

(OPEN ACCESS)

Preparation and evaluation of biological properties of bio-nanocomposite from cellulose nanofibers-chitosan nanofibers

Zahra Javadian^{*1}, Saeed Reza Farrokhpayam², Hossein Yousefi³,
Mohammad Dahmardeh Ghalehno⁴, Mahdi Zolfaghari⁵, Takashi Nishino⁶

1. Corresponding Author, Ph.D. Student in Wood and Cellulose Products Industries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: zahra.javadian.zj@gmail.com
2. Associate Prof., Dept. of Wood and Cellulose Products Industries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: farrokhpayam@uoz.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Wood Technology and Engineering, Faculty of Wood and Paper Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hyousefi.ir@gmail.com
4. Associate Prof., Dept. of Wood and Cellulose Products Industries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: mmdahmardeh@uoz.ac.ir
5. Assistant Prof., Dept. of Fishery Products Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: zolfaghari.mz@gau.ac.ir
6. Professor, Dept. of Chemistry, Faculty of Chemistry, Kobe University, Kobe, Japan. E-mail: tnishino@kobe-u.ac.jp

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: In recent years, the development of biodegradable and environmentally friendly materials for packaging applications has attracted significant attention due to growing environmental concerns and the limitations associated with synthetic polymers. Bio-nanocomposites have emerged as sustainable alternatives for food packaging. Among these, bio-nanocomposites composed of cellulose nanofibers (as the reinforcing phase) and chitosan (as the matrix phase) have garnered considerable interest owing to their unique characteristics, including renewability, biodegradability, biocompatibility, and antibacterial properties. Cellulose nanofibers, due to their high mechanical strength and ability to form network structures, play a crucial role in enhancing the mechanical and barrier properties of packaging films. Conversely, the chitosan matrix contributes antimicrