

Green Synthesis of ZnO Nanoparticles by Using Propolis Extract and Its Application in Preparation of Biodegradable Active Film Based on Whey Protein Isolate

B. Imani¹, H. Almasi^{1*}, M.K. Pirouzifard¹, H. Nourbakhsh²

1- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

(*- Corresponding Author Email: h.almasi@urmia.ac.ir)

2- Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Received: 30.08.2025
Revised: 07.11.2025
Accepted: 15.11.2025
Available Online: 16.11.2025

How to cite this article:

Imani, B., Almasi, H., Pirouzifard, M.K., & Nourbakhsh, H. (2025). Green synthesis of ZnO nanoparticles by using propolis extract and its application in preparation of biodegradable active film based on whey protein isolate. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 21(5), 511-527. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.95130.1470>

Introduction

Whey protein isolate has been considered in food packaging due to its edibility, biodegradability, ability to produce transparent, colorless and odorless films and coatings, cheapness and high relative abundance, as well as high barrier to oxygen and aromatic compounds at low relative humidity. However, the poor mechanical properties of these films, such as low tensile strength, inherent stiffness and poor water vapor barrier, have limited their application. Therefore, to overcome this limitation, in this study, the use of zinc oxide nanoparticles produced by green synthesis method from propolis alcoholic extract in the production of biodegradable films based on whey protein isolate was investigated. The effect of ultrasound treatment on the green synthesis process and the characteristics of the manufactured nanoparticles were also studied.

Materials and Methods

The production of zinc oxide nanoparticles by green synthesis method was as follows: first, zinc nitrate was prepared with different concentrations of 0.075, 0.15 and 0.25 M. The alcoholic extract of propolis was slowly and dropwise added to the prepared zinc nitrate solution. The reaction was carried out on a heater stirrer at 60 °C for 5 h. The pH of the solution was adjusted to 10 during the reaction using sodium hydroxide so that after the end of mixing, a brick-colored precipitate of zinc oxide nanoparticles was observed at the bottom of the container. The precipitates were centrifuged for 10 min at 4000 rpm. After this stage, the accumulated zinc oxide precipitates were washed with distilled water to separate impurities and finally placed in an electric furnace at 350 °C for 2 h. After this time, zinc oxide nanoparticles can be obtained in a light gray to white color. In the ultrasonic method, the brick-colored solution obtained before centrifugation was subjected to ultrasonic waves in an ultrasonic bath for 15 min, and then the same procedure was followed. To prepare the alcoholic extract of propolis, 15 g of propolis was mixed with 20 mL of 99% ethanol and placed in a shaker at 180 rpm for 24 h at room temperature. The resulting solution was filtered with Whatman paper No. 1. Finally, the solvent was recovered in a rotary evaporator at 45 °C. The superior nanoparticles were then obtained to be incorporated in the films of whey protein isolate at different concentrations of 3, 5 and 7 % and the physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties were studied.

Results and Discussion

The results of FTIR analysis of nanoparticles showed a decrease in the intensity or elimination of some bands presented in propolis extract, which indicated the participation of these functional groups in the process of zinc ion reduction and surface coating of nanoparticles. The morphology of nanoparticles also showed that the samples treated by ultrasound had a more homogeneous morphology than those without ultrasound. So, zinc oxide nanoparticles synthesized at a concentration of 0.25 M zinc nitrate with



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.95130.1470>

ultrasound were selected as the superior sample due to their appropriate density, regular shape and uniform distribution of particles. These particles were then added to whey protein isolate film at concentrations of 3, 5 and 7% to compare their performance and their properties in comparison with the control whey protein isolate film. The results showed that with increasing the percentage of nanoparticles, the solubility and water vapor permeability decreased and the antioxidant property, tensile strength, elongation and Young's modulus increased significantly ($p < 0.05$). This increase was greater in samples containing zinc oxide nanoparticles treated with ultrasound than in samples without ultrasound ($p < 0.05$). The findings of the antimicrobial property also indicated that the gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* was more sensitive to zinc oxide nanoparticles treated with propolis extract than the gram-negative bacterium *Escherichia coli*.

Conclusion

In general, the findings of this study showed that the use of zinc oxide nanoparticles synthesized with propolis extract using ultrasound improves the physicochemical and microbial properties of the whey protein isolate.

Keywords: Biodegradable film, Green synthesis of nanoparticles, Propolis extract, Zinc oxide nanoparticles

مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۴، ص. ۵۱۱-۵۲۷

سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم و استفاده از آن در تهیه فیلم زیست تخریب پذیر فعال بر پایه ایزوله پروتئین آب پنیر

بهنوش ایمانی^۱ - هادی الماسی^{۱*} - میرخلیل پیروزی فرد^۱ - هیمن نوربخش^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۴

چکیده

این مطالعه با هدف سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم و امواج فراصوت و کاربرد آن‌ها در فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر انجام شد. نتایج مربوط به FTIR نانوذرات کاهش شدت یا حذف برخی باندهای موجود در عصاره برهموم را نشان داد که بیانگر شرکت این گروه‌های عاملی در فرآیند احیای یون‌های روی و پوشش‌دهی سطحی نانوذرات بود. مورفولوژی نانوذرات نیز نشان داد نمونه‌هایی که با فراصوت سنتز شده بودند مورفولوژی همگن‌تری نسبت به حالت بدون فراصوت داشتند. نانوذره اکسید روی سنتز شده در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی با فراصوت به دلیل تراکم مناسب، شکل منظم و توزیع یکنواخت ذرات، به عنوان نمونه برتر انتخاب شد. این نمونه همراه با نانوذره اکسید روی سنتز شده با غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی اما بدون استفاده از فراصوت به منظور مقایسه عملکرد آن‌ها در غلظت‌های ۵، ۳ و ۷ درصد به فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر اضافه و ویژگی‌های آن‌ها در مقایسه با فیلم شاهد ایزوله پروتئین آب پنیر مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج مربوط به فیلم‌ها نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات، درصد حلالیت و میزان نفوذپذیری به بخار آب کاهش و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مقاومت به کشش، ازدیاد طول و مدول یانگ به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از نمونه‌های بدون فراصوت بود ($p < 0.05$). یافته‌های بررسی خاصیت ضد میکروبی نیز حاکی از آن بود که باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس/ اورئوس حساسیت بیشتری به نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم نسبت به باکتری گرم منفی /شریشیا کلی/ داشت. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده از فراصوت باعث بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر می‌گردد و می‌توان از فیلم حاصل برای بسته‌بندی محصولات غذایی حساس به فساد میکروبی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: سنتز سبز نانوذرات، عصاره برهموم، فیلم زیست تخریب‌پذیر، نانوذرات اکسید روی

مقدمه

اکسید روی برای مقابله با باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت استفاده شده و همچنین به عنوان یک ماده ضد قارچ نیز کاربرد دارد (Zhang et al., 2010). مکانیسم عمل ضد میکروبی اکسید روی شبیه سایر نانوذرات می‌باشد و عمدتاً از طریق تخریب دیواره باکتری عمل می‌کند. اصول مکانیسم اثرات سمی نانوذرات بخوبی شناخته نشده است ولی تحقیقات اخیر، این اثرات سمی را با سطح تماس زیاد نانوذرات، نفوذپذیری آن‌ها به داخل سلول‌ها و

اکسید روی به دلیل طیف گسترده‌ای از کاربرد در صنایع شیمیایی، دارویی، آرایشی و غذایی از نظر اقتصادی و صنعتی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در میان ویژگی‌های مختلف اکسید روی، ویژگی‌های اصلی آن نیمه‌رسانایی، فعالیت ضد میکروبی و جذب اشعه ماوراء بنفش می‌باشند (Bandeira, Giovanela, Roesch-Ely, Devine, & da

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

*- نویسنده مسئول: (Email: h.almasi@urmia.ac.ir)

۲- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

آزادسازی محتویات داخل سلولی استفاده می‌شود. با استفاده از فراصوت کارایی و راندمان فرآیندهای زیستی افزایش می‌یابد (Sulaiman, Ajit, Yunus, & Chisti, 2011). کاویتاسیون پدیده‌ای است که در فرآیند فراصوت رخ می‌دهد که در آن تشکیل، رشد و فروپاشی شدید حباب‌ها در مایع منجر به ایجاد ریز قطرات شبیه غبار در مایع می‌شود. این ریز قطرات به‌عنوان راکتورهایی برای تسهیل تشکیل نانوذرات جدا از هم در حین واکنش عمل می‌کنند که منجر به کاهش زمان واکنش و افزایش راندمان می‌گردند. سنتز نانوذرات به کمک فراصوت به‌عنوان یک رویکرد سازگار با محیط‌زیست (سنتز سبز) در نظر گرفته می‌شود (Saha, Chowdhury, Saini, & Babu, 2014). در همین راستا موکانو و همکاران (Mocanu et al., 2019) در مطالعه‌ای که بر روی فیلم حاوی نانوذرات اکسید روی و عصاره برهموم انجام دادند گزارش دادند که در غیاب امواج فراصوت، ساختارهای معدنی اکسید روی اندازه‌ها و شکل‌های مختلفی داشتند، در حالی که در مورد روش سنتز با کمک امواج فراصوت، نانوذرات معدنی به‌دلیل کاهش اثر رشد ذرات، به‌طور یکنواخت توزیع شده‌اند (Mocanu et al., 2019). در مطالعه‌ی دیگری که سلامه و همکاران (Salama et al., 2024) روی سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم انجام دادند، گزارش دادند که نانوذرات سنتز شده دارای اندازه کوچک با توزیع مناسب و تقریباً یکنواخت هستند، همچنین این مطالعه اثر هم‌افزایی را هنگام ترکیب برهموم با نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش سبز نشان داد که به‌طور قابل توجهی کارایی آن‌ها را در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی افزایش داد (Salama et al., 2024). رفیعی و همکاران (Rafiee et al., 2018) در مطالعه‌ای که روی سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از استات روی و عصاره برگ گیاه اکالیپتوس انجام دادند، گزارش کردند که نانوذرات اکسید روی سنتز شده دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی نسبت به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* می‌باشد (Rafiee et al., 2018). شارما و همکاران (Sharma, Jandaik, & Kumar, 2016)، اثر نانوذرات اکسید روی علیه تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سوبتیلیس* را بررسی و مشاهد کردند که نانوذرات تأثیر کمتری بر باکتری‌های گرم منفی دارند.

