

Physical, Mechanical and Antibacterial Properties of Nanobiocomposite Films Based on Carboxymethyl Cellulose/Nanoclay

Sirous Zahed Karkaj¹ and Seyed Jamaledin Peighambardoust^{2*}

1. Faculty of Engineering, Ahar Branch, Islamic Azad University, Postal Code: 54511-16714, Ahar, Iran

2. Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, University of Tabriz, Postal Code: 57666-16471, Tabriz, Iran

Received: 31 July January 2017, accepted: 8 December 2017

ABSTRACT

Hypothesis: In order to achieve safe and high-quality food products, the use of suitable packaging materials with excellent physical and chemical properties is a key requirement. Pollution resulting from packaging materials made of oil-based plastics and the problems associated with burning, disposal and recycling of these plastic products have attracted the attention of researchers to find appropriate solutions in recent years. Carboxymethyl cellulose (CMC) is one of the important polysaccharide polymers with capability of producing transparent films with relatively good mechanical and inhibition properties that have been used broadly in studies concerning the food stuff packaging.

Methods: Nanocomposite films have been prepared by solution casting method in the presence of clay nanoparticles. Pure and modified montmorillonite nanoparticles and Cloisite 30B along with silver and copper were used for improving the functional properties of carboxymethyl cellulose nanobiocomposite films.

Findings: It was observed that the clay nanoparticles incorporated into the nanocomposite films increased the UV absorption and mechanical properties and reduced the vapor permeability of the films. The XRD results showed that the silver was successfully inserted into the gallery space of the nanoclay, because the basal spacing of Ag-modified Cloisite 30B increased from 1.841 nm to 1.855 nm. Also, the compatibility of the nanoparticles with carboxymethyl cellulose was examined by SEM images. The SEM micrographs showed that the Cloisite 30B nanoparticles displayed better interface compatibility with CMC films than Na-montmorillonite. The results of antimicrobial tests showed that the nanobiocomposite film containing 4 wt% of Ag-modified Cloisite 30B exhibited maximum antimicrobial property against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Keywords:

carboxymethyl cellulose,
clay nanoparticles,
nanobiocomposite,
mechanical properties,
antimicrobial property

(*)To whom correspondence should be addressed.

E-mail: j.peighambardoust@tabrizu.ac.ir

Please cite this article using:

Peighambardoust J. and Zahed Karkaj S., Physical, Mechanical and Antibacterial Properties of Nanobiocomposite Films Based on Carboxymethyl Cellulose/Nanoclay, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **30**, 557-572, 2018.

خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدباکتری فیلم‌های نانوزیست‌کامپوزیت برپایه کربوکسی متیل سلولوز-نانو خاکرس

سیروس زاهد کرکج^۱، سید جمال الدین پیغمبردوست^{۲*}

۱- اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی شیمی، کد پستی ۵۴۵۱۱-۱۶۷۱۴

۲- تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، کد پستی ۵۷۶۶۶-۱۶۴۷۱

دریافت: ۱۳۹۶/۵/۹، پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۷

چکیده

کربوکسی‌متیل سلولوز از پلیمرهای پلی‌ساکاریدی با قابلیت تولید فیلم‌های شفاف و خواص بازدارندگی و مکانیکی نسبتاً خوب بوده که در سطح گسترده‌ای از پژوهش‌ها در زمینه بسته‌بندی مواد غذایی استفاده شده است. در این پژوهش، نانوذرات خاکرس نوع مونت‌موریلونیت و کلویزیت 30B به حالت خالص و اصلاح‌شده با فلزات نقره و مس برای بهبود خواص عملکردی فیلم نانوزیست‌کامپوزیتی کربوکسی‌متیل سلولوز استفاده شدند. مشاهده شد، وجود این نانوذرات باعث افزایش جذب نور UV در فیلم‌ها، کاهش نفوذپذیری بخار آب و افزایش استحکام مکانیکی فیلم‌ها می‌شود. نتایج آزمون XRD نشان داد، نقره به‌طور مؤثری در فضای بین‌لایه‌ای مونت‌موریلونیت قرار گرفته است، زیرا فاصله بین‌لایه‌ای از ۱/۸۴۱ nm برای خاکرس نوع کلویزیت 30B به ۱/۸۵۵ nm در خاکرس نوع کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره افزایش یافته است. نتایج حاصل از تصاویر SEM نشان داد، در حالت کلی کلویزیت 30B نسبت به سدیم مونت‌موریلونیت سازگاری بهتری با فیلم کربوکسی‌متیل سلولوز دارد. همچنین نتیجه گرفته شد، نانوذرات خاکرس اصلاح‌شده با مس در تهیه فیلم‌های نانوزیست‌کامپوزیت سازگارتر از خاکرس اصلاح‌شده با نقره هستند. خاصیت ضد میکروبی نانوذرات مزبور نیز در برابر دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شرشیاکلی* بررسی شد. از نتایج آزمون میکروبی مربوط به نمونه‌های فیلمی کربوکسی‌متیل سلولوز دارای انواع نانوذرات خاکرس مشخص شد، فیلم دارای ۴٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره بیشترین اثر ضد میکروبی را علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شرشیاکلی* نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی

کربوکسی‌متیل سلولوز،
نانوذرات خاکرس،
نانوزیست‌کامپوزیت،
خواص مکانیکی،
خاصیت ضدباکتری

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

j.peighambardoust@tabrizu.ac.ir

مقدمه

بسته‌بندی واسطه‌ای بین محصول تولید شده و مشتری است که مهم‌ترین عملکرد آن برای مواد غذایی افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و سلامتی غذاست. هدف از بسته‌بندی مواد غذایی، جلوگیری از فساد میکروبی و از دست رفتن مواد مغذی و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری آن‌هاست. در گذشته از پلیمرهای سنتزی، پلاستیکی، کاغذ و فلزات به عنوان بسته‌بندی‌های مواد غذایی به طور گسترده استفاده می‌شد که دلیل آن فراوانی، در دسترس بودن و قیمت کم این مواد بود [۱].

در مقابل این مزایا، معایبی در زمینه استفاده از این مواد به‌ویژه پلیمرهای سنتزی حاصل از مشتقات نفتی وجود دارد که می‌توان به آلودگی‌های زیست‌محیطی، زیست‌تخریب‌پذیری کم و خواص بازدارندگی و مکانیکی ضعیف برخی از این پلیمرها اشاره کرد. محدودیت‌های استفاده از این مواد، پژوهشگران را به مطالعه درباره امکان استفاده از زیست‌پلیمرهای با منشأ طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیری زیاد واداشته است. این زیست‌پلیمرها طی فرایند کمپوست به محصولات طبیعی مانند کربن دی‌اکسید، آب، متان و زیست‌توده تبدیل شده و در چهار دسته پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، پلی‌استرها، و لیپیدها دسته‌بندی می‌شوند [۲-۴]. کربوکسی متیل سلولوز از زیست‌پلیمرهای پلی‌ساکاریدی با قابلیت تولید فیلم‌های شفاف و خواص بازدارندگی مناسب، اخیراً در سطح گسترده‌ای از پژوهش‌ها در زمینه بسته‌بندی مواد غذایی استفاده شده است [۵]. راهکارهای مختلف برای بهبود خواص بازدارندگی و مکانیکی فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر برپایه کربوکسی متیل سلولوز وجود دارد که یکی از جدیدترین آن‌ها، اختلاط کربوکسی متیل سلولوز با نانوپرکننده‌ها و تولید نانوکامپوزیت‌هاست.

مواد نانوکامپوزیتی به آن دسته از موادی اطلاق می‌شود که فاز تقویت‌کننده آن‌ها دارای ابعادی در مقیاس یک تا صد نانومتر باشد. تقویت‌کننده‌های نانومتری به دلیل ابعاد بسیار کوچک و سطح بسیار زیاد در مقایسه با تقویت‌کننده‌های معمولی در سطح بارگذاری کمتر، باعث بهبود خواص مدنظر می‌شوند. نانوذراتی که در بسته‌بندی مواد غذایی کاربرد دارند، به دو دسته آلی و غیرآلی دسته‌بندی می‌شوند. نانوذراتی مثل خاک‌کرس، نقره، تیتانیم، روی اکسید، آهن و سیلیکا جزو نانوذرات معدنی هستند و از مواد آلی می‌توان به نانوذرات سلولوز، کیتوسان و کیتین اشاره کرد. فیلم‌های حاصل از نانومواد و زیست‌پلیمرها یا به اصطلاح نانوزیست کامپوزیت‌ها خواص کاربردی مطلوب‌تری از جمله خواص مکانیکی و بازدارندگی بهتر، افزایش مقاومت گرمایی و از همه مهم‌تر خواص ضد میکروبی مناسب برای کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی را دارند.

خواص ضد میکروبی با اضافه شدن مواد دارای خاصیت ضد میکروبی

به فیلم‌های زیست‌پلیمری به دست می‌آید. مواد ضد میکروبی معدنی مزایای زیادی مثل پایداری شیمیایی، مقاومت گرمایی، سالم بودن برای مصرف‌کننده و دوره فعالیت بادوام طولانی نسبت به مواد آلی مصرفی تجاری دارند [۶]. به طور کلی، مواد معدنی ضد میکروبی برپایه یون‌های فلزی با خواص ضد میکروبی مثل Ag^+ و Cu^{2+} روی ماتریس سرامیکی به وسیله تبادل یونی بارگذاری می‌شوند. خاک‌های رس، زئولیت‌ها و سایر آلومینوسیلیکات‌ها به عنوان پایه با نتایج خوب استفاده شده‌اند، زیرا دارای ظرفیت تبادل یون، مساحت سطح و ظرفیت جذب زیاد، بار سطحی فعال، غیرفعال بودن از نظر شیمیایی و سمی بودن کم یا سمی نبودن هستند [۷، ۸]. خاک‌کرس مونت‌موریلونیت که با تبادل یون دارای یون فلزی شده است، پس از پراکنش در آب به باکتری‌هایی با بار منفی حمله کرده و آن‌ها را جذب می‌کند و خواص ضد میکروبی مواد را تقویت می‌کند [۹، ۱۰]. روش‌های متعددی برای تهیه فیلم‌های نانوزیست کامپوزیتی وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به روش پلیمرشدن درجا، قالب‌ریزی از محلول، اختلاط به حالت‌های مذاب و جامد اشاره کرد. پژوهشگران زیادی خواص ضد میکروبی فیلم‌های زیست‌پلیمری دارای نانوذرات مختلف را بررسی کردند که در اینجا به برخی از آن‌ها اشاره می‌شود [۱۱-۱۴].

