نامحلول کیتوزان، از کاغذ صافی تحت خلاء استفاده گردید. بطور موازی، محلول AgNP (۱درصد وزن کیتوزان) و BCNF با غلظت مشخص (در چهار سطح ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶ درصد وزنی کیتوزان) مخلوط شده و بمدت ۲۰ دقیقه اولتراسوند گردید. مخلوط دو نانوذره بمدت ۴ ساعت در دمای اتاق هم زده شده و سپس به محلول آماده کیتوزان اضافه شد. محلول حاصل بمدت ۲ ساعت دیگر هم زده شد و بعد از افزایش دما تا ۵۰°C به میزان ۲۵٪ وزن کیتوزان، گلیسرول افزوده شد. یک ساعت در دمای اتاق هم زده شد و سپس بر روی پلیت‌های شیشه ای ریخته شده، فیلم‌ها بمدت ۷۲ ساعت در دمای محیط خشک شدند. به منظور تعدیل رطوبت، همه فیلم‌های تولید شده، قبل از انجام آزمون‌ها بمدت ۴۸ ساعت در دسیکاتور با رطوبت نسبی ۵۰٪ و دمای ۲۵°C نگهداری شدند.

### ۲-۳- اندازه گیری نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

اندازه‌گیری انتقال بخار آب از فیلم کیتوزان و نانوکامپوزیت‌های آن به صورت وزن سنجی با استفاده از روش استاندارد ASTM E96 با اصلاحات جزئی انجام گرفت. نمونه فیلم روی درپوش ویال شیشه ای (به قطر ۲ cm و ارتفاع ۵cm) دارای منفذی به

طیف FTIR فیلم کیتوزان و نانوکامپوزیت آن با استفاده از دستگاه طیف سنج (Nexus 670, USA) در محدوده عدد موجی  $4000-500\text{ cm}^{-1}$  و درتفکیک پذیری  $4\text{ cm}^{-1}$  مورد بررسی قرار گرفت. نمونه با KBr مخلوط شده و تحت فشار قرار گرفتند. در اثر فشار KBr ذوب شده و ترکیب مورد نظر را به صورت ماتریس درمی آورد. قرص KBr حاصل، در نگهدارنده دستگاه طیف سنج قرارداده شد و طیف عبوری آن ثبت گردید.

### ۲-۱۰- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

مورفولوژی سطح و سطح مقطع فیلم ها پس از آزمون خواص مکانیکی، توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (KYKY-EM3200) در ولتاژ شتاب دهنده از ۱۰ تا ۲۰ کیلو ولت، مورد بررسی قرار گرفت. قبل از مشاهده، سطح نمونه ها بوسیله لایه نازکی از طلا پوشش داده شدند.

### ۲-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از طرح سطح پاسخ تک عاملی برای مطالعه و مدل سازی تاثیرات BCNF استفاده گردید. مدل ها با روش حداقل مربعات برازش شد و کفایت برازش با ضریب تبیین اصلاح شده ارزیابی گردید. به منظور ارزیابی معنی دار بودن ضرایب مدل ها از آنالیز رگرسیون و توزیع فیشر در سطح معنی دار ۰/۰۵ استفاده شد. برای بهینه سازی چند منظوره<sup>۳</sup> پس از حصول مدل های مناسب از روش تابع مطلوبیت<sup>۴</sup> استفاده گردید.

### ۳- نتایج و بحث

فیلم ها با ضخامت متوسط  $0.136\text{ mm}$  تولید شدند. ویژگی های رنگی و خواص مکانیکی نانوکامپوزیت های CS-AgNP و CS-Ag-BCNF در جدول ۱ و ضرایب رگرسیون مدل ها در جدول ۲ آمده است. پارامتر  $L$  با مدل خطی<sup>۵</sup> و پاسخ های WVP، تورم،

نمونه ها توزین ( $W_s$ ) شدند و میزان تورم آنها با استفاده از رابطه<sup>۳</sup> محاسبه گردید:

$$\% \text{ تورم} = \frac{W_s}{W_d} \times 100$$

### ۲-۶- اندازه گیری خواص مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم ها با آنالیز استحکام کششی (TS)، مدول یانگ (YM) و درصد ازدیاد طول در نقطه شکست (EB) طبق استاندارد ASTM D882-91 اندازه گیری شد. نمونه های فیلم به صورت نوارهای با ابعاد  $1\text{ cm} \times 8\text{ cm}$  بریده شده و بین ۲ فک دستگاه آزمون مکانیکی (مدل H100K-S ساخت انگلستان) قرار داده شدند. فاصله اولیه بین دو فک  $50\text{ mm}$  و سرعت حرکت فک بالایی  $50\text{ mm/min}$  بود. برای هر فیلم، ۵ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت و مقادیر میانگین گزارش شد.

### ۲-۷- اندازه گیری خواص رنگی

رنگ سطحی فیلم ها با دستگاه رنگ سنج (Minolta, CR-400, Tokyo, Japan) اندازه گیری شد. نمونه ها بر روی صفحه سفید استاندارد قرار گرفته و میزان رنگ، با استفاده از پارامترهای هانتز بر حسب  $L$  (روشنایی)،  $a$  (قرمزی-سبزی) و  $b$  (زردی-آبی) بیان گردید. در مورد هر نمونه، ۵ نقطه (نقطه مرکزی و ۴ نقطه در اطراف) مورد اندازه گیری قرار گرفت و میانگین داده ها گزارش شد.