تحقیقات زیادی در جهت کاهش اثرات مخرب ضایعات پلاستیکی از طریق جایگزین کردن این مواد با منابع تجدیدپذیر بر پایه بیوپلیمرها انجام شده است. در این میان علم بسته‌بندی از زمینه‌های تحقیقاتی است که بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر به‌طور معمول از پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و لیپیدها به‌تنهایی و یا به‌شکل ترکیب شده و یا لامینه ساخته می‌شوند. با وجود

ارگانیسم‌ها، ایجاد آسیب غشایی، آسیب به DNA، التهاب در سلول و تغییر در تعاملات سلولی مرتبط می‌دانند (Sanaeimehr, Javadi, & Namvar, 2018). امروزه باتوجه به خصوصیات جالب مواد با ابعاد نانومتری، تولید و استفاده از آن‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های مختلفی برای سنتز نانوذرات وجود دارد. سنتز نانو ذرات به‌روش شیمیایی، ممکن است عوارض جانبی برای سلامت انسان و محیط‌زیست داشته باشد. از این‌رو استفاده از روش سنتز سبز می‌تواند گزینه مناسبی برای غلبه بر این محدودیت باشد. سنتز نانوذرات فلزی با استفاده از روش‌های سبز به‌دلیل خواص متفاوت نوری، شیمیایی، فتوالکتروشیمی و الکترونیکی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. همچنین سنتز نانوذرات به‌روش سبز، روشی پاکیزه، غیرسمی و سازگار با محیط‌زیست است (Shankar, Rai, Ahmad, & Sastry, 2004). تحقیقات نشان داده است که نانوذرات سنتز شده توسط گیاهان، نسبت به نانو ذرات حاصل از فعالیت سایر موجودات سریع‌تر ساخته شده و با ثبات‌تر هستند (Rafiee, Ghani, Sadeghi, & Ahsani, 2018). اساس این روش بر آن است که زیست مولکول‌هایی که در گیاهان یافت می‌شوند کاهش یون‌های فلزی به نانوذرات را باعث می‌شوند. این فرآیند کاهش، خارج سلولی و سریع بوده که منجر به توسعه سنتز زیستی نانوذرات است. برخی از مهمترین ترکیبات فعال موجود در عصاره گیاهان که مسئول کاهش یون‌های فلزی هستند، عوامل آنتی‌اکسیدانی محلول در آب مانند اسید آسکوربیک، کربوهیدرات‌ها، ترکیبات ثانویه همچون کتون‌ها و آلدهیدها و همچنین ترکیبات فنولی می‌باشند که نقش عامل کاهنده را دارند. به زبان ساده می‌توان گفت که این ترکیبات طبیعی حاوی مواد احیا کننده‌ای هستند که وقتی نمک‌های فلزی در معرض آن قرار می‌گیرند موجب کاهش آن‌ها به یون‌های فلزی می‌شوند (Soleimani-Gorgani & Alborz, 2020). برهموم نوعی ترکیب گیاهی فراوری شده توسط زنبور عسل می‌باشد که شبیه موم بوده و ظاهر آن به‌دلیل دخالت عوامل زیادی، ممکن است به‌طور گسترده‌ای متفاوت باشد. اما به‌طور معمول حالت آن خمیری و رنگ آن از سبز، قرمز تا قهوه‌ای تیره متفاوت است. برهموم دارای ترکیبات فنولی زیادی می‌باشد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند (Fernandes et al., 2007). آجنگ و همکاران (Dwi Ajeng et al., 2007) به کمک عصاره متانولی برهموم نانوذرات اکسید روی سنتز کردند و اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدیابنی نانوذرات سنتز شده را مورد بررسی قرار دادند. اما در خصوص تأثیر غلظت پیش‌ساز سنتز نانوذره و همچنین عصاره اتانولی برهموم بر روی اندازه، مورفولوژی و راندمان نانوذرات اکسید روی مطالعه‌ای صورت نگرفته است.

در انجام فرآیند سنتز سبز می‌توان از فراصوت نیز به‌عنوان روش کمکی استفاده نمود. فراصوت به جهت از هم‌گسیختگی سلول‌ها و

آماده‌سازی و تهیه نمونه‌ها

تولید نانو ذرات اکسید روی با روش سنتز سبز به این ترتیب بود که ابتدا نیترا ت روی با غلظت‌های مختلف ۰/۰۷۵، ۰/۱۵ و ۰/۲۵ مولار تهیه شد. عصاره اتانولی برهموم به آرامی و قطره قطره به محلول نیترا ت روی تهیه شده اضافه شد. واکنش مذکور بر روی هیتر استیرر (HPMA 700، FarTest، ایران) در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ ساعت انجام شد. pH محلول در طول انجام واکنش با استفاده از سدیم هیدروکسید به ۱۰ رسانده شد به طوری که پس از پایان اختلاط، رسوب نانو ذرات اکسید روی و عصاره باقی‌مانده به رنگ آجری در ته ظرف مشاهده گردید. رسوبات به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ (VS4000C، FarTest، ایران) شد. پس از این مرحله رسوبات اکسیدروی انباشته شده، به منظور جداسازی ناخالصی‌ها با آب مقطر شست‌وشو داده شد و در نهایت در کوره الکتریکی ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. پس از این زمان، نانو ذرات اکسید روی به رنگ خاکستری کمرنگ تا سفید قابل برداشت بود (Taherian, Hosseini, Jafari, & Etminan, 2019). برای تهیه نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم در روش استفاده از امواج فراصوت، محلول آجری رنگ به دست آمده حاصل از احیای نیترا ت نقره با عصاره اتانولی برهموم، قبل از سانتریفوژ در حمام فراصوت (RoHS، کره جنوبی) به مدت ۱۵ دقیقه تحت امواج فراصوت قرار گرفت و سپس ادامه کار مشابه با روش فوق انجام شد. برای تهیه عصاره الکلی برهموم ۱۵ گرم برهموم با ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۹ درصد مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در شیکر ۱۸۰ دور در دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. محلول حاصل با کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شد. در نهایت در روتاری اواپراتور (Laborota 4000، آلمان) در ۴۵ درجه سلسیوس آماده شد (Ghramh, Khan, Ibrahim, & Ansari, 2019).

تعیین ویژگی‌های نانوذرات سنتز شده

برای بررسی پیوندهای پودر نانوذرات حاصله از آزمون FTIR با کمک دستگاه طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل به فوریه (TENSOR 27، آلمان) استفاده گردید. مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (TESCAN/VEGA)، ساخت کشور جمهوری چک) مشخص شد. پس از تهیه تصاویر میکروسکوپی، به منظور بررسی اندازه نانوذرات از نرم‌افزار ImageJ 16 استفاده شد. بدین ترتیب که حداقل صد نانوذره در هر تصویر انتخاب شد و با استفاده از این نرم‌افزار، اندازه آنها محاسبه و میانگین اندازه ذرات تعیین گردید. همچنین هیستوگرام توزیع اندازه ذرات نیز برای هر نمونه رسم شد. برای تعیین شرایط مناسب تولید نانو ذرات اکسید روی، از روش SEM استفاده شد.

مزایای زیاد بسته‌های زیست‌تخریب‌پذیر، کاربرد این مواد به دلیل بسته‌بندی ضعیف در مقایسه با پلیمرهای پلاستیکی محدود است. جهت مقابله با این مشکل و بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی این بیوپلیمرها، راهکارهایی از جمله مخلوط کردن بیوپلیمرها و تولید فیلم‌های کامپوزیت با استفاده از تقویت کننده‌های نانو مانند نانوالیاف معدنی و آلی و تولید فیلم‌ها و پوشش‌های بیونانوکامپوزیت می‌باشد (Ghanbarzadeh, Pezeshki Najafabadi, & Almasi, 2011). مواد مختلفی از جمله پروتئین‌ها مانند آب پنیر، کازئینات، ژلاتین و پلی‌ساکاریدها مانند نشاسته، آلژینات‌ها، سلولز و کیتوزان در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر استفاده می‌شوند. پروتئین‌ها به دلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند قدرت تشکیل شبکه و الاستیسیته خوب، ترکیبات مناسبی جهت ساخت بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر می‌باشند. در این بین ساخت فیلم و پوشش ایزوله پروتئین آب‌پنیر به دلیل خوراکی بودن، قابلیت زیست تخریب‌پذیری، توانایی تولید فیلم و پوشش شفاف، بی‌رنگ و بی‌بو بودن، ارزانی و فراوانی نسبی بالا و همچنین ممانعت‌کنندگی بالا در برابر اکسیژن و ترکیبات آروماتیک در رطوبت نسبی پایین مورد توجه قرار گرفته است، اما خواص مکانیکی ضعیف این فیلم‌ها مانند استحکام کششی کم، سفتی ذاتی و خاصیت ضعیف ممانعتی به بخار آب، کاربرد آن‌ها را محدود کرده است و استفاده از نانوذرات و تولید فیلم‌های نانوکامپوزیت یکی از روش‌های بهبود خصوصیات مواد بسته‌بندی بر پایه پروتئین‌های آب پنیر محسوب می‌شود (Manjamadha & Muthukumar, 2016). تاکنون مطالعه‌ای در زمینه سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره اتانولی برهموم و بررسی تأثیر تیمار کمکی فراصوت بر خصوصیات این نانوذرات انجام نشده است. در این پژوهش نانوذرات اکسید روی با استفاده از روش احیای نیترا ت نقره و با کمک عصاره اتانولی برهموم سنتز شده و اثر تیمار فراصوت بر روی خصوصیات نانوذرات بررسی شد. سپس نانوذرات سنتز شده در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر بر پایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر مورد استفاده قرار گرفتند و خصوصیات فیلم‌های تولید شده بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نیترا ت روی از شرکت مرک آلمان، ایزوله پروتئین آب پنیر از شرکت هیلمار آمریکا و معرف دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلد ریچ آلمان خریداری شدند. محیط‌کشت مولر هینتون آگار کیوبل و باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) و *شرشیا کلی* H157: o7 (PTCC 1330) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران، تهیه شدند. برهموم نیز از بازار شهر ارومیه تهیه شد.

