

جنگل و فرآورده‌های چوب، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۲، پاییز ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۰

ص ۴۹۱-۵۰۲

تأثیر پوشش کیتوزان- پلی‌وینیل الکل با نایسین بر خواص ضدباکتری کاغذهای بسته‌بندی

- ❖ **معصومه ملایی؛** کارشناس ارشد علوم و صنایع خمیر و کاغذ، گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- ❖ **محمد آزادفلاح*؛** استادیار، گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- ❖ **فرامرز خدائیان چگینی؛** دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی بیوسیستم، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- ❖ **یحیی همزه؛** استاد، گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

چکیده

توسعه بسته‌بندی فعال، جدید و زیست‌تخریب‌پذیر با پوشش‌دهی زیست‌پلیمرها روی مواد بسته‌بندی کاغذی و همچنین گنجاندن مواد ضد میکروبی مناسب در ساختار آن امکان‌پذیر است. در این بررسی، ابتدا میزان آلودگی باکتریایی الیاف دو نوع مقوای پشت‌توسی تجاری ارزیابی شد. سپس، به منظور ساخت یک کاغذ بسته‌بندی ضدباکتری مناسب، پوششی از ترکیب کیتوزان- پلی‌وینیل الکل با نسبت‌های حجمی متفاوت به همراه درصدهای مختلفی از نایسین بر مبنای وزن کیتوزان بر روی کاغذهای دست‌ساز ساخته شده از این الیاف بازیافتی اعمال شد. سپس فعالیت ضدباکتریایی با تهیه فیلم‌هایی با ترکیب مشابه پوشش‌ها به‌طور جداگانه بررسی شد. مطابق نتایج به‌دست‌آمده فیلم‌های کیتوزان- پلی‌وینیل الکل به‌تهایی علیه باکتری گرم منفی اشرشیاکلاهی فعالیت چشمگیری داشتند. با افزایش نسبت کیتوزان به پلی‌وینیل الکل فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌ها تشدید شد. با وارد کردن نایسین به ساختار فیلم، فعالیت علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری‌های میله‌ای شکل استخراج‌شده از کاغذ بازیافتی نیز توسعه یافت. بیشترین فعالیت در فیلم‌هایی مشاهده شد که ۱۵ درصد نایسین در ساختارشان داشتند. نتایج اثر هم‌افزایی استفاده از مواد ضد میکروبی با سازوکار متفاوت را در ساخت مواد بسته‌بندی فعال نشان دادند.

واژگان کلیدی: پلی‌وینیل الکل کیتوزان، فعالیت ضدباکتری، فیلم، کاغذ بسته‌بندی، نایسین.

مقدمه

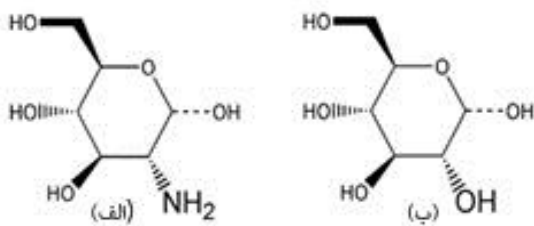
یکی از کاربردهای مهم کاغذ و مقوا در صنعت بسته‌بندی است. همه محصولات بعد از تولید به منظور حفاظت از نور خورشید، حرارت محیط، باد و باران و همچنین ضربات مکانیکی که در حین جابه‌جایی ممکن است ایجاد شود، به بسته‌بندی مناسب احتیاج دارند. یکی از کاربردهای مهم بسته‌بندی، که بخش عظیمی از این صنعت را به خود اختصاص داده است، بسته‌بندی مواد غذایی، بهداشتی، آرایشی، آشامیدنی‌ها و... است. از قابلیت‌های مهم یک ماده بسته‌بندی مناسب، توانایی ایجاد سد دفاعی مناسب در برابر حمله میکروارگانیسم‌ها از محیط خارج به فضای درون بسته است. به علاوه، خود بسته‌بندی نیز باید به‌طور کامل عاری از هرگونه آلودگی میکروبی باشد تا منبعی برای نفوذ عوامل بیماری‌زا به ماده غذایی نباشد. تا چندی پیش، بیشتر مواد مورد استفاده در این صنعت از شیشه و پلاستیک بود، ولی این مواد به دلیل تجزیه‌نشدن و همچنین بر اثر تجمع در محیط، سبب آلودگی شدید محیط زیست می‌شوند. در نتیجه، استفاده از مواد یک‌بار مصرف، زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط زیست، به خصوص کاغذ و مقوا، مورد توجه قرار گرفته است. تاریخچه استفاده از کاغذ و مقوا، به منزله ماده بسته‌بندی مواد غذایی، به سال‌های نخست قرن بیستم می‌رسد. اما استفاده از این مواد به دلیل مشکلاتی از قبیل کمبود ماده اولیه در ساخت، هزینه‌بر بودن چرخه تولید و تأمین انرژی کارخانه، و متخلخل بودن ساختار محصول نهایی محدودیت‌هایی داشت. بنابراین، برای ارتقا و ایجاد

