



## بررسی ویژگی های ضد میکروبی و ایزوترم جذب تعادلی رطوبت بایونانو کامپوزیت نشاسته کاساوا/نانو دی اکسید تیتانیوم/اسانس نعنا فلفلی

سیمین نوریان<sup>۱</sup>، عبدالرضامحمدی نافچی<sup>۲\*</sup>، مرضیه بلندی<sup>۳</sup>، مریم جوکار<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۲- دانشیار دانشگاه USM مالزی

۳- دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۴- استادیار دانشگاه تکنیکال دانمارک

### اطلاعات مقاله

### چکیده

تاریخ های مقاله:

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۲۶

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۸/۲۷

کلمات کلیدی:

بایونانو کامپوزیت،

نشاسته کاساوا،

نانوذرات دی اکسید تیتانیوم،

نعناع فلفلی.

DOI: 10.52547/fsct.18.02.17

\*مستول مکاتبات:

amohammadi@usm.my

هدف از این تحقیق، بررسی اثر ترکیبی نانودی اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub>-N) و اسانس نعناع فلفلی بر ایزوترم جذب رطوبت تعادلی رطوبت فیلم نشاسته کاساوا و اثر آن فیلم بر معادله رشد میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس بود. برای این منظور، فیلم بایوکامپوزیتی نشاسته کاساوا، با افزودن ۱، ۳ و ۵ درصد TiO<sub>2</sub>-N، ۱، ۲ و ۳ درصد اسانس نعناع فلفلی و گلیسرول (به عنوان پلاستی ساینر) توسط روش قالب گیری (کاستینگ) تهیه شد. ایزوترم جذب رطوبت تعادلی و فعالیت ضدباکتریایی فیلم های نانوبایوکامپوزیتی تولید شده در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد که با افزودن نانوذرات و اسانس به بایوکامپوزیت های نشاسته ای، ایزوترم جذب رطوبت تعادلی به سمت محتوای رطوبت پایین تر جابه جا شد. نتایج آزمون های میکروبی بیان کرد که فیلم نشاسته کاساوا خالص (شاهد) فاقد فعالیت ضدباکتریایی در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس بود و افزایش غلظت نانوذرات و اسانس نعناع فلفلی در فیلم های نشاسته ای منجر به افزایش معنی دار فعالیت ضدباکتریایی گردید ( $p < 0.05$ ). با این حال، فعالیت ضدباکتریایی TiO<sub>2</sub>-N بالاتر از اسانس نعناع فلفلی بود. افزودن TiO<sub>2</sub>-N و اسانس نعناع، فاز تأخیری در منحنی رشد میکروبی را افزایش و فاز لگاریتمی را کاهش داد. در نهایت، بر طبق نتایج حاصله در این تحقیق می توان نتیجه گرفت که تلفیق ترکیب TiO<sub>2</sub>-N و اسانس نعناع فلفلی سبب بهبود فعالیت ضدباکتریایی بایوکامپوزیت های برپایه نشاسته کاساوا در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس گردید و از این فیلم های بایونانو کامپوزیتی می توان جهت بسته بندی و توسعه دوره ماندگاری محصولات غذایی استفاده نمود.

## ۱- مقدمه

سبزیجات و میوه های تازه جزء مواد غذایی ضروری در رژیم غذایی انسان می باشند و امروزه به خوبی ثابت شده است که این مواد در دهه های اخیر گرایش مصرف کنندگان به محصولات غذایی با کیفیت بهتر، تازه تر و نیز با دسترسی آسان تر رو به فزونی نهاده است. در این بین صنعت بسته بندی با به کارگیری مواد و روش های بسته بندی نوین و مناسب نقش مهمی در کاهش ضایعات مواد غذایی و نیز تولید محصولات سالم تر ایفاء نموده است. توسعه ی روز افزون صنایع پتروشیمی و پیشرفت سریع تکنولوژی های مربوط به تولید پلاستیک های صنعتی موجب کاربرد هر چه بیشتر پلیمرهای نفتی در صنایع بسته بندی و به خصوص بسته بندی های ویژه ی مواد غذایی شده است. دلیل این امر دسترسی آسان به ماده ی اولیه، هزینه ی نسبتاً پایین، ویژگی های مکانیکی مطلوب و بازدارندگی خوب می باشد [۱ و ۲]. سالانه در دنیا بیش از ۱۵۰ میلیون تن پلاستیک های سنتزی از مشتقات نفتی تولید می شوند. این محصولات دارای ماهیت آب گریزی هستند و در نتیجه یکی از بزرگترین مشکلات این مواد، زیست تخریب ناپذیری آنها می باشد [۳].

نگرانی در مورد آلودگی های محیط زیست توسط پلیمرهای سنتزی و تجزیه ناپذیر و همچنین تقاضای مصرف کنندگان برای محصولات غذایی با کیفیت بالا، پژوهشگران را به تحقیق بر روی امکان استفاده از پلیمرهای طبیعی زیست تخریب پذیر در تولید مواد بسته بندی وا داشته است و باعث توسعه مواد بسته بندی زیست تخریب پذیر مانند فیلم های خوراکی شده است. اگرچه جایگزینی کامل این مواد با پلیمرهای سنتزی تقریباً غیرممکن است، ولی می توان برای مواردی نظیر بسته بندی مواد غذایی حتی الامکان از پلیمرهای زیست تخریب پذیر استفاده نمود [۳]. جایگزینی پلیمرهای نفتی با پلیمرهای زیست تخریب پذیر باعث آسانی از بین بردن زباله های پلاستیکی و کاهش مقدار ضایعات حاصل از آنها می شود [۴].

پلیمرهای زیستی خوراکی با زیست تخریب پذیری زیاد که از منابع تجدید پذیر کشاورزی حاصل می شوند، گزینه مناسبی در این زمینه به شمار می آیند. تولید فیلم های زیست تخریب پذیر، از پلی ساکاریدها، پروتئین ها، چربی ها یا مخلوطی از آنها استفاده

می شود. نشاسته یکی از این پلیمرهای زیستی است که به دلیل ماهیت پلیمری، قابلیت فیلم سازی دارد. علاوه بر این، به دلیل قیمت مناسب و در دسترس بودن، توجه زیادی به آن می شود [۵]. نشاسته به وفور در طبیعت یافت می شود، به دلیل قیمت پائین، خاصیت ترموپلاستیکی، قابلیت تجدید شونده گی و بازیافت زیستی، یکی از مواد خام جذاب و مورد علاقه برای استفاده در بسته بندی های خوراکی محسوب می گردد [۶].