Cyras و همکاران اثر افزودن درصد‌های مختلف خاک‌کرس معمولی مونت‌موریلونیت را بر خواص کاربردی فیلم نشاسته بررسی و مشاهده کردند، با افزودن نانوذرات خاک‌کرس، استحکام مکانیکی فیلم افزایش و انعطاف‌پذیری آن کاهش می‌یابد. پیوندهای قوی بین ماتریس نشاسته و لایه‌های سیلیکات، دلیل اصلی بهبود خواص مکانیکی فیلم نشاسته است. همچنین مشاهده کردند، با افزایش مقدار مونت‌موریلونیت مقدار جذب رطوبت فیلم‌ها با گذشت زمان کاهش می‌یابد که حاکی از اثر مثبت مونت‌موریلونیت بر بازدارندگی نسبت به بخار آب فیلم نشاسته است [۱۵]. ولی‌پور و همکاران اثر بسته‌های دارای نانوذرات نقره بر مشخصه‌های میکروبی و ظاهری زرشک را در مقایسه با بسته‌های پلی‌اتیلن معمولی بررسی کردند. بسته‌های دارای نانوذرات نقره با غلظت‌های بیش از ۱٪ در مقایسه با بسته‌های پلی‌اتیلن در افزایش کیفیت، رنگ ظاهری محصول زرشک اثر شایان توجهی داشتند و تقریباً در تمام نمونه‌ها در بازه‌های زمانی مختلف، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلی فرم*، *شرشیاکلی* و مخمر مشاهده نشد. همچنین، با افزایش غلظت نانوذرات نقره در بسته‌ها، کاهش بیشتری در تعداد کلنی‌ها به دست آمد [۱۶].

Ghosh و همکاران طی پژوهشی، فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره را در ماتریس زیست‌پلیمر آگار بررسی کردند. اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره در آگار به عنوان هیبرید معدنی-آلی روی باکتری‌های

تازه تهیه شده، استفاده کرد. مس سولفات (CuSO_4) به حالت پودری با وزن مولکولی $159/61 \text{ g/mol}$ از شرکت Merck آلمان خریداری شد. این پودر پس از حل شدن در آب محلول آبی رنگ ایجاد می‌کند. گلیسرول با وزن مولکولی $92/09 \text{ g/mol}$ از شرکت دکتر مجلی ایران خریداری شد. برای انجام آزمون‌های میکروبی از دو میکروارگانیسم گرم منفی /شرشیاکلی (*Escherichia coli*) ATCC 1330 و گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) ATCC 1189 استفاده شد که از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران تهیه شدند. برای کشت این دو میکروارگانیسم، محیط‌های کشت اختصاصی وایولت رد بایل دکستروز (Violet Red Bile Dextrose, VRBD) آگار برای کشت /شرشیاکلی و از محیط مانیتول سالت آگار (manitol salt agar) برای کشت /استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شد. محیط کشت VRBD آگار از شرکت شارلو ایتالیا تهیه شدند. در آزمون‌های میکروبی از نمک سدیم کلرید شرکت میرمدیا برای تهیه سرم فیزیولوژی با رقت‌های لازم استفاده شد. همچنین، از محیط آبگوشت مغذی شرکت شارلو برای تکثیر میکروارگانیسم‌ها تا رسیدن به مقدار اولیه استفاده شد.

دستگاه‌ها

طیف‌سنج زیرقرمز FTIR مدل Tensor 27 ساخت شرکت Bruker آلمان، دستگاه فراصوت Bandelin، Sounopuls، مدل HD2200، 200 W ، $25-30 \text{ kHz}$ ، دستگاه جذب اتمی مدل Nov-AA[®] 400، ساخت آلمان، دستگاه XRF مدل PW1480 ساخت شرکت Philips، پراش سنج پرتو X مدل D500-zimense ساخت آلمان، میکروسکوپ الکترونی پویشی مدل MIRA3 FEG-SEM ساخت شرکت TESCAN جمهوری چک، دستگاه آزمون مکانیکی Zwick/Roell مدل FR010 ساخت آلمان و طیف‌نورسنج دوشعاعی مدل UV-1700 ساخت ژاپن به کار گرفته شد.

روش‌ها

اصلاح انواع خاک‌رس با ذرات نقره فلزی و یون‌های مس

برای تهیه انواع خاک‌های رس اصلاح شده با نقره، ابتدا 5 g سدیم مونت‌موریلونیت و کلویزیت 30B به‌طور جداگانه با هم‌زدن شدید به مدت 1 h در 500 mL آب مقطر پراکنده شدند. سپس، 100 mL محلول نیترات نقره $0/2$ مولار به تعلیق مزبور اضافه شد. تعلیق به مدت 1 h دیگر در دمای محیط به‌شدت هم‌زده شد تا واکنش تبادل یون کامل شود. سپس، محلول $0/8$ مولار تازه تهیه شده سدیم

/شرشیاکلی و /استافیلوکوکوس اورئوس در محلول نمکی آبگوشت مغذی (nutrient broth) ارزیابی شد. نتایج نشان داد، اثر ضد میکروبی فیلم نقره-آگار در برابر باکتری /شرشیاکلی بیشتر از /استافیلوکوکوس اورئوس است [۱۷].

Wang و همکاران خواص ضدباکتری فیلم‌های نانوکامپوزیت کیتوسان-نقره- پلی‌وینیل پیرولیدون با فعالیت زیاد و سریع را بررسی کردند. طی این پژوهش نشان داده شد، فیلم‌های تهیه شده، 100% باکتری‌های /استافیلوکوکوس اورئوس و /شرشیاکلی را طی 5 min از بین بردند. همچنین آن‌ها نشان دادند، افزایش مقدار پلی‌وینیل پیرولیدون خاصیت چسبندگی فیلم را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد [۱۸].

هدف پژوهش حاضر، بررسی بهبود خواص عملکردی فیلم کربوکسی‌متیل سلولوز دارای انواع نانوذرات خاک‌رس معمولی و اصلاح شده با ذرات مس و نقره نظیر جذب UV، نفوذپذیری بخار آب، استحکام مکانیکی، سازگاری با نانوذرات خاک‌رس و خواص ضد میکروبی آن‌ها بود. نوآوری کار حاضر نسبت به کارهای پیشین پژوهشگران در استفاده از خاک‌های رس معمولی، اصلاح شده با مواد آلی و اصلاح شده با نانوذرات فلزی و مقایسه اثر هریک از انواع خاک‌رس بر خاصیت ضد میکروبی، استحکام کششی، مقدار جذب امواج فرابنفش و مقدار تراوایی بخار آب است.

تجربی

مواد

در این پژوهش، کربوکسی‌متیل سلولوز با متوسط وزن مولکولی 41000 g/mol از شرکت Nippon ژاپن و سدیم مونت‌موریلونیت به حالت پودری از شرکت Aldrich تهیه شد. کلویزیت 30B (Cloisite 30B) با اصلاح خاک‌رس معمولی به کمک ترکیب متیل تالو، بیس ۲-هیدروکسی اتیل و آمونیوم چهارگانه (MT_2EtOH) به عنوان اصلاح کننده آلی به دست آمد. مقدار رطوبت این ماده کمتر از 2% با فواصل بین‌لایه‌ای (d_{001}) معادل $1/85 \text{ nm}$ بود. ظرفیت تبادل یون کلویزیت 30B برابر $90 \text{ meq}/100 \text{ g}$ و چگالی آن $1/98 \text{ g/mL}$ بود. این ماده محصول شرکت Southern Clay آمریکا از شرکت نوترینوی تهران خریداری شد.

محلول نقره نیترات (AgNO_3) با چگالی $1/01 \text{ kg/L}$ و ظرفیت $0/1 \text{ N}$ ($0/1 \text{ mol/L}$) و سدیم بورهیدرید (NaBH_4) به شکل قرص‌هایی با وزن مولکولی $37/83 \text{ g/mol}$ از شرکت Merck آلمان خریداری شدند. هنگام به کار بردن سدیم بورهیدرید نیز باید از محلول

محلول دارای نانوذرات به مدت ۳۰ min در معرض امواج فراصوت قرار گرفت. طی مدت ۳۰ min مقدار ۲۰ mL آب مقطر دیگر به محلول اضافه شد. سپس، ۳ g پودر کربوکسی متیل سلولوز وزن شد. محلول روی همزن مغناطیسی قرار گرفت و در دمای ۸۰°C تحت همزدن مداوم، پودر کربوکسی متیل سلولوز به‌طور تدریجی داخل آن حل شد. پس از حل شدن کامل کربوکسی متیل سلولوز، گلیسرول به مقدار ۱/۵ mL به محلول اضافه شد و ۲۰ min تحت همزدن قرار گرفت. محلول حاصل ۱۰ min در حالت ساکن خنک و داخل پلیت‌های شیشه‌ای ریخته شد. سپس، داخل گرم‌خانه در دمای ۵۵°C به مدت ۱۸ h خشک شد. در **جدول ۱** فهرست ترکیب درصد انواع نانوذرات خاک‌رس استفاده شده در تهیه نانوزیست‌کامپوزیت‌های برپایه کربوکسی متیل سلولوز تهیه شده آمده است.

طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوری

نمونه‌ها به روش تهیه قرص‌های KBr با ابعاد و ضخامت مشخصی آماده و با طیف‌سنج زیرقرمز تبدیل فوری (FTIR) بررسی شدند.

آزمون جذب اتمی

در دستگاه جذب اتمی (AAS)، عناصر موجود در نمونه با شعله تبخیر شده و در برابر شعاع‌های منبع تابشی قرار می‌گیرند تا با این روش شناسایی کیفی و کمی انواع مختلف فلزات در تمام انواع مواد و محلول‌ها میسر شود. برای تعیین درصد نقره موجود در خاک‌های

بورهیدرید با همزدن مداوم به تعلیق اضافه شد. پس از افزودن عامل کاهنده، همزدن به مدت ۱ h دیگر ادامه یافت. سپس، بخش جامد و مایع تعلیق با کاغذ صافی از هم جدا شدند. رسوب حاصل سه مرتبه با آب مقطر شسته شد. محصول این مرحله در دمای ۶۰°C در طول شب خشک شده و سپس برای دستیابی به پودر یکنواخت آسیاب شد. برای اصلاح انواع خاک‌های رس با یون‌های مس نیز ابتدا ۵ g خاک‌رس با ۲۵۰ mL محلول سولفات مس ۰/۱ مولار به مدت ۶ h در دمای ۶۰°C همراه با همزدن مخلوط شد. فازهای مایع و جامد با کاغذ صافی از هم جدا شدند. رسوب حاصل تا رسیدن به pH برابر ۵ با آب مقطر شسته شد. محصول این مرحله در دمای ۸۰°C در طول شب خشک و سپس برای به دست آوردن پودر همگن آسیاب شد [۱۹].