خواص جدید در این محصولات اقداماتی انجام شد؛ مثلاً، با پوشش یک لایه واکس بر روی کاغذ خاصیت آب‌گریزی سطح آن افزایش یافت و با غلبه بر مشکل تخلخل برای مصارف مختلف آماده شد. سپس بسته‌های تتراپک با لایه‌هایی از آلومینیوم و پلی‌اتیلن بر روی مقوا با پیشرفت تجهیزات بسته‌بندی، دوخت، و چاپ به بازار عرضه شدند. به این ترتیب، این محصول جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داد [۱]. در زمینه کمبود ماده اولیه و کاهش هزینه‌های تولید کاغذ و مقوا نیز با بازیافت و استفاده دوباره از الیاف بازیابی شده تا حدود زیادی توانستند بر این مشکلات غلبه کنند [۲].

استفاده از الیاف بازیافتی در زمینه بسته‌بندی مواد غذایی با محدودیت‌های بسیاری مواجه است. متأسفانه این الیاف حجم بالایی از باکتری‌های میله‌شکل از جنس باسیلوس دارند. این باکتری‌ها به دلیل تشکیل لایه کلسیمی اسپور در اطراف DNA باکتری می‌توانند در حین عملیات بازیافت سالم بمانند و به حیات خود ادامه دهند [۳]. بیشتر از ۵۰ درصد این باکتری‌ها را گونه *Bacillus cereus* تشکیل می‌دهد که یک عامل اصلی در بروز بیماری اسهال و استفراغ خونین در انسان شناخته شده است [۴؛ ۵]. به همین دلیل، کاربرد الیاف بازیافتی در ساخت کاغذهای بسته‌بندی مواد غذایی از سوی سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA)^۱ به‌طور کامل ممنوع شده است. این سازمان حداکثر وجود یک واحد کلونی را در واحد سطح بسته^۲ (1 CFU/cm²) مجاز می‌داند؛ در صورتی که الیاف

1. Food and Drug Administration
2. colony formation unit

در سال‌های اخیر، کیتوزان به دلیل ساختار مولکولی بسیار مشابه با سلولز به شدت توسط صنعت کاغذسازی مورد توجه واقع شده است. این ماده علاوه بر افزایش مقاومت‌های مختلف کاغذ، به دلیل داشتن ویژگی ضدباکتریایی قوی علیه باکتری‌های گرم منفی در تولید کاغذهای ضدباکتری جایگاه خاصی پیدا کرده است [۱۲]. همچنین، در سال ۲۰۰۳ هولی^۳ و همکارانش گزارش کردند که این ماده در ترکیب با پلیمرهای دیگر و به‌منزله پوشش روی کاغذ سبب افزایش خواص مانع‌شوندگی محصول نهایی می‌شود [۱۳]. در شکل ۱، تفاوت مونومر گلوکوز در سلولز و گلوکزآمین در کیتوزان نشان داده شده است [۱۴].



شکل ۱. ساختار (الف) گلوکزآمین و (ب) گلوکز

در سال ۲۰۰۱، هولاندر^۴ و همکارانش اثر ضد میکروبی کیتوزان را به بار مثبت گروه‌های آمینی موجود در کربن دوم (C₂) در حلقه گلوکزآمین و در pH کمتر از ۶/۳ نسبت دادند. این بار مثبت به کیتوزان یک ساختار پلی‌کاتیونی می‌بخشد که با ترکیبات بار منفی دیواره باکتری‌های گرم منفی واکنش می‌دهد. به همین دلیل، اثر کیتوزان بر باکتری‌های گرم منفی بیشتر است [۱۵].

بازیافتی تعداد بسیار زیادی واحد کلونی در واحد سطح دارند [۶].