در این روش شکل نانو ذرات سنتز شده مورد بررسی قرار گرفته و نمونه برتر از لحاظ مورفولوژی در تولید فیلم مورد استفاده قرار گرفت (Rezaei, Pirs, & Chavoshizadeh, 2020).

تهیه فیلم فعال

روش تهیه فیلم بدین صورت بود که مقدار ۳ گرم از پودر ایزوله پروتئین آب پنیر در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت یک ساعت حل شد. سپس با استفاده از سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ دقیقه pH محلول به ۸ رسانده شد. در مرحله بعد، دمای محلول تا دمای اتاق کاهش داده شد و به آن گلیسرول به نسبت ۳۰ درصد وزن خشک اضافه گردید. پس از آن پودر نانواکسید روی انتخاب شده، در سه سطح ۳، ۵ و ۷ درصد به محلول فیلم به آرامی اضافه شد. در نهایت ۲۵ گرم از محلول فیلم داخل پلیت پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی متر ریخته و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا خشک گردد (Ghadetaj, Almasi, & Mehryar, 2018). برای نمایش غلظت ZnO از کدهای ZnO₃ و ZnO₅ و ZnO₇ استفاده شد. برای نشان دادن انجام یا عدم انجام تیمار فراصوت بر روی نانوذرات استفاده شده نیز از کد US استفاده شد.

آزمون حالیت فیلم

حالیت^۱ فیلمها بدین ترتیب اندازه گیری شد که ابتدا فیلم با ابعاد ۲×۲ cm برش داده شده سپس در آون (T5050 EK، شرکت Haraeus، آلمان) ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و وزن گردید (M₁). پس از این مرحله قطعات فیلم در بشر حاوی ۵۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفته و بشر در انکوباتور شیکر دار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. در نهایت تکه های باقی مانده فیلم در آون ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و مجدداً وزن گردید (M₂). حالیت فیلمها از رابطه ۱ محاسبه شد (Rezaei et al., 2020).

$$\text{Solubility}(\%) = \left(\frac{M_1 - M_2}{M_1} \right) \times 100 \quad (1)$$

در این معادله M₁ وزن اولیه فیلم (gr) و M₂ وزن ثانویه پس از حل شدن در آب و خشک کردن (g) می باشد.

نفوذپذیری به بخار آب

WVP فیلمها با استفاده از استاندارد ASTM E96-05 با برخی تغییرات به صورت وزنی تعیین شد. برای انجام آزمایش از ویالهای شیشه ای با قطر ۲۰ میلی متر و عمق ۴۵ میلی متر استفاده گردید. بطریها با ۳ گرم CaCl₂ پر و با نمونه فیلم پوشانده شدند. بطریهای

پوشانده شده با فیلم در دسیکاتور حاوی محلول اشباع شده K₂SO₄ و رطوبت نسبی ۹۹ درصد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس بطریها در فواصل ۳ ساعته ده بار وزن شدند. سرعت انتقال بخار آب (WVTR) از شیب تغییر جرم بطری در برابر منحنی زمان تقسیم بر منطقه دهانه بطری شیشه (متر مربع) تعیین شد. سپس نفوذپذیری به بخار آب فیلم با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید (Jafari, Pirouzifard, Khaledabad, & Almasi, 2016).

$$WVP = \frac{WVPR \cdot L}{\Delta P} \quad (2)$$

در این معادله WVTR به عنوان سرعت انتقال بخار آب (g/m²s) اندازه گیری می شود، L میانگین ضخامت فیلم (متر) و ΔP اختلاف فشار بخار آب (۳۱۱۵/۴۲ پاسکال) در دو سمت فیلم می باشد.

خواص مکانیکی

تعیین رفتار مکانیکی فیلمها با آزمون تنش-کرنش مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاومت کششی (TS)، کشیدگی در هنگام شکست (EB) و مدول ینگ (YM) از هر نمونه فیلم با توجه به روش آزمون استاندارد ASTM D-882 اندازه گیری شد (Almasi, Azizi, & Amjadi, 2020). قطعات فیلم به ابعاد ۱ در ۵ سانتی متر بریده شده و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت و با سرعت ۱۰ میلی متر در دقیقه تحت نیروی کشش قرار گرفت و فاکتورهای TS و EB و YM توسط دستگاه محاسبه و گزارش شد.

تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی

برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی فیلمها از روش مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. ابتدا ۱۰۰ میلی گرم از هر نمونه فیلم در ۲ میلی لیتر اتانول بصورت مداوم به مدت ۲ دقیقه همزده شد و ۱ میلی لیتر محلول عصاره فیلم به ۰/۲ میلی لیتر محلول DPPH (۰/۰۴ گرم در لیتر) در اتانول اضافه گردید. مخلوط ورتکس شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در جای تاریک نگهداری شد. کاهش جذب در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه طیف سنج UV-Vis تعیین گردید. در نهایت، فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از رابطه ۳ به عنوان درصد فعالیت مهار رادیکالهای آزاد DPPH اندازه گیری شد (Almasi et al., 2020).

$$\text{Inhibition \%} = \left(\frac{\text{absorbance of control} - \text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of control}} \right) \times 100 \quad (3)$$

جذب کنترل میزان جذب محلول DPPH بدون حضور عصاره فیلم و جذب نمونه میزان جذب محلول DPPH در حضور عصاره فیلم است.

خصوصیات ضد میکروبی فیلم

که سلامه و همکاران (Salama et al., 2024) بر روی نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم انجام دادند، گزارش دادند که نانوذرات سنتز شده دارای اندازه کوچک با توزیع مناسب و تقریباً یکنواخت هستند. از طرفی همانطور که مشاهده شد افزایش مقدار نیترات روی باعث زبر شدن سطح نانوذرات و افزایش اندازه نانوذرات شد. میانگین اندازه ذرات در غلظت ۰/۰۷۵ مولار نیترات نقره در هر دو تیمار، زیر ۱۰۰ نانومتر بود (۹۸ نانومتر نمونه بدون فراصوت و ۸۱ نانومتر با تیمار فراصوت). با افزایش غلظت نیترات نقره، میانگین اندازه ذرات بیشتر شد و در غلظت ۰/۲۵ مولار و بدون فراصوت به ۲۱۱ نانومتر افزایش یافت و در نمونه تیمار شده با فراصوت به ۱۶۱ نانومتر رسید. بطور کلی نمونه‌هایی که با فراصوت سنتز شده‌اند مورفولوژی همگن‌تری نسبت به حالت بدون فراصوت داشتند. طوری که نانوذره در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی سنتز شده با فراصوت هر چند که اندازه بزرگتری داشت اما به دلیل تراکم مناسب، شکل منظم و توزیع یکنواخت ذرات، بهترین عملکرد را نشان داد. به‌طور کلی، عوامل متعددی مانند pH واکنش، غلظت واکنش‌دهنده که با غلظت ترکیبات زیست‌فعال عصاره مرتبط است، دمای واکنش و مدت زمان واکنش می‌توانند بر اندازه و مورفولوژی ذرات تأثیر بگذارند (Shah, Fawcett, Sharma, Tripathy, & Poinern, 2015). باتوجه به تصاویر SEM نانوذره در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی سنتز شده با فراصوت علی‌رغم اندازه ذرات بزرگتر در مقایسه با غلظت‌های پایین، مورفولوژی بهتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشت. در این نمونه فراصوت توانست با غلظت بالای یون فلزی، از ایجاد توده‌های درشت جلوگیری کرده و نانوذرات را به‌صورت نسبتاً پراکنده و همگن در سطح پخش کند. این ویژگی باعث می‌شود تا کاربرد این نانوذره در بسته‌بندی، عملکرد مناسب و نتایج بهتری ارائه دهد. بنابراین به‌عنوان مطلوب‌ترین نانوذره انتخاب شده و همراه با نانوذره در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت به‌منظور مقایسه بهتر عملکرد آن در فیلم مورد بررسی قرار گرفت.

طیف‌سنجی FTIR

از تکنیک طیف‌سنجی FTIR برای مطالعه ترکیبات شیمیایی و ساختارهای عصاره برهموم، نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده و بدون استفاده از فراصوت استفاده شد (شکل ۲). عصاره برهموم یک باند پهن در 3341 cm^{-1} نشان داد که با ارتعاشات کششی مولکول گروه هیدروکسیل (OH) که در فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی وجود دارد و همچنین با ارتعاشات کششی پیوندهای آمیدی نوع دوم N-H در عصاره برهموم مرتبط است (Osman et al., 2023; Shahab-Navaei & Asoodeh, 2023).

برای انجام آزمون‌های تشخیص فعالیت ضد میکروبی، فیلم‌ها به شکل دیسک‌های دایره‌ای به قطر ۶ میلی‌متر بریده شدند. سوپانسیون‌های باکتریایی استافیلوکوکوس/اورئوس (PTCC 1112) و اشرشیا کلی H157: 07 (PTCC 1330)، براساس استاندارد نیم مک فارلند تهیه شدند. مطابق با روش دیسک دیفوزیون، فیلم‌های بریده شده در فواصل مناسب از هم بر روی محیط کشت مولر هیتتون آگار تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های مذکور قرار داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از طی مدت زمان مورد نظر، هاله مهارى رشد مورد ارزیابی قرار گرفته و بر اساس میلی‌متر گزارش شد (Almasi et al., 2020).