### ۲-۸- اندازه گیری خواص حرارتی

برای اندازه گیری خواص حرارتی فیلم ها از دستگاه DSC (مدل Netzsch 200 F3 ساخت آلمان) استفاده شد. کالیبراسیون دستگاه توسط ایندیوم و نقره صورت گرفت. ظرف آلومینیومی خالی به عنوان مرجع و ازت بعنوان اتمسفر مورد استفاده قرار گرفت. نمونه هایی با وزن تقریبی  $0.03\text{ گرم}$  با سرعت  $10^\circ\text{C/min}$  در گستره دمایی صفر تا  $200^\circ\text{C}$  حرارت داده شدند. از روی الگوی گرمایی بدست آمده، دمای ذوب ( $T_m$ )، دمای انتقال شیشه ای ( $T_g$ ) تعیین شد.

### ۲-۹- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه

(FT-IR)

3. Multi objective optimization  
4. Desirability  
5. linear model

Lack of fit بی معنی ( $P > 0.05$ ) و رگرسیون‌ها معنی دار ( $P < 0.01$ ) بودند و ضرایب  $R^2$  بالاتر از ۹۱٪ بود که نشان دهنده کفایت مدل‌های ارائه شده برای هر پاسخ می‌باشد.

$a$  و  $b$  و  $YM$  و  $EB$  با مدل کوادریاتیک برازش شدند و پارامترهای  $TS$  و حلالیت با مدل درجه سوم فیت شدند. همچنان که در جدول ۲ نشان داده شده، در همه مدل‌ها

**Table 1.** Experimental design and responses related to the color and mechanical properties of chitosan nanocomposite films

Run	BCNF (% W/W)	TS (MPa)	EB (%)	YM (MPa)	$L$	$a$	$b$
Control	0	21.98	23.09	435.76	83/71	-0.90	38.08
1	0	18.10	25.44	306.73	65.51	2.49	40.23
2	0	19.68	25.60	271.70	64.65	2.25	40.50
3	1.5	29.07	17.84	700.67	68.08	2.22	40.02
4	3	35.74	14.13	1003.00	73.44	1.45	39.14
5	4.5	36.09	12.28	954.00	72.25	1.47	38.60
6	6	50.10	11.66	1103.75	76.29	-0.15	32.75
7	6	51.29	10.45	1039.40	75.57	-0.14	34.05

کاهش  $WVP$  در اثر افزودن نانو فیبرهای سلولز به ماتریس پلیمرهای مختلف توسط محققین گزارش شده است [۲۶ و ۲۷]. علت افزایش  $WVP$  تا غلظت ۲٪ ممکن است بدلیل عدم امکان تشکیل شبکه در غلظت‌های پایین و کاهش یکپارچگی پلیمر باشد.

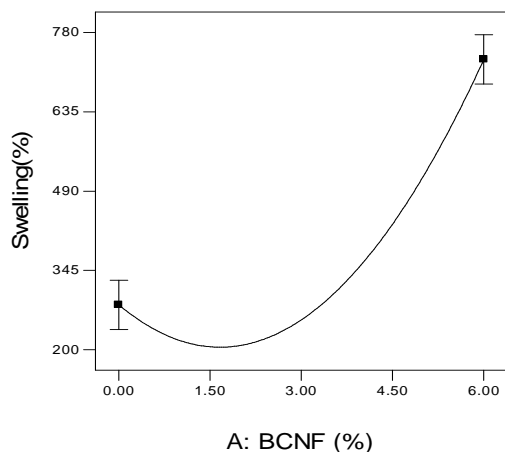
### ۳-۲- حلالیت

حلالیت در آب شاخصی برای سنجش مقاومت فیلم‌ها در برابر آب به شمار می‌رود. حلالیت در آب کیتوزان خالص ۲۷/۱٪ بود که در فیلم‌های نانوکامپوزیت  $CS/Ag$  مقدار آن اندکی افزایش یافت و به حدود ۲۸/۷٪ رسید. افزودن  $BCNF$  باعث کاهش حلالیت نانوکامپوزیت‌های حاصل شد (شکل ۲). کمترین حلالیت مربوط به فیلم‌های حاوی ۴٪  $BCNF$  می‌باشد. با افزایش غلظت  $BCNF$  مقدار حلالیت فیلم‌ها افزایش پیدا کرد. ایجاد برهمکنش بین مولکولی بیشتر در حضور  $BCNF$  باعث کاهش حلالیت فیلم می‌شود. افزایش حلالیت در غلظت‌های بالای  $BCNF$  احتمالاً به دلیل نفوذ و پخش شدن توده‌های خود نانوذرات  $BCNF$  در آب می‌باشد که به افزایش حلالیت فیلم منجر شده است.