نانو پُرکننده های زیادی به منظور تهیه نانوکامپوزیت ها به کار گرفته می شوند که از آن جمله می توان به سیلیکات های لایه ای (نانورُس)، نانولوله های کربن، نانودی اکسید تیتانیوم و نانوذرات آلی مانند نانوبلورهای سلولز و نشاسته اشاره کرد [۷ و ۸]. نانوکامپوزیت ها، پلیمرهایی هستند که در آنها از ترکیبات آلی یا غیر آلی مختلفی با اشکال مختلف صفحه ای و کروی، در ابعاد نانو به عنوان پُرکننده استفاده می شود. فیلم های حاصل از ترکیب نانو مواد و پلیمرهای زیستی و یا به اصطلاح نانوبایوکامپوزیت ها، خواص کاربردی مطلوب تری از خود نشان می دهند [۹ و ۱۰]. نانوذرات، خواص ضد میکروبی خوبی از خود نشان می دهند، که به دلیل دارا بودن نسبت سطح به حجم بالای آنهاست [۱۱ و ۱۲]. دی اکسید تیتانیوم از اکسیدهای فلزی است که با دارا بودن قابلیت های مختلفی مانند اکسیداسیون قوی، زیست سازگاری و ویژگی های مورد قبول مکانیکی و خواص ضد میکروبی، یکی از نانوذراتی است که در گستره وسیعی از علوم کاربرد فراوان یافته است. دی اکسید تیتانیوم یا  $TiO_2-N$  را به صورت افزودنی در بسته بندی های مواد غذایی استفاده می کنند [۱۳].

اسانس ها، ترکیب های روغنی معطر هستند که از اندام های مختلف گیاهان معطر به دست آمده و از زمان قدیم به عنوان مواد طعم دهنده مورد استفاده قرار گرفته اند. از این مواد علاوه بر جلوگیری از رشد باکتری ها و کپک های آلوده کننده مواد غذایی، به منظور افزایش عمر نگهداری غذاهای فرآیند شده در سیستم غذایی، نیز استفاده می شود. از آنجایی که آلودگی میکروبی می تواند عمر مفید ماده غذایی را کاهش دهد و احتمال رشد برخی میکروارگانیسم های پاتوژن نیز وجود دارد؛ فیلم های حاوی مواد ضد میکروبی تولید شد، که این فیلم ها هم زیست تخریب پذیر و خوراکی هستند و هم خاصیت ضد میکروبی دارند. این

یکنواخت شدند. در ادامه ۴ گرم نشاسته کاساوا به محلول‌های نانو افزوده شده و مخلوط گردید. سپس ۲ گرم گلیسرول (۵۰ درصد (وزنی/وزنی)) به عنوان نرم‌کننده (پلاستی‌سایزر) به آن افزوده و هم‌زده شد. این سوسپانسیون در حالی که هم‌زده می‌شد، تا دمای ۹۰ درجه سلسیوس گرم گردید و برای ژلاتینه شدن کامل نشاسته در این دما به مدت ۳۰ دقیقه نگهداشته شد. در حین خشک شدن این مخلوط در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به میزان مناسب از اسانس نعناع فلفلی به فیلم (غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ درصد) اضافه شده و حدود ۳۰ دقیقه همگن شد [۲۰]. سپس ۹۰ گرم از دیسپرسیون نهایی بر روی قالبهای ۱۶\*۱۶ سانتی متری ریخته شده و در آن ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲ ساعت خشک شد. نهایتاً فیلمها از قالبها جدا شده و در دسیکاتور با رطوبت نسبی ۵۵٪ تا زمان آزمونها نگهداری شد. از هر فیلم حداقل سه نمونه تهیه گردید.

## ۲-۳- بررسی ایزوترم جذب تعادلی رطوبت

### فیلم‌ها

ایزوترم جذب رطوبت فیلم‌های بایونانو کامپوزیت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از روش بیان شده توسط برتوزی و همکاران [۳] بررسی شد و محتوای رطوبت در حالت تعادل (بر اساس وزن خشک) برای هر یک از رطوبت‌نسبی‌های متعادل اندازه‌گیری گردید [۲۱]. سپس داده‌های تجربی جذب در معادله GAB جایگزین شد. معادله GAB توسط رابطه (۱) تعریف می‌شود:

رابطه (۱):

$$W = \frac{Mm * C_G * K * a_w}{(1 - K * a_w)(1 - K * a_w + C_G * K * a_w)}$$

که در آن،  $Mm$ ،  $C_G$ ،  $K$  پارامترهای معادله GAB هستند،  $W$  محتوی رطوبت (بر مبنای خشک) و  $a_w$  فعالیت آبی است. برای ارزیابی دقت و صحت معادله G.A.B، داده‌های تجربی برای ایزوترم جذب به صورت درصد متوسط ضریب انحراف نسبی (E) برای فیلم‌ها محاسبه شد. انحراف نسبی توسط رابطه (۲) تعیین گردید:

بسته‌بندی‌ها قادرند از راه‌های مختلفی مانند کاهش سرعت رشد میکروارگانیسم‌ها، تأخیر در رشد آن‌ها، جلوگیری از رشد آن‌ها و یا غیرفعال کردن یا نابود کردن میکروارگانیسم‌ها، از رشد میکروارگانیسم‌های مواد فاسد و پاتوژن‌ها جلوگیری کنند [۱۶-۱۴]. فعالیت ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی در برابر برخی از پاتوژن‌های غذایی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و غیره توسط محققین مختلف گزارش شده است [۱۷ و ۱۸].

لذا از آنجا که خصوص ضد میکروبی نانوذرات و گیاه نعناع فلفلی در مطالعات پیشین گزارش شده است، هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد میکروبی و ایزوترم جذب تعادلی رطوبت فیلم بایونانو کامپوزیت نشاسته کاساوا حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و اسانس نعناع فلفلی می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

در این پژوهش از نانودی اکسید تیتانیوم و نشاسته کاساوا (SIM Company, Penang, Malaysia)، اسید سولفوریک (شرکت سیگما-آلدریچ<sup>۱</sup> کشور کانادا)، گلیسرول، کلرید باریم، کلرید کلسیم و محیط کشت‌های نوترینت براث و مولر هیتون آگار (شرکت مرک<sup>۲</sup> آلمان)، استفاده شد. سوش میکربی لیوفیلیزه استافیلوکوکوس اورئوس از سازمان پژوهش‌های علمی ایران و اسانس نعناع فلفلی از شرکت باریج اسانس تهیه شدند.

