



بیونانو کامپوزیت های کیتوسان - نانو ذرات اکسید روی: تهیه درجا، شناسایی و بررسی خواص ضد میکروبی

حجت تويسرکاني*

گروه مهندسی پلیمر، دانشکده شیمی و مهندسی شیمی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۶/۱۰/۰۴	
اصلاح: ۹۶/۱۲/۰۸	
پذیرش: ۹۷/۰۲/۰۸	
کلمات کلیدی:	
اکسید روی	
بیونانو کامپوزیت	
خواص ضد میکروبی	
کیتوسان	

کیتوسان به عنوان یک زیست پلیمر به دلیل داشتن خواص ضدباکتری، زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری بالا، گزینه مناسب و مؤثری به عنوان ماتریکس پلیمری در تهیه مواد کامپوزیتی به شمار می آید. از این رو، در این پژوهش به تهیه بیونانو کامپوزیت های کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی (CT-ZnO) با استفاده از روش درجا پرداخته شده است. در این روش با غلظت های متفاوتی از استات روی و هیدروکسید سدیم به عنوان منبع تولید نانوذرات اکسید روی (ZnO)، با روش رسوب دهی مستقیم در شبکه کیتوسان، بیونانو کامپوزیت های CT-ZnO به دست آمد. ساختار و ریخت شناسی بیونانو کامپوزیت های تهیه شده توسط طیفسنجی مادون قرمز (FTIR)، پراش اشعه ایکس (XRD) و آنالیز حرارتی (TGA) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. خواص ضد میکروبی آن ها روی باکتری های اشرشیاکلی (*Escherichia coli*) از انواع گروه گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) از انواع گروه گرم مثبت ارزیابی شد. نتایج به دست آمده از طیفسنجی مادون قرمز و پراش اشعه ایکس حضور نانوذرات اکسید روی را در شبکه کیتوسان اثبات می کند. همچنین خواص حرارتی و ضد میکروبی در مقایسه با کیتوسان خالص بهبود یافته؛ به طوری که این خواص با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی افزایش می یابد.

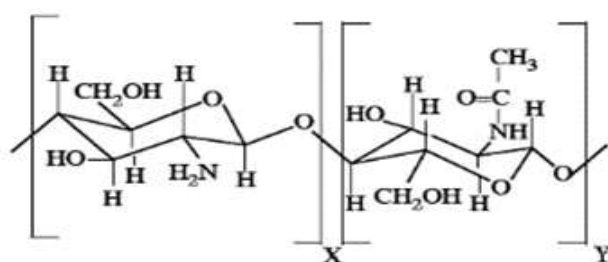
مقدمه

مطالعات گسترده ای بر روی کامپوزیت های نانو ساختاری پلیمری با پایه فلزی انجام شده است. از دهه گذشته استفاده از پلیمرهای زیستی علاقه مندان زیادی در حوزه تحقیقات علمی و صنعتی به خود معطوف داشته اند. برخلاف پلیمرهای سنتزی که از مشتقات نفتی به دست می آید پلیمرهای زیستی جایگزین بسیار مناسبی به حساب می آیند دلیل علاقه مندی را می توان از یک طرف به هزینه پایین استحصال آن ها از منابع تجدید پذیر و از طرف دیگر به غیرسمی و دوست دار طبیعت بودن آن ها مربوط دانست (Croisier and Jérôme, 2013). در سال های اخیر، نانوکامپوزیت های زیستی (Bionanocomposites) جایگاه خود را در میان پژوهش های علمی به دلیل زیست سازگار و زیست تخریب پذیر بودن پیدا کرده اند. آن ها ترکیبی از پلیمرهای زیستی مانند پلی ساکاریدها، پروتئین ها و چربی ها با خصوصیات چوب، سمیت پایین، زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری بالا و پرکننده های معدنی (فلز) دارای پایداری حرارتی بالا، استحکام مکانیکی عالی و سختی می باشند (Toiserkani, 2016).

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: toiserkani@yahoo.com ; h.toiserkani@kgut.ac.ir

این رو کاربرد وسیعی در صنایع بسته بندی (Schreiber *et al.*, 2013)، سامانه های دارورسانی (Bao *et al.*, 2011)، حسگرها (Singh *et al.*, 2013)، مهندسی بافت (Martino *et al.*, 2005)، التیام زخم (Aguzzi *et al.*, 2014) و صنایع آرایشی و بهداشتی (Jimtaisong and Saewan, 2014) دارند.