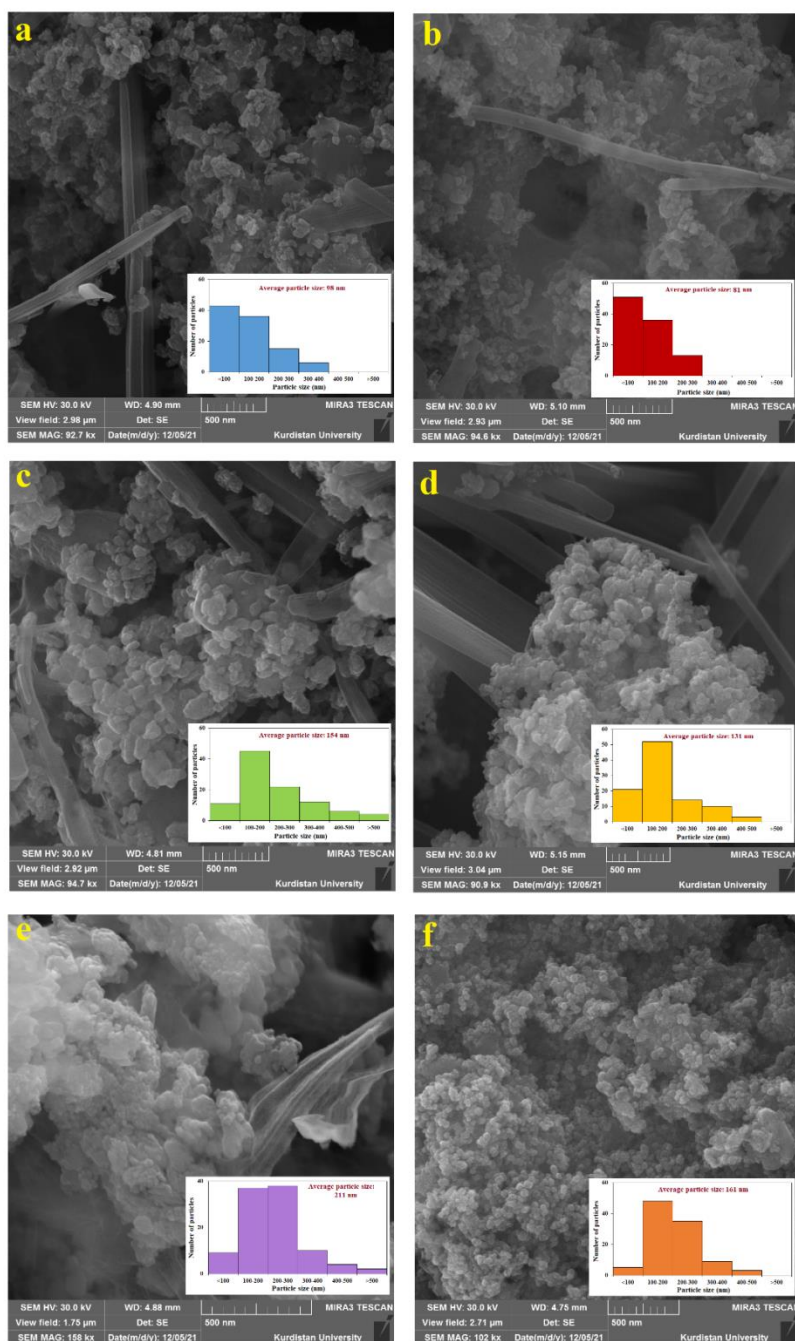
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌های بدست آمده از تست‌های مختلف انجام شده بر روی فیلم‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح $p < 0.05$ مورد بررسی قرار گرفت. از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده شد و داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش شدند.

نتایج و بحث

مورفولوژی

در شکل ۱ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم در سه غلظت مختلف نیترات روی (۰/۰۷۵، ۰/۱۵ و ۰/۲۵) و به دو روش سنتز با و بدون استفاده از امواج فراصوت به همراه هیستوگرام توزیع اندازه ذرات نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده از فراصوت دارای اندازه ذرات کوچک‌تر با توزیع تقریباً مناسب و یکنواخت، عاری از فضای خالی یا ترک در مقیاس وسیع نسبت به نانوذرات تهیه شده بدون استفاده از فراصوت بودند. وجود امواج فراصوت امکان کنترل بهتر فرآیند به‌دست آوردن نانوذرات نسبتاً مونودیسپرس یا تک پخش را فراهم کرد. این موضوع به اثر کاویتاسیون امواج فراصوت برمی‌گردد که موجب شکسته شدن توده‌ها و جلوگیری از تجمع ذرات می‌شود. در راستا با این پژوهش موکانو و همکاران (Mocanu et al., 2019) در مطالعه‌ای که بر روی فیلم حاوی نانوذرات اکسید روی و عصاره برهموم انجام دادند گزارش دادند که در غیاب امواج فراصوت، ساختارهای معدنی اکسید روی اندازه‌ها و شکل‌های مختلفی داشتند، در حالی که در مورد روش سنتز با کمک امواج فراصوت، نانوذرات معدنی به‌دلیل کاهش اثر رشد ذرات، به‌طور یکنواخت توزیع شدند (Mocanu et al., 2019). در مطالعه‌ی دیگری



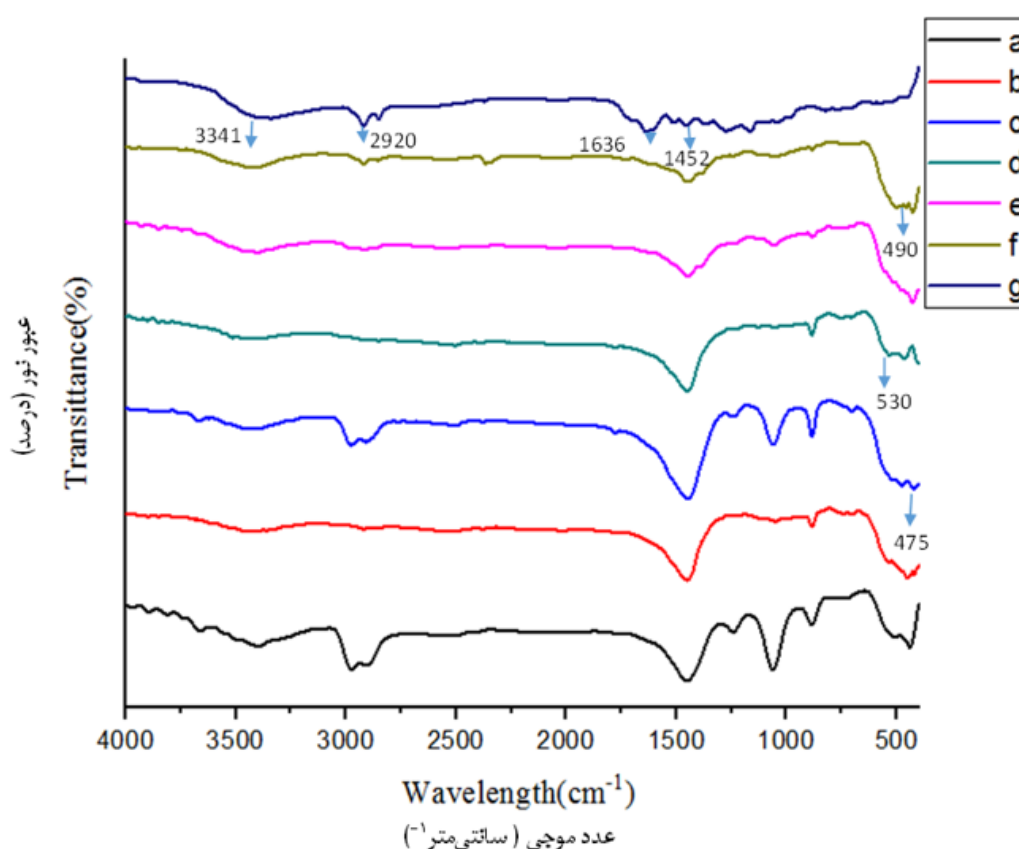
شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم

a (نانوذره سنتز شده با ۰/۰۷۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، b (نانوذره سنتز شده با ۰/۰۷۵ مولار نیترات روی با فراصوت)، c (نانوذره سنتز شده با ۰/۱۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، d (نانوذره سنتز شده با ۰/۱۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، e (نانوذره سنتز شده با ۰/۲۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، f (نانوذره سنتز شده با ۰/۲۵ مولار نیترات روی با فراصوت)

Fig. 1. Scanning electron microscope images of zinc oxide nanoparticles synthesized with propolis extract
a (nanoparticle synthesized by 0.075 molar zinc nitrate without ultrasound), b (nanoparticle synthesized by 0.075 molar zinc nitrate with ultrasound), c (nanoparticle synthesized by 0.15 molar zinc nitrate without ultrasound), d (nanoparticle synthesized by 0.15 molar zinc nitrate without ultrasound), e (nanoparticle synthesized by 0.25 molar zinc nitrate without ultrasound), f (nanoparticle synthesized by 0.25 molar zinc nitrate with ultrasound)

کششی و خمشی C-H از حلقه‌های آروماتیک، که به‌طور خاص با مواد شیمیایی فنلی مرتبط هستند، در محدوده $500-900\text{ cm}^{-1}$ شناسایی می‌شوند. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است در طیف نانوذرات سنتز شده، کاهش شدت یا حذف برخی باندهای موجود در عصاره برهموم مشاهده شد که بیانگر شرکت این گروه‌های عاملی در فرآیند احیای یون‌های روی و حذف ترکیبات فنولی برهموم پس از سنتز نانوذره است (Ahmed, Ahmad, Swami, & Ikram, 2016). علاوه بر این باند مشخصه‌ای در ناحیه 470 تا 530 cm^{-1} ظاهر شد که به پیوند Zn-O مربوط بوده و تأیید کننده تشکیل موفق نانوذرات اکسید روی است (Salama et al., 2024).