### ۲-۲- آماده سازی نمونه‌ها

برای تهیه فیلم بایونانو کامپوزیتی از روش تیمورپور و همکاران استفاده شد [۱۹]. برای توزیع مناسب نانوذرات در ساختار فیلم، ابتدا نانوذرات در آب پراکنده شده و یکنواخت گردیدند و سپس از این آب برای تهیه دیسپرسیون نشاسته استفاده شد. برای تهیه محلول‌های نانو، با غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ درصد (وزن نانوذره/وزن خشک نشاسته)، ابتدا مقدار مناسبی از نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. جهت اطمینان از همگن شدن، محلول‌های نانو به مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک

1. Sigma-aldrich  
2. merck

3. Bertuzzi et al.

باکتری برداشته شده و کشت ۴ منطقه‌ای رو پلیت داده شد تا باکتری فعال گردید. پس از کشت، درون انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گذاشته شد تا باکتری رشد کند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. به منظور حفظ قابلیت زیستی باکتری، هر بیست روز کشت مجدد آن انجام گردید. سپس از باکتری فعال شده توسط لوپ تک کلنی برداشته شده و داخل لوله آزمایش حاوی ۵ سی‌سی آب مقطر استریل شده اضافه شد تا کدورت سوسپانسیون میکروب برابر کدورت نیم مک‌فارلند گردید. استانداردهای نیم مک‌فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسید سولفوریک ۱ درصد و کلرید باریم ۱/۱۷۵ درصد برای به دست آوردن یک محلول سولفات باریم با دانسیته نوری خاص تهیه شدند. معمولاً استاندارد نیم مک‌فارلند که حاوی ۹/۹۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد و ۰/۰۵ میلی‌لیتر کلرید باریم ۱/۱۷۵ درصد می‌باشد، بیشتر کاربرد دارد. استاندارد نیم مک‌فارلند کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتری حاوی ۱۰۸ × ۱/۵ cfu/ml ایجاد می‌کند. سپس زیر هود میکروبی از این لوله آزمایش توسط سمپلر ۱۰۰۰ میکرولیتر، ۱ سی‌سی از محلول را برداشته و سطح پلیت ریخته شده و توسط میله L شکل کشت داده شد، سپس دیسک‌ها در شرایط استریل (۱۰ دقیقه زیر اشعه UV قبل از کشت دادن) روی محیط مولر هیتون آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها سپس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله‌های تشکیل شده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. اختلاف مساحت هاله‌های تشکیل شده از مساحت دیسک‌ها به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی در نظر گرفته شد. در مواردی که هاله تشکیل نشده، یعنی فعالیت ضد میکروبی وجود ندارد و اختلاف مساحت برابر صفر در نظر گرفته شد.

#### ۲-۴-۲- تعیین مدل سینتیکی رشد میکروبی در حالت

##### دینامیک

بدین منظور سویه‌های استاندارد میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس از آزمایشگاه مرکزی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. آمپول حاوی میکروب مذکور با احتیاط کامل در شرایط استریل و در زیر هود میکروبی

رابطه (۲):

$$E = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|m_i - m_{p_i}|}{m_i}$$

که در آن، N مقدار داده‌های تجربی،  $m_i$ ،  $m_{p_i}$  به ترتیب محتوای رطوبت تجربی و پیش‌بینی شده می‌باشد. در این مدل اگر مقدار انحراف نسبی کمتر از ۱۰ درصد باشد، نشان‌دهنده براز قابل قبول است [۲۲].

#### ۲-۴-۲- بررسی خواص ضد میکروبی فیلم‌های

##### بایونانو کامپوزیت

#### ۲-۴-۱- بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها به روش

##### نفوذ آگار (روش استاتیک)

بدین منظور سویه استاندارد میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 8739 / PTCC 13330) از آزمایشگاه مرکزی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. آمپول حاوی میکروب مذکور با احتیاط کامل در شرایط استریل و در زیر هود میکروبی شکسته شده و سپس مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محیط کشت استریل نوترینت برات ۴ توسط پی‌پت پاستور به داخل آمپول تخلیه شده و با سر سوزن بهم‌زده شد. سپس سوسپانسیون میکروبی در درون ظرف حاوی محیط کشت استریل ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری گردید. در ادامه در محیط کشت مولر هیتون آگار ۵ به روش خطی چهار منطقه‌ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. آزمایش فعالیت ضد میکروبی بر روی فیلم با استفاده از روش نفوذ آگار ۶ بر اساس روش بیان شده توسط مایزورا و همکاران صورت گرفت [۲۳]. برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی از روش نفوذ ماده ضد میکروبی در محیط آگار دار استفاده شد. فیلم‌های تولید شده با استفاده از یک قالب به دیسک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر تبدیل شده و سپس تک کلنی از

4. Nutrient Broth
5. Muller- Hinton Agar
6. Agar Diffusion Method

سطح اسانس نعناع فلفلی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج حاصله با نمونه شاهد (فاقد نانوذره و اسانس) مقایسه گردیدند و آزمون‌های مربوطه در سه تکرار صورت گرفتند، حجم نمونه ۳۰ بود. میانگین هر پارامتر، توسط آنالیز تجزیه واریانس در طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و با استفاده از نرم افزار SPSS 22.0 تجزیه و تحلیل شدند. تفاوت‌های بین تیمارها، در آزمون دانکن و در سطح احتمال ۹۵ درصد بیان گردیده و نمودارهای مربوطه با Excel 2013 رسم شدند.

برای تعیین پارامترهای رشد معادله گمپرتز و تعیین سینتیک رشد میکروبی از نرم افزار مطلب و تکنیک LEAST SQUAR استفاده گردید.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- بررسی اثر نانو دی اکسید تیتانیوم و اسانس نعناع فلفلی بر ایزوترم جذب رطوبت تعادلی فیلم‌های نشاسته کاساوا

به کمک روش کمینه کردن مجموع مربعات اختلافات داده‌های تئوری و عملی (Least Squar)، پارامترهای معادله GAB در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد، که این داده‌ها در جدول شماره ۱، ارائه شده است. معادله GAB به وسیله فرمول زیر تعریف می‌شود:

$$W = \frac{Mm * C_G * K * a_w}{(1 - K * a_w)(1 - K * a_w + C_G * K * a_w)}$$

که در آن:  $Mm$ ,  $C_G$ ,  $K$  پارامترهای معادله GAB،  $W$  محتوای رطوبت (بر مبنای خشک) و  $a_w$  (فعالیت آبی) است. بالا هوک ۸ (۲۰۰۴)، گزارش داد که در صورتی که برای ماده‌ای  $0 \leq K \leq 1$  و  $CG < 2$  باشد، آنگاه در طبقه‌بندی بروئر-امت-تلر ۹ (BET) نوع مدل جذب تعادلی آن ماده از تیپ نوع II است و در صورتی که  $0 \leq K \leq 1$  و  $0 \leq CG \leq 2$  نوع مدل جذب تعادلی ماده از تیپ نوع III خواهد بود.

شکسته شده و سپس مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محیط کشت استریل نوترینت براث توسط پیپت به داخل آمپول تخلیه، و با سر سوزن به هم زده شد. سپس سوسپانسیون میکروبی در درون ظرف حاوی محیط کشت استریل ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در ادامه در محیط کشت مولر هینتون آگار به روش خطی، چهار منطقه‌ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد.