از میان پلیمرهای زیستی که در تهیه بیونانو کامپوزیت ها استفاده شده است. کیتوسان (CT) بیشتر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. کیتوسان فراوان ترین پلی ساکارید طبیعی پس از سلولز است که از استیل زدایی کیتین با استفاده از سدیم هیدروکسید به دست می آید. کیتین از پوسته سخت پوستانی مثل خرچنگ و میگو، کوتیکول حشرات و دیواره سلولی قارچها استخراج می شود. کیتوسان کopolyمیری متشکل از گلوکوز آمین و *N*-استیل گلوکوز آمین است که توسط پیوندهای $(1-4)\beta$ -گلوکوزیدی به هم متصل شده اند (Majeti and Ravi, 2000) (شکل ۱). در کل بیشتر پژوهشگران، کیتوسان را به عنوان ماده کیتینی با درجه استیل زدایی بیش از ۵۰٪ می شناسند (Pillai *et al.*, 2009). این بیوپلیمر علاوه بر گروه های آمین ($-NH_2$) دارای گروه های هیدروکسیل ($-OH$) است که با ساختار منحصر به فرد، کاربرد بسیار گسترده ای در زمینه کشاورزی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی، تصفیه آب، زیست فناوری، نساجی، دارویی و پزشکی پیدا کرده است. قیمت پایین، زیست سازگاری بالا، سمیت کم و همچنین خواص ضد میکروبی و ضد حساسیت قابل قبول موجب شده به عنوان یک زیست پلیمر، مورد توجه پژوهشگران قرار گیرد (Toiserkani and Sadaghat, 2013).



اگر: کیتین $Y > 50\%$ و کیتوسان $X > 50\%$

شکل ۱. ساختار شیمیایی کیتین و کیتوسان.

از میان تمام نانو پرکننده هایی که برای تقویت خواص نانوکامپوزیت ها استفاده شده است، نانو ذرات اکسید روی (ZnO) بیشتر مورد توجه علم و صنعت قرار گرفته است. از جمله خصوصیات این نانوذره می توان به ارزان بودن و سادگی در تهیه آن، سازگاری بالا با محیط زیست، خواص مکانیکی، حرارتی و شیمیایی مناسب، توانایی در جذب اشعه فرابنفش و... اشاره کرد (Mallakpour and Behranvand, 2016; Djuricic *et al.*, 2012; Mirzaei and Darroudi, 2017).

در این پژوهش از فرآیند تک مرحله ای برای تهیه بیونانو کامپوزیت های کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی ($CT-ZnO$) استفاده شد. ابتدا مقدار مشخصی از کیتوسان در اسید استیک حل گردید و سپس غلظت های متفاوتی از استات روی و هیدروکسید سدیم به عنوان منبع تولید نانوذرات اکسید روی (ZnO)، با روش مستقیم در شبکه کیتوسان رسوب داده شد تا بیونانو کامپوزیت های $CT-ZnO$ به دست آید. در نهایت بیونانو کامپوزیت های به دست آمده توسط روش هایی چون FTIR، XRD و TGA مورد شناسایی قرار گرفت. خواص ضد میکروبی این نانوکامپوزیت ها روی باکتری های اشرشیا کلی (*Escherichia coli*) از گروه گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) از گروه گرم مثبت مورد ارزیابی قرار گرفت.