### ۳-۱- نفوذ پذیری نسبت به بخار آب ( $WVP$ )

$WVP$  یکی از مهمترین ویژگی‌های بسته بندی مواد غذایی است. از آنجا که بخار آب از دیواره بسته پلیمر عبور می‌کند، می‌تواند در کیفیت محصول موثر باشد [۲۳]. مقدار  $WVP$  در فیلم خالص کیتوزان  $8/71 \times 10^{-11} \text{ g/m.s.Pa}$  بود که با افزودن نانوذرات نقره مقدار آن اندکی افزایش یافت و به حدود  $10^{-10} \text{ g/m.s.Pa}$  رسید. این افزایش می‌تواند به دلیل کاهش برهمکنش بین زنجیره ای در کیتوزان و تشکیل حفره در ساختار فیلم باشد. این نتایج با نتایج بدست آمده توسط سانچز-والدز و همکاران [۲۴] و یوکسان و چیراچانچی [۲۵] مطابقت دارد. همچنین آنالیز داده‌ها (شکل ۱) نشان داد که تغییر غلظت  $BCNF$  در بازه ۶-۰٪ تاثیر معنی داری بر روی  $WVP$  داشت. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است با افزایش غلظت  $BCNF$  تا حدود ۲٪،  $WVP$  افزایش یافته و پس از آن کاهش می‌یابد. بیشترین کاهش برای غلظت ۶٪ نانوفیبر بوده که در مقایسه با فیلم کیتوزان خالص کاهش ۲۳ درصدی را نشان می‌دهد. همچنین تصاویر  $SEM$  (شکل ۴) نشان می‌دهد که  $BCNF$  بخوبی در ماتریس کیتوزان پخش شده و با ایجاد یک مسیر زیگزاگی برای مولکول‌های بخار آب باعث کاهش  $WVP$  فیلم‌های نانوکامپوزیت شده است.

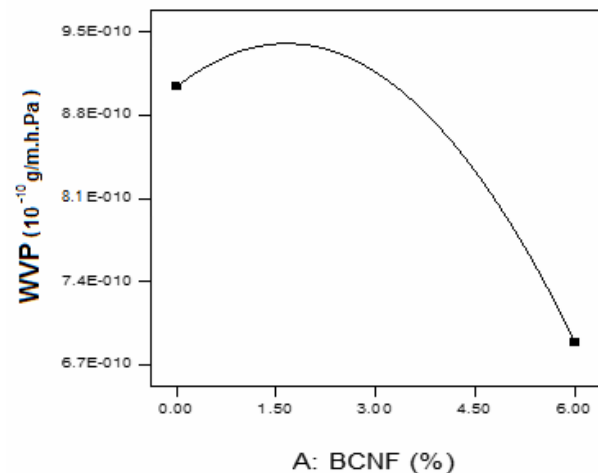
آب می‌شود. این گروه‌های آزاد در برخورد با آب پیوند هیدروژنی برقرار می‌کنند که منجر به افزایش وزن در کامپوزیت‌ها می‌شود. همچنین بدلیل اینکه BCNF نسبت به کیتوزان دارای ماهیت آبدوست‌تری می‌باشد، افزایش مقدار آن در فیلم باعث افزایش تورم می‌شود. نتایج حاصل با نتایج گائو و همکاران [۲۸] مطابقت داشت.



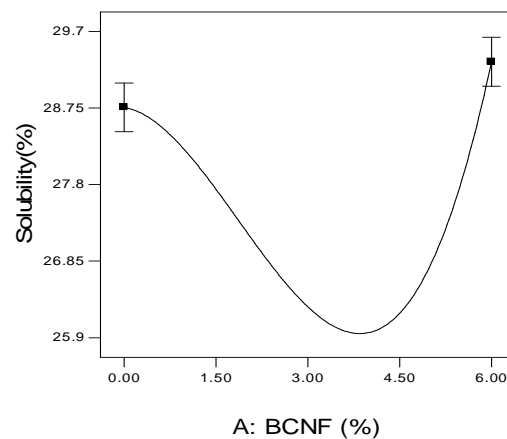
**Fig 3** Swelling of chitosan/AgNPs films as affected by CHNF concentration.

### ۳-۴- رنگ

رنگ و شفافیت فیلم‌های بسته بندی، نقش مهمی در ظاهر و مقبولیت آنها دارد. معمولاً در بسته بندی اکثر مواد غذایی ترجیح داده می‌شود که پلیمر مورد استفاده بی‌رنگ و کاملاً شفاف بوده و نمایانگر ویژگی‌های ظاهری محصول بسته بندی شده باشد. شاخص های رنگ فیلم‌های کیتوزان و نانوکامپوزیت‌های آن در جدول ۱ آمده است. در فیلم‌های نانوکامپوزیت CS-Ag نسبت به فیلم کیتوزان خالص مقدار  $L$  کاهش پیدا کرده و مقادیر  $a$  و  $b$  افزایش یافته است. در فیلم‌های نانوکامپوزیت CS-Ag-BCNF در مقایسه با فیلم‌های CS-Ag، با افزایش مقدار درصد BCNF شاخص  $L$  روند افزایشی و  $a$  و  $b$  روند کاهشی پیدا می‌کند. بیشترین مقدار  $L$  مربوط به فیلم‌های نانوکامپوزیت محتوی ۶٪ BCNF بود. این امر نشان می‌دهد که BCNF قادر است تاثیر منفی AgNPs بر روی خواص رنگی فیلم کیتوزان را کاهش دهد.



**Fig 1** WVP of chitosan/AgNPs films as affected by BCNF concentration



**Fig 2** Water solubility of chitosan/AgNPs films as affected by BCNF concentration.

### ۳-۳- درصد تورم

شکل ۳ تاثیر غلظت‌های مختلف BCNF را بر روی درصد جذب آب فیلم‌های نانوکامپوزیت کیتوزان نشان می‌دهد. میزان تورم فیلم خالص کیتوزان ۲۱۲/۵٪ بود که با افزودن مقدار تورم افزایش یافته و به حدود ۲۷۰٪ رسید. افزودن BCNF تا غلظت حدود ۲٪ باعث کاهش تورم و از ۲-۶٪ باعث افزایش تورم در فیلم‌های نانوکامپوزیت کیتوزان شد. علت افزایش تورم در غلظت‌های بالای BCNF را می‌توان بوسیله برهمکنش سلولز-آب توضیح داد. با افزایش مقدار BCNF در فیلم‌ها تعداد گروه‌های OH آزاد افزایش یافته و بنابراین باعث افزایش جذب