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی به روش دینامیک فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی بر باکتری مورد بررسی در این تحقیقی، از روش فلاسک استفاده شد. برای روش فلاسک چرخان، نمونه‌های فیلم بایونانو کامپوزیتی (۱/۵ × ۲) cm در ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت استریل نوترینت براث برای باکتری و با سرعت چرخش ۱۵۰ دور در دقیقه غوطه‌ور شد. سپس در انکوباتور چرخان در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. با توجه به اینکه جمعیت میکروبی با دانسیته نوری در ارتباط مستقیم است، برای نشان دادن روند رشد دینامیک میکروبی از نمودار شدت جذب بر اساس زمان استفاده شد. نتایج از رشد میکروبی با خواندن تغییرات جذب در ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر طی ۱۱ ساعت، در فواصل منظم (۱ ساعت)، به دست آمد. نتایج به دست آمده با استفاده از مدل اصلاح شده گمپرتز ۷ اصلاح شده مدل سازی شد [۲۴].

در این مدل  $X(t)$  غلظت میکروارگانیسم در هر لحظه می‌باشد که از جذب قرائت شده در ۶۰۰ نانومتر تعیین می‌شود.  $X_0$  غلظت جذب قرائت شده در زمان صفر،  $A$  ماکزیمم غلظت باکتری در فاز سکون،  $\mu_{max}$  ماکزیمم سرعت رشد مخصوص و  $\lambda$  مدت زمان فاز تأخیر می‌باشد.

با توجه به داده‌های به دست آمده در صورتی که مدت زمان فاز تأخیر افزایش یابد یا ماکزیمم غلظت باکتری کاهش یابد نشان‌دهنده وجود اثر ضد میکروبی علیه باکتری است.

#### ۲-۵- آنالیز آماری

از آنجایی که در این تحقیق ۳ سطح نانوذرات TiO2-N و ۳

8. Blahovoc  
9. Brunauer-Emmett-Teller

7. Gompertz

همچنین نتایج نشان می دهد که با افزودن نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N در غلظت های ۳ و ۵ درصد در ترکیب با سطوح ۳-۱ درصد اسانس نعناع فلفلی، تیپ معادلات به نوع II تغییر رفتار داد، که بیانگر کاهش رفتار آبدوستی فیلم های بایونانو کامپوزیتی تولیدی می باشد [۲۵].

با توجه به داده های جدول ۱، فیلم های بایوکامپوزیتی برپایه نشاسته کاساوا شاهد و فیلم های حاوی ۱ درصد نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N در ترکیب با ۱، ۲ و ۳ درصد اسانس نعناع فلفلی، دارای تیپ جذب تعادلی III از طبقه بندی BET بودند که این رفتار، نوعی از جذب آب برای بسیاری از مواد آبدوست است.

**Table 1** Equilibrium Constant of Moisture Sorption Isotherm (GAB Model) of Cassava Starch Film with Nano Titanium Dioxide and Peppermint Essential Oil

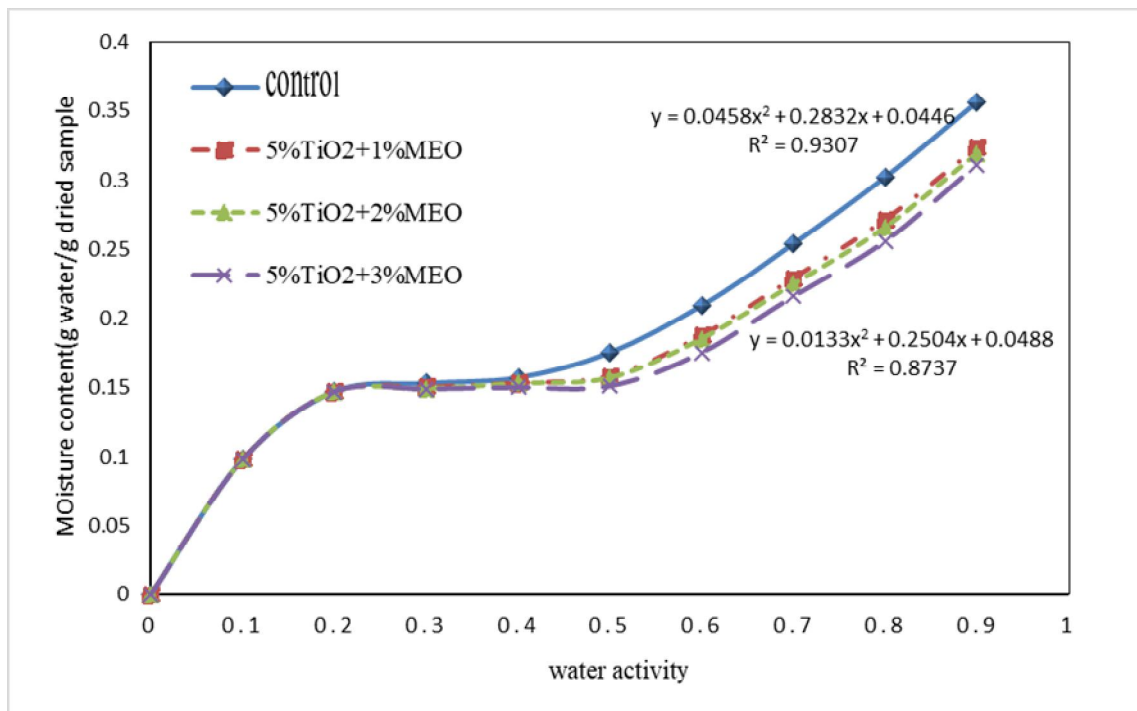
| Concentration nanoparticles TiO <sub>2</sub> -N | Concentration peppermint essential oil | K     | CG    | Mm    |
|---|--|-------|-------|-------|
| 0%  | 0%                                     | 0.837 | 1.155 | 10.03 |
|   | 1%                                     | 0.859 | 1.566 | 9.99  |
|   | 2%                                     | 0.864 | 1.568 | 9.46  |
| 1%  | 3%                                     | 0.869 | 1.584 | 9.03  |
|   | 1%                                     | 0.893 | 2.381 | 9.51  |
|   | 2%                                     | 0.894 | 2.395 | 9.32  |
| 3%  | 3%                                     | 0.899 | 2.511 | 8.64  |
|   | 1%                                     | 0.916 | 2.695 | 8.39  |
|   | 2%                                     | 0.916 | 2.787 | 8.22  |
| 5%  | 3%                                     | 0.923 | 2.960 | 8.11  |

و انفعالات داخلی یا مولکول آب کاهش پیدا می کند. در نتیجه به ساختاری با خاصیت آبدوستی کمتری منجر می شود. فعل و انفعالات بین نانوذرات و آب و یا/ پلاستی سایزر از نوع یون دو قطبی است که بین نانوذرات و گروه های هیدروکسیل برای پلاستی سایزر و آب رخ می دهد. Mm نشان دهنده مقدار آب تک لایه برای فیلم ها است [۲۶].