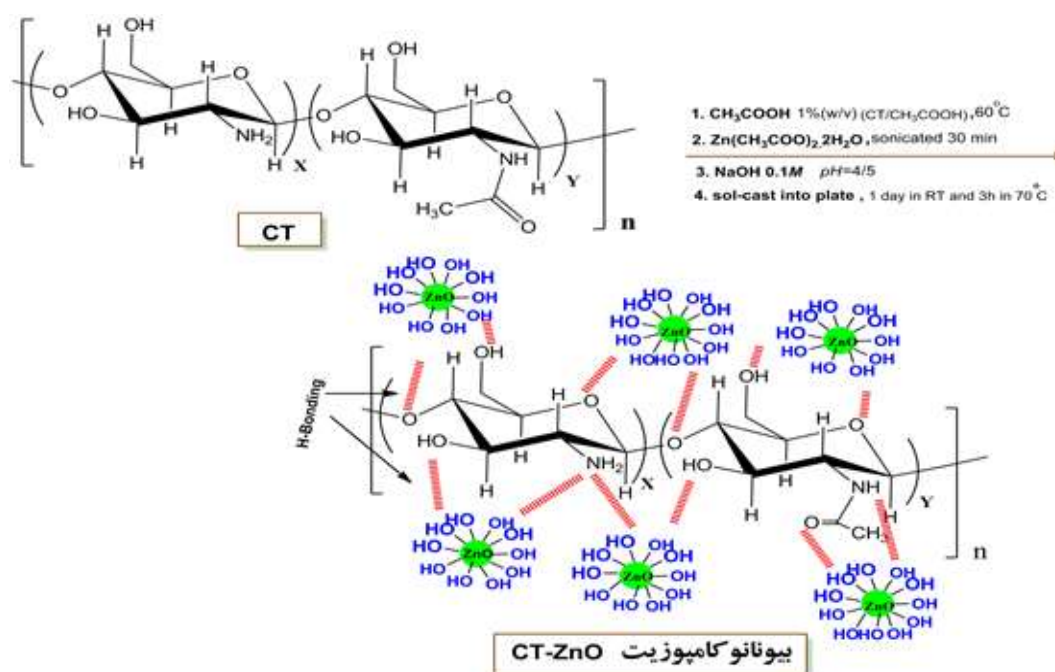
مواد و روش ها

کیتوسان با وزن مولکولی متوسط با درجه استیل زدایی (DD) بین ۷۵٪ تا ۸۵٪ از شرکت سیگما-آلدریج خریداری شد. استات روی، هیدروکسید سدیم و اسید استیک همگی از شرکت مرک خریداری شد.

برای ثبت طیف‌های FTIR از طیف‌سنج Bruker مدل Tensor 27 استفاده شد. برای مطالعه ریخت‌شناسی بیونانو کامپوزیت‌ها دستگاه پراش اشعه ایکس مدل X'Pert PRO MPD ساخت شرکت PANalytical هلند به کار گرفته شد. نمونه‌ها در معرض پرتو اشعه ایکس با طول موج 0.154 nm قرار گرفتند. پرتوهای بازتابشی از نمونه در دمای محیط و در محدوده زاویه 2θ برابر 5° تا 80° جمع‌آوری و نمودار مربوط به شدت بازتابش آن‌ها رسم شد. آزمون گرم‌وزن‌سنجی (آنالیز حرارتی) با دستگاه TGA مدل Perkin Elmer انجام شد. به این منظور، نمونه‌ها به مقدار 10 mg تهیه و آزمون با سرعت $10^\circ\text{C}/\text{min}$ تا دمای 800°C تحت جو نیتروژن انجام شد (Toiserkani, 2016).

تهیه بیونانو کامپوزیت‌های کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی (CT-ZnO)

یک گرم کیتوسان به 100 میلی‌لیتر محلول 1% اسید استیک اضافه شد و با دمای 60°C و سرعت چرخش 300 دور بر دقیقه به مدت یک ساعت حرارت داده شد. بعد از اینکه کیتوسان به‌طور کامل حل شد مقدار مشخصی از استات روی $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ به محلول بالا اضافه گردید تا به یون‌های روی تبدیل شود. مخلوط به مدت 30 دقیقه تحت امواج فراصوت قرار گرفت. سپس با اضافه کردن سدیم هیدروکسید با غلظت 0.1 مولار، pH محلول نزدیک $4/5$ تنظیم گردید. محلول به مدت یک شبانه‌روز با هم‌زن مغناطیسی در سرعت 200 دور بر دقیقه به هم زده شد. سپس، به داخل پلیتی با قطر 10 cm که قبلاً تراز شده بود، منتقل و پس از گذشت یک روز و خشک شدن کامل در دمای محیط و برای تکمیل فرآیند در آن خلاء به مدت 3 ساعت در دمای 70°C قرار گرفت تا هیدروکسید روی $[\text{Zn}(\text{OH})_2]$ به نانو ذرات اکسید روی (ZnO) تبدیل شود. در نهایت فیلم‌های بیونانو کامپوزیتی CT-ZnO برداشت شد. نسبت وزنی استات روی به کیتوسان 5% ، 10% و 15% بود. فرآیند مرحله به مرحله تشکیل نانو کامپوزیت به صورت شماتیک در شکل ۲ نشان داده است.



شکل ۲. فرآیند مرحله به مرحله تهیه بیونانو کامپوزیت‌های کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی (CT-ZnO) با درصدهای متفاوتی از استات روی.