ارتعاشات کششی گروه‌های CH_2 نامتقارن در 2920 cm^{-1} و ارتعاشات متقارن آن در 2852 cm^{-1} ناشی از مواد آلی هستند که شامل گروه‌های هیدروکربنی یا زنجیره‌های آلیفاتیک هستند (Osman et al., 2023). ارتعاشات کششی کربونیل ($\text{C}=\text{O}$) که در موادی مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی دیده می‌شود، در پیک 1636 cm^{-1} نشان داده شده است (Munoz, Ferrari, Sancho, & Montaña, 2016). ارتعاشات کششی C-H خانواده فلاونوئیدها توسط نوارهای جذبی در 1452 cm^{-1} و 1376 cm^{-1} نشان داده می‌شوند. این پیک‌ها با نشان دادن اجزای ساختاری خاص موجود در فلاونوئیدها، به شناسایی آن‌ها کمک می‌کنند (PP, 2020). معمولاً، باندهایی در مورد ارتعاشات



شکل ۲- نتایج مربوط به طیف سنجی FTIR عصاره برهموم و نانوذرات اکسید روی سنتز شده با آن

a (نانوذره سنتز شده با 0.075 مولار نیتрат روی بدون فراصوت)، b (نانوذره سنتز شده با 0.075 مولار نیترات روی با فراصوت)، c (نانوذره سنتز شده با 0.15 مولار نیترات روی بدون فراصوت)، d (نانوذره سنتز شده با 0.15 مولار نیترات روی بدون فراصوت)، e (نانوذره سنتز شده با 0.25 مولار نیترات روی بدون فراصوت)، f (نانوذره سنتز شده با 0.25 مولار نیترات روی با فراصوت)، g (عصاره برهموم)

Fig. 2. FTIR spectroscopy results of propolis extract and the synthesized ZnO nanoparticles

a (nanoparticle synthesized by 0.075 molar zinc nitrate without ultrasound), b (nanoparticle synthesized by 0.075 molar zinc nitrate with ultrasound), c (nanoparticle synthesized by 0.15 molar zinc nitrate without ultrasound), d (nanoparticle synthesized by 0.15 molar zinc nitrate without ultrasound), e (nanoparticle synthesized by 0.25 molar zinc nitrate without ultrasound), f (nanoparticle synthesized by 0.25 molar zinc nitrate with ultrasound), g) propolis extract

مقایسه نمونه‌های با و بدون فراصوت نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با فراصوت دارای باند Zn-O با شدت بالاتر و باندهای آلی ضعیف تر بودند که بیانگر خلوص بالاتر و برهمکنش قوی تر نانوذرات باهم در اثر استفاده از امواج فراصوت است. همچنین با افزایش غلظت نیترات روی از ۰/۰۷۵ به ۰/۲۵ مولار، شدت باند Zn-O افزایش یافت که احتمالاً به دلیل افزایش بازده تشکیل نانوذرات می‌باشد. این نتایج تأیید می‌کند که عصاره بره‌موم به‌عنوان کاهنده و پایدار کننده عمل کرده و امواج فراصوت با افزایش بازده واکنش، منجر به بهبود کیفیت ساختاری نانوذرات اکسید روی شده‌اند. نتایج مشابه پژوهش حاضر توسط سلامه و همکاران (Salama et al., 2024) گزارش شد که یافته‌های بدست آمده در پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید.

بررسی ویژگی‌های فیلم

حلالیت

حلالیت یک ویژگی مهم در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است، زیرا می‌تواند میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، به خصوص در محیط حاوی رطوبت مثل فرآورده‌های گوشتی و هم چنین سرعت آزاد شدن ترکیبات ضد اکسیداسیونی و ضد میکروبی فیلم را زمانی که در تماس با سطح ماده غذایی است، تعیین کند. نتایج حاصل از آزمون حلالیت در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود افزودن نانوذرات اکسیدروی و استفاده از امواج فراصوت در سنتز نانوذرات بر درصد حلالیت فیلم‌ها اثر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). فیلم شاهد دارای بالاترین درصد حلالیت بود که نشان‌دهنده ساختار کمتر متراکم و قابلیت جذب آب بیشتر آن است. اما با افزودن نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت و بدون فراصوت درصد حلالیت کاهش یافت. این کاهش در نمونه‌های حاوی نانوذرات سنتز شده با فراصوت بیشتر بود. طوری که نمونه حاوی ۷ درصد نانوذره اکسید روی سنتز شده با فراصوت کمترین حلالیت را داشت. این کاهش احتمالاً ناشی از ماهیت غیر قابل حل نانوذرات اکسید روی و افزایش پیوندهای عرضی آنها با زنجیره‌های پروتئینی است. علت کاهش بیشتر حلالیت در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت را می‌توان به اندازه کوچکتر، توزیع یکنواخت‌تر و واکنش‌پذیری بالاتر نانوذرات حاصل از فرآیند فراصوت دانست که منجر به تقویت بیشتر ساختار شبکه‌ای فیلم و کاهش نفوذ آب می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که افزودن نانو اکسید روی موجب تشکیل پیوند هیدروژنی بین نانو اکسید روی و ماتریکس پلیمرها می‌شود و به این ترتیب اتصالات مولکول‌های آزاد آب با گروه‌های آب‌دوست بیوپلیمرها در مقایسه با نمونه شاهد کمتر شده و متعاقباً حلالیت فیلم کاهش می‌یابد (Tunç & Duman, 2010). نبوی و همکاران (Nabavi, Esmaili, &)

(Ghaitaranpour, 2025) در مطالعه‌ای که روی فیلم فعال حاوی نانوذره اکسید روی و اسانس گیاه زولنگ انجام دادند گزارش کردند که افزایش مقدار نانوذره در فیلم باعث کاهش حلالیت فیلم می‌شود. در مطالعه مشابهی که اجاق و همکاران (Ojagh, Adeli, Abdollahi,) (Kazemi, & Habibi, 2017) روی اثر افزودن نانوذرات اکسید روی بر روی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار-کاپاکاراگینان انجام دادند گزارش دادند که افزودن نانو ذرات اکسید روی باعث کاهش حلالیت از ۸۴/۹۶ درصد در فیلم شاهد به ۳۲/۴۵ درصد در فیلم حاوی ۰/۵ درصد نانو اکسید روی شد (Ojagh et al., 2017). علاوه بر این غفوری آهنگر و همکاران (Ghafoori Ahangar, Pourashouri,) (Ojagh, & Shabanpour, 2018) در مطالعه‌ای که روی خصوصیات فیلم دولایه آگار/کازئینات سدیم حاوی نانوذرات اکسید روی انجام دادند گزارش کردند که افزودن نانوذرات اکسید روی به فیلم دولایه باعث کاهش حلالیت در فیلم تولیدی شد (Ghafoori Ahangar et al., 2018). شرافت خواه آذری و همکاران (Sherafatkah Azari,) (Alizadeh, Asefi, & Hamishehkar, 2021) در مطالعه‌ای تأثیر نانو ذرات اکسیدروی و بتاگلوکان بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیلم زیست‌تخریب‌پذیر ژلاتین در طی نگهداری فیله مرغ را مورد بررسی قرار دادند. یافته‌ها نشان داد که نانوذرات اکسید روی باعث کاهش حلالیت فیلم‌های تولیدی شد (Sherafatkah Azari et al., 2021).

نفوذپذیری به بخار آب

یکی از پارامترهای مهم فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر نفوذپذیری به بخار آب است که نقش مهمی در ایجاد فساد و واکنش‌های مخرب مواد غذایی ایفا می‌کند. نتایج مربوط به نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با استفاده از فراصوت و بدون فراصوت در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که افزودن نانوذرات اکسید روی در مقایسه با نمونه شاهد میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ($P < 0.05$). طوری که این کاهش در فیلم‌های حاوی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با فراصوت بیشتر از نمونه‌های بدون فراصوت است. کاهش معنی‌دار در میزان نفوذپذیری به بخار آب بعد از افزودن نانو اکسید روی ممکن است موجب به وجود آمدن مسیری پر پیچ و خم برای عبور مولکول‌های بخار آب گردد (Yu, Yang, Liu, & Ma, 2009). به علاوه افزودن نانو اکسید روی ممکن است موجب ایجاد لایه‌هایی شود که سدی در برابر آب ایجاد می‌کند و ذرات آب را مجبور می‌کند تا فضای پر پیچ و خمی را طی کند، بنابراین افزودن آن به پلیمر موجب افزایش خواص بازدارندگی آن می‌شود (Adame & Beall, 2009). نبوی و همکاران

تاپیوکا/ژلاتین گاوی و پلی اتیلن/ پلی کاپرولاکتون گزارش شده است. علاوه بر این غفوری آهنگر و همکاران (Ghafoori Ahangar et al., 2018) در مطالعه‌ای که روی ارزیابی خصوصیات فیلم دولایه آگار/کازئینات سدیم حاوی نانوذرات اکسید روی انجام دادند گزارش کردند که افزودن ۲ درصد اکسید روی به فیلم دولایه باعث کاهش بیش از ۳۲ درصد نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم تولیدی شد. در تحقیقی که در سال ۲۰۱۴ توسط کنمانی و رحیم انجام شد خصوصیات بیوفیلم‌های ساخته شده بر پایه آگار، کاراگینان و کربوکی متیل سلولز و نانوذرات اکسید روی به‌عنوان ترکیب ضد میکروبی بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که افزودن نانوذرات روی موجب کاهش نفوذپذیری به بخار آب گردید (Kanmani & Rhim, 2014).