همانگونه که از نمودار I نیز پیداست، افزودن نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N و اسانس نعناع فلفلی به فیلم بایوکامپوزیتی برپایه نشاسته کاساوا منجر به جابجایی نمودار ایزوترم جذب به محتوای رطوبت پایین تر گردیده است. این نتایج با نتایج مطالعات قبلی تطابق داشت.

پارامتر K در معادله GAB ۱۰ یک فاکتور تأییدکننده از ویژگی های مولکول های چند لایه در اکثر مایعات است. طبق مطالعات مولر و همکاران ۱۱، K و CG، ثابت های جذب هستند، که به انرژی برهم کنش بین اولین و سایر مولکول های جذب شده بر روی جایگاه های جذب مرتبط می باشند. افزایش میزان ثابت K در بایونانو کامپوزیت ها در مقایسه با ثابت CG بیانگر کاهش در انرژی جذب برای مقدار خالص از چند لایه است. در فعالیت آبی بین ۰/۹-۰/۱ فیلم های تلفیق شده با نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N نشان داده شده که محتوای رطوبت تعادلی در مقایسه با فیلم شاهد کمتر است (Mm). این احتمال وجود دارد که با توجه به تعامل میان پلاستی سایزر، ماتریکس بایوپلیمر و نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N، گروه هیدروکسیل قابل دسترس در فعل

10. Guggenheim, Anderson and Boer  
11. Muller *et al.*



**Fig 1** Third order polynomial moisture sorption isotherm cassava starch film combined of different concentration of nano TiO<sub>2</sub>-N and peppermint essential oil.

کشورها، این باکتری پس از سالمونلا و کلاستریدیوم پرفریجنس، به عنوان سومین باکتری از سه باکتری بیماری‌زایی است که موجب شیوع مسمومیت‌ها و عفونت‌های غذایی می‌شود. انسان‌ها و اغلب حیوانات اهلی به عنوان میزبانی برای این باکتری هستند و لذا استافیلوکوک‌ها در اغلب یا تمام محصولات غذایی با منشاء دامی یا آن‌هایی که به طور مستقیم توسط انسان دستکاری می‌شوند، می‌توانند حضور داشته باشند [۱۵].

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی (غلظت نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N و غلظت اسانس نعناع فلفلی) از لحاظ آماری تأثیر معنی‌داری بر فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌های بایوکامپوزیتی برپایه نشاسته کاساوا در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس داشتند ( $p < 0.05$ ). میانگین مقادیر مساحت سطح بازدارندگی فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی حاوی ترکیب سطوح مختلف نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N و اسانس نعناع فلفلی در مقابل باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، در نمودار ۲ با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که فیلم بایوکامپوزیت نشاسته کاساوا شاهد فاقد فعالیت ضدباکتریایی در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس بود. با افزودن ترکیب نانوذرات

تباری ۱۲ نیز به طور موافق با نتایج پژوهش بیان کرد که با افزودن سطوح مختلف نانوذرات کربوکسی متیل سلولز به فیلم نشاسته ساگو، نمودار ایزوترم جذب به محتوای رطوبت پایین‌تر جابه‌جا شد [۲۷]. گالوس و کادزینسکا ۱۳ در بررسی تأثیر روغن هسته انگور بر ایزوترم جذب رطوبت تعادلی فیلم برپایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر، به نتایج مشابهی دست یافتند [۲۸].

### ۲-۳- بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های بایونانو کامپوزیتی نشاسته کاساوا در مقابل

#### استافیلوکوکوس اورئوس

### ۳-۲-۱- بررسی اثر ضد میکروبی فیلم‌های

#### بایونانو کامپوزیتی نشاسته کاساوا توسط روش استاتیک

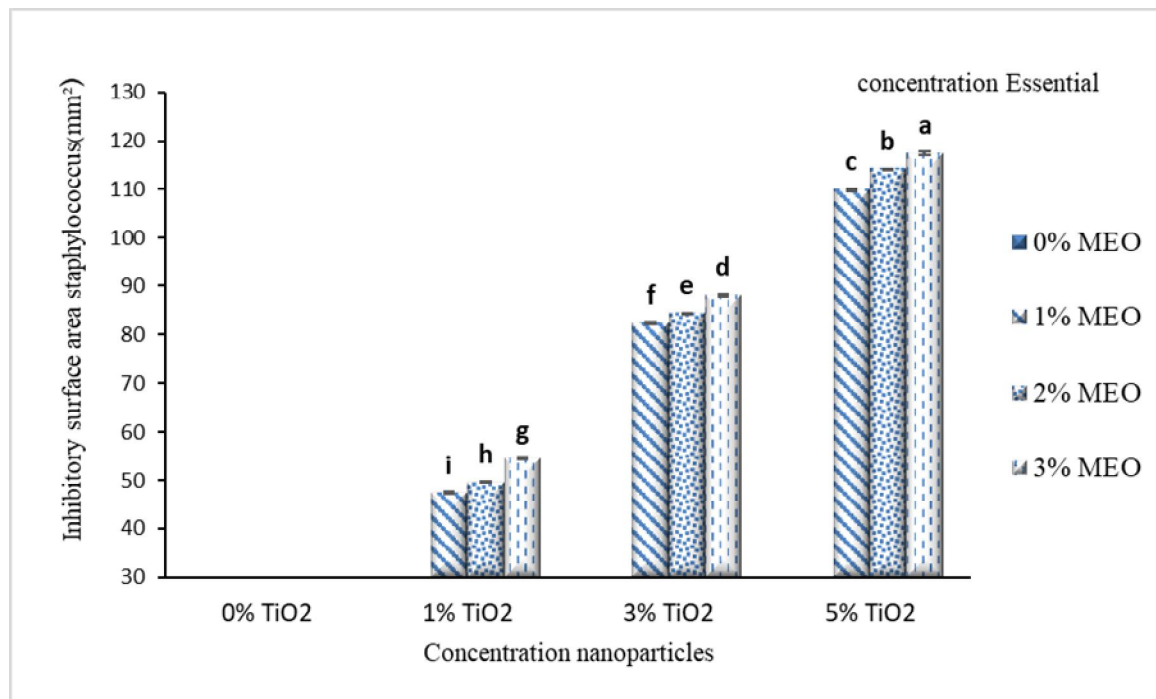
استافیلوکوکوس اورئوس، یک باکتری بیماری‌زای مهم با دامنه وسیعی از عفونت‌های انسانی و حیوانی است که شامل بیماری‌های غذایی ناشی از تولید توکسین می‌باشد. در بسیاری از

12. Tabari  
13. Galus & Kadzinska



مقابل این باکتری گرم مثبت، در فیلم بایونانوکامپوزیتی حاوی بالاترین سطح نانوذرات  $TiO_2-N$  و اسانس نعناع فلفلی (۵ درصد نانوذره و ۳ درصد اسانس) مشاهده گردید ( $117/39$ ). فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات  $TiO_2-N$  به طور قابل توجهی بیشتر از اسانس نعناع فلفلی بود.