فعالیت ضد میکروبی

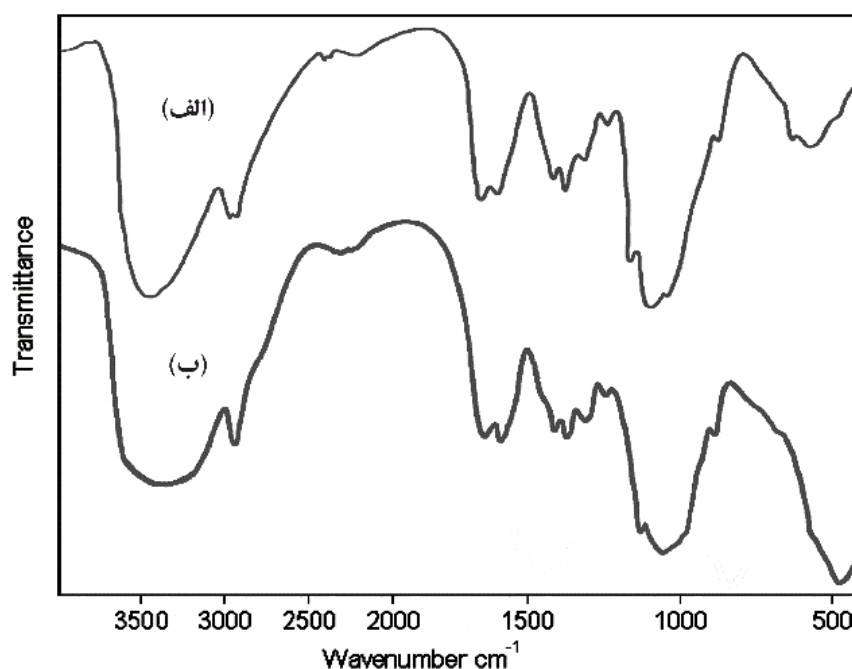
فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های کیتوسان خالص و بیونانو کامپوزیت‌های کیتوسان با درصدهای متفاوتی از نانو ذرات اکسید روی از طریق اندازه‌گیری هاله عدم رشد باکتری (Zone inhibition method) مورد ارزیابی قرار گرفت. فیلم‌ها به قطر 10 میلی‌متر

بریده شده و قبل از تست با الکل شستشو شد و در دمای 60°C به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت تا خشک شوند (Hosseini *et al.*, 2009).

برای انجام آزمون ضدباکتری ابتدا مقدار ۲۸ گرم از محیط کشت نوترینت آگار (Nutrient agar) در یک لیتر آب مقطر حل شد و سپس در اتوکلاو با دمای 121°C به مدت ۱۵ دقیقه سترون شد. آنگاه ۴۰ میلی‌لیتر از محیط کشت تهیه شده درون هر پلیت ریخته شد. پس از سرد شدن، باکتری‌ها در پلیت‌های جداگانه روی محیط کشت ریخته شده و با میله L شکل سترون سازی شده روی محیط پخش شد. سپس، نمونه‌های تهیه شده در بالا (فیلم‌های کیتوسان خالص و بیونانو کامپوزیت حاصله به قطر ۱۰ mm) در مرکز پلیت قرار گرفته و در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و هاله عدم رشد باکتری‌ها با استفاده از کولیس اندازه‌گیری و ثبت شد (Shafiq *et al.*, 2014).

نتایج

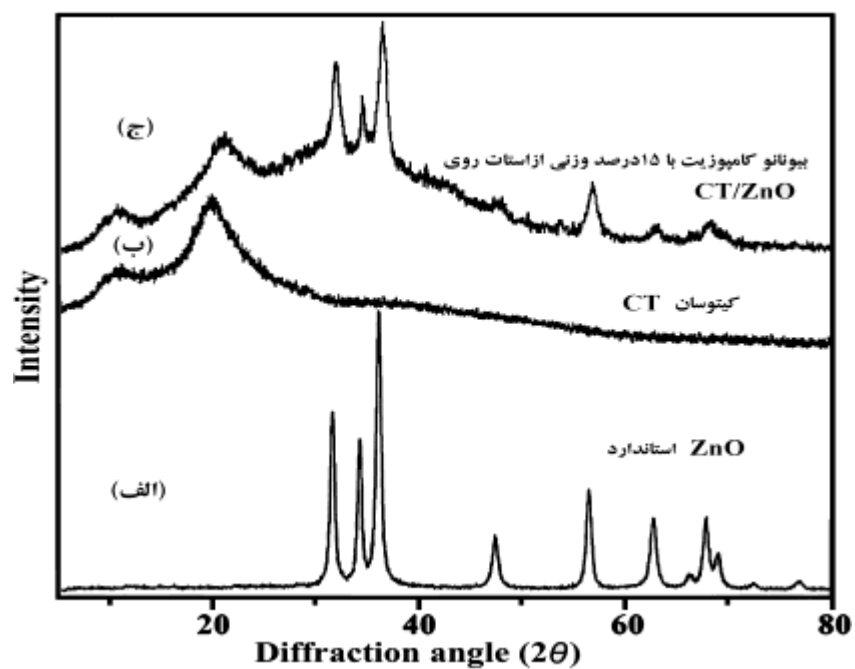
یک سری از بیونانو کامپوزیت‌های کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی (CT-ZnO) با استفاده از روش رسوبدهی مستقیم ZnO در شبکه کیتوسان به دست آمد. جهت بررسی حضور نانوذرات اکسید روی در شبکه کیتوسان از طریق مقایسه طیف‌های کیتوسان خالص (بدون نانوذرات اکسید روی) و بیونانو کامپوزیت‌های تهیه شده، از آنالیز FTIR استفاده گردید. شکل ۳، طیف‌های FTIR کیتوسان خالص و بیونانو کامپوزیت کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی با ۱۰ درصد وزنی استات روی را نشان می‌دهد.