مواد بسته‌بندی ضد میکروبی را با روش‌های مختلفی شامل قراردادن یک سوشه داخل بسته، وارد کردن مستقیم مواد زیست‌فعال در ترکیب ماده بسته‌بندی، پوشش دهی زیست‌پلیمرهایی با خواص ذاتی ضد میکروبی و البته با قابلیت تشکیل فیلم روی مواد بسته‌بندی کاغذی می‌توان ساخت. همچنین، از این پلیمرها به‌منزله ماتریس‌های بالقوه‌ای برای گنجاندن مواد ضد میکروبی فرار و غیر فرار به‌منظور توسعه بسته‌بندی‌های فعال زیست‌تخریب‌پذیر می‌توان استفاده کرد [۷]. استیون^۱ و هاتکیس^۲ معتقدند که مواد ضد میکروبی به‌کاررفته در پوشش‌های ضدباکتری از سه طریق رهاسازی، جذب، و تثبیت به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم به مبارزه با عوامل بیماری‌زا در محیط می‌پردازند [۸]. این مواد با عقب‌انداختن چرخه زندگی باکتری و کاهش سرعت رشد، قدرت تولید مثل آن را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۹]. به این ترتیب، با افزایش عمر مفید ماده غذایی، کیفیت و ایمنی در نگهداری ماده غذایی تضمین می‌شود.

در بین زیست‌پلیمرها، کیتوزان به دلیل خواص ذاتی ضدباکتریایی / ضدقارچی و همچنین قابلیت تشکیل فیلم به‌منزله یک ماده بسته‌بندی ضدباکتری زیست‌تخریب‌پذیر ایده‌آل شناخته شده است [۱۰]. کیتوزان به روش استیل‌زدایی از کیتین به دست می‌آید. کیتین ماده اصلی تشکیل‌دهنده دیواره سلولی قارچ‌ها، پوسته حشرات و سخت‌پوستان دریایی است [۱۱].

3. Ho lee
4. Hollander

1. Steven
2. Hotchkiss

مواد و روش‌ها

مواد

از کیتوزان با درجه استیل‌زدایی ۹۹ درصد و وزن مولکولی بالا و نایسین با درصد خلوص زیاد، هر دو ساخت شرکت سیگما آلد ریچ، استفاده شد. پلی‌وینیل الکل با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ دالتون از نمایندگی شرکت مرک تهیه شد.

از خمیر کاغذ تهیه‌شده از مقوای پشت‌توسی ساخت شرکت صنایع خمیر و کاغذ اترک اصفهان و از مقوای پشت‌توسی وارداتی کره‌ای به‌عنوان منابع الیاف در ارزیابی‌های میکروبی و برای ساخت کاغذهای دست‌ساز استفاده شد.

روش‌ها

تهیه سوسپانسیون کیتوزان- نایسین

برای تهیه سوسپانسیون ۲ درصد کیتوزان، ۲ گرم کیتوزان در ۹۸ میلی‌لیتر اسید استیک ۰/۱ مولار ریخته شد. سپس نایسین با سه سطح متفاوت ۵ درصد، ۱۰ درصد، و ۱۵ درصد نسبت به وزن کیتوزان به آن اضافه شد. پس از آن، مخلوط به مدت ۸ ساعت در دمای 21°C و با سرعت ۱۸۰ دور بر دقیقه هم زده شد. به‌منظور دستیابی به سوسپانسیون شفاف و طلایی‌رنگ از کیتوزان- نایسین و از بین بردن ذرات درشت و حباب‌های هوا، سوسپانسیون از یک پارچه کتان نازک عبور داده شد.

تهیه محلول پلی‌وینیل الکل

۴/۶ گرم پلی‌وینیل الکل در ۹۶ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای 80°C و در حال هم‌زدن توسط هم‌زن مغناطیسی به آرامی حل شد. از این پلیمر محلول در

در سال ۲۰۰۵، چئین^۱ و همکارانش به این نکته پی بردند که کیتوزان فقط قدرت از بین بردن باکتری‌های گرم منفی را دارد و روی باکتری‌های گرم مثبت کم‌اثر یا به‌طور کامل بی‌اثر است. در صورت نیاز به از بین بردن چنین باکتری‌هایی در ترکیب با مواد ضد میکروبی دیگر، قدرت مبارزه با انواع گرم مثبت را نیز خواهد داشت [۱۶]. از آنجا که بیشتر گونه‌های باکتری شناخته‌شده در الیاف بازیافتی از نوع گرم مثبت‌اند، استفاده از چنین ماده‌ای، به‌منزله عامل کمکی، ضروری است. چون بیشتر مواد ضد میکروبی مکانیسم عمل متفاوتی دارند، در انتخاب ماده ضد میکروبی دوم باید نهایت دقت را انجام داد. بنابراین، در این تحقیق از ترکیبی به نام نایسین^۲ همراه با کیتوزان استفاده شده است. این ماده به شکل پودرهای لیپیدی همراه ترکیباتی از نمک‌های پروتئینی و پلی‌ساکاریدی به‌فروش می‌رسد. قابلیت دسترسی و استفاده آسان یکی از مزایای نایسین نسبت به سایر ضد میکروب‌ها به حساب می‌آید. نایسین با وزن مولکولی کم، فعالیت ضدباکتری خود را با آزاد کردن پپتید در محیط انجام می‌دهد. مواد پپتیدی به درون سیتوپلاسم باکتری نفوذ می‌کنند و موجب مرگ باکتری می‌شوند [۱۷].