$TiO_2-N$  و اسانس نعناع فلفلی و افزایش سطح آن‌ها در فیلم‌های نشاسته‌ای، فعالیت ضدباکتریایی به طور معنی‌داری افزایش یافته و مساحت سطح بازدارندگی در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). به طوری که بیشترین فعالیت ممانعت‌کنندگی در



**Fig 2** Compare inhibitory surface area values (mm<sup>2</sup>) biocomposite films (Cassava Starch) in front of staphylococcus aureus.

Different letters on the bars represent significant differences in 5% levels of probability

به سرعت رو به زوال می‌گذارد. به این فاز، فاز خودتخریبی نیز گفته می‌شود. در صورتی که یک ترکیب خاصیت ضد میکروبی داشته باشد می‌تواند هم فاز تأخیری را به تعویق اندازد و هم میزان حداکثری جمعیت میکروارگانیسم‌ها را در فاز لگاریتمی کاهش دهد. منحنی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در فیلم‌های بایوکامپوزیتی برپایه نشاسته کاساوا حاوی ترکیب سطوح مختلف نانوذرات  $TiO_2-N$  و اسانس نعناع فلفلی در نمودار ۳ آورده شده و نشان می‌دهد که فعالیت ضد میکروبی نانوذرات  $TiO_2-N$  و اسانس نعناع فلفلی در فیلم‌های بایوکامپوزیتی برپایه نشاسته کاساوا، وابسته به غلظت بود، به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات و اسانس در فرمولاسیون فیلم‌ها، فعالیت ضد میکروبی در مقابل باکتری استافیلوکوکوس

### ۳-۲-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های

#### بایونانوکامپوزیتی نشاسته کاساوا به روش دینامیک

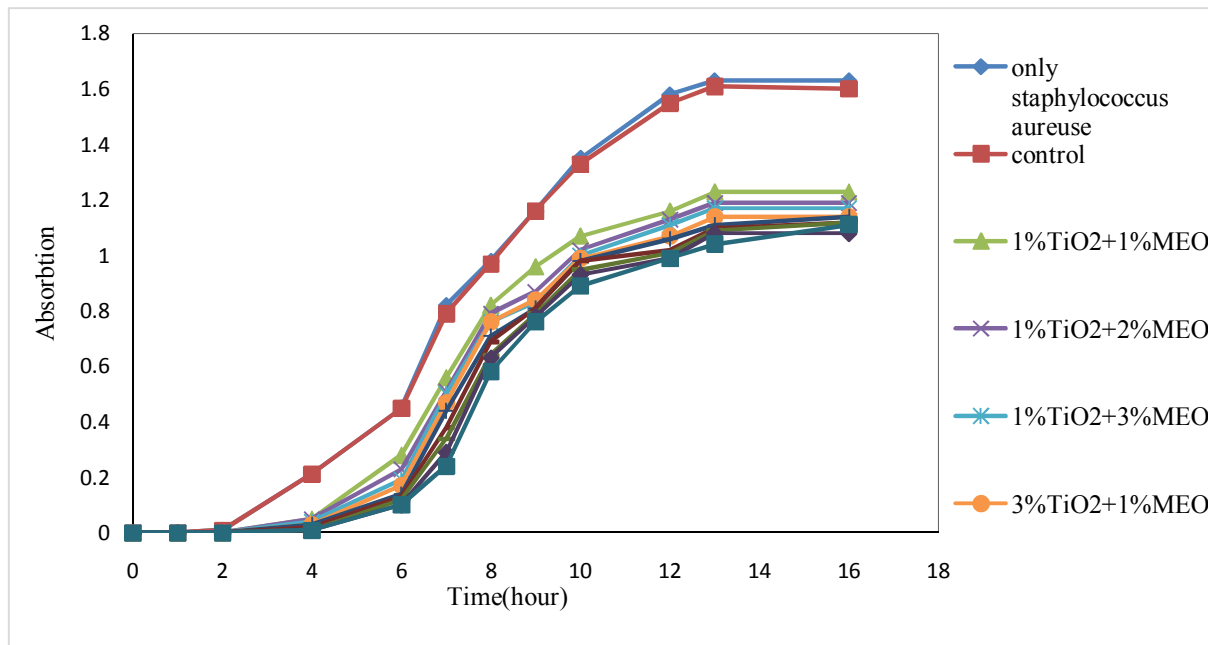
منحنی رشد میکروبی دارای چهار فاز: تأخیری ۱۴، مرحله رشد لگاریتمی ۱۵، مرحله رشد ثابت ۱۶ و فاز مرگ و میر ۱۷ می‌باشد. در مرحله تأخیری، سلول با محیط جدید تطبیق پیدا می‌کند و بر تعداد آن افزوده نمی‌شود. در مرحله لگاریتمی، میکروارگانیسم‌ها مواد غذایی را مصرف کرده و تعدادشان به صورت نمایی یا لگاریتمی افزایش می‌یابد. در مرحله رشد ثابت، میزان تولید با میزان مرگ و میر برابر است و در فاز آخر، تعداد میکروارگانیسم‌ها

14. Lag phase
15. Log phase
16. Stationary phase
17. Death phase



اورئوس به طور قابل توجهی افزایش یافت. تأثیر ضدباکتریایی نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N در مقابل این باکتری گرم مثبت بیشتر از

اسانس نعناع فلفلی بود.



**Fig 3** Staphylococcus aureuse microbial growth kinetic in Cassava Starch Films by incorporation different levels of TiO<sub>2</sub>-N and MEO combination.

آنزیم‌هایی که نقش اساسی در رشد سلول دارند، DNA باکتری‌ها به علت وجود گروه فسفات به نانوذرات متصل گشته و در نتیجه آن را از حالت انعطاف به حالت سخت تبدیل کرده و چرخش و حرکت DNA را دچار مشکل می‌کنند و در نتیجه عملکردهایی نظیر همانندسازی و رونویسی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. نانوذرات همچنین در داخل سلول موجب ایجاد رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال می‌شوند، که این مواد اثر ضد میکروبی دارند [۳۱].

اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات آب‌گریز، می‌توانند با ساختار لیپیدی غشای سلولی باکتریایی، میتوکندری و سایر ترکیبات درون سلولی فعل و انفعال انجام داده و موجب تخریب ساختار سلولی، تراوش اجزای سلولی، تبادل یون‌ها، جلوگیری از تنفس، افزایش میزان نفوذپذیری و مرگ سلول باکتریایی گردند [۳۲]. محققین فعالیت ضدباکتریایی اسانس نعناع فلفلی را به علت وجود متول و کتون‌هایی نظیر پولگون، ایزومتون، پیریتون، کاروون و دهیدروکاروون دانستند [۳۳].