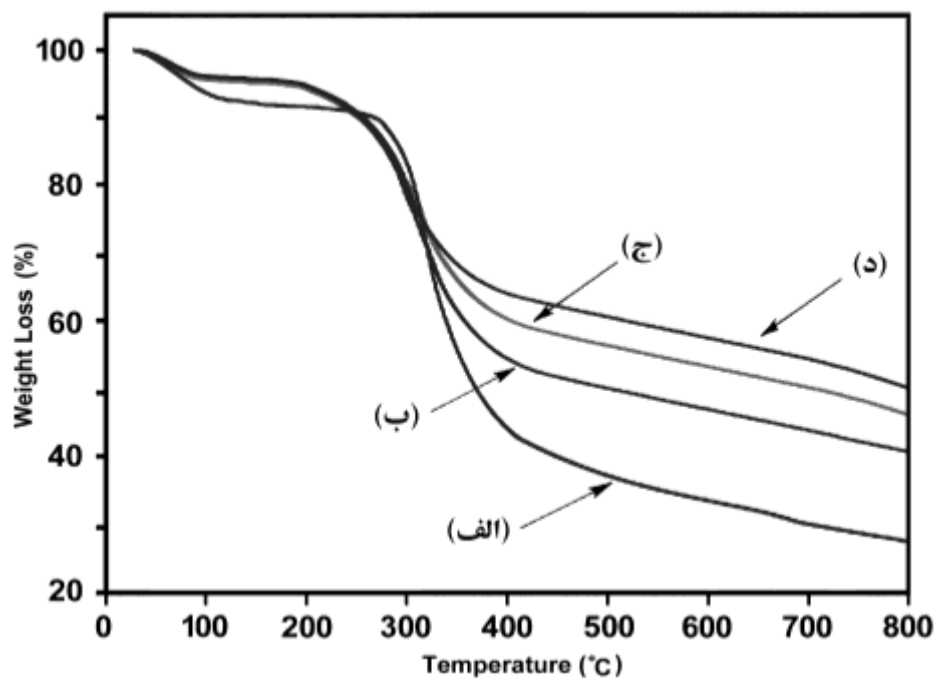
شکل ۳. طیف‌های FTIR (الف) کیتوسان خالص و (ب) بیونانو کامپوزیت کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی با ۱۰ درصد وزنی استات روی.

برای مطالعه ریخت‌شناسی بیونانو کامپوزیت‌ها و همچنین اثبات حضور نانوذرات اکسید روی در بیونانو کامپوزیت‌های تهیه شده، از پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده شد. شکل ۴، الگوهای پراش اشعه ایکس نانو ذرات اکسید روی استاندارد، کیتوسان خالص و بیونانو کامپوزیت کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی با ۱۵ درصد وزنی استات روی را نشان می‌دهد.

برای بررسی پایداری حرارتی کیتوسان و بیونانو کامپوزیت‌های نتیجه شده، از آنالیز حرارتی TGA تحت جو نیتروژن استفاده شد. آنالیز نمونه‌ها از دمای محیط تا 800°C مورد بررسی قرار گرفت و سه پارامتر اصلی به عنوان شاخص‌های پایداری حرارتی



شکل ۴. نقش پراش اشعه ایکس الف) ZnO استاندارد، ب) کیتوسان خالص، ج) CT-ZnO با ۱۵٪ استات روی.



شکل ۵. آنالیز حرارتی الف) کیتوسان خالص (CT)، ب) ج) و د) بیونانو کامپوزیت‌ها (CT-ZnO) به ترتیب با ۱۰٪، ۱۵٪ و ۲۰٪ استات روی.

از هر منحنی استخراج شد. این سه شاخص عبارت‌اند از: ۱) دمایی که در آن دما، نمونه ۱۰ درصد از وزنش کاسته می‌شود (T_{۱۰٪})، ۲) دمایی که در آن دما، نمونه ۴۰ درصد از وزنش کاسته می‌شود (T_{۴۰٪}) و ۳) مقدار درصد خاکستر به جای مانده در

دمای 800°C (Char yield %) شکل ۵، آنالیز حرارتی کیتوسان خالص (CT) و بیونانو کامپوزیت‌ها (CT-ZnO) با ۵٪، ۱۰٪ و ۱۵٪ استات روی نشان می‌دهد. بر این اساس، بیشترین و کمترین پایداری حرارتی به ترتیب مربوط به بیونانو کامپوزیت با ۱۵٪ استات روی و ۵٪ استات روی بود.