تهیه نانوزیست‌کامپوزیت‌های برپایه کربوکسی متیل سلولوز دارای نانوذرات خاک‌رس

در تهیه فیلم‌های نانوزیست‌کامپوزیتی دارای کربوکسی متیل سلولوز و انواع نانوذرات خاک‌رس، از روش قالب‌ریزی از محلول استفاده شد که شامل سه مرحله حل کردن پلیمر در حلال مناسب، قالب‌ریزی محلول پلیمری حاصل و خشک کردن است. ابتدا نانوذرات خاک‌رس با درصد معینی وزن شده و داخل ارلن دارای ۱۸۰ mL آب مقطر ریخته شد. از مسائل مهم هنگام استفاده از نانوذرات در ساختار زیست‌پلیمرها، پراکنش یکنواخت و همگن نانوذرات و جلوگیری از توده شدن و انبوهش آن‌هاست. به همین دلیل برای ممانعت از تجمع،

جدول ۱- ترکیب انواع نانوذرات خاک‌رس استفاده شده در تهیه نانوزیست‌کامپوزیت‌ها.

کد نمونه	نوع نانوذرات*	مقدار خاک‌رس (%wt)	مقدار کربوکسی متیل سلولوز (%wt)
۱	Cloisite 30B	۴	۹۶
۲	MMT	۴	۹۶
۳	-	۰	۱۰۰
۴	Cloisite 30B-Ag	۲	۹۸
۵	Cloisite 30B-Ag	۴	۹۶
۶	Cloisite 30B-Cu	۲	۹۸
۷	Cloisite 30B-Cu	۴	۹۶
۸	MMT-Cu	۲	۹۸
۹	MMT-Cu	۴	۹۶
۱۰	MMT-Ag	۲	۹۸
۱۱	MMT-Ag	۴	۹۶

*کلوزیت 30B اصلاح شده با نقره و مس (Cloisite 30B-Ag و Cloisite 30B-Cu)، سدیم مونت‌موریلونیت (MMT) و سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح شده با نقره و مس (MMT-Ag و MMT-Cu).

(25°C)، طول مقیاس 40 mm و سرعت کشش حدود 5 mm/min در نظر گرفته شد. برای داشتن تکرارپذیری در انجام آزمون‌های استحکام مکانیکی، آزمون‌های کشش برای سه نمونه یکسان از یک نوع فیلم انجام و متوسط مقادیر به دست آمده گزارش شد.

اندازه‌گیری مقدار جذب پرتو فرابنفش نمونه‌های فیلم

مقدار شفافیت فیلم‌ها با طیف‌نورسنج دوشعاعی طبق استاندارد ASTM D1746 تعیین شد. فیلم‌ها به شکل قطعه‌های 2x4 cm بریده شده و به مدت 24 h در رطوبت نسبی 55٪ تثبیت شدند. سپس، روی یکی از سلول‌های طیف‌نورسنج دوشعاعی، نمونه مدنظر و در سلول دیگر، هوا به عنوان مرجع قرار داده شد. مقدار جذب نور در دامنه طول موج 200 nm تا 800 nm اندازه‌گیری و درصد عبور آن در مقایسه با کربوکسی متیل سلولوز خالص سنجیده شد. در نهایت، داده‌ها در رایانه با نرم‌افزار Excel پردازش و نمودارهای مربوط رسم شد.

اندازه‌گیری مقدار تراوایی نمونه‌های فیلم نسبت به بخار آب

مقدار تراوایی بخار آب فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص و فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت کربوکسی متیل سلولوز دارای نانوذرات خاک رس مطابق استاندارد ASTM E96 اندازه‌گیری شد. برای این کار، از ویال‌هایی با قطر 1/5 cm و ارتفاع 4/5 cm استفاده شد. مقدار 3 g کلسیم سولفات داخل ویال‌ها ریخته شد و قطعه‌ای از فیلم آزمون بریده و روی دهانه ویال قرار داده شد. ویال‌ها با تمام محتویات آن وزن و درون خشکانه دارای محلول اشیاع پتاسیم سولفات قرار گرفتند. برای اطمینان از حفظ حالت اشیاع، اجازه داده شد، مقداری رسوب پتاسیم سولفات در کف خشکانه ایجاد شود. پتاسیم سولفات اشیاع در دمای 25°C ، رطوبت نسبی 97٪ ایجاد می‌کند. خشکانه درون انکوباتور 25°C ، قرار گرفته و به مدت 7 روز، هر چند ساعت یکبار، وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها، از روی افزایش وزن ویال‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم شده و پس از انجام رگرسیون خطی، شیب خط محاسبه شد. از تقسیم شیب خط مربوط به هر ویال به سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشته است، سرعت انتقال بخار آب به دست آمد. از تقسیم WVTR به اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم، مقدار تراوایی نمونه‌های فیلم نسبت به بخار آب (WVP) به دست آمد. به دلیل وجود پتاسیم سولفات داخل ویال، فشار بخار داخل ویال، صفر در نظر گرفته شد. فشار بخار خارج فیلم نیز از حاصل ضرب رطوبت نسبی (RH) داخل خشکانه (97٪) و فشار بخار آب خالص در دمای 25°C ، به دست آمد. از حاصل ضرب

رس اصلاح شده با نقره از دستگاه جذب اتمی شرکت کانساران بینالود تهران استفاده شد.

آزمون شیمیایی به روش فلونورسانس پرتو X

مقدار کاتیون مس موجود در خاک‌های رس اصلاح شده با مس به کمک دستگاه XRF موجود در شرکت کانساران بینالود تهران تعیین شد.

پراش پرتو X

آزمون پراش پرتو X (XRD) نمونه‌های نانوکامپوزیتی تهیه شده دارای خاک رس با استفاده از پراش سنج پرتو X با منبع تابش Cu-Ka با طول موج برابر 0.154 nm، ولتاژ کاری 40 kV و جریان 30 mA انجام شد. الگوهای پراش پرتو X نمونه‌های آزمون در محدوده 2θ بین 10° تا 40° با اندازه گام $2^{\circ}/\text{s}$ در دمای 25°C به دست آمد. این آزمون برای محاسبه کمی فاصله بین صفحه‌های سیلیکاتی خاک رس در نانوکامپوزیت‌ها و پودر معدنی خاک رس خالص به کار گرفته شد. با استفاده از روش XRD می‌توان نحوه پراکنش نانوخاک رس در ماتریس پلیمری را تعیین کرد. برای تعیین فاصله بین لایه‌ها از معادله Bragg استفاده شد:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (1)$$

d فاصله بین لایه‌های بلوری (nm)، θ زاویه بازتاب پرتو X از صفحه‌های بلوری که از روی 2θ محاسبه می‌شود و 2θ نقطه‌ای روی منحنی است که پیک پراش در آن نقطه مشاهده می‌شود. λ طول موج کار دستگاه (0.1539 nm) و n ثابت دستگاه پراش و مقدار آن 1 است.

میکروسکوپی الکترونی پویشی

برای دستیابی به سطح شکست مطلوب، نمونه‌ها درون نیتروژن مایع قرار گرفته و پس از تردشدن کامل، دچار شکست شدند. سطح مقطع شکست نمونه‌ها ابتدا با دستگاه پوشش‌دهی با لایه نازکی از طلا روکش‌دار شده و سپس با میکروسکوپ الکترونی پویشی بررسی شد.

استحکام مکانیکی نمونه‌های فیلمی

استحکام کششی و کرنش تا نقطه شکست با استفاده از دستگاه آزمون مکانیکی طبق استاندارد ASTM D 882-91 اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به شکل نوارهای باریکی با طول 60 mm و عرض 20 mm بریده شده و ضخامت هر نمونه بریده شده با ریزسنج $100\text{ }\mu\text{m}$ اندازه‌گیری شد. پارامترهای مقدار رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد، دمای محیط

محیط کشت VRBD (g ۳۹/۵ در ۱ L آب مقطر) استفاده شد. پس از تهیه محیط‌های کشت در پلیت‌های با قطر ۸ cm میکروارگانیزم به اندازه ۱/۰ mL روی محیط کشت ریخته شده و با میله L شکل سترون‌سازی شده روی محیط پخش شد و فیلم‌های تهیه شده با قطر ۲ cm روی محیط کشت قرار گرفت. سپس، نمونه‌ها به داخل انکوباتور منتقل شدند. پس از گذشت ۲۴ h قطر محدوده بازدارندگی اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده

برای تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمون میکروبی فیلم‌های نانوزیست‌کامپوزیتی از نرم‌افزار Minitab 16 و تحلیل و ارزیابی ANOVA یک‌طرفه در سطح احتمال ۵٪ (p < ۰/۰۵) و آزمون Tukey برای تأیید وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها استفاده شد. همه نمونه‌ها در آزمون‌های میکروبی در سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوری

وجود مس و نقره در فضای بین‌لایه‌ای مواد معدنی خاک‌رس با طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه تأیید شد. شکل ۱ طیف FTIR خاک‌رس اصلاح‌نشده کلویزیت 30B، و کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره و مس را در محدوده عدد موجی $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با افزودن نقره فلزی و یون مس، تغییرات کمی در طیف FTIR نمونه‌ها در اعداد موجی مختلف اتفاق می‌افتد. این رفتار به دلیل حذف گروه‌های ساختاری در ماده معدنی خاک‌رس مثل گروه‌های هیدروکسیل، Si-OH و Al-OH پس از تبادل کاتیونی با نقره و مس است. همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، تغییرات زیادی در طیف کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره و مس در مقایسه با کلویزیت 30B دیده نمی‌شود و پیک‌ها در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره و مس اندکی به عدد موجی کوچک‌تر انتقال یافته‌اند. این تغییرات طیف FTIR نبود پیوند شیمیایی بین لایه‌های سیلیکات و نانوذرات نقره و یون‌های مس را در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره و مس نشان می‌دهد [۲].

بررسی جذب اتمی (AAS)

برای تعیین مقادیر نقره موجود در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره از آزمون جذب اتمی استفاده شد. با استفاده از این آزمون مقدار نقره

WVTR و ضخامت فیلم نیز مقدار نفوذپذیری فیلم به بخار آب به‌دست آمد. این آزمون برای هر یک از نمونه‌ها سه مرتبه تکرار شد [۶].

$$j = WVTR = \frac{\Delta W}{tA} = \frac{\text{شیب منحنی}}{\text{مساحت فیلم}} \quad (۲)$$

در این معادله، j شار بخار آب در عرض فیلم که سرعت انتقال بخار آب (WVTR) نیز نامیده می‌شود، ΔW مقدار بخار آب عبور کرده از فیلم، t زمان انتقال بخار آب و A مساحت سطح فیلم است.