**Table 2** Estimated regression coefficients for the responses

	WVP (g/m.s.Pa)	Solubility (%)	Swelling (%)	L	a	b	TS (MPa)	EB (%)	YM (MPa)
Constant	$9.16 \times 10^{-10}$	26.28	254.64	70.82	1.78	39.65	33.71	14.05	936.90
BCNF	-1.10**	-2.15**	224.22***	5.29***	-1.20***	-3.25***	4.06	-7.05***	375.86***
[BCNF] <sup>2</sup>	-1.20**	2.76***	251.74**	-	-0.64*	-2.73**	0.92	4.23**	-262.02***
[BCNF] <sup>3</sup>	-	2.43**	-	-	-	-	11.84*	-	-
R <sup>2</sup>	0.91	0.99	0.98	0.93	0.95	0.95	0.99	0.99	0.96
Regression									
F ratio	19.28	99.24	135.8	66.53	39.28	34.71	104.96	245.57	73.87
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Lack of fit									
F ratio	6.47	0.064	3.37	9.35	11.36	2.71	8.10	1.68	6.27
P	0.13	0.82	0.23	0.10	0.08	0.27	0.10	0.37	0.14

\* Significant at 5% level.

\*\* Significant at 1% level.

\*\*\* Significant at 0.1% level

با افزودن نانوقره دمای ذوب نیز تغییر قابل توجهی نداشت اما در حضور BCNF، دمای ذوب بیشتر شد و فیلم حاوی ۰.۶٪ BCNF، بالاترین دمای ذوب را نشان داد (۱۷۴/۰ °C). این پدیده را می‌توان به برهمکنش‌های بین سطحی قوی بین کیتوزان و BCNF و در نتیجه تشکیل نواحی بلورین متراکم و چگال در ماتریس بیوپلیمر نسبت داد. نتایج آزمون DSC نشان داد که تأثیر BCNF بر روی خواص حرارتی کیتوزان بیشتر از نانوذرات نقره می‌باشد که این امر را می‌توان به خواص مورفولوژیکی این دو ترکیب نسبت داد چرا که BCNF نسبت منظر بالاتری داشته و همچنین سازگاری آن با کیتوزان بیشتر است و به همین دلیل تأثیر بیشتری بر روی بهبود خواص حرارتی کیتوزان دارد.

### ۳-۵- خواص حرارتی

مقادیر دمای انتقال شیشه‌ای در نقطه میانی ( $T_g$ ) و دمای ذوب ( $T_m$ )، فیلم‌های نانوکامپوزیت در جدول ۳ آورده شده است. فیلم خالص کیتوزان انتقال شیشه‌ای در دمای ۷۵/۵۴ °C نشان داد که با یافته‌های بیگ زاده و همکاران [۲۹] مطابقت دارد. افزودن ۱/۵٪ نانوقره، تأثیر قابل توجهی بر روی دمای  $T_g$  نداشت اما BCNF بطور چشمگیری دمای انتقال شیشه‌ای را تحت تأثیر قرار داد. با افزایش میزان نانوفیبر سلولز باکتریایی، دمای  $T_g$  بیشتر شد که نشان دهنده تأثیر مطلوب این نانوپرنکننده بر نواحی آمورف کیتوزان و کاهش تحرک زنجیرها در این نواحی می‌باشد.

**Table 3** Thermal properties of chitosan films containing AgNP and BCNF

Material	$T_g$ (°C)	$T_m$ (°C)
CS	75.54	163.23
CS/Ag	76.77	161.11
CS/Ag/BCNF-1.5%	89.21	169.45
CS/Ag/BCNF-6%	93.13	174.00

### ۳-۶- خواص مکانیکی

استحکام کششی و کشش پذیری از پارامترهای مهم فیلم‌ها هستند که می‌تواند بعنوان شاخصی از فیلم برای حفظ یکپارچگی و مقاومت فیلم در برابر استرس‌های محیطی در طی کاربردهای بسته بندی بکار رود [۳۰]. ویژگی‌های مکانیکی حاصل از آزمون کشش فیلم کیتوزان و نانوکامپوزیت‌های آن در جدول ۱ نشان داده شده است. افزودن AgNP در سطح ۱٪ باعث کاهش