جدول ۱، نتایج اندازه‌گیری سه پارامتر اصلی به عنوان شاخص‌های پایداری حرارتی را نشان می‌دهد. طبق این جدول، مقادیر $T_{10}\%$ ، $T_{40}\%$ و مقدار درصد خاکستر به جای مانده در دمای 800°C برای بیونانو کامپوزیت با ۵٪ استات روی به ترتیب 274°C ، 362°C و ۴۱٪ و برای بیونانو کامپوزیت با ۱۵٪ استات روی به ترتیب 278°C ، 526°C و ۵۱٪ بود. آنالیز حرارتی کیتوسان و بیونانو کامپوزیت‌های حاصل از آن و مقایسه آن‌ها با یکدیگر مشخص شد که اضافه شدن نانو ذرات به ماتریکس کیتوسان، باعث بهبود خواص حرارتی کیتوسان شده که با افزایش درصد استات روی این مقادیر، افزایش می‌یابد.

جدول ۱. خواص حرارتی و ضمیمه‌ی کیتوسان و بیونانو کامپوزیت‌های آن.

هاله عدم رشد باکتری (mm^2)		خواص حرارتی			نمونه‌ها
<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	درصد خاکستر باقیمانده	$T_{40}\%$	$T_{10}\%$	
۰	۰	۲۸	۳۴۴	۲۸۳	کیتوسان خالص (CT)
۵۹/۰	۴۸/۲	۴۱	۳۶۲	۲۷۴	نانو کامپوزیت با ۵٪ استات روی
۷۱/۵	۶۳/۲	۴۷	۴۰۸	۲۷۶	نانو کامپوزیت با ۱۰٪ استات روی
۹۴/۳	۷۸/۷	۵۱	۵۲۶	۲۷۸	نانو کامپوزیت با ۱۵٪ استات روی

روش انتشار دیسک در آگار (Agar disk diffusion) برای اندازه‌گیری فعالیت ضدباکتری فیلم‌های کیتوسان خالص و بیونانو کامپوزیت‌های کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی، در مقابل باکتری‌های اشرشیا کلی (*Escherichia coli*) از انواع گروه گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) از انواع گروه گرم مثبت، مورد استفاده قرار گرفت. جدول ۱، نتایج هاله عدم رشد باکتری‌ها را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد، بیونانو کامپوزیت‌های تهیه شده دارای خاصیت ضد میکروبی در مقابل هر دو باکتری گرم مثبت و منفی هستند؛ به طوری که باکتری گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به وجود نانو ذرات اکسید روی موجود در بیونانو کامپوزیت‌ها از خود نشان داد.

بحث

در طیف FTIR نمونه کیتوسان (شکل ۳. الف) جذب در 3367 cm^{-1} مربوط به گروه‌های N-H و O-H، جذب در ناحیه cm^{-1} ۲۸۷۵ مربوط به گروه C-H است. از دیگر باندهای جذبی می‌توان به جذب کششی گروه‌های C=O (پیوند آمید I) در cm^{-1} ۱۶۴۸، خمشی پیوندهای N-H (پیوند آمید II) در cm^{-1} ۱۵۸۵ و کششی پیوندهای C-N (پیوند آمید III) در cm^{-1} ۱۳۲۰ اشاره کرد. افزون بر اینها، جذب در cm^{-1} ۱۳۸۰ مربوط به گروه‌های استامید (مشخص می‌کند که کیتوسان کاملاً استیل زادی نشده است) و باندهای کششی C-O در ناحیه cm^{-1} ۱۱۰۰ و cm^{-1} ۱۰۲۰ مربوط به اسکلت پلی ساکاریدها است که وجود بیوپلیمر کیتوسان را نشان می‌دهد (Sedaghat et al., 2009). شکل ۳. ب، طیف مادون قرمز بیونانو کامپوزیت CT-ZnO با ۱۰ درصد وزنی استات روی را نشان می‌دهد. این طیف علاوه بر تمام باندهای جذبی کیتوسان یک باند جذبی جدیدی در ناحیه

$400-580 \text{ cm}^{-1}$ نشان می‌دهد که مربوط به ارتعاشات کششی Zn-O-Zn است و حضور نانو ذرات ZnO در شبکه کیتوسان را تأیید می‌کند (Toiserkani, 2016; Pandiselvi and Thambidurai, 2015).