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{P(R_2 - R_1)} \quad (۳)$$

در این معادله، X ضخامت فیلم (m)، P فشار بخار آب خالص در دمای 25°C (۳۱۶۹ Pa)، R_2 رطوبت نسبی داخل خشکانه (۹۷٪) و R_1 رطوبت نسبی داخل ویال (۰٪) است.

اندازه‌گیری خواص ضدباکتری فیلم‌های نانوزیست‌کامپوزیتی

آزمون‌های میکروبی روی دو میکروارگانیزم /شرشیاکلی و /استافیلوکوکوس/اورئوس به ترتیب به‌عنوان نماینده باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت انجام شد. ابتدا میکروارگانیزم‌های تهیه شده، در محیط کشت تریپتیک سوی براث (Tryptic Soy Broth, TSB) سترون و خنک (g ۳۰ در ۱ L آب مقطر) کشت داده شده و به‌مدت ۲۴ h در دمای 37°C گرم‌خانه‌گذاری شدند تا میکروارگانیزم‌ها به تعداد اولیه مطلوب برسند. تعداد اولیه باکتری /شرشیاکلی و /استافیلوکوکوس/اورئوس به ترتیب برابر $10^9 \times 1/76$ و $10^8 \times 5/18$ بود. سپس، برای بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های زیست‌پلیمر برپایه کربوکسی‌متیل سلولوز از روش انتشار آگار آزمون منطقه بازدارندگی (inhibition zone) استفاده شد. در این انتشار خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های نانوزیست‌کامپوزیت دارای نانوذرات خاک‌رس مطالعه شد. در صورت انتشار ماده ضد میکروبی از قطعه فیلم قرار گرفته در محیط کشت آگاردار دارای میکروارگانیزم هدف، یک منطقه بازدارندگی در اطراف آن تشکیل می‌شود. وجود این منطقه نشانگر انتشار ماده ضد میکروبی از فیلم و در نتیجه عدم رشد میکروارگانیزم در این منطقه است. هر قدر این منطقه بازدارندگی بزرگ‌تر باشد، بدین معنی است که انتشار ماده ضد میکروبی از فیلم بیشتر انجام شده است. برای انجام آزمون محدوده بازدارندگی به محیط‌های کشت مناسب برای هر میکروب نیاز است که برای میکروارگانیزم /استافیلوکوکوس/اورئوس از محیط کشت MSA (g ۱۱۱ در ۱ L آب مقطر) و برای میکروارگانیزم /شرشیاکلی از

حدود ۱/۲۶٪ وزنی و برای سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با مس حدود ۶/۲۴٪ وزنی به‌دست آمد.

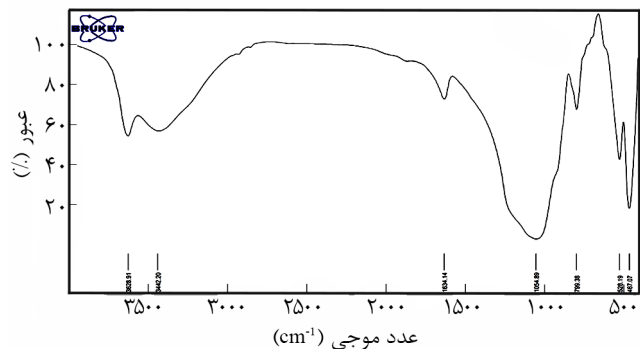
پراش پرتو X (XRD)

همان‌طور که پیش‌تر گفته شد، برای بررسی ساختار نانوکامپوزیت‌های تهیه شده و نحوه قرارگیری فازهای پیوسته و پراکنده از آزمون پراش پرتو X استفاده شد. این آزمون برای محاسبه کمی فاصله بین صفحه‌های سیلیکاتی خاک‌رس در نانوکامپوزیت‌ها و پودر معدنی خاک‌رس خالص به‌کار گرفته می‌شود. با استفاده از روش XRD می‌توان نحوه پراکنش نانوخاک‌رس در ماتریس پلیمری را تعیین کرد. البته باید ذکر کرد، این آزمون، تنها شرط لازم برای تعیین ساختار نانوکامپوزیت‌های تشکیل شده بوده و شرط کافی برای تأیید ساختار نانوکامپوزیت‌ها، استفاده از آزمون TEM است. در تهیه نانوکامپوزیت‌ها، دو حالت اختلاط بین ورقه‌های نانوخاک‌رس و زنجیرهای پلیمری ممکن است، وجود داشته باشد. در حالت اول، زنجیرهای پلیمری به درون فضای بین‌لایه‌ای نانوخاک‌رس نفوذ می‌کنند. در این حالت، لایه‌های نانوخاک‌رس آرایش طبیعی خود را حفظ کرده و فقط فاصله آن‌ها از هم زیاد می‌شود. (میان‌لایه‌ای شدن). در حالت دوم لایه‌های نانوخاک‌رس کاملاً از هم جدا شد و در جهت‌های مختلف در ماتریس پلیمری پخش می‌شوند (ورقه‌ای شدن). الگوی XRD برای کربوکسی متیل سلولوز فاقد هر گونه پیک مشخص است، چون این پلیمر حالت بی‌شکل دارد. **شکل ۲** الگوهای پراش پرتو X را برای خاک‌رس اصلاح‌نشده کلویزیت 30B، اصلاح‌شده کلویزیت 30B-نقره و کلویزیت 30B-مس را نشان می‌دهد. با توجه به الگوی XRD و با استفاده از معادله Bragg، فاصله بین لایه‌های صفحه‌های نانوخاک‌رس مطابق **جدول ۲** به‌دست آمد. همان‌طور که از این الگوها و نتایج جدول ۲ مشخص است، ذرات نقره فلزی به‌طور مؤثری در فضای بین‌لایه‌ای کلویزیت 30B قرار گرفته‌اند، زیرا فاصله بین‌لایه‌ای کلویزیت 30B از ۱/۸۴۱ nm به ۱/۸۵۵ nm پس از اصلاح با نقره فلزی افزایش یافته است. این افزایش مربوط به جایگزینی نقره فلزی در فضای بین‌لایه‌ای کلویزیت 30B است، در حالی که در طیف XRD کلویزیت 30B اصلاح‌شده با یون‌های مس، فضای بین لایه‌های خاک‌رس از ۱/۸۴۱ nm به ۱/۷۸۰ nm کاهش یافته است. این مشاهده احتمالاً به دلیل تبادل کاتیون مس با کاتیون‌های آمونیوم چهارگانه است که نسبت به کاتیون مس فضای بیشتری را اشغال می‌کند. در واقع می‌توان گفت، در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با یون‌های مس، یون‌های مس نتوانسته‌اند وارد لایه‌های خاک‌رس شوند و این به‌وضوح در الگوهای پراش پرتو X مشخص است.

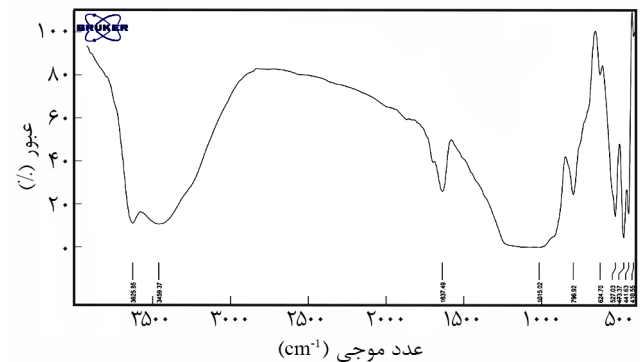
موجود در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره حدود ۲/۲۵٪ وزنی به‌دست آمد. همچنین، مقدار نقره موجود در سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با نقره حدود ۱/۳۵٪ وزنی به‌دست آمد.

بررسی شیمیایی با روش فلوئورسانس پرتو X (XRF)

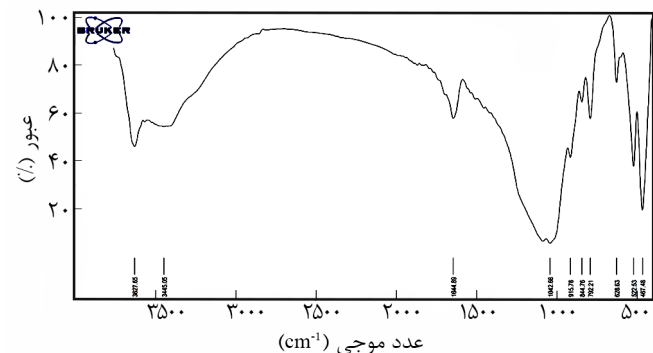
برای تعیین مقادیر یون مس موجود در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با مس از آزمون فلوئورسانس پرتو X استفاده شد. مطابق نتایج این آزمون، مقدار یون‌های مس در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با مس



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۱- طیف‌های FTIR: (الف) کلویزیت 30B خالص و کلویزیت 30B اصلاح‌شده با (ب) نقره و (ج) مس.

جدول ۲- فاصله بین لایه‌های انواع خاک‌های رس به دست آمده از معادله Bragg.