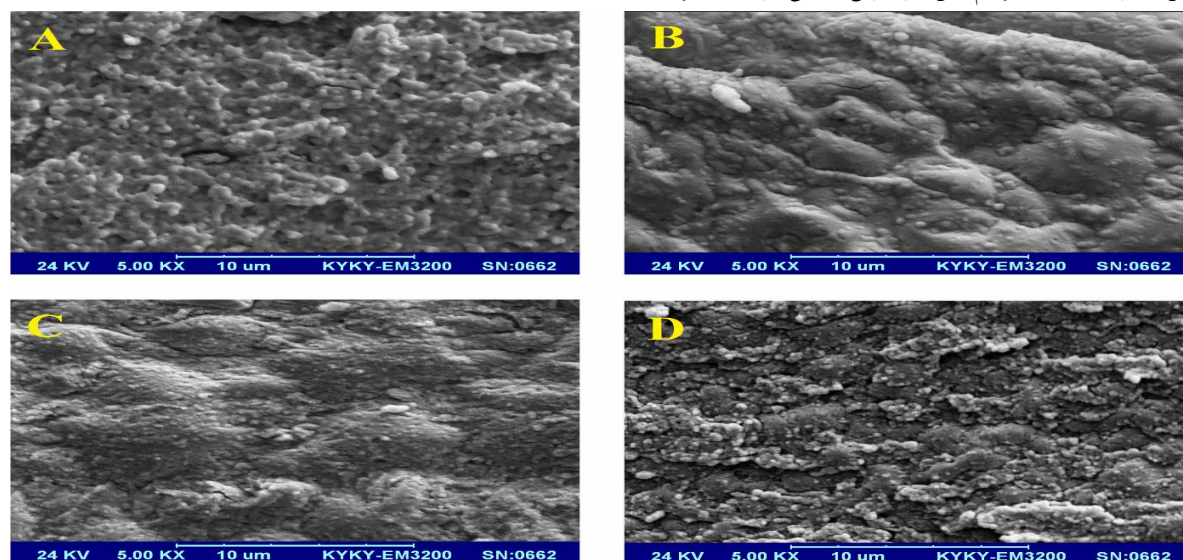
استحکام کششی و مدول یانگ و کاهش ازدیاد طول در نقطه شکست فیلم‌های نانوکامپوزیت CS-AgNP شد. کاهش استحکام کششی در این نانوکامپوزیت می‌تواند در اثر کاهش برهمکنش بین زنجیرهای کیتوزان به دلیل افزودن نانو ذرات نقره باشد. نتایج مشابهی در مورد افزودن نانو ذرات نقره به ماتریس پلیمر ژلاتین گزارش شده است [۳۱]. این امر نشان دهنده سازگاری پایین نانوذرات نقره با فیلم کیتوزان می‌باشد.

خلل و فرج در ساختار آن بسیار کم است (شکل 4-A). این امر نشان دهنده آرایش بین مولکولی منظم بین رشته های کیتوزان است که آزمون XRD نیز وجود ماهیت نیمه بلورین در کیتوزان را تأیید نمود. شکل 4-B سطح شکست فیلم حاوی AgNPs را نشان می دهد. نقاط و برجستگی های موجود در بستر فیلم را می توان به نانوذرات نقره نسبت داد. همانطور که مشخص است، این نقاط بطور کاملاً یکنواخت در داخل شبکه فیلم پخش شده اند که نشان دهنده سازگاری سوسپانسیون نانونقره با محلول فیلم کیتوزان می باشد. شکل 4-C و D نیز تصاویر فیلم های CS-AgNP-BCNF حاوی ۱/۵٪ (C) و ۴/۵٪ (D) BCNF را نشان می دهد. افزایش زبری و میزان ناهموازی ها با افزودن نانوفیبر سلولز کاملاً مشهود است. با این وجود، BCNF نیز بصورت کاملاً یکنواخت در بستر بیوپلیمر پخش شده است. با افزایش غلظت BCNF تا ۴/۵٪، میزان اتصالات بیشتری بین رشته های BCNF مشاهده می شود. اما همین توده های ریز تشکیل شده نیز بطور کاملاً یکنواخت در ماتریکس فیلم پخش شده اند. سازگاری نسبتاً خوب BCNF با کیتوزان، موجب پخش یکنواخت آن در شبکه فیلم کیتوزان، ایجاد برهمکنش های بین مولکولی بیشتر و در نتیجه کاهش احتمال توده شدن نانوفیبرها می شود. به نحوی که در داخل بستر فیلم، نمی توان دو فاز مجزا مربوط به بیوپلیمر و نانوفیبرها را تشخیص داد.

BCNF باعث افزایش استحکام کششی و مدول یانگ و کاهش ازدیاد طول در نقطه شکست فیلمها شد. بیشترین مقدار TS و YM مربوط به فیلمهای حاوی ۶٪ BCNF می باشد که به ترتیب ۲/۳ و ۲/۵ برابر مقدار آن در فیلم کیتوزان خالص بود. اما با افزایش غلظت BCNF انعطاف پذیری فیلمهای حاصل کاهش پیدا کرد. بیشترین مقدار کاهش مربوط به فیلمهای حاوی ۶٪ BCNF می باشد که کاهش حدود ۲۲۰٪ را نشان داد. کاهش در مقدار EB فیلمهای نانوکامپوزیت ممکن است به دلیل افزایش پیوندهای بین رشته ای و در نتیجه محدود شدن تحرک رشته های پلیمر باشد [۳۲]. افزایش استحکام و مدول نانوکامپوزیتها نشان دهنده پخش یکنواخت فیبرها در ماتریس پلیمر و برهمکنش های چسبندگی خوب بین فیبر و پلیمر می باشد [۳۳]. این نتایج را می توان با مورفولوژی ذاتی BC، شبکه نانوفیبری آن و تشابه ساختار دو پلی ساکارید کیتوزان و سلولز توجیه نمود. بهبود ویژگی های مکانیکی با افزودن BCNF (یا سایر نانو تقویت کننده های سلولزی) به ماتریس پلیمرهای مختلف گزارش شده است [۱۱، ۳۴، ۳۵، ۳۶ و ۳۷].

### ۳-۷- میکروسکوپ SEM

شکل ۴ تصاویر SEM از سطح مقطع فیلم خالص کیتوزان و فیلم های نانوکامپوزیت را نشان می دهد. مشخص است که فیلم خالص کیتوزان دارای تراکم بین مولکولی بالایی بوده و میزان



**Fig 4** SEM of cross sections of films from chitosan and chitosan-based nanocomposites: (A) neat chitosan; (B) chitosan/AgNP; (C) chitosan/Ag/BCNF-1.5% and (D) chitosan/Ag/BCNF-4.5%.