از آنالیز XRD برای بررسی کریستالوگرافی نانو ذرات و بیونانوکامپوزیت‌ها استفاده گردید. شکل ۴ الف، الگوی XRD نانو ذرات ZnO استاندارد را نشان می‌دهد که ساختار کاملاً بلوری دارد. الگوی XRD کیتوسان خالص در شکل ۴ ب، نشان داده شده که دو پیک شاخص در ناحیه 20° و $10^\circ = \theta$ ظاهر شده است (Leceta et al., 2013). شکل ۴ ج، الگوی XRD بیونانوکامپوزیت کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی با ۱۵ درصد وزنی استات روی را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشخص است، بیونانوکامپوزیت‌ها علاوه بر پیک‌های شاخص در کیتوسان دارای پیک‌های نانو ذرات اکسید روی نیز هست. این علائم به وضوح نشان می‌دهد که نانو ذرات اکسید روی به‌طور موفقیت‌آمیزی از طریق فرآیند رسوب‌دهی در شبکه کیتوسان تشکیل شده‌اند.

شکل ۵ الف، منحنی آنالیز حرارتی TGA کیتوسان خالص (بدون حضور نانو ذرات ZnO) را نشان می‌دهد. همان‌طور که از منحنی مشخص است، دو مرحله کاهش وزن برای کیتوسان خالص قابل‌مشاهده است. مرحله اول که از 50°C شروع و تا 200°C ادامه می‌یابد که نزدیک ۸٪ وزن اولیه کیتوسان کاهش می‌یابد که مربوط به تبخیر مولکول‌های آب موجود در شبکه کیتوسان است و مرحله اصلی که بین 200°C تا 450°C است که حدود ۶۵٪ وزن کیتوسان کم می‌شود و مربوط به شکست پیوندهای گلیکوسایدی و همچنین شکست زنجیرهای کیتوسان است (López et al., 2008). دماهای $T_{10\%}$ ، $T_{40\%}$ و درصد خاکستر باقیمانده کیتوسان به ترتیب 282°C ، 344°C و ۲۸٪ است. شکل ۵ ب تا د، منحنی‌های آنالیز حرارتی برای بیونانوکامپوزیت CT-ZnO از ۵٪ تا ۱۵٪ استات روی را نشان می‌دهد. مقادیر دماهای $T_{10\%}$ ، $T_{40\%}$ و درصد خاکستر باقیمانده آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. از مقایسه منحنی‌های بیونانوکامپوزیت‌ها با کیتوسان خالص می‌توان نتیجه گرفت فاصله زیادی بین پایداری آن‌ها وجود دارد که ناشی از وجود نانو ذرات اکسید روی در شبکه کیتوسان است.

جدول ۱، نشان داد که کیتوسان خالص فاقد هاله عدم رشد در مقابل باکتری‌های گرم منفی و مثبت است. علیرغم طبیعت ضدباکتری کیتوسان این امر به دلیل عدم نفوذپذیری گونه‌های فعال در بیوپلیمر کیتوسان در آگار می‌باشد که فقط مانع رشد باکتری‌ها شده است که در تماس مستقیم با فیلم کیتوسان هستند (Coma et al., 2002; Marin et al., 2015). در خصوص بیونانوکامپوزیت‌های کیتوسان- نانو ذرات اکسید روی (CT-ZnO) با افزایش درصد نانو ذرات اکسید روی، هاله عدم رشد باکتری‌ها افزایش می‌یابد. شاید افزایش فعالیت ضدباکتری فیلم‌های بیونانوکامپوزیتی به دلیل طبیعت فتوکاتالیستی نانو ذرات اکسید روی است که باعث آزادسازی یون‌های روی از سطح نانوذره شده و با اتصال به غشای سلول باعث انهدام آن می‌شود (Wang et al., 2004; Li et al., 2010). همچنین مشخص شد، باکتری گرم مثبت، استافیلوکوکوس اورئوس، در مقایسه با باکتری گرم منفی، اثرشیاکلی، حساسیت بیشتری نسبت به وجود نانوذرات اکسید روی نشان می‌دهد. تفاوت در فعالیت ضدباکتری فیلم‌های بیونانوکامپوزیتی در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و منفی ناشی از تفاوت بین ساختار غشای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و تفاوت در ضخامت پپتید و گلیکان آن است. باکتری‌های گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس دارای پپتید و گلیکان چندلایه و ضخیم هستند. اما، باکتری‌های گرم منفی مانند اثرشیاکلی دارای پپتید و گلیکان نازک‌تری بوده و در عوض غشای خارجی آن‌ها دارای لیپوبلی ساکارید مستحکم است که نفوذپذیری کمی در برابر آنتی‌بیوتک‌ها و عوامل ضد میکروبی دارد. به همین دلیل، مقاومت اثرشیاکلی بیشتر از استافیلوکوکوس اورئوس است (Feng et al., 2000; Malini et al., 2015). از این رو بیونانوکامپوزیت‌های تولیدی، انتخاب مناسبی در صنایع بسته‌بندی مواد غذایی و پزشکی به شمار می‌آیند.