(Nabavi et al., 2025) در مطالعه‌ای که بر روی فیلم فعال حاوی نانوذره اکسید روی و اسانس گیاه زولنگ انجام دادند گزارش کردند که افزایش مقدار نانوذره در فیلم باعث کاهش نفوذ پذیری به بخار آب می‌شود. در مطالعه مشابهی که اجاق و همکاران (Ojagh et al., 2017) بر روی اثر افزودن نانوذرات اکسید روی بر روی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار- کاپاکاراگینان انجام دادند گزارش دادند که افزودن نانوذرات اکسید روی باعث کاهش نفوذ پذیری به بخار آب شد. نفچی و همکاران (Nafchi, Mahmud, & Robal, 2012)، مرویزاده و همکاران (Marvizadeh, Mohammadi, 2014) و رسکک و همکاران (Nafchi, & Jokar, 2014) و رسکک و همکاران (Rešček, 2015) نتایج مشابهی در خصوص کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب پس از ترکیب نانوذرات اکسید روی به بیوپلیمرهای نشاسته ساگو، نشاسته

جدول ۱- حلالیت (%) و نفوذپذیری به بخار آب ($\text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$) فیلم‌های تهیه شده با درصدهای مختلف نانوذره اکسید روی
Table 1- Solubility (%) and water vapor permeability ($\text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$) of films prepared with different percentages of zinc oxide nanoparticles

نمونه‌ها Samples	حلالیت (%) Solubility	نفوذ پذیری به بخار آب ($\times 10^{-7} \text{ gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$) Water vapor permeability
Control	61.74±0.73 ^a	12.87±0.33 ^a
ZnO ₃	53.93±1.05 ^b	11.33±0.36 ^b
ZnO ₅	49.00 ±0.58 ^c	10.76 ±0.18 ^c
ZnO ₇	45.89 ±1.24 ^d	10.40 ±0.17 ^d
ZnO ₃ -US	36.12 ±0.45 ^e	10.14 ±0.16 ^e
ZnO ₅ -US	32.14 ±0.15 ^f	9.26 ±0.26 ^f
ZnO ₇ -US	28.33 ±1.12 ^g	8.33 ±0.34 ^g

داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد ($n=3$) گزارش شده‌اند. حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین نمونه‌های فیلم می‌باشد.

Data are reported as mean $\pm$ standard deviation ($n=3$). Small non-identical letters in each column indicate significant differences ($p < 0.05$) between film samples.

با نتایج رسکک و همکاران (Rešček et al., 2015) با افزودن نانواکسید روی به پلی اتیلن/پلی کاپرولاکتون و مطالعات مرویزاده و همکاران (Marvizadeh et al., 2014) پیرامون افزودن نانواکسید روی به نشاسته تاپیوکا/ژلاتین گاوی همخوانی داشت.

میزان ازدیاد طول فیلم‌ها با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با و بدون فراصوت به‌طور معنی‌داری از ۱۸/۸۲ درصد در فیلم شاهد به ۵۱/۲۱ درصد در فیلم حاوی ۷ درصد نانوذره اکسید روی سنتز شده با فراصوت افزایش یافت ($P < 0.05$). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش غفوری آهنگر و همکاران (Ghafoori Ahangar et al., 2018) در مطالعه‌ای که روی ارزیابی خصوصیات فیلم دولایه آگار/کازئینات سدیم حاوی نانوذرات اکسید روی انجام دادند

ویژگی‌های مکانیکی

نتایج مربوط به مقاومت کششی، ازدیاد طول و مدول یانگ نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. طبق نتایج بدست آمده با افزایش درصد نانوذرات، مقاومت کششی روند افزایشی نشان داد که این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از سایر نمونه‌ها بود.

بهبود مقاومت کششی فیلم‌ها در حضور درصدهای بالای نانوذره ممکن است به‌دلیل نقش پرکنندگی نانوذرات در ساختار شبکه فیلم‌ها به‌دلیل نسبت منظر بسیار بالای این نانوذرات به‌عنوان یک پرکننده مناسب در ابعاد نانومتری و پراکنده شدن یکنواخت نانوذرات اکسید روی در بستر فیلم مبتنی بر ایزوله پروتئین آب پنیر باشد. نتایج این تحقیق

پرداخته شد. نتایج به دست آمده نشان داد که افزودن نانوذرات روی موجب افزایش از یاد طول فیلم‌ها می‌گردد (Kanmani & Rhim, 2014).

نتایج مربوط به مدول یانگ نیز نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با و بدون فراصوت در فیلم‌ها نسبت به نمونه شاهد مدول یانگ به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p < 0.05$). که این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. نتایج مشابهی برای افزایش مقاومت کششی و مدول یانگ توسط داش و همکاران (Dash, Ali, 2019) برای افزودن نانوذرات تیتانیوم دی اکسید به فیلم بر پایه نشاسته و پکتین ضایعات لیمو گزارش شد.

مطابقت داشت. علاوه بر این یافته‌های این پژوهش با یافته‌های بدست آمده در مطالعه اجاق و همکاران (Ojagh et al., 2017) بر روی اثر افزودن نانوذرات اکسید روی بر روی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار-کاپاکاراگینان همخوانی داشت. در تحقیق انجام شده توسط قادرتاج و همکاران (Ghaderaj et al., 2018) خصوصیات فیلم تهیه شده با ایزوله پروتئین آب‌پنیر حاوی نانو امولسیون و اسانس مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که نانو امولسیون و اسانس، سبب افزایش یکپارچگی فیلم تشکیل یافته می‌گردد. به علاوه موجب بهبود خواص مکانیکی می‌گردد (Ghaderaj et al., 2018). در تحقیقی که در سال ۲۰۱۴ توسط کمنانی و رحیم انجام شد به بررسی خصوصیات بیوفیلیم‌های ساخته شده بر پایه آگار، کاراگینان، کربوکسی متیل سلولز و نانوذرات اکسید روی به عنوان ترکیب ضد میکروبی

جدول ۲- ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های تهیه شده با درصد‌های مختلف نانوذره اکسید روی
Table 2- Mechanical properties of films prepared with different percentages of zinc oxide nanoparticles

نمونه‌ها	مدول یانگ (مگاپاسکال)	ازدیاد طول (%)	مقاومت کششی (مگاپاسکال)
Samples	Young's modulus	Elongation	Tensile strength
Control	22.26 ± 0.04 ^g	18.82 ± 0.17 ^g	26.17 ± 0.45 ^g
ZnO ₃	28.11 ± 0.04 ^f	20.13 ± 0.14 ^f	30.24 ± 0.16 ^f
ZnO ₅	31.92 ± 0.06 ^e	29.38 ± 1.13 ^e	38.99 ± 1.78 ^e
ZnO ₇	43.94 ± 0.08 ^d	31.18 ± 1.04 ^d	42.34 ± 1.17 ^d
ZnO ₃ -US	45.47 ± 0.07 ^c	38.25 ± 1.27 ^c	47.26 ± 0.15 ^c
ZnO ₅ -US	48.91 ± 0.03 ^b	44.19 ± 1.01 ^b	50.26 ± 0.36 ^b
ZnO ₇ -US	50.21 ± 0.05 ^a	51.21 ± 1.35 ^a	56.33 ± 0.14 ^a

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (n=3) گزارش شده‌اند. حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین نمونه‌های فیلم می‌باشد.

Data are reported as mean ± standard deviation (n=3). Small non-identical letters in each column indicate significant differences ($p < 0.05$) between film samples.

اکسید روی و قابلیت جذب و اتصال به رادیکال آزاد، دلیل مشاهده فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حضور این نانوذره محسوب می‌شود. افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های حاوی نانوذرات سنتز شده با فراصوت نسبت به نمونه‌های بدون فراصوت می‌تواند به علت پراکنش یکنواخت تر نانوذرات در ساختار فیلم در اثر فراصوت و افزایش سطح تماس مؤثر نانوذرات به دلیل کاهش اندازه ذرات در اثر انرژی فراصوت باشد. در مقابل نمونه‌هایی که نانوذرات آن‌ها بدون استفاده از امواج فراصوت سنتز شده بودند، گرچه خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشتند، اما این فعالیت نسبت به نمونه‌های فراصوت شده کمتر بود. این موضوع می‌تواند ناشی از تجمع نانوذرات، توزیع غیر یکنواخت در بستر فیلم و کاهش دسترسی رادیکال‌ها به نقاط فعال باشد. افزایش غلظت نانوذره در ماتریکس فیلم امکان رهایش آنها در هنگام تهیه عصاره فیلم مورد استفاده از آمون DPPH را افزایش می‌دهد و با بکارگیری تیمار فراصوت و کاهش اندازه ذرات، این رهایش بیشتر شده و در نتیجه

خاصیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH)

اکسیداسیون یکی از مهم‌ترین راه‌های فساد مواد غذایی در هنگام فرآوری و نگهداری می‌باشد، که ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اکسیداسیون چربی مسئول طعم و بوی تندشدگی، تشکیل ترکیبات سمی و کاهش کیفیت مواد غذایی می‌باشد. به دلیل اثرات مضر نگهدارنده‌ها و افزودنی‌های شیمیایی، تمایل به استفاده از ترکیبات ضد اکسایشی طبیعی در حال افزایش است. نتایج حاصل از فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p < 0.05$).