شود. این امر نیز نشان دهنده ایجاد پیوندهای جدید در حضور BCNF می‌باشد و نشان دهنده سازگاری نانو تقویت کننده انتخاب شده با بیوپلیمر کیتوزان است.

### ۳-۹- بهینه سازی و مطلوبیت<sup>۶</sup>

باتوجه به اینکه پاسخهای مورد نظر در بهینه سازی، بطور مناسبی برازش شده بودند ( $R^2$  بالا)، روش تابع مطلوبیت در بهینه سازی چند منظور بکار گرفته شد. مقدار تابع مطلوبیت برای تک تک پاسخها با روش عددی برآورد شد و مقدار تابع مطلوبیت بصورت میانگین هندسی تابعهای مطلوبیت پاسخها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$D = \left( \prod_{i=1}^n d_i \right)^{1/n}$$

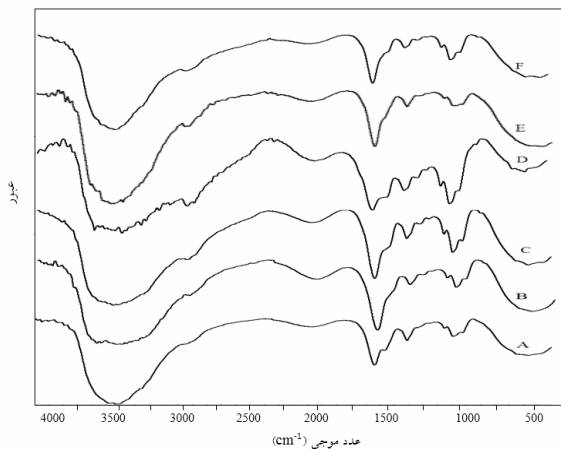
نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آمار که منجر به یافتن مقدار بهینه BCNF براساس پاسخهای فیزیکی و مکانیکی فیلمها گردید در جدول ۴ ارائه شده است. براساس نتایج به دست آمده مقدار بهینه نانو فیبر سلولز باکتریایی ۴/۵۵٪ تعیین شد که مطلوبیت مرکب ۶۰٪ را در پی داشت.

### ۴- نتیجه گیری

فیلمهای بیونانوکامپوزیت در مقایسه با فیلمهای سنتزی با منشأ نفتی دارای ۳ ایراد عمده می‌باشند: خواص مکانیکی ضعیف، نفوذپذیری بالا نسبت به بخار آب و مقاومت کم نسبت به آب. در این مطالعه برای بهبود ویژگیهای فیزیکی و مکانیکی فیلمهای فعال CS-AgNPs از BCNF استفاده گردید و مقدار بهینه آن با استفاده از روش تابع مطلوبیت تعیین شد. خواص فیلمهای BCNF متراژ CS-AgNPs-CHNF و مقدار BCNF بود. در کل، افزودن ۱٪ AgNPs به فیلمهای کیتوزان تاثیر منفی بر روی ویژگیهای فیزیکی مکانیکی فیلمها داشت. مقدار BCNF بر روی حلالیت، تورم،  $L$ ،  $TS$  و  $YM$  تاثیر مثبت داشت اما تاثیر آن بر روی  $WVP$ ،  $a$  و  $b$  و  $EB$  منفی بود.

### ۳-۸- FTIR

طیف سنجی FTIR اغلب به عنوان یک ابزار مناسب جهت تعیین گروههای عاملی خاص و یا پیوندهای شیمیایی که در یک ماده وجود دارد، مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۸]. نتایج طیف سنجی مادون قرمز فیلم کیتوزان و نانوکامپوزیت‌های آن در شکل ۵ نشان داده شده است. پیکهای بین عدد موجی  $3300-3600 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به باندهای کششی OH است که با باندهای کششی NH همپوشانی کرده است. باند ظاهر شده در  $1636 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش گروههای کربونیل CO و باند  $1568 \text{ cm}^{-1}$  را می‌توان به گروههای آمید II، نسبت داد. باند  $1410 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش خمشی گروه OH، پیک  $1150 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به کشش نامتقارن پل C-O-C و باند جذبی در  $1018$  و  $1091 \text{ cm}^{-1}$  را می‌توان به ارتعاشات اسکلتی کششی C-O نسبت داد [۳۹، ۴۰، ۴۱ و ۴۲]. در طیف مربوط به فیلم نانوکامپوزیت CS/Ag حذف شانه موجود در  $1568 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوند خمشی NH نشان دهنده برهمکنش ایجادشده بین کیتوزان و AgNP می‌باشد.



**Fig 5** FT-IR analysis of neat chitosan (A); chitosan/Ag/BCNF-1.5% (B); chitosan/Ag/BCNF-3%; chitosan/Ag/BCNF-4.5% and chitosan/Ag/BCNF-6%.

در طیفهای مربوط به CS/Ag/BCNF با افزایش غلظت BCNF در ماتریس پلیمر، غلظت پیوندهای هیدروژنی افزایش پیدا کرده و باعث پهن‌تر شدن پیک ناحیه  $3500-3000 \text{ cm}^{-1}$  می‌شود. همچنین شانه موجود در  $1568 \text{ cm}^{-1}$  ضعیفتر شده و با پیک گروه کربونیل آمیدی همپوشانی کرده و دیده نمی‌شود.