فعالیت ضدباکتریایی اکسید تیتانیوم وابسته به تولید گونه‌های اکسیژن فعال، مخصوصاً رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل و پراکسید می‌باشد، که به ترتیب تحت تابش اشعه UV-A از واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء تولید می‌شوند [۲۹]. اثر ضد میکروبی نانوذرات را به طور کلی در دو بخش بررسی می‌کنند: (۱) تأثیر روی دیواره سلولی و بخش خارجی سلول باکتری و (۲) ورود به سلول و تأثیر بر بخش‌های درونی مختلف سلول باکتری. در قسمت اول، نانوذرات به علت بار الکترونی مثبت، جذب بار منفی سطح خارجی سلول باکتری می‌شوند. این اتصال هم سبب برهم زدن تعادل الکترولیتی باکتری شده و هم می‌تواند روی چرخه تنفسی سلول‌های باکتری تأثیرگذار باشد. این نانوذرات می‌توانند روی پمپ‌های شارش ۱۸ تأثیر گذاشته، به دنبال آن حلالیت و سمیت مواد، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء یون‌های فلزی، ترکیب و ته‌نشینی فلزات در سلول باکتری دچار شوند [۳۰]. در قسمت دوم اثرگذاری نانوذرات روی پروتئین‌ها و

## ۶- منابع

- [1] Akbariazam, M., Ahmadi, M., Javadian, N. & Mohammadi Nafchi, A. 2016. Fabrication and characterization of soluble soybean polysaccharide and nanorod-rich ZnO bionanocomposite. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89: 369-375.
- [2] Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S. & Dalla Rosa, M. 2008. Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 19(12): 634-643.
- [3] Rhim, J.W. & Ng, P.K.W. 2007. Natural biopolymer-based nanocomposites for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47: 411-433.
- [4] Kalambur, S. & Rizvi, S.S. 2006. An overview of starch-based plastic blends from reactive extrusion. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 22(1): 39-58.
- [5] BeMiller, J. & Whistler, R. 2009. *Starch: chemistry and technology*. 3th ed. Maryland. Academic Press. P. 894.
- [6] Pandey, J.K. & Singh, R.P. 2005. Green nanocomposites from renewable resources: effect of plasticizer on the structure and material properties of clay-filled starch. *Starch- Stärke*, 57(1): 8-15.
- [7] Marvizadeh, M. M., Oladzadabbasabadi, N., Nafchi, A. M. & Jokar, M. 2017. Preparation and characterization of bionanocomposite film based on tapioca starch/bovine gelatin/nanorod zinc oxide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99: 1-7.
- [8] Okamoto, M. 2005. *Handbook of biodegradable polymeric materials and their applications*. ACS, USA, 1, 1-45.
- [9] Nafchi, A.M., Nassiri, R., Sheibani, S., Ariffin, F. & Karim, A.A. 2013. Preparation and characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Carbohydrate Polymers*, 96: 233-239.
- [10] Nafchi, A. M., & Alias, A. K. 2013. Mechanical, barrier, physicochemical, and heat seal properties of starch films filled with nanoparticles. *Journal of Nano Research*, 25(1): 90-100
- [11] Chun, N. & CMHea, L. 2007. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *Biological Inorganic*

یون و همکاران ۱۹ نیز به طور موافق مشاهده کردند که فیلم کیتوزان خالص فاقد فعالیت ضدباکتریایی در مقابل باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بود و با تلفیق کارواکول و عصاره پوست انار، فعالیت ضدباکتریایی در مقابل این باکتری به طور معنی داری افزایش یافت، تأثیر کارواکول بر ممانعت از رشد استافیلوکوکوس اورئوس، به طور معنی داری بیشتر از عصاره پوست انار بود [۳۴]. سان و همکاران نیز نشان دادند که با افزایش غلظت پلی فنول های سبب در فیلم کیتوزان، فعالیت ضد میکروبی در مقابل باکتری ها و کپک ها به طور معنی داری افزایش پیدا کرد [۳۵]. ایزدی و همکاران ۲۰، در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس های نعناع فلفلی و مریم نخودی بر اثرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوزنز و سالمونلا اینترتیدیس بیان کردند که اثر ضدباکتریایی اسانس نعناع فلفلی از مریم نخودی بیشتر بوده و اثر ضدباکتریایی اسانس نعناع فلفلی بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین می باشد [۳۶].

## ۵- نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن نانوذرات و اسانس سبب جابجایی نمودار ایزوترم جذب تعادلی رطوبت فیلم های کاساوا به محتوای رطوبت پایین تر می شود. همچنین نتایج آزمون های میکروبی نشان داد که فیلم نشاسته کاساوا به تنهایی فاقد فعالیت ضدباکتریایی در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود، ولی با افزایش غلظت نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N و اسانس نعناع فلفلی در این فیلم نشاسته ای، فعالیت ضدباکتریایی به طور معنی داری افزایش یافته و مساحت سطح بازدارندگی به طور معنی داری افزایش پیدا کرد، علاوه بر این، تلفیق این افزودنی ها باعث افزایش فاز تأخیری و کاهش فاز لگایتمی در منحنی رشد میکروبی گردید. در مجموع، نتایج این تحقیق بیان کرد که با وجود تأثیر بیشتر نانوذرات TiO<sub>2</sub>-N نسبت به اسانس نعناع فلفلی، هر دو این افزودنی ها بر خواص ضد میکروبی و ایزوترم جذب رطوبت تعادلی فیلم های کامپوزیتی بر پایه نشاسته کاساوا تأثیر داشتند. پیشنهاد می شود در ادامه این پژوهش کاربرد این فیلم های بایونانو کامپوزیتی در نگهداری مواد غذایی بررسی گردد.