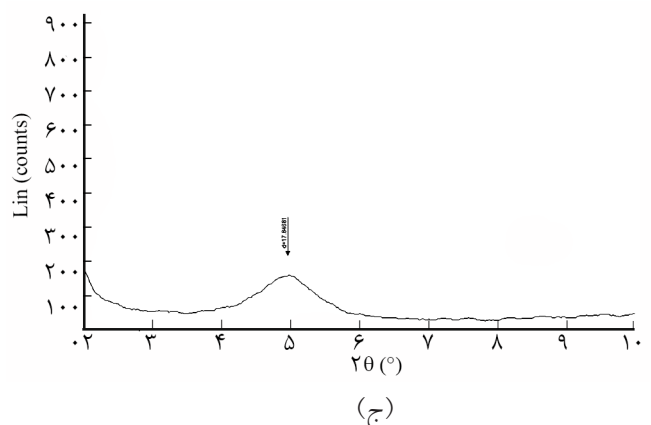
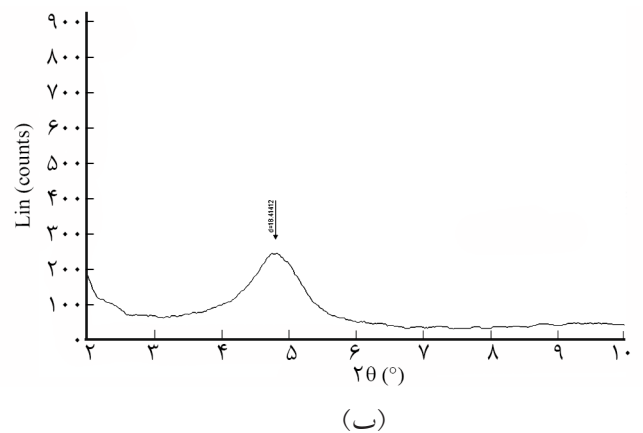
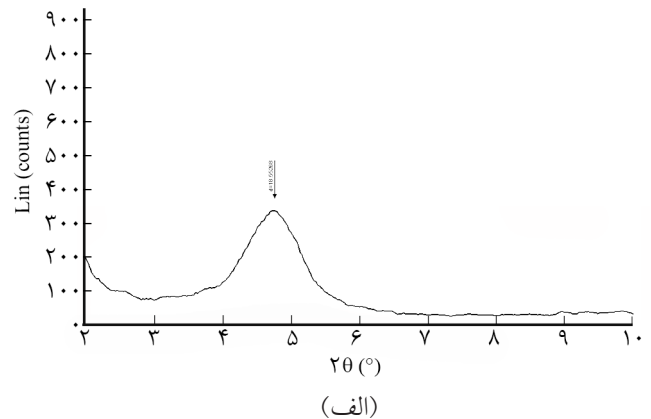
فاصله بین لایه‌های خاک رس (nm)	نوع خاک رس
۱/۸۴۱	کلوزیت 30B
۱/۸۵۵	کلوزیت 30B اصلاح شده با نقره
۱/۷۸۰	کلوزیت 30B اصلاح شده با مس

۴٪ وزنی کلوزیت 30B اصلاح شده با مس نیز از بین رفتن پیک و پهن شدن الگوی پراش پرتو X مشاهده می‌شود (شکل ۳-ب). در این حالت نیز ساختار ورقه‌ای در نانوکامپوزیت مشاهده می‌شود. ایجاد ساختار ورقه‌ای، نمایانگر اختلاط خوب خاک رس در ماتریس پلیمر است. پراکنش ورقه‌ای مزیتی برای فیلم پلیمری است، چون پراکنش نانوخاک رس بهتر است و تجمع در بخش خاصی نیست، احتمال توده‌ای شدن و افزایش تراکم لایه‌های نانوخاک رس در بخش‌هایی از ماتریس پلیمری کاهش می‌یابد. در نانوکامپوزیت دارای ۴٪ وزنی خاک رس نوع سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح شده با نقره فاصله بین لایه‌ای حدود ۱/۴۶ nm به دست آمد (شکل ۳-ج) که نسبت به سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح نشده مقداری افزایش یافته است (فاصله بین لایه‌ها حدود ۱/۲۴ nm). این نتیجه به دلیل این است که در سدیم مونت‌موریلونیت، یون‌های نقره و مس که اندازه بزرگتری دارند، با یون‌های کوچک سدیم مبادله می‌شوند و در نتیجه فضای بین لایه‌ای بیشتری را اشغال می‌کنند [۱۵].

بررسی میکروسکوپی الکترونی پویشی

شکل‌شناسی سطح شکست تازه نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیتی تهیه شده با میکروسکوپی الکترونی پویشی (SEM) بررسی و تصاویر ریزساختار نمونه‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است. شکل ۴-الف به طور آشکار نشان‌دهنده شکل‌شناسی سطح شکست بسیار صاف و همگن در سطح شکست کربوکسی متیل سلولوز خالص است. سطح فیلم‌های نانوزیست کامپوزیتی نسبت به کربوکسی متیل سلولوز خالص زبرتر و ناهمگن‌تر است. این موضوع می‌تواند ناشی از اثر توده‌ای شدن برخی از نانوذرات در تهیه نانوزیست کامپوزیت‌های باشد. از مقایسه تصاویر ۴-ب و ۴-د مشخص می‌شود، با وجود اینکه زبری سطح شکست فیلم دارای سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح شده با نقره بیشتر است، اما سطح شکست فیلم دارای کلوزیت 30B اصلاح شده با نقره یکنواخت‌تر است و کلوخه‌شدگی کمتری در آن

شکل ۳ الگوهای پراش پرتو X نمونه‌های فیلم نانوکامپوزیتی کربوکسی متیل سلولوز دارای انواع ذرات خاک رس اصلاح شده را نشان می‌دهد. در فیلم نانوکامپوزیتی دارای ۴٪ وزنی کلوزیت 30B اصلاح شده با نقره مشاهده می‌شود، الگوی پراش پرتو X پهن شده و پیک از بین رفته است. این الگو نشان‌دهنده تشکیل ساختار ورقه‌ای در این ترکیب است (شکل ۳-الف). در فیلم نانوکامپوزیتی دارای



شکل ۲- الگوهای پراش پرتو X: (الف) کلوزیت 30B خالص و کلوزیت 30B اصلاح شده با (ب) نقره و (ج) مس.

می‌توان نتیجه گرفت، فیلم‌های دارای نانوخاک رس اصلاح شده با یون مس چه از نوع کلویزیت 30B و چه از نوع سدیم مونت‌موریلونیت با فیلم کربوکسی متیل سلولوز سازگارند.

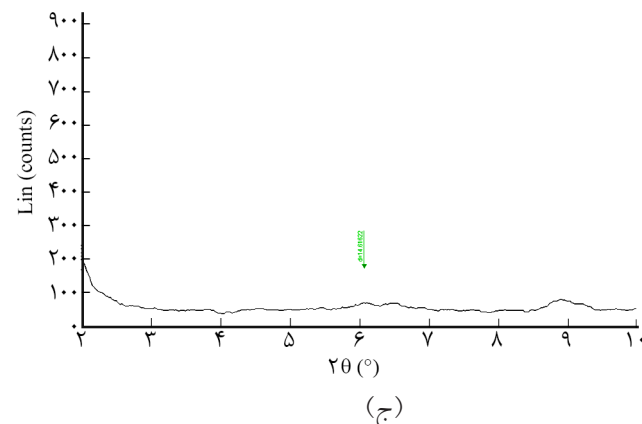
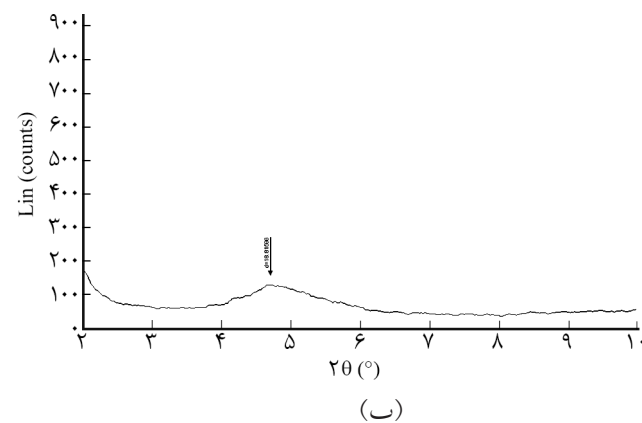
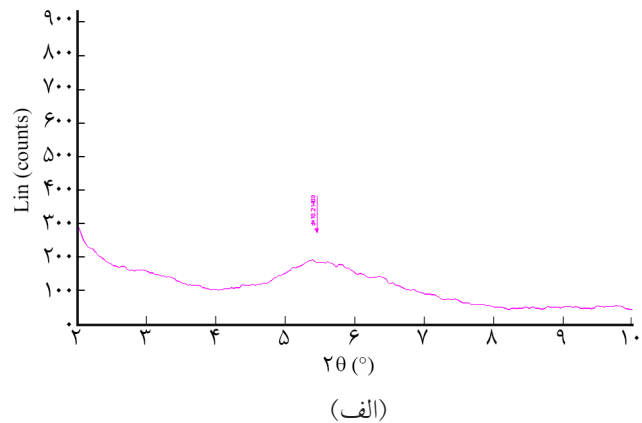
از مقایسه تصاویر ۴-ب و ۴-ج مشخص است، کلویزیت 30B اصلاح شده با مس سازگاری بیشتری نسبت به کلویزیت 30B اصلاح شده با نقره دارد و سطح یکنواخت‌تری تشکیل می‌دهد. در نهایت، با مقایسه کلی تصاویر SEM می‌توان گفت، کلویزیت 30B و سدیم مونت‌موریلونیت با ماتریس زیست‌پلیمری کربوکسی متیل سلولوز سازگار بوده و نیز فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت دارای خاک رس اصلاح شده با مس سطح یکنواخت‌تر و سازگارتری نسبت به خاک رس اصلاح شده با نقره دارد [۲].

استحکام مکانیکی نمونه‌های فیلم

مقدار استحکام کشش نهایی و کرنش تا شکست فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت دارای نانوذرات کلویزیت 30B اصلاح شده با نقره و مس در سطح ۴٪ وزنی در مقایسه با فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص در دمای محیط اندازه‌گیری شد که نتایج در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است. بسته به مقدار برهم‌کنش‌های بین‌سطحی میان نانوذرات پرکننده و ماتریس، نحوه پراکنش نانوذرات داخل ماتریس و در نتیجه مقدار پرشدن فضاهای خالی، مقادیر متفاوتی از مقدار استحکام کششی و کرنش در نقطه شکست در فیلم‌های نانوزیست کامپوزیتی مشاهده می‌شود. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، مقدار استحکام کششی نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت‌ها نسبت به فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص بیشتر است. همچنین براساس نتایج شکل ۶ مقدار کرنش در نقطه شکست نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت‌ها نسبت به فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص روند کاهشی دارد. این موضوع احتمالاً به علت ایجاد پیوندهای فیزیکی بین زنجیرهای کربوکسی متیل سلولوز و نانوذرات خاک رس و نیز پرکردن فضاهای خالی بین زنجیرهاست که نیروی لازم برای کشیدن افزایش یافته و در نتیجه مقدار کرنش تا نقطه شکست نمونه‌ها کاهش می‌یابد. در کل، نتایج آزمون مکانیکی حاکی از آن است که فیلم‌های نانوزیست کامپوزیتی دارای نانوذرات خاک رس نسبت به فیلم کربوکسی متیل سلولوز خواص مکانیکی بهتری را در کاربردهای بسته‌بندی نشان می‌دهند [۱۵].