6. Desirability

7. Combined desirability

- & Ribeiro, S. J., 2011. Bacterial cellulose/poly (3-hydroxybutyrate) composite membranes. *Carbohydrate Polymers*, 83(3), 1279-1284.
- [9] Huang, J., & Gu, Y., 2011. Self-assembly of various guest substrates in natural cellulose substances to functional nanostructured materials. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16(6), 470-481.
- [10] George, J., Kumar, R., Sajeevkumar, V. A., Ramana, K. V., Rajamanickam, R., Abhishek, V., & Nadasabapathy, S., 2014. Hybrid HPMC nanocomposites containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, 105, 285-292.
- [11] Fernandes, S. C., Oliveira, L., Freire, C. S., Silvestre, A. J., Neto, C. P., Gandini, A., & Desbrières, J., 2009. Novel transparent nanocomposite films based on chitosan and bacterial cellulose. *Green Chemistry*, 11(12), 2023-2029.
- [12] Figueiredo, A. G., Figueiredo, A. R., Alonso-Varona, A., Fernandes, S., Palomares, T., Rubio-Azpeitia, E., & Freire, C. S., 2013. Biocompatible Bacterial Cellulose-Poly (2-hydroxyethyl methacrylate) Nanocomposite Films. *BioMed research international*, 2013.
- [13] Qiao, K., Zheng, Y., Guo, S., Tan, J., Chen, X., Li, J. & Wang, J., 2015. Hydrophilic nanofiber of bacterial cellulose guided the changes in the micro-structure and mechanical properties of nf-BC/PVA composites hydrogels. *Composites Science and Technology*, 118, 47-54.
- [14] Zhijiang, C., & Guang, Y., 2011. Optical nanocomposites prepared by incorporating bacterial cellulose nanofibrils into poly (3-hydroxybutyrate). *Materials Letters*, 65(2), 182-184.
- [15] Appendini, P., Hotchkiss, J.H., 2002. Review of Antimicrobial Food Packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 3:113.
- [16] Llorens, A., Lloret, E., Picouet, P. A., Trbojevich, R., & Fernandez, A. (2012). Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 24(1), 19-29.
- [17] Islam, Md. S., Islam Md, A. M., Sarker, M., Karim, M. M., Masum, S., & Md Yeum, J. H., 2011. Fabrication of pllulan/silver nanoparticle

**Table 4** Optimization of CS/Ag/BCNF nanocomposite films based on physicochemical properties

Factor	Goal	Optimized value
BCNF (%)	Min	4.55
WVP (g/m.s.Pa)	Min	$8.34 \times 10^{-10}$
Solubility (%)	Min	26.19
Swelling (%)	Min	427.65
<i>L</i>	Max	73.45
<i>a</i>	Min	1.03
<i>b</i>	Min	37.37
TS (MPa)	Max	39.69
EB (%)	Max	11.54
YM (MPa)	Max	1058.84

#### ۵- منابع

- [1] Kurita, K., 2006. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine Biotechnology*, 8(3), 203-226.
- [2] Khor, E., & Lim, L. Y., 2003. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 24(13), 2339-2349.
- [3] Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7), 603-632.
- [4] Muzzarelli, R. A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., DeMarchis, M., & Paoletti, M. G., 2012. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 995-1012.
- [5] Mourya, V. K., & Inamdar, N. N., 2008. Chitosan-modifications and applications: opportunities galore. *Reactive and Functional polymers*, 68(6), 1013-1051.
- [6] Balasubramanian, A. I. S. H. W. A. R. Y. A., Rosenberg, L. E., Yam, K., & Chikindas, M. L., 2009. Antimicrobial packaging: potential vs. reality—a review. *J Appl Pack Res*, 3(4), 193-221.
- [7] Fernandez, Saiz, P., 2012. Chitosan and Chitosan Blends as Antimicrobials. *Antimicrobial Polymers*, 71-99.
- [8] Barud, H. S., Souza, J. L., Santos, D. B., Crespi, M. S., Ribeiro, C. A., Messaddeq, Y.,