در این تحقیق، تلاش شد با اعمال پوششی ضدباکتری از کیتوزان روی کاغذهای دست‌ساز حاصل از الیاف بازیافتی و همین‌طور وارد کردن نایسین در ساختار پوشش، کاغذ بسته‌بندی ضدباکتری ساخته شود. به‌علاوه، خواص ضدباکتریایی با ساختن فیلم‌هایی به‌طور جداگانه بررسی شد.

1. Chein
2. Nisin

اندازه‌گیری میزان آلودگی باکتریایی الیاف سلولزی

تعیین میزان آلودگی باکتریایی در الیاف به‌کاررفته در ساختار مقواهای بسته‌بندی و همچنین اثبات وجود باکتری‌های بیشتر در ساختار الیاف بازیافتی با استفاده از استاندارد T 449 om-00 آیین‌نامه^۱ تاپی^۱ انجام شد.

رنگ‌آمیزی اسپور

به‌منظور اثبات وجود دیوارهٔ کلسیمی اسپور در اطراف DNA باکتری‌های میله‌شکل از روش رنگ‌آمیزی اسپور به کمک مالاشیت گرین استفاده شد.

تعیین فعالیت ضدباکتریایی

به‌منظور تعیین فعالیت ضدباکتری فیلم‌های ساخته‌شده، که در واقع معیاری از کارایی کاغذ ضدباکتری است، از استاندارد صنعتی ژاپنی^۳ JIS Z 2801:2000 در مقابل باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس^۴، گرم منفی اشرشیاکلائی^۵ و باسیل‌های استخراج‌شده از الیاف بازیافتی استفاده شد.

آب به‌منظور افزایش ویژگی انعطاف‌پذیری فیلم پوشش تهیه‌شده از کیتوزان استفاده شده است.

تهیهٔ فیلم و اعمال پوشش

مطابق با نسبت‌های حجمی ارائه‌شده در جدول ۱ مخلوطی از سوسپانسیون کیتوزان- نایسین و محلول پلی‌وینیل الکل با روش هم‌زدن مداوم برای مدت زمان ۳۰ دقیقه تهیه شد. سپس، از این مخلوط‌ها با روش قالب‌ریزی^۱ و تبخیر حلال در دمای محیط فیلم ساخته شد. از این فیلم‌ها، که وزن پایه‌ای متناظر با پوشش اعمال‌شده روی کاغذ دارند، به‌دلیل سهولت و دقت برای مطالعات فعالیت ضدباکتریایی استفاده شد. پس از ساخت کاغذهای دست‌ساز از الیاف بازیافتی با وزن پایه^۲ 200 g/m^2 و مشروط‌سازی نمونه‌ها در شرایط رطوبت نسبی ۶۰ درصد و دمای 23°C ، مخلوط‌های تهیه‌شده به‌عنوان محلول‌های پوشش توسط میلهٔ شیشه‌ای برای دستیابی به وزن پایه حدود 14 g/m^2 روی کاغذهای دست‌ساز پوشش داده شدند. شایان ذکر است هم‌زمان از این کاغذهای پوشش‌دار برای مطالعات مانع‌شوندگی استفاده شده است.

جدول ۱. فرمولاسیون پوشش و فیلم‌های ضدباکتری ساخته‌شده

نایسین (درصد براساس وزن کیتوزان)			پلی‌وینیل الکل (درصد)	کیتوزان (درصد)
۱۵	۱۰	۵	۰	۱۰۰
۱۵	۱۰	۵	۲۵	۷۵
۱۵	۱۰	۵	۵۰	۵۰
۱۵	۱۰	۵	۷۵	۲۵
۱۵	۱۰	۵	۱۰۰	۰

1. casting
2. TAPPI
3. Japanese Industrial Standard
4. Staphylococcus aureus
5. Escherichia coli

در این روابط N: تعداد سلول‌های زنده باکتری، C: تعداد کلنی‌های تشکیل شده، D: تعداد دفعات رقیق‌سازی، V: حجم مایع شست‌وشو یا SCDLP آگار، A: تعداد کلنی در نمونه A، B: تعداد کلنی در نمونه B و R: عدد فعالیت ضدباکتری است. هر یک از این آزمون‌ها در ۵ تکرار انجام شده‌اند.