فیلم شاهد فعالیت آنتی‌اکسیدانی حدود ۱۱ درصد را نشان داد که می‌تواند مربوط به خاصیت احیاکنندگی گروه‌های آمین موجود در اسیدهای آمینه ایزوله پروتئین آب پنیر باشد. فعالیت سطحی نانوذرات

این پارامترها را به نحو مطلوبی بهبود می‌بخشد. در پژوهشی که توسط راجکومار و همکاران (Rajakumar, Thiruvengadam, Mydhili, Gomathi, & Chung, 2018) روی سنتز سبز نانوذرات اکسیدروی به کمک عصاره برگ *Paniculata Andrographis* انجام شد، گزارش شد که با افزایش غلظت نانوذره خاصیت آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی نشان می‌دهد.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود. به‌طور کلی نقش نانوذرات اکسید روی در بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه است. نانوذرات اکسید روی با داشتن سطح فعال بالا می‌توانند از طریق جذب سطحی رادیکال‌ها یا واکنش‌های سطحی در مهار فرآیندهای اکسایشی مشارکت داشته باشند. با این حال، اثر بخشی آن به اندازه، شکل و پراکنش ذرات در ماتریس بستگی دارد که استفاده از امواج فراصوت

جدول ۳- خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده با درصد‌های مختلف نانوذره اکسید روی
Table 3- Antioxidant and antimicrobial properties of films prepared with different percentages of zinc oxide nanoparticles

نمونه‌ها Samples	خاصیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant property (%)	قطر هاله عدم رشد	
		اشریشیا کلی H157: o7 Inhibition zone diameter (mm) <i>Escherichia coli</i> H157: o7	استافیلوکوکوس اورئوس Inhibition zone diameter (mm) <i>Staphylococcus aureus</i>
Control	11.27±0.55 ^g	-	-
ZnO ₃	35.34±0.34 ^f	8.56±0.28 ^f	10.34±1.34 ^f
ZnO ₅	49.14±0.18 ^e	10.19±0.16 ^e	15.14±1.18 ^e
ZnO ₇	57.36±0.17 ^d	13.47±0.15 ^d	18.56±1.17 ^d
ZnO ₃ -US	65.49±0.43 ^c	16.51±0.36 ^c	24.64±1.43 ^c
ZnO ₅ -US	76.61±0.26 ^b	18.32±0.14 ^b	26.59±1.26 ^b
ZnO ₇ -US	89.33±0.28 ^a	20.54±0.24 ^a	30.43±1.28 ^a

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (n=3) گزارش شده‌اند. حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (p < 0.05) بین نمونه‌های فیلم می‌باشد.

Data are reported as mean ± standard deviation (n=3). Small non-identical letters in each column indicate significant differences (p < 0.05) between film samples.

گزارش دادند که نانوذرات اکسید روی علیه باکتری گرم مثبت مؤثرتر از باکتری گرم منفی عمل می‌کنند (Li et al., 2009). اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی را می‌توان با چندین مکانیسم توجیه کرد: (۱) از بین رفتن آرایش غشا به دلیل تجمع نانوذرات در غشای باکتری و همچنین نفوذ آن‌ها به درون سلول (۲) آزاد شدن یون‌های روی که با اتصال به غشای میکروارگانیسم‌ها سبب اعمال اثر ضد میکروبی می‌شوند. با این حال سمیت نانوذرات مستقیماً به وارد شدن آن‌ها به درون سلول نسبت داده نمی‌شود، بلکه تماس نزدیک آن‌ها با سلول موجب تغییر در ریز محیط باکتری شده و با افزایش حلالیت فلز یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال در نهایت باعث آسیب به غشا می‌شوند (Emamifar, Kadivar, Shahedi, & Soleimani-Zad, 2011). تاکنون مطالعات زیادی در زمینه اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی انجام شده است. از جمله مطالعه جهان پیمای ثابت و همکاران (Sabet, Mahdavi-Ourtakand, & Baghbani-Arani, 2022) که اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط عصاره گیاه آویشن شیرازی را بررسی کردند. نتایج نشان داد که نانوذرات دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی می‌باشند (Rafiee et al., 2018). رفیعی و همکاران (Sabet et al., 2022) در مطالعه‌ای که روی سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از استات

خاصیت ضد میکروبی

اثر ضد میکروبی فیلم‌های شاهد و حاوی سطوح مختلف نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده از فراصوت و بدون فراصوت روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* در جدول ۳ ارائه شده است. بجز فیلم شاهد همه فیلم‌ها به‌طور واضحی ویژگی‌های ضد میکروبی روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* نشان دادند. با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (p < 0.05). ژانگ و همکاران (Zhang, Jiang, Ding, Povey, & York, 2007) به بررسی عوامل مختلفی از جمله سایز و غلظت نانوذرات اکسید روی بر شدت اثر ضد میکروبی علیه *اشریشیا کلی* پرداختند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که غلظت نانوذره نقش مهم‌تری نسبت به سایز آن ایفا کرده و با افزایش غلظت نانوذره اثر ضد میکروبی افزایش یافت (Zhang et al., 2007). همچنین یافته‌ها نشان داد که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسیت بیشتری به نانوذرات اکسید روی نسبت به باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* داشت. لی و همکاران (Li et al., 2009) اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی پوشش داده شده روی فیلم پلی‌وینیل کلراید را بر باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *اشریشیا کلی* بررسی کرده و

روی و عصاره برگ گیاه اکالیپتوس انجام دادند، گزارش کردند که نانوذرات اکسید روی سنتز شده دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی نسبت به باکتری‌های *استافیلوکوکوس/اورئوس* و *شریشیا کلی* می‌باشد. شارما و همکاران (Sharma et al., 2016)، اثر نانوذرات اکسید روی علیه تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله *کلبسیلا یونومونیه*، *شریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *باسیلوس سوبتیلیس* را بررسی و مشاهد کردند که نانوذرات تأثیر کمتری بر باکتری‌های گرم منفی دارند. نتایج این مطالعه با تحقیق حاضر هم‌پوشانی دارد و نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به نانوذرات اکسید روی حساس‌تر هستند. همچنین اختلاف در شکل و اندازه نانوذرات اکسید روی سنتز شده و همچنین اثرات ضد میکروبی آن‌ها در مطالعات مختلف را می‌توان به عواملی چون غلظت عامل احیا کننده، فرآیند واکنش، فرآیند خنک‌سازی و تبلور و نوع گیاه یا عصاره مورد استفاده و ترکیبات موجود در عصاره مرتبط دانست که از موضوعات جالب در مطالعات نانومواد است (Li et al., 2012).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش به بررسی استفاده از نانوذرات اکسید روی تولید شده با روش سنتز سبز از عصاره الکلی بره‌موم در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر بر پایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر پرداخته شد. همچنین اثر امواج فراصوت در فرآیند سنتز سبز و ویژگی‌های نانو ذرات ساخته شده مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج مربوط به طیف‌سنجی FTIR نانوذرات سنتز شده نشان داد که در طیف نانوذرات سنتز شده، کاهش شدت یا حذف برخی باندهای موجود در عصاره بره‌موم مشاهده شد که بیانگر شرکت این گروه‌های عاملی در فرآیند احیای یون‌های روی و پوشش‌دهی سطحی نانوذرات بود. با افزایش غلظت نیترات روی شدت باند ZnO افزایش یافت. نتایج مربوط به مورفولوژی نانوذرات سنتز شده نشان داد که افزایش مقدار نیترات روی باعث زیر شدن سطح نانوذرات می‌شود. با این حال نمونه‌هایی که با فراصوت سنتز شده بودند مورفولوژی همگن‌تری نسبت به حالت بدون فراصوت داشتند. طوری که نانوذره اکسید روی سنتز شده در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی با فراصوت به دلیل تراکم مناسب، شکل منظم و توزیع یکنواخت ذرات، بهترین عملکرد را نشان داد. در نتیجه همراه با نانوذره اکسید روی سنتز شده با غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی بدون استفاده از فراصوت به‌منظور مقایسه عملکرد آن‌ها در غلظت‌های ۳، ۵ و ۷ درصد به فیلم

ایزوله پروتئین آب پنیر اضافه و ویژگی‌های آن‌ها در مقایسه با فیلم شاهد ایزوله پروتئین آب پنیر بدون نانوذرات اکسید روی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به آزمون‌های انجام شده روی فیلم‌ها نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات، درصد حلالیت و میزان نفوذپذیری به بخار آب کاهش یافت. خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، مقاومت به کشش، ازدیاد طول و مدول یانگ با افزایش نانوذرات اکسید روی روند افزایشی نشان داد که این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از نمونه‌های بدون فراصوت بود. یافته‌های مربوط به خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها نشان داد که نانوذرات اکسید روی بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *شریشیا کلی* اثر مثبت دارد و باعث کنترل رشد آن‌ها می‌گردد طوری که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی در فیلم‌ها قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت که این افزایش در نمونه فیلم‌های حاوی نانوذرات سنتز شده با فراصوت بیشتر بود. از طرفی یافته‌ها حاکی از آن بود که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسیت بیشتری به نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره بره‌موم نسبت به باکتری گرم منفی *شریشیا کلی* داشت. به‌طور کلی یافته‌های این پژوهش نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره بره‌موم با استفاده از فراصوت باعث بهبود خصوصیات فیزیکی شیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی فیلم ایزوله پروتئین آب‌پنیر می‌شود. طوری که نمونه فیلم حاوی ۷ درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت به‌عنوان بهترین فیلم انتخاب شد که قابلیت استفاده به‌عنوان بسته‌بندی فعال مواد غذایی را دارد.

میزان مشارکت نویسندگان

به‌نوش ایمانی: تحقیق و بررسی، مدیریت داده، نوشتن پیش‌نویس اصلی؛ **هادی الماسی:** مفهوم‌سازی، تحلیل رسمی، مدیریت پروژه، نوشتن، بررسی و ویرایش؛ **میرخلیل پیروزی فرد:** مفهوم‌سازی، نظارت، اعتبارسنجی؛ **هیمن نوربخش:** روش‌شناسی، اعتبارسنجی، نوشتن، بررسی و ویرایش.

منابع تأمین مالی

این تحقیق توسط دانشگاه ارومیه تأمین مالی شده است.