- Materials Science and Engineering: C*, 30(6), 891-897.
- [26] Azeredo, H., Mattoso, L. H. C., Avena-Bustillos, R. J., Munford, M. L., Wood, D., & McHugh, T. H., 2010. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. *Journal of Food Science*, 75(1), N1-N7.
- [27] George, J., 2012. High performance edible nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2031-2037.
- [28] Gao, C., Wan, Y., He, F., Liang, H., Luo, H., & Han, J., 2011. Mechanical, moisture absorption, and photo degradation behaviors of bacterial cellulose nanofiber, reinforced unsaturated polyester composites. *Advances in Polymer Technology*, 30(4), 249-256.
- [29] Beigzadeh Ghelejlou, S., Esmaili, M., & Almasi, H., 2016. Characterization of chitosan-nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 613-621.
- [30] Yang, L., & Paulson, A. T., 2000. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. *Food Research International*, 33(7), 571-578.
- [31] Kanmani, P., & Rhim, J. W., 2014. Physicochemical properties of gelatin/silver nanoparticle antimicrobial composite films. *Food chemistry*, 148, 162-169.
- [32] Lu, Y., Weng, L., & Cao, X., 2005. Biocomposites of plasticized starch reinforced with cellulose crystallites from cottonseed linter. *Macromolecular Bioscience*, 5(11), 1101-1107.
- [33] Gardner, D. J., Oporto, G. S., Mills, R., & Samir, M. A. S. A., 2008. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 22(5-6), 545-567.
- [34] Wan, Y. Z., Luo, H., He, F., Liang, H., Huang, Y., & Li, X. L., 2009. Mechanical, moisture absorption, and biodegradation behaviours of bacterial cellulose fibre-reinforced starch biocomposites. *Composites Science and Technology*, 69(7), 1212-1217.
- [35] Oun, A. A., & Rhim, J. W., 2015. Preparation and characterization of sodium carboxymethyl cellulose/cotton linter cellulose composite nanospheres using electrospray technique for antibacterial applications. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 11, 59-69.
- [18] Yang, G., Xie, J., Deng, Y., Bian, Y., & Hong, F., 2012. Hydrothermal synthesis of bacterial cellulose/AgNPs composite: A green route for antibacterial application. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2482-2487.
- [19] Maity, D., Mollick, M. M. R., Mondal, D., Bhowmick, B., Bain, M. K., Bankura, K., & Chattopadhyay, D., 2012. Synthesis of methylcellulose-silver nanocomposite and investigation of mechanical and antimicrobial properties. *Carbohydrate polymers*, 90(4), 1818-1825.
- [20] Fortunati, E., Peltzer, M., Armentano, I., Jiménez, A., & Kenny, J. M., 2013. Combined effects of cellulose nanocrystals and silver nanoparticles on the barrier and migration properties of PLA nano-biocomposites. *Journal of Food Engineering*, 118(1), 117-124.
- [21] Park, S. H., Ko, Y. S., Park, S. J., Lee, J. S., Cho, J., Baek, K. Y., & Lee, J. H., 2016. Immobilization of silver nanoparticle-decorated silica particles on polyamide thin film composite membranes for antibacterial properties. *Journal of Membrane Science*, 499, 80-91.
- [22] Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., & Buonocore, G. G., 2010. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 291-298.
- [23] Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., & Sharma, A., 2012. Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290-297.
- [24] Sánchez-Valdes, S., Ortega-Ortiz, H., Ramos-de Valle, L. F., Medellín-Rodríguez, F. J., & Guedea-Miranda, R., 2009. Mechanical and antimicrobial properties of multilayer films with a polyethylene/silver nanocomposite layer. *Journal of applied polymer science*, 111(2), 953-962.
- [25] Yoksan, R., & Chirachanchai, S., 2010. Silver nanoparticle-loaded chitosan-starch based films: Fabrication and evaluation of tensile, barrier and antimicrobial properties.

- Vázquez-Lepe, M., Kovalenko, Y., & Luna-Bárceñas, G., 2015. Chitosan/silver nanocomposites: Synergistic antibacterial action of silver nanoparticles and silver ions. *European Polymer Journal*, 67, 242-251.
- [41] Feng, F., Liu, Y., Zhao, B., & Hu, K., 2012. Characterization of half N-acetylated chitosan powders and films. *Procedia Engineering*, 27, 718-732.
- [42] Das, S., Das, M. P., & Das, J., 2013. Fabrication of porous chitosan/silver nanocomposite film and its bactericidal efficacy against multi-drug resistant (MDR) clinical isolates. *Journal of Pharmacy Research*, 6(1), 11-15.
- nanofibril composite films. *Carbohydrate polymers*, 127, 101-109.
- [36] Wu, T., Farnood, R., O'Kelly, K., & Chen, B., 2014. Mechanical behavior of transparent nanofibrillar cellulose–chitosan nanocomposite films in dry and wet conditions. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 32, 279-286.
- [37] Yudianti, R., & Karina, M., 2012. Development of nanocomposites from bacterial cellulose and poly (vinyl alcohol) using casting-drying method. *Procedia Chemistry*, 4, 73-79.
- [38] Phisalaphong, M., & Jatupaiboon, N., 2008. Biosynthesis and characterization of bacteria cellulose–chitosan film. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 482-488.
- [39] Azeez, A. A., Rhee, K. Y., Park, S. J., Kim, H. J., & Jung, D. H., 2013. Application of cryomilling to enhance material properties of carbon nanotube reinforced chitosan nanocomposites. *Composites Part B: Engineering*, 50, 127-134.
- [40] Kumar-Krishnan, S., Prokhorov, E., Hernández-Iturriaga, M., Mota-Morales, J. D.,

## Studying of the effect of bacterial cellulose nanofiber on the properties of chitosan-nanosilver nanocomposite film and determination of its optimum concentration by surface response method

Hale Jafari<sup>1</sup>, MirKhalil Pirouzi<sup>\*2</sup>, Mohammad Alizadeh Khaledabad<sup>3</sup>, Hadi Almasi<sup>2</sup>

1. Ph.D student of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2. Assistant Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
3. Associate Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

(Received: 2015/12/26 Accepted: 2016/04/25)

In this study, the effects of silver nanoparticles (AgNPs) at 1% wt and different concentrations of bacterial cellulose nanofiber (BCNF) (1.5-6% wt) on tensile properties (tensile strength -TS, elongation at break-EB, and Young's modulus -YM), water vapor permeability (WVP), solubility, swelling, color properties and structural characteristics of chitosan nanocomposite films were studied. Response surface methodology (RSM) was used to determine the optimum amount of BCNF nanofiller. The optimization was based on maximizing TS, YM, EB, L\*and decreasing WVP, solubility and swelling. The results showed that the AgNPs had a negative effect on mechanical and color properties of chitosan films. But incorporation of BCNF in the films improved their mechanical and barrier properties significantly. Lowest WVP, solubility and swelling of nanocomposite films was respectively for 6, 4 and 2%wt of BCNF content. Considering all physical and mechanical parameters, the optimal value calculated for BCNF, was 4.55%. SEM images showed BCNF uniformly distributed in the polymer matrix. DSC analysis confirmed that the addition of BCNF causes to improve the thermal properties of chitosan film.

**Keywords:** Chitosan film; nanocomposite; silver nanoparticles; bacterial cellulose nanofiber; optimization.