نتایج و بحث

آلودگی باکتریایی

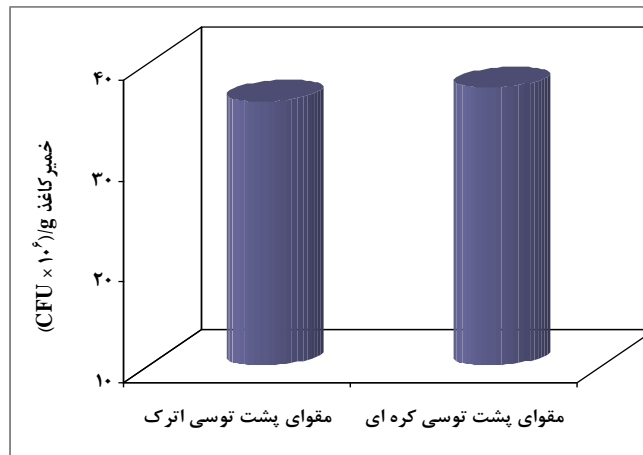
شکل ۲ نتایج آزمایش تعیین آلودگی باکتریایی ییاف بازیافتی را نشان می‌دهد. شایان ذکر است که در این آزمون آب استفاده شده برای رقیق‌سازی به‌منظور از بین بردن آلودگی‌های ناشی از کپک و مخمر قبل از استفاده جوشانده شد. همچنین، عمل رقیق‌سازی به‌منظور قابل شمارش بودن تعداد کلنی‌های تشکیل شده سوسپانسیون‌ها، تا ۸ مرتبه تکرار شد. درنهایت، مطابق استاندارد تاپی، تعداد کلنی‌ها در هر گرم مقوا گزارش شد. آنچه شکل ۲ نشان می‌دهد حاکی از وجود حجم زیاد آلودگی باکتریایی در هر دو نوع مقوای ساخته شده از ییاف بازیافتی است. با توجه به اینکه مقوای وارداتی مسافت زیادتری را طی کرده است تا به دست مصرف‌کننده برسد، نتایج حاصله اختلاف آلودگی موجود در دو نوع مقوا را ناچیز نشان می‌دهد. این رفتار بر این مسئله تأکید دارد که آلودگی‌های باکتریایی در ساختار خود ییاف بازیافتی وجود دارند و تقریباً هیچ‌گونه آلودگی پس از ساخت کاغذ وارد آن‌ها نشده است [۱۸].

مطابق این روش، پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی، رقیق‌سازی تا ۱۲ مرتبه انجام شد. برای انتقال غلظت مساوی از سلول‌های باکتری، از سوسپانسیون‌هایی با غلظت‌های مختلف توسط دستگاه اسپکتروفتومتر طیف UV گرفته شد. غلظتی برای هر سه نوع سوسپانسیون انتخاب شد که در طول موج یکسان میزان جذب نسبتاً یکسانی را نشان دادند.

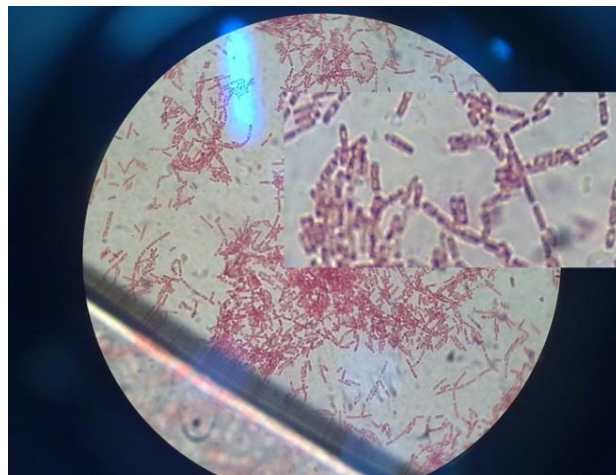
یک لایه فیلم پلی اتیلنی کاملاً استریل شده داخل یک پتری دیش قرار داده شد و سپس روی آن فیلم پلیمری مورد نظر قرار گرفت. پس از ریختن یکنواخت ۰/۴ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت معلوم، فیلم پلی اتیلنی استریل شده بعدی روی آن قرار گرفت. از این مجموعه دو نمونه A و B تهیه شد. نمونه B بلافاصله پس از انتقال با محلول SCDLP^۱ آگار شست‌وشو داده شد. محلول شست‌وشو تا ۸ مرتبه رقیق‌سازی شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از آن به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷°C داخل انکوباتور کشت داده شد. نمونه A بلافاصله پس از انتقال سوسپانسیون باکتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C داخل انکوباتور قرار گرفت. سپس عملیات مشابه نمونه B روی آن تکرار شد. درنهایت، عدد فعالیت ضدباکتری فیلم‌های پلیمری ساخته شده از کیتوزان- پلی وینیل الکل به همراه درصد‌های مختلف نایسین با روابط زیر به دست آمد.