References

- Adame, D., & Beall, G.W. (2009). Direct measurement of the constrained polymer region in polyamide/clay nanocomposites and the implications for gas diffusion. *Applied Clay Science*, 42(3-4), 545-552. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2008.03.005>

2. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B.L., & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>
3. Almasi, H., Azizi, S., & Amjadi, S. (2020). Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99, 105338. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105338>
4. Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D.M., & da Silva Crespo, J. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 15, 100223. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100223>
5. Dash, K.K., Ali, N.A., Das, D., & Mohanta, D. (2019). Thorough evaluation of sweet potato starch and lemon-waste pectin based-edible films with nano-titania inclusions for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 449-458. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.193>
6. Dwi Ajeng, P.D., Plashintania, D.R., Putri, R.M., Wibowo, I., Ramli, Y., & Herdianto, S. (2023). Synthesis of zinc oxide nanoparticles using methanol propolis extract (Pro-ZnO NPs) as antidiabetic and antioxidant. *PLoS ONE*, 18(7), e0289125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289125>
7. Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., & Soleimanian-Zad, S. (2011). Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. *Food Control*, 22(3-4), 408-413. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.011>
8. Fernandes, F.F., Dias, A.L.T., Ramos, C.L., Ikegaki, M., Siqueira, A.M.D., & Franco, M.C. (2007). The "in vitro" antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49, 93-95. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000200005>
9. Ghadetaj, A., Almasi, H., & Mehryar, L. (2018). Development and characterization of whey protein isolate active films containing nanoemulsions of *Grammosciadium ptrocarpum* Bioss. essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.012>
10. Ghafoori Ahangar, Z., Pourashouri, P., Ojagh, S.M., & Shabanpour, B. (2018). The assessment of of bilayer agar-sodium caseinat film properties containing ZnO nanoparticles. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 7(2), 41-51. (In Persian with English abstract)
11. Ghanbarzadeh, B., Pezeshki Najafabadi, A., & Almasi, H. (2011). Antimicrobial edible films for food packaging. (In Persian with English abstract)
12. Ghramh, H.A., Khan, K.A., Ibrahim, E.H., & Ansari, M.J. (2019). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using propolis extract, their characterization, and biological activities. *Science of Advanced Materials*, 11(6), 876-883. <https://doi.org/10.1166/sam.2019.3571>
13. Jafari, H., Pirouzifard, M., Khaledabad, M.A., & Almasi, H. (2016). Effect of chitin nanofiber on the morphological and physical properties of chitosan/silver nanoparticle bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 461-466. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.051>
14. Kanmani, P., & Rhim, J.-W. (2014). Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 106, 190-199. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.007>
15. Li, H., Li, F., Wang, L., Sheng, J., Xin, Z., Zhao, L., Hu, Q. (2009). Effect of nano-packing on preservation quality of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. var. *inermis* (Bunge) Rehd). *Food Chemistry*, 114(2), 547-552. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.085>
16. Li, X., Zhang, F., Ma, C., Deng, Y., Wang, Z., Elingarami, S., & He, N. (2012). Controllable synthesis of ZnO with various morphologies by hydrothermal method. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 12(3), 2028-2036. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5177>
17. Manjamadha, V., & Muthukumar, K. (2016). Ultrasound assisted green synthesis of silver nanoparticles using weed plant. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(3), 401-411. <https://doi.org/10.1007/s00449-015-1523-3>
18. Marvizadeh, M.M., Mohammadi Nafchi, A., & Jokar, M. (2014). Improved physicochemical properties of tapioca starch/bovine gelatin biodegradable films with zinc oxide nanorod. *Journal of Chemical Health Risks*, 4(4), 25-31. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.067>
19. Mocanu, A., Isopencu, G., Busuioc, C., Popa, O.-M., Dietrich, P., & Socaciu-Siebert, L. (2019). Bacterial cellulose films with ZnO nanoparticles and propolis extracts: Synergistic antimicrobial effect. *Scientific Reports*, 9(1), 17687. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54118-w>
20. Munoz, V.A., Ferrari, G.V., Sancho, M.I., & Montaña, M.P. (2016). Spectroscopic and thermodynamic study of chrysin and quercetin complexes with Cu (II). *Journal of Chemical & Engineering Data*, 61(2), 987-995. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.5b00837>

21. Nabavi, M., Esmaili, M., & Ghaitaranpour, A. (2025). Lallemanitia royleana seed mucilage-based active edible films: The effects of zinc oxide nanoparticles and zoulang plant's essential oil. *Journal of Food Science & Technology* (2008-8787), 21(160). (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22034/FSCT.22.160.110>
22. Nafchi, A.M., Mahmud, S., & Robal, M. (2012). Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Journal of Food Engineering*, 113(4), 511-519. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.017>
23. Ojagh, S.M., Adeli, A., Abdollahi, M., Kazemi, M., & Habibi, M. (2017). Effect of ZnO nanoparticles on the physico-mechanical properties of agar/kappa carrageenan bilayer film. *Innovative Food Technologies*, 5(1), 13-23. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.011>
24. Osman, M.S., Al-qubati, M., Saeed, M., Abdulqawi, N., Algrade, M.A., Alwan, A., & Sultan, A.M. (2023). Effective inhibition of waterborne and fungal pathogens using ZnO nanoparticles prepared from an aqueous extract of propolis: Optimum biosynthesis, characterization, and antimicrobial activity. *Applied Nanoscience*, 13(6), 4515-4526. <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02726-w>
25. PP, V. (2020). In vitro biocompatibility and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) prepared by chemical and green synthetic route—a comparative study. *BioNanoScience*, 10(1), 112-121. <https://doi.org/10.1007/s12668-019-00698-w>
26. Rafiee, B., Ghani, S., Sadeghi, D., & Ahsani, M. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using eucalyptus mellidora leaf extract and evaluation of its antimicrobial effects. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 20(10), 28-35. (In Persian with English abstract)
27. Rajakumar, G., Thiruvengadam, M., Mydhili, G., Gomathi, T., & Chung, I.-M. (2018). Green approach for synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Andrographis paniculata* leaf extract and evaluation of their antioxidant, anti-diabetic, and anti-inflammatory activities. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41, 21-30. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1840-9>
28. Rešček, A., Kratočil Krehula, L., Katančić, Z., & Hrnjak-Murgić, Z. (2015). Active bilayer PE/PCL films for food packaging modified with zinc oxide and casein. *Croatica Chemica Acta*, 88(4), 461-473. <https://doi.org/10.5562/cca2768>
29. Rezaei, M., Pirs, S., & Chavoshizadeh, S. (2020). Photocatalytic/antimicrobial active film based on wheat gluten/ZnO nanoparticles. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(7), 2654-2665. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01407-6>
30. Sabet, B.J.P., Mahdavi-Ourtakand, M., & Baghbani-Arani, F. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Zataria multiflora* extract and evaluation of its antimicrobial, cytotoxic and apoptotic effects on HT-29 cell line. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.1007/s42247-022-00413-8>
31. Saha, S.K., Chowdhury, P., Saini, P., & Babu, S.P.S. (2014). Ultrasound assisted green synthesis of poly (vinyl alcohol) capped silver nanoparticles for the study of its antifilarial efficacy. *Applied Surface Science*, 288, 625-632. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.10.085>
32. Salama, S.A., Essam, D., Tagyan, A.I., Farghali, A.A., Khalil, E.M., Abdelaleim, Y.F., Eweis, A.A. (2024). Novel composite of nano zinc oxide and nano propolis as antibiotic for antibiotic-resistant bacteria :a promising approach. *Scientific Reports*, 14(1), 20894. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70490-8>
33. Sanaeimehr, Z., Javadi, I., & Namvar, F. (2018). Antiangiogenic and antiapoptotic effects of green-synthesized zinc oxide nanoparticles using Sargassum muticum algae extraction. *Cancer Nanotechnology*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12645-018-0037-5>
34. Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S.K., & Poinern, G.E.J. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8(11), 7278-7308. <https://doi.org/10.3390/ma8115377>
35. Shahab-Navaei, F., & Asoodeh, A. (2023). Synthesis of optimized propolis solid lipid nanoparticles with desirable antimicrobial, antioxidant, and anti-cancer properties. *Scientific Reports*, 13(1), 18290. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45768-y>
36. Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(2), 496-502. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.003>
37. Sharma, N., Jandaik, S., & Kumar, S. (2016). Synergistic activity of doped zinc oxide nanoparticles with antibiotics: ciprofloxacin, ampicillin, fluconazole and amphotericin B against pathogenic microorganisms. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88(3 Suppl), 1689-1698. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150713>
38. Sherafatkhan Azari, S., Alizadeh, A., Asefi, N., & Hamishehkar, H. (2021). Investigation the effect of ZnO and β -glucan on chemical and microbial characteristic of gelatin based biodegradable film over storage of chicken fillet. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 18(114), 169-180. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.52547/fsct.18.114.169>

39. Soleimani-Gorgani, A., & Alborz, R. (2020). Green synthesis of nanoparticles for using as antibacterial materials. *Journal of Biosafety*, 13(1), 23-44. (In Persian). DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.1.3.3
40. Sulaiman, A.Z., Ajit, A., Yunus, R.M., & Chisti, Y. (2011). Ultrasound-assisted fermentation enhances bioethanol productivity. *Biochemical Engineering Journal*, 54(3), 141-150. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.01.006>
41. Taherian, S.M.R., Hosseini, S.A., Jafari, A., & Etminan, A. (2019). The green synthesis and characterization of Zinc Oxide nanoparticles from the leaf extracts of *Satureja hortensis*. *Herbal Medicines Journal*, 3(4), 147-153. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_6_06
42. Tunç, S., & Duman, O. (2010). Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. *Applied Clay Science*, 48(3), 414-424. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.01.016>
43. Yu, J., Yang, J., Liu, B., & Ma, X. (2009). Preparation and characterization of glycerol plasticized-pea starch/ZnO-carboxymethylcellulose sodium nanocomposites. *Bioresource Technology*, 100(11), 2832-2841. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.045>
44. Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, N., Jeuken, L., Povey, M., York, D.W. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5), 1625-1636. <https://doi.org/10.1007/s11051-009-9711-1>
45. Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M., & York, D. (2007). Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*, 9, 479-489. <https://doi.org/10.1007/s11051-006-9150-1>