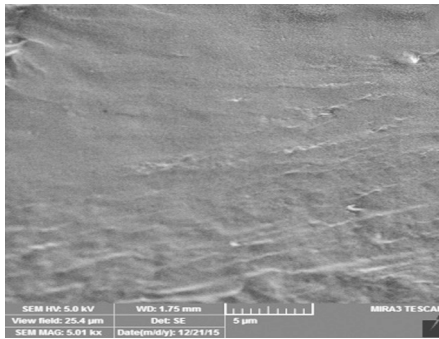
مقدار جذب پرتو فرابنفش نمونه‌های فیلم

همان‌طور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، از میان نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیتی دارای کلویزیت 30B و کلویزیت 30B اصلاح شده با نقره و مس، فیلم کربوکسی متیل سلولوز دارای کلویزیت 30B

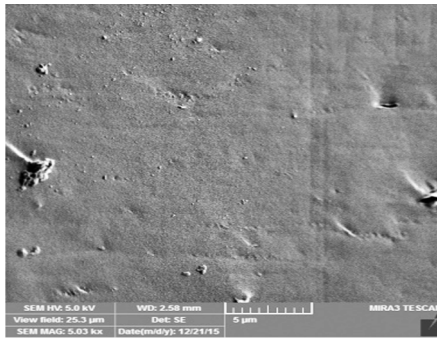


شکل ۳- الگوهای پراش پرتو X فیلم‌های نانوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولوز دارای: ۴٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح شده با (الف) نقره، (ب) مس و (ج) دارای ۴٪ وزنی سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح شده با نقره.

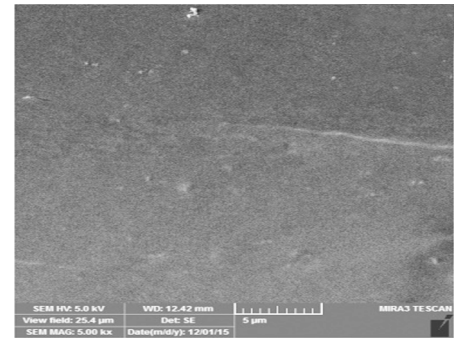
دیده می‌شود. این مقایسه نشان می‌دهد، در حالت کلی کلویزیت 30B نسبت به سدیم مونت‌موریلونیت با فیلم کربوکسی متیل سلولوز سازگارتر است. از مقایسه تصاویر ۴-ج و ۴-ه که در آن‌ها سطح شکست هر دو فیلم از نظر یکنواختی و زبری تقریباً شبیه هم است،



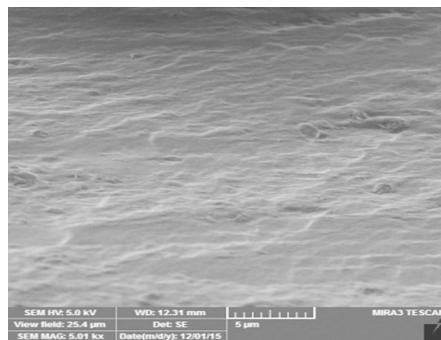
(الف)



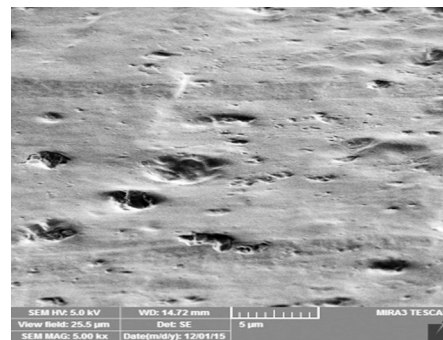
(ب)



(ج)



(د)

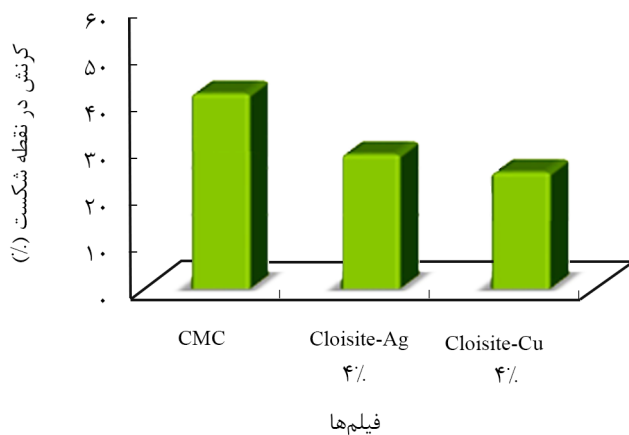


(ه)

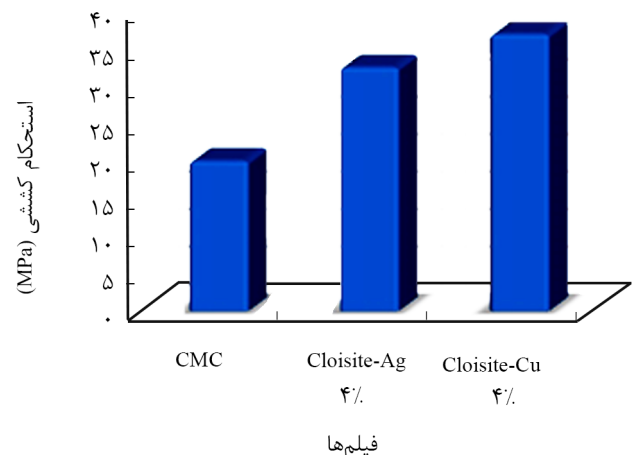
شکل ۴- تصاویر SEM نمونه‌های فیلم کربوکسی متیل سلولوز: (الف) خالص و دارای ۴٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح شده با (ب) نقره، (ج) مس و دارای ۴٪ سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح شده با (د) نقره و (ه) مس.

شکل به روشنی می‌توان فهمید، افزایش جذب به واسطه بیشتر شدن غلظت نقره و در نتیجه طیف جذبی پلاسمون آن بوده که این جذب به وضوح در عدد موجی حدود ۴۰۰ nm مشاهده شده است. با مقایسه کلی تمام نمونه‌ها می‌توان گفت، مقدار جذب در پرتوهای UV در فیلم‌های دارای نانوذرات نقره بیشتر است که این موضوع به خواص

اصلاح شده با نقره فلزی به مقدار ۴٪ وزنی بهترین جذب را نسبت به سایر نمونه‌ها دارد. همچنین، فیلم دارای کلویزیت 30B اصلاح نشده کمترین مقدار جذب را در بین نمونه‌ها دارد. شکل ۸ منحنی‌های مربوط به مقدار جذب نمونه‌های دارای سدیم مونت‌موریلونیت خالص و اصلاح شده با نقره و مس را نشان می‌دهد. از نتایج این دو



شکل ۶- اثر افزودن نانوذرات خاک رس اصلاح شده با فلزات بر مقدار کرنش در نقطه شکست فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص.

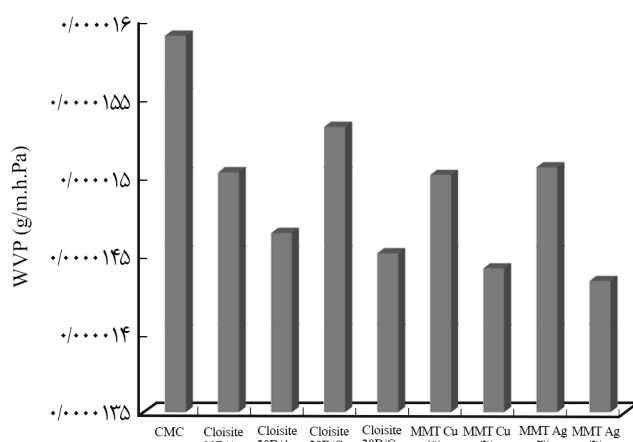


شکل ۵- اثر افزودن نانوذرات خاک رس اصلاح شده با فلزات بر مقدار استحکام کششی فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص (CMC).

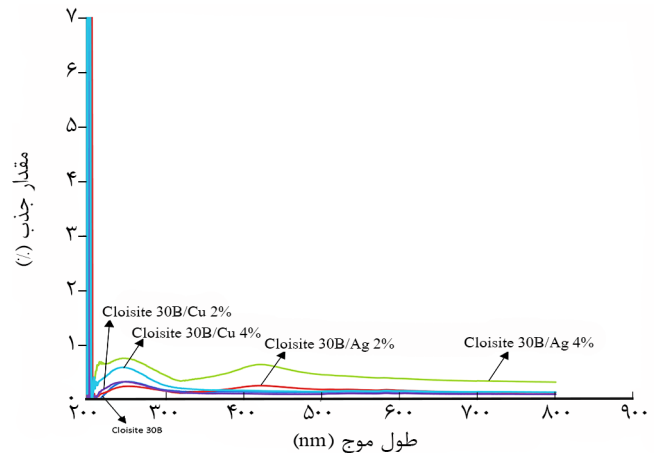
زیگزاگ و پرپیچ و خم برای نفوذ مولکول‌های بخار آب می‌شود. در واقع، با وجود نانوذرات خاک‌رس، مولکول‌های بخار آب برای عبور از فیلم باید مسیر طولانی‌تر و پیچیده‌تری را طی کنند و همین مسئله باعث کاهش سرعت انتقال و نفوذ مولکول‌های بخار آب می‌شود. هرچه لایه‌های نانوذرات خاک‌رس در ماتریس زیست‌پلیمر بیشتر و بهتر پخش شوند، این مسیرهای زیگزاگی بیشتر شده و بازدارندگی فیلم در برابر بخار آب و سایر گازها بیشتر می‌شود. با مطالعه رابطه بین مقدار نفوذپذیری پلیمر و نوع پخش لایه‌های نانوذرات خاک‌رس می‌توان به این نتیجه رسید که بیشترین بازدارندگی زمانی به وجود می‌آید که ساختار نانوزیست کامپوزیت حاصل ورقه‌ای شده باشد. از طرف دیگر، می‌توان کاهش نفوذپذیری به بخار آب را به ایجاد برهم‌کنش قوی بین نانوذرات خاک‌رس و زیست‌پلیمرها نسبت داد. در واقع، این برهم‌کنش‌ها پارامتر انتشارپذیری را که در تعیین مقدار نفوذپذیری بسیار مؤثرند، تحت تأثیر قرار می‌دهد. زیرا با قرارگیری لایه‌های نانوذرات خاک‌رس در بین زنجیرها و کاهش فضاهای آزاد مقدار انتشارپذیری مولکول‌های آب کنترل می‌شود. همان‌طور که در شکل ۹ دیده می‌شود، با افزایش مقدار خاک‌رس درون نانوزیست کامپوزیت‌ها اثر افزایش مقدار نفوذپذیری نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت نسبت به بخار آب به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد.

خواص ضدباکتری فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت

همان‌طور که در بخش تجربی گفته شد، آزمون‌های میکروبی روی دو میکروارگانیزم /شرشیاکلی و /استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب به‌عنوان نماینده باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت



شکل ۹- اثر افزودن انواع نانوذرات خاک‌رس بر مقدار تراوایی نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت نسبت به بخار فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص.