$$N = CDV \quad (۱)$$

$$R = \log B/A \quad (۲)$$



شکل ۲. میزان آلودگی باکتریایی الیاف بازیافتی مقوای کره‌ای و مقوای اترک



شکل ۳. باسیل‌های موجود در ساختار کاغذ بازیافتی

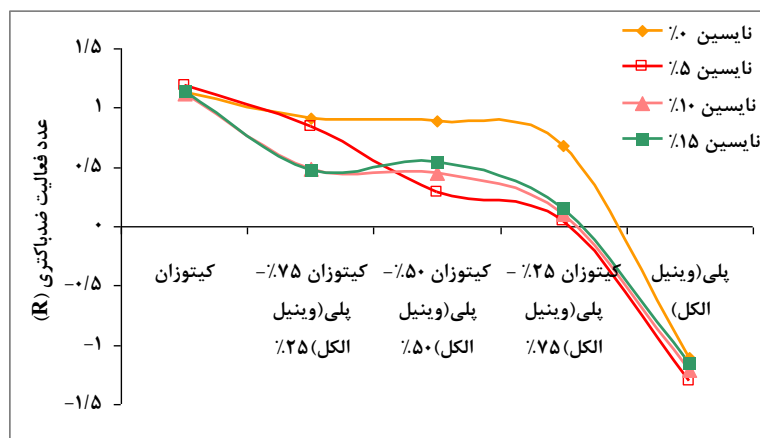
شکل ۳ وجود دیواره کلسیمی اسپور در اطراف DNA باکتری‌های میله‌شکل درون الیاف کاغذهای بازیافتی مطالعه شده را نشان می‌دهد. همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد، این باکتری‌ها به دلیل تشکیل این دیواره کلسیمی می‌توانند در حین عملیات بازیافت سالم بمانند و به حیات خود ادامه دهند [۳].

شکل ۴ فعالیت ضدباکتری فیلم‌های کیتوزان- پلی وینیل الکل را در برابر باکتری اشرشیاکالی نمایش می‌دهد. نتایج حاصل بر فعالیت شدید ضدباکتری کیتوزان در برابر باکتری اشرشیاکالی تأکید دارند.

فعالیت ضدباکتریایی از سوسپانسیون‌های باکتریایی تهیه‌شده در دامنه ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر UV گرفته شد. در طول موج ۲۳۰ نانومتر، هر سه سوسپانسیون باکتری در میزان غلظت 10^{-1} میزان جذب یکسانی را نشان دادند. بنابراین، این غلظت حاوی تعداد سلول‌های مساوی باکتری است و برای انتقال استفاده شد.

فعالیت ضدباکتریایی

از سوسپانسیون‌های باکتریایی تهیه‌شده در دامنه ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر



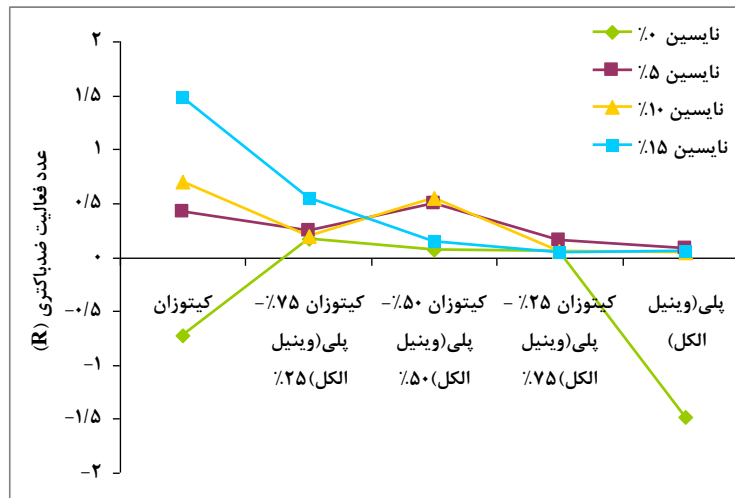
شکل ۴. فعالیت ضدباکتری فیلم‌های کیتوزان- پلی‌وینیل الکل با درصدهای مختلف نایسین در برابر اشرشیاکلاهی

ساخته‌شده از پلی‌وینیل الکل خالص هم حائز اهمیت است. پلیمر کاتیونی کیتوزان دیگر قادر به برقراری پیوند با لایه سطحی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس نیست و در نتیجه باعث تخریب دیواره سلولی نمی‌شود. اما نایسین توانایی نفوذ به داخل سلول باکتری بدون تخریب دیواره آن را دارد. بنابراین، با تخریب سیتوپلاسم باکتری و اجزای سلولی کار ضدباکتری خود را به‌تنهایی حتی در غیاب کیتوزان انجام می‌دهد [۱۷].