19. Yuan *et al.*

20. Izadi *et al.*

- properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*, 82: 277-283.
- [21] Bertuzzi, M.A., Castro Vidaurre, E.F., Armada, M. & Gottifredi, J.C. 2007. Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, 80(3): 972-978.
- [22] Ghazihoseini, S., Alipoormazandarani, N. & Mohammadi Nafchi, A. 2015. The Effects of Nano-SiO<sub>2</sub> on Mechanical, Barrier, and Moisture Sorption Isotherm Models of Novel Soluble Soybean Polysaccharide Films. *International Journal of Food Engineering*, p. 833.
- [23] 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. *Journal of Food Science*, 72: C324-C330.
- [24] Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M. & Van't Riet, K. 1990. Modeling of the Bacterial Growth Curve. *Applied Environment and Microbiology*, 56: 1875-1881.
- [25] Zeppa, C., Gouanve, F. & Espuche, E. 2009. Effect of a plasticizer on the structure of biodegradable starch clay nanocomposites: thermal, water sorption, and oxygen barrier properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 112: 2044-2056.
- [26] Müller, C. M. O., Laurindo, J. B. & Yamashita, F. 2011. Effect of nanoclay incorporation method on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films. *Industrial Crops and Products*, 33(3): 605-610.
- [27] Tabari, M. 2018. Characterization of a new biodegradable edible film based on Sago Starch loaded with Carboxymethyl Cellulose nanoparticles. *Nanomed Research Journal*, 3(1): 25-30.
- [28] Galus, S. & Kadzinska, J. 2016. Moisture Sensitivity, Optical, Mechanical and Structural Properties of Whey Protein-Based Edible Films Incorporated with Rapeseed Oil. *Food Technology & Biotechnology*, 54(1): 78-89.
- [29] Zhou, J., Wang, S. & Gunasekaran, S. 2009. Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO<sub>2</sub>-N Chemistry, 12: 527-534.
- [12] Arezoo, E., Mohammadreza, E., Maryam, M., & Abdorreza, M. N. 2020. The synergistic effects of cinnamon essential oil and nano TiO<sub>2</sub> on antimicrobial and functional properties of sago starch films. *International journal of biological macromolecules*, 157, 743-751.
- [13] STAN, C. Codex General Standard for Food Additives (GSFA). 2008. Online Database available at: <http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/index.html>. 197-2007.
- [14] Hosseini, S. F., Zand, M., Rezaei, M. & Farahmandghavi, F. 2013. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate Polymers*, 1: 50-56.
- [15] Jafarzadeh, S., Jafari, S. M., Salehabadi, A., Nafchi, A. M., Uthaya, U. S., & Khalil, H. A. 2020. Biodegradable green packaging with antimicrobial functions based on the bioactive compounds from tropical plants and their by-products. *Trends in Food Science & Technology*. 100: 262-277.
- [16] Daneshzadeh, M. S., Abbaspour, H., Amjad, L., & Nafchi, A. M. 2020. An investigation on phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of extract from *Eryngium billardieri* F. Delaroché. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14: 708-715.
- [17] Andoğan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Özbaşar, D. & Mumcu, E. 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of Pharmacal research*, 25(6): 860-864.
- [18] Mimica-Dukić, N., Bozin, B., Soković, M., Mihajlović, B. & Matavulj, M. 2003. Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta medica*, 69(5): 413-419.
- [19] Teymourpour, Sh., Abdorreza, M.N. & Fariborz, N. 2015. Functional, thermal, and antimicrobial properties of soluble soybean polysaccharide biocomposites reinforced by nano TiO<sub>2</sub>-N. *Carbohydrate Polymers*, 134: 726-731.
- [20] Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A. & González-Martínez, C. 2010. Physical

- Journal of Agriculture and Food Chemistry, 44: 1202-1205.
- [34] Yuan, Z., Lv, H., Yang, B., Chen, X. & Sun, H. 2015. Physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of chitosan films containing carvacrol and pomegranate peel extract. *Molecules*, 20: 11034-11045.
- [35] Sun, L., Sun, J., Chen, L., Niu, P., Yang, X. & Guo, Y. 2017. Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 1-34.
- [36] Izadi, Z., Ahmadvand, G., Esna-Ashari, M., Piri, K. & Davoodi, P. 2010. Biochemical and Antimicrobial Activities of *Salvia Officinalis* L. and *Mentha Piperita* L. Essential oils. *Armaghane danesh*, 15(1): 19-29.
- nanoparticles. *Journal of Food Science*, 74(7): N50-N6.
- [30] Mirzajani, F., Aliahmadi, A. & Esmaeili, M.S.J. 2011. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Research in Microbiology*, 162: 542-549.
- [31] Panyala, N.M., Penamendez, E. & Havel, M.J. 2008. Silver or nanoparticles: A hazardous threat to environment and human health? *Journal Applied Biomedical*, 6: 117-122.
- [32] Kabir, F., Katayama, S., Tanji, N. & Nakamura, S. 2014. Antimicrobial effects of chlorogenic acid and related compounds. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57: 359-365.
- [33] Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., Papanikolaou, E. & Nikolaou, C. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oil concentration.



## Antimicrobial Properties and Moisture Sorption Isotherm of Bionanocomposite Based on Cassava Starch/Nano Titanium Dioxide/Peppermint Essential Oil

Noorian, S.<sup>1</sup>, Mohammadi Nafchi, A.<sup>2\*</sup>, Bolandi, M.<sup>3</sup>, Jokar, M.<sup>4</sup>

1. Postgraduate student, Food Science & Technology Department, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
2. Associate Professor, Food Technology Division, School of Industrial Technology, Universiti Sains, Penang, Malaysia
3. Associate Professor, Food Science & Technology Department, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
4. Assistant Professor, National Food Institute, Technical University of Denmark, Denmark

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

**Article History:**

Received 17 October 2020  
Accepted 17 November 2020

**Keywords:**

Bionanocomposite,  
Cassava starch,  
TiO<sub>2</sub>-N nanoparticles,  
Peppermint.

**DOI:** 10.52547/fsct.18.02.17

\*Corresponding Author E-Mail:  
amohammadi@usm.my

The objective of this study was to investigate the synergistic effect of nano titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>-N) and *Mentha piperita* essential oil (MEO) on the equilibrium moisture sorption isotherm and microbial growth rate of *Staphylococcus aureus* of cassava starch film. For this purpose, cassava starch biocomposite film with the addition of 1, 3 and 5% TiO<sub>2</sub>-N and 1, 2 and 3% MEO, and glycerol as a plasticizer were obtained by the casting method. The equilibrium moisture absorption isotherm and antibacterial activity of prepared nanobiocomposite films against *Staphylococcus aureus* were examined. The obtained results demonstrated that by addition of nanoparticles and essential oil to the starch biocomposites, the equilibrium moisture absorption isotherm curve was shifted to lower moisture content. The microbial tests stated that the pure cassava starch film (control) showed no antibacterial activity against the *Staphylococcus aureus* and the antibacterial activity significantly increased with increasing concentration of both TiO<sub>2</sub>-N and MEO in the starch films ( $p < 0.05$ ). However, the antibacterial activity of TiO<sub>2</sub>-N nanoparticles was higher than MEO. Addition of TiO<sub>2</sub>-N and MEO increased lag phase and decreased log phase in microbial growth curve. Finally, according to the obtained results in this study, it can be concluded that incorporation of TiO<sub>2</sub>-N and MEO combination improved the antibacterial activity of cassava starch biocomposites against *Staphylococcus aureus* and these bionanocomposite films can be used for packaging and extending the shelf life of food products.