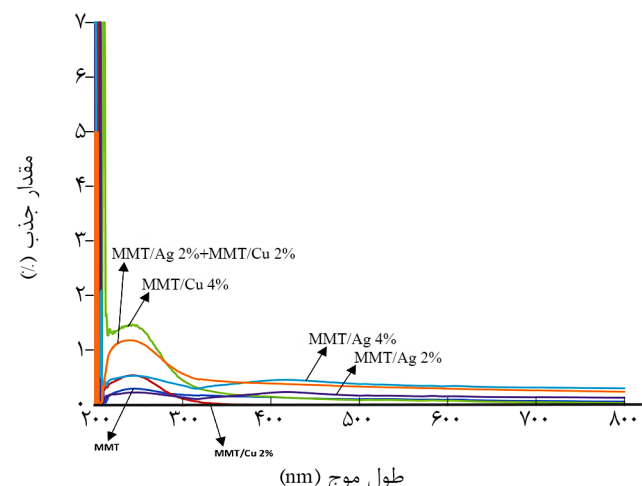


شکل ۷- اثر افزودن نانوذرات کلویزیت 30B اصلاح‌شده با فلزات بر مقدار جذب امواج فرابنفش فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص.

شکل‌شناسی نانوذرات نقره و اندازه آن‌ها بستگی دارد. با افزایش غلظت نانوذرات نقره مقدار جذب امواج فرابنفش به‌شدت افزایش یافته و برعکس مقدار عبور امواج فرابنفش به‌شدت کاهش می‌یابد [۲].

مقدار تراوایی نمونه‌های فیلم نسبت به بخار آب

همان‌طور که در شکل ۹ مشاهده می‌شود، با ورود نانوذرات خاک‌رس به داخل ماتریس زیست‌پلیمر، مقدار نفوذپذیری نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت نسبت به بخار آب کاهش می‌یابد. این اثر کاهش مقدار نفوذپذیری نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت نسبت به بخار آب را به شکل‌های مختلف می‌تواند توجیه کند. مهم‌ترین سازوکار پیشنهاد شده برای بررسی اثر مزبور این است که وجود لایه‌های نانوذرات خاک‌رس در ماتریس زیست‌پلیمری باعث ایجاد مسیرهای



شکل ۸- اثر افزودن سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با فلزات بر مقدار جذب امواج فرابنفش فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص.

انجام شد. برای بررسی خاصیت ضدباکتری فیلم‌های زیست‌پلیمر برپایه کربوکسی‌متیل سلولوز از روش انتشار آگار (آزمون منطقه بازدارندگی) استفاده شد. در این انتشار، خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت دارای نانوذرات خاک‌رس مطالعه شد. در صورت انتشار ماده ضد میکروبی از قطعه فیلم قرار گرفته در محیط کشت آگاردار دارای میکروارگانیسم هدف، منطقه بازدارنده‌ای در اطراف آن تشکیل می‌شود. وجود این منطقه نشانگر انتشار ماده ضد میکروبی از فیلم و در نتیجه عدم رشد میکروارگانیسم در این منطقه است. هر قدر این منطقه بازدارنده بزرگ‌تر باشد، بدین معنی است که انتشار ماده ضد میکروبی از فیلم بیشتر انجام گرفته است. درباره فعالیت ضد میکروبی یون‌های مس و نقره فلزی باید نکات زیر را در نظر گرفت:

به دلیل اینکه مس برخلاف سایر فلزات ضد میکروبی، محدوده گسترده‌ای از فعالیت‌ها را علیه باکتری و قارچ نشان می‌دهد، درخور توجه ویژه است. کارایی مس به شرایط محیط، غلظت آن و نوع میکروارگانیسم بستگی دارد. مس در حالت اکسیدی (Cu^{2+}) علیه سلول‌های میکروبی بسیار مؤثر است که از واکنش با نوکلئیک اسیدها، بخش‌های فعال آنزیم و ترکیب غشای سلول باعث مرگ سلول میکروبی می‌شود [۱۱]. در بین عناصر ضد میکروبی معدنی، یون‌های نقره و ترکیبات برپایه نقره در سطح گسترده از رشد میکروبی جلوگیری می‌کنند و اثر میکروب‌کشی قوی روی گونه‌های زیادی از باکتری‌ها نشان می‌دهند [۱۳]. سه سازوکار که بیشتر برای فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره پیشنهاد شده است، عبارت از رهاشدن تدریجی یون‌های نقره، قطع تولید ATP و رونویسی DNA، آسیب مستقیم نانوذرات نقره به غشای سلول و تولید گونه‌های فعال اکسیژن به‌وسیله نانوذرات نقره و یون نقره [۱۴] است.

اثر کلویزیت 30B بر خواص ضدباکتری فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت

نتایج آزمون میکروبی مربوط به نمونه‌های فیلمی کربوکسی‌متیل سلولوز دارای کلویزیت 30B در **جدول ۳** آمده است. مطابق نتایج این جدول، اثر ضد میکروبی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره فلزی بیشتر از کلویزیت 30B اصلاح‌شده با مس است. فیلم کربوکسی‌متیل سلولوز خالص و بدون نانوذرات خودبه‌خود خاصیت ضد میکروبی ندارد. همچنین، فیلم نانوزیست کامپوزیت دارای کلویزیت 30B اصلاح‌نشده نیز اثر ضد میکروبی دارد. اما این اثر نسبت به نمونه اصلاح‌شده همان نانوذرات با نقره و مس کمتر است. فیلم‌های دارای کلویزیت 30B و اصلاح‌شده با نقره و مس نیز در برابر باکتری‌های /استافیلوکوکوس اورئوس و /شرشیاکلی خاصیت ضد میکروبی نشان داده‌اند که در هر دو باکتری تمام فیلم‌ها تفاوت معنی‌داری با فیلم بدون نانوذرات دارند. در ضمن برای هر دو باکتری، بهترین عملکرد در فیلم‌های دارای کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره فلزی مشاهده شد. همچنین، از نتایج جدول ۳ مشخص است، اثر نانوذرات خاک‌رس دارای ذرات نقره روی باکتری /استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از باکتری /شرشیاکلی است که نشان می‌دهد، اثر این نانوذرات روی باکتری‌های گرم مثبت بهتر از باکتری‌های گرم منفی است.

اثر سدیم مونت‌موریلونیت بر خواص ضدباکتری فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت

نتایج آزمون میکروبی مربوط به نمونه‌های فیلمی کربوکسی‌متیل سلولوز دارای سدیم مونت‌موریلونیت در **جدول ۴** بیان شده است. مطابق نتایج این جدول، فیلم نانوزیست کامپوزیت دارای سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌نشده روی باکتری /استافیلوکوکوس اورئوس هیچ اثری نداشته و ناحیه بازدارنده در حاشیه فیلم تشکیل نمی‌شود. همچنین، این نانوذرات

جدول ۳- مقادیر محدوده بازدارنده فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت دارای کلویزیت 30B برای باکتری‌های /شرشیاکلی و /استافیلوکوکوس اورئوس (حروف متفاوت نشانگر معنی‌دار بودن اختلاف در آزمون Tukey ($P < 0.05$) است).

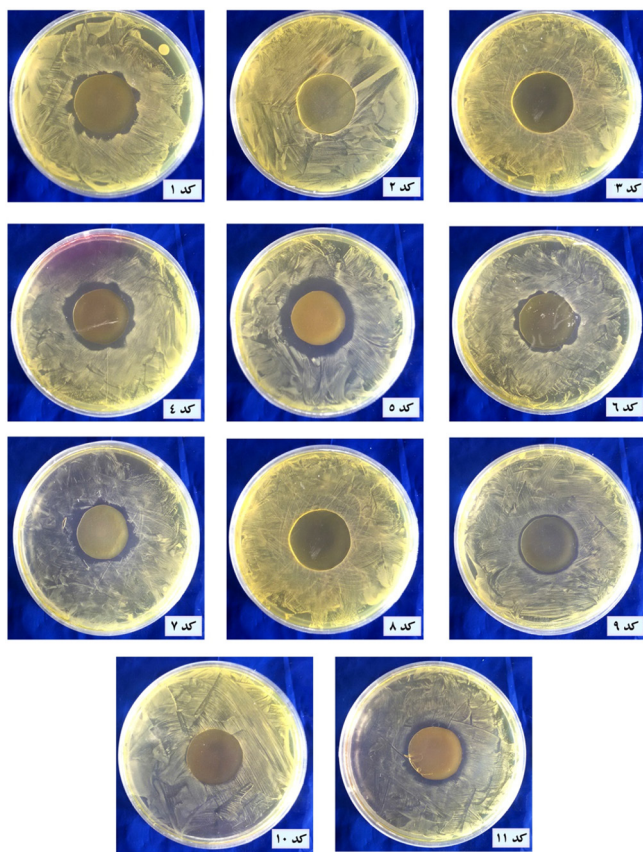
قطر بازدارندگی فیلم‌ها (mm)		نمونه‌های فیلم کربوکسی‌متیل سلولوز
/استافیلوکوکوس اورئوس	/شرشیاکلی	
0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 d	خالص
4.900 ± 0.879 b	1.7000 ± 0.6528 c	دارای ۴٪ وزنی کلویزیت 30B
5.207 ± 0.514 b	2.6833 ± 0.1106 b	دارای ۲٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره
9.870 ± 0.793 a	3.8400 ± 0.3418 a	دارای ۴٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره
3.083 ± 0.606 b	1.9867 ± 0.2631 bc	دارای ۲٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با مس
7.717 ± 0.725 b	2.8100 ± 0.3242 a	دارای ۴٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با مس

جدول ۴- مقادیر محدوده بازدارنده فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت دارای نانوذرات سدیم مونت‌موریلونیت برای باکتری‌های /شرشیاکلی و /استافیلوکوکوس /اورئوس (حروف متفاوت نشانگر معنی‌دار بودن اختلاف در آزمون Tukey ($P < 0.05$) است).