منابع

- Aguzzi, C., Sandri, G., Bonferoni, C., Cerezo, P., Rossi, S., Ferrari, F., Caramella, C., Viseras, C. 2014. Solid state characterization of silver sulfadiazine loaded on montmorillonite/chitosan nanocomposite for wound healing. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 113(1): 152-157.
- Bao, H., Pan, Y., Ping, Y., Sahoo, N.G., Wu, T., Li, L., Li, J., Gan, L.H. 2011. Chitosan-functionalized graphene oxide as a nanocarrier for drug and gene delivery. *Small*. 7(11): 1569-1578.
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., Deschamps, A. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*. 67(3): 1162-1169.
- Croisier, F., Jérôme, C. 2013. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*. 49(4): 780-792.
- Djurisic, A.B., Chen, X., Leung, Y.H., Ng, A.M.C. 2012. ZnO nanostructures: growth, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry*. 22(14): 6526-6535.
- Feng, Q., Wu, J., Chen, G., Cui, F., Kim, T., Kim, J. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research*. 52(4): 662-628.
- Jimtaisong, A., Saewan, N. 2014. Utilization of carboxymethyl chitosan in cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science*. 36(1): 12-21.
- Hosseini, M.H., Razavi, S.H., Mousavi, M.A. 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*. 33(6): 727-743.
- Leceta, I., Guerrero, P., Ibarburu, I., Dueñas, M.T., de la Caba, K. 2013. Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. *Journal of Food Engineering*. 116(4): 889-899.
- Li, L.H., Deng, J.C., Deng, H.R., Liu, Z.L., Xin, L. 2010. Synthesis and characterization of chitosan/ZnO nanoparticle composite membranes. *Carbohydrate Research*. 345(8): 994-998.
- López, F.A., Mercê, A.L.R., Alguacil, F.J., López-Delgado, A. 2008. A kinetic study on the thermal behaviour of chitosan. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 91(2): 633-639.
- Majeti, N.V., Ravi, K. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*. 46(1): 1-27.
- Malini, M., Thirumavalavan, M., Yang, W.Y., Lee, J.F., Annadurai, G. 2015. A versatile chitosan/ZnO nanocomposite with enhanced antimicrobial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 80(1): 121-129.
- Mallakpour, S., Behranvand, V. 2016. Nanocomposites based on biosafe nano ZnO and different polymeric matrixes for antibacterial, optical, thermal and mechanical applications. *European Polymer Journal*. 84(1): 377-403.
- Marin, L., Ailincăi, D., Mares, M., Paslaru, E., Cristea, M., Nica, V., Simionescu, B.C. 2015. Imino-chitosan biopolymeric films. Obtaining, self-assembling, surface and antimicrobial properties. *Carbohydrate Polymers*. 117(1): 762-770.
- Martino, A.D., Sittinger, M., Risbud, M.V. 2005. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*. 26(30): 5983-5990.
- Mirzaei, H., Darroudi, M. 2017. Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications. *Ceramics International*. 43(1): 907-914.
- Pandiselvi, K., Thambidurai, S. 2015. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of chitosan-zinc oxide/polyaniline composites. *Materials Science in Semiconductor Processing*. 31(1): 573-581.
- Pillai, C.K.S., Paul, W., Sharma, C.P. 2009. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*. 34(7): 641-678.
- Sedaghat, F., Yousefzadi, M., Toiserkani, H., Najafipour, S. 2016. Chitin from *penaeus merguensis* via microbial fermentation processing and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 82(1): 279-283.
- Schreiber, S.B., Bozell, J.J., Hayes, D.G., Zivanovic, S. 2013. Introduction of primary antioxidant activity to chitosan for application as a multifunctional food packaging material. *Food Hydrocolloids*. 33(2): 207-214.

- Shafiq, M., Yasin, T., Rafiq, M.A. 2014. Structural, thermal, and antibacterial properties of chitosan/ZnO composites. *Polymer Composites*. 35(1): 79-85.
- Singh, A., Sinsinbar, G., Choudhary, M., Kumar, V., Pasricha, R., Verma, H.N., Singh, S.P., Arora, K. 2013. Graphene oxide-chitosan nanocomposite based electrochemical DNA biosensor for detection of typhoid. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 185(1): 675-684.
- Toiserkani, H. 2016. Preparation and characterization chitosan/functionalized zinc oxide bionanocomposites and study of their antibacterial activities. *Composite Interfaces*. 23(3): 175-189.
- Toiserkani, H., Sadaghat, F. 2013. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications. *Journal of Aquatic Ecology*. 2(3): 40-26. (in Persian)
- Wang, X., Du, Y., Liu, H. 2004. Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan–Zn complex. *Carbohydrate Polymers*. 56(1): 21-26.