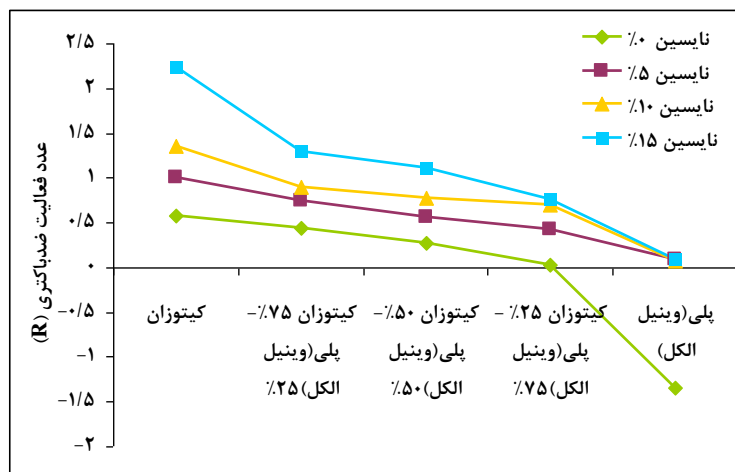
شکل ۶ حاکی از آن است که فیلم ساخته‌شده از ۱۰۰ درصد کیتوزان در برابر باکتری‌های استخراج‌شده از کاغذ بیشترین فعالیت ضدباکتری را دارد. عدد فعالیت ضدباکتری تعیین‌شده برای کیتوزان در برابر این باکتری‌ها حدود ۰/۶ است. در فیلم‌های ترکیبی، هم‌زمان با کاهش میزان حجم کیتوزان، از این رقم کاسته می‌شود [۲۱]. از آنجا که بیشتر باکتری‌های موجود در کاغذ از نوع گرم مثبت‌اند، با افزایش میزان نایسین به این فیلم‌ها تأثیر مثبتی در روند فعالیت ضد میکروبی آن‌ها مشاهده می‌شود. این افزایش به‌نحوی است که بهترین حالت متعلق به فیلم کیتوزان خالص به همراه ۱۵ درصد نایسین با فعالیت ضدباکتری حدود ۲/۳ است.

همان‌طور که انتظار می‌رفت، در فیلم‌های ترکیبی، با افزایش حجم کیتوزان، بر فعالیت ضدباکتری آن در برابر باکتری اشرشیاکلاهی هم افزوده شده است. فیلم پلی‌وینیل الکل هم به‌تنهایی فعالیت منفی نشان داده است. در واقع E.coli نوعی باکتری گرم منفی است که کیتوزان می‌تواند دیواره آن را تخریب و محتویات آن را خارج کند. در این شرایط، باکتری دیگر قادر به رشد و تکثیر نیست. نتایج این آزمایش کاملاً با آزمایش‌های تسائی^۱ و سو^۲ در سال ۱۹۹۹ هم‌خوانی دارد. به‌علاوه، افزودن نایسین در ترکیب پوشش هیچ‌گونه تغییر مثبتی را در افزایش فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌ها نسبت به پوشش‌های بدون نایسین نشان نداده است، حتی کاهش فعالیت در مواردی مشهودتر است [۱۹؛ ۲۰].

فیلم‌های بدون نایسین در عمل هیچ‌گونه فعالیت ضدباکتری را علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس از خود نشان نمی‌دهند. طبق گفته داویدز و آدامز و همان‌طور که نتایج شکل ۵ نشان می‌دهند، با افزودن نایسین به این فیلم‌ها فعالیت ضدباکتری آن‌ها نیز به نسبت زیاد می‌شود. این افزایش حتی برای فیلم‌های



شکل ۵. فعالیت ضدباکتری فیلم‌های کیتوزان- پلی وینیل الکل با درصدهای مختلف نایسین در برابر استافیلوکوکوس اورئوس



شکل ۶. فعالیت ضدباکتری برای فیلم‌های کیتوزان- پلی وینیل الکل با درصدهای مختلف نایسین در برابر باسیلوس

الکل به همراه درصدهای مختلف نایسین روی کاغذهای ساخته شده از این الیاف بازیافتی، تغییرات چشمگیری در خواص ضدباکتری این مواد بسته‌بندی مشاهده شد. فیلم‌های متناظر این پوشش‌ها فعالیت بالای کیتوزان را علیه باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلاسی نشان دادند. در صورتی که این پلیمرها هیچ‌گونه عکس‌العملی علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس نشان ندادند، با

نتیجه‌گیری

مطابق نتایج این تحقیق، الیاف بازیافتی به دست آمده از دو نوع مقوای پشت‌توسی تولید داخل و وارداتی با آلودگی باکتریایی بسیار زیادی‌اند. در واقع، نتایج بر این واقعیت تأکید دارند که فرایند بازیافت موجب از بین رفتن باکتری‌ها در این نوع خاص مقوا نشده است. به علاوه، در رویکردی برای توسعه کاربرد این نوع الیاف، اعمال پوشش‌های کیتوزان- پلی وینیل

سازوکار متفاوت در ساخت مواد بسته‌بندی فعال را نشان می‌دهند.