نمونه‌های فیلم کربوکسی متیل سلولوز		قطر بازدارندگی فیلم‌ها (mm)
		شرشیاکلی
		استافیلوکوکوس /اورئوس
خالص دارای ۲٪ وزنی سدیم مونت‌موریلونیت دارای ۲٪ وزنی سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با مس دارای ۴٪ وزنی سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با مس دارای ۲٪ وزنی سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با نقره دارای ۴٪ وزنی سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با نقره	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
	0.0 ± 0.0 d	0.8733 ± 0.6145 d
	0.0 ± 0.0 d	1.0300 ± 0.2464 d
	2.45 ± 0.436 c	2.1900 ± 0.3251 c
	2.653 ± 0.294 c	2.8967 ± 0.2597 bc
	6.660 ± 0.737 b	3.6000 ± 0.4857 b

با نمونه فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص تفاوت معنی‌داری نداشت. در فیلم‌های دارای سدیم مونت‌موریلونیت نیز مانند فیلم‌های دارای کلویزیت 30B اثر نانوذرات سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با نقره به مراتب بیشتر با نانوذرات سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با مس

روی باکتری /شرشیاکلی اثر کمی دارند، به‌طوری‌که با فیلم کربوکسی متیل سلولوز خالص که بدون نانوذرات است، اختلاف معنی‌داری ندارد. فیلم نانوزیست کامپوزیت دارای ۲٪ وزنی سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با مس در برابر باکتری /استافیلوکوکوس /اورئوس هیچ مقاومتی نشان نداد. اما، در برابر باکتری /شرشیاکلی اثر اندکی داشت که



شکل ۱۱- تصاویر ناحیه بازدارنده انواع فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت علیه باکتری /استافیلوکوکوس /اورئوس (کدها در تصاویر مطابق جدول ۱ است).



شکل ۱۰- تصاویر ناحیه بازدارنده انواع فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت علیه باکتری /شرشیاکلی (کدها در تصاویر مطابق جدول ۱ است).

دیده شد. شکل‌های ۱۰ و ۱۱ تصاویر ناحیه بازدارنده انواع فیلم‌های نانوزیست کامپوزیتی را در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شرشیاکلی* نشان می‌دهد [۱۳].

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، فیلم‌های فعال نانوزیست کامپوزیت کربوکسی متیل سلولوز به روش قالب‌ریزی از محلول تهیه شدند. از نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده با فلزات برای ایجاد خواص ضد میکروبی و بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی و از گلیسرول به عنوان سازگارکننده در تهیه این فیلم‌ها استفاده شد. این مطالعه در سه بخش تهیه خاک رس اصلاح‌شده با نقره و مس به وسیله تبادل یون با محلول‌های نیترات نقره و سولفات مس، تهیه فیلم‌های دارای نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده با این فلزات و بررسی و انجام آزمون‌های میکروبی، مکانیکی و فیزیکی انجام شد. با آزمون‌های AAS و XRF انجام شده روی خاک رس اصلاح‌شده با فلزات نقره و مس، مقادیر نقره و مس در کلویزیت 30B به ترتیب برابر ۲/۲۵ و ۱/۲۶ درصد وزنی تعیین شد. برای سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با فلزات نیز مقادیر نقره و مس به ترتیب برابر ۱/۳۵ و ۶/۲۴ درصد وزنی به دست آمد.

نتایج آزمون XRD نشان داد، نقره به‌طور مؤثری در فضای بین‌لایه‌ای مونت‌موریلونیت قرار گرفته است، زیرا فاصله بین‌لایه‌ای از ۱/۸۴۱ nm برای کلویزیت 30B به ۱/۸۵۵ nm در کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره افزایش یافته است، زیرا یون‌های نقره با سدیم مبادله شدند. افزایش فضای بین‌لایه‌ای خاک رس به دلیل تفاوت در اندازه یون‌های نقره و سدیم است. فیلم نانوزیست کامپوزیت کربوکسی متیل سلولوز و کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره نیز افزایش فاصله بین‌لایه‌ای را نسبت به کلویزیت 30B خالص نشان داد که مربوط به ترکیب این نوع از خاک رس است. به عبارتی، یعنی با قرارگرفتن زنجیرهای کربوکسی متیل سلولوز در فضای بین‌لایه‌ای خاک رس، این فضا افزایش یافته است. کلویزیت 30B اصلاح‌شده با یون‌های مس کلویزیت 30B

فضای بین‌لایه‌ای کمتری را نشان می‌دهد. فیلم نانوزیست کامپوزیت کربوکسی متیل سلولوز و خاک رس نوع کلویزیت 30B اصلاح‌شده با مس، افزایش فاصله کمی نسبت به نوع اصلاح‌شده با نقره دارد. در فیلم دارای سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با نقره و مس نیز افزایش فاصله و ورقه‌ای شدن مشاهده شد.

تصاویر SEM نشان داد، در حالت کلی کلویزیت 30B نسبت به سدیم مونت‌موریلونیت سازگاری بهتری با فیلم کربوکسی متیل سلولوز دارد. همچنین نتیجه گرفته شد، نانوذرات خاک رس اصلاح‌شده با مس در تهیه فیلم‌های نانوزیست کامپوزیت سازگارتر از خاک رس اصلاح‌شده با نقره است.

از نتایج استحکام کششی نمونه‌های فیلم مشخص شد، افزودن نانوذرات خاک رس باعث افزایش استحکام کششی فیلم‌ها شده و فیلم دارای ۴٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با مس نتایج بهتری نشان داد. با اندازه‌گیری مقدار تراوایی نمونه‌های فیلم نسبت به بخار آب نتیجه گرفته شد، با ورود نانوذرات خاک رس به داخل ماتریس زیست‌پلیمر، مقدار نفوذپذیری نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت نسبت به بخار آب کاهش می‌یابد. همچنین، برای نمونه‌های مختلف نانوزیست کامپوزیت مشخص شد، سدیم مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده با نقره بهترین عملکرد را در برابر تراوایی بخار آب دارد و کلویزیت 30B اصلاح‌نشده ضعیف‌ترین عملکرد را بین نمونه‌ها دارد. نتایج مقدار جذب پرتو فرابنفش نشان داد، از میان نمونه‌های فیلم نانوزیست کامپوزیت دارای کلویزیت 30B و کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره و مس، فیلم کربوکسی متیل سلولوز دارای کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره فلزی به مقدار ۴٪ وزنی بهترین جذب را نسبت به سایر نمونه‌ها دارد. همچنین، فیلم دارای کلویزیت 30B اصلاح‌نشده کمترین مقدار جذب را در بین نمونه‌ها دارد. نتایج آزمون میکروبی مربوط به نمونه‌های فیلم کربوکسی متیل سلولوز دارای انواع نانوذرات خاک رس نشان داد، فیلم دارای ۴٪ وزنی کلویزیت 30B اصلاح‌شده با نقره بیشترین اثر ضد میکروبی را علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شرشیاکلی* نشان می‌دهد.

مراجع

1. Magana S.M., Quintana P., Aguilar D.H., Toledo J.A., Angeles-Chavez C., Cortes M.A., Leon L., Freile-Pelegrin Y., Lopez T., and Torres Sanchez R.M., Antibacterial Activity of Montmorillonites Modified with Silver, *J. Molecul. Catal. A: Chem.*, **281**, 192-199, 2008.
2. Dadfar A., Alemzadeh I., Dadfar R., and Vosoughi

- M., Studies on the Oxygen Barrier and Mechanical Properties of Low Density Polyethylene/Organoclay Nanocomposite Films in the Presence of Ethylene Vinyl Acetate Copolymer as a New Type of Compatibilizer, *Mater. Des.* **32**, 1806-1813, 2011.
3. Praus P., Turicova M., and Valaskova M., Study of Silver Adsorption on Montmorillonite, *J. Braz. Chem. Soc.*, **19**, 549-556, 2008.
4. Emamifar A., Kadivar M., Shahedi M., and Soleimani-Zad S., Evaluation of Nanocomposite Packaging Containing Ag and ZnO on Shelf Life of Fresh Orange Juice, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **11**, 742-748, 2010.
5. Kirwan R. and Coles M.J., *Food and Beverage Packaging Technology*, Wiley-Blackwell, 189-295, 2011.
6. Goda K., Sreekala M.S., Malhotra S.K., Joseph K., and Thomas S., Advances in Polymer Composites: Biocomposites—State of the Art, New Challenges, and Opportunities, *Polym. Compos.*, **1-10**, 2013.
7. Wu C.S., *Handbook of Size Exclusion Chromatography and Related Techniques: Revised and Expanded*, Chromatographic Science Series, 2nd ed., **91**, CRC, 465-612, 2003.
8. Azeredo H.M., Nanocomposites for Food Packaging Applications, *Food Res. Int.*, **42**, 1240-1253, 2009.
9. Panda H., *The Complete Book on Water Soluble Gums and Resins*, Asia Pacific Business, 435-518, 2011.
10. Heinze T., Liebert T., and Koschella A., *Esterification of Polysaccharides*, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 175-190, 2006.
11. Rhim J.W., Park H.M., and Ha C.S., Bio-nanocomposites for Food Packaging Applications, *Prog. Polym. Sci.*, **38**, 1629-1652, 2013.
12. Yadollahi M., Gholamali I., Namazi H., and Aghazadeh M., Synthesis and Characterization of Antibacterial Carboxymethyl Cellulose/ZnO Nanocomposite Hydrogels, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **74**, 136-141, 2015.
13. Muppalla S.R., Kanatt S.R., Chawla S.P., and Sharma A., Carboxymethyl Cellulose–Polyvinyl Alcohol Films with Clove Oil for Active Packaging of Ground Chicken Meat, *Food Packag. Shelf Life*, **2**, 51-58, 2014.
14. Yadollahi M., Namazi H., and Barkhordari S., Preparation and Properties of Carboxymethyl Cellulose/Layered Double Hydroxide Bionanocomposite Films, *Carbohydr. Polym.*, **108**, 83-90, 2014.
15. Cyrus V.M.T., Physical and Mechanical properties of Thermoplastic Starch/Montmorillonite Nanocomposite Films, *Carbohydr. Polym.*, **73**, 55-63, 2008.
16. Valipour Motlagh N., Hamed Mosavian M.T., and Mortazavi S.A., The Comparison Effect of Nanosilver Packages on the Quality and Shelf Time of Barberry with Polyethylene Packaging, *Iran. Food Sci. Technol. Res. J.*, **5**, 75-87, 2009.
17. Ghosh S.K., Antimicrobial Activity of Highly Stable Silver Nanoparticles Embedded in Agar-Agar Matrix as a Thin Film, *Carbohydr. Res.*, **345**, 2220-2227, 2010.
18. Wang B.L., Fast and Long-Acting Antibacterial Properties of Chitosan-Ag/Polyvinylpyrrolidone Nanocomposite Films, *Carbohydr. Polym.*, **12**, 1-29, 2012.
19. SmadpourHendvari S., *Investigating Physical, Mechanical and Anti-Microbial Properties of Nanocomposite Active Polyethylene Films Containing Montmorillonite Modified With Ag and Cu Nanoparticles*, MSc Thesis, University of Tabriz, September 2013.