افزایش نایسین به ساختار فیلم‌ها تأثیر مثبتی در روند فعالیت ضد میکروبی آن‌ها مشاهده شد. در واقع، نتایج به‌خوبی اثر هم‌افزایی استفاده از مواد ضد میکروبی با

References

- [1]. Kirwan, M. J. (2005). Paper and Paperboard Packaging Technology. Blackwell publishing Ltd, London,UK.
- [2]. Pirttijarvi, T.S.M., Graeffe, T.H., and Salkinoja-Salonen, M.S. (1996). Contaminants in liquid packaging board : Assessment of potential for food spoilage. *Journal of Applied Microbiology*, 81(4): 445-454.
- [3]. Vaisanen, O.M., Mentu, J., and Salkinoja-Salonen, M.S. (1991). Bacteria in food packaging paper and board. *Journal of Applied Bacteriology*, 71: 130-133.
- [4]. Vermeiren, L., Devlieghere, F., and Debevere, J. (2002). Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concept. *Food Additives and Contaminants*, 19: 163-171.
- [5]. Priha, O., Hallama, K., Saarela, M., and Raaska, L. (2004). Detection of *Bacillus creus* group bacteria from cardboard and paper with real- time PCR. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 31: 161-169.
- [6]. Ghasemian Safaei, H., and Poursina, F. (2007). *Diagnostic Food Microbiology*. Isfahan University of Medical Science Press, Isfahan.
- [7]. Ahvenaine, R. (2003) .*Novle Food Packaging Techniques*. Woodhead Publishing, pp. 590.
- [8]. Steven, M., and Hotchkiss G.H. (2003). Non migratory bioactive polymers (NMBP) in food packaging. *Cornell University USA, Novel Food Packaging Techniques*, 589: 90 -121.
- [9]. Joerger, R. (2007). Antimicrobial films for food application: Quantitive analysis of their effectives. *Packaging Technology and Science*, 20:231-273.
- [10]. Khwaldia, Kh., Arab-Tehrani, E., and Desobry, S. (2010). Biopolymer coatings on paper packaging materials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 82-91.
- [11]. Morhsed, M.A., Bashir, A.A., Khan, M.H.K., and Alam, M.K. (2011). Antibacterial activity of shrimp chitosan against some local food spoilage bacteria and food born pathogen. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 28:45-47.
- [12]. Lin, Ch.A., and Ku, T.H. (2008). Shear and elongational properties of thermoplastic polyvinyl alcohol melt with different plasticizer contents and degree of polymerization. *Journal of Materials Processing Technology*, 200:331-338.
- [13]. Chan, H. L., Duck S. A., Hyun J. P., and Dong S. L. (2003). Wide-spectrum antimicrobial packaging materials incorporation Nisin and chitosan in the coating. *Packaging Technology and Science*, 16:99-106.
- [14]. Pillai, C.K.S., Paul, W., and Sharma, Ch.P. (2009). Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, 34(7): 641-678.
- [15]. Roller, S., and Covill N. (1999). The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 47(1-2): 67-77.
- [16]. Chung, Y.C., Su, Y.P., Chen, C.C., Jia, G., Wang, H.L., Wu, J.C., and Lin J.G. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25(7):932-936.
- [17]. Davies, E.A., and Adams, M.R. (1994). Resistance of *Listeria monocytogenese* to the bacteriocin nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 21(4): 341 -347.

- [18]. Namjoshi, K., Johnson, S., Montello, P., and Pullman, G.S. (2010). Survey of bacterial populations present In US-produced liner board with high recycle content. *Journal of Applied Microbiology*, 108(2):416-427.
- [19]. Tsai, G.J., SU, W.H., Chen, H.C., and Pan, C.L. (2002). Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*, 68(1): 170-177.
- [20]. Helander, I.M., Nurmiäho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., and Roller, S. (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71: 235–244.
- [21]. Vartianen, J., Motion, R., Kulonen, H., Ratto, M., and Eija, S. (2004). Chitosan – coated paper: effects of nisin and different acids on the antimicrobial activity. *Journal of Applied Polymer Science*, 94(3): 986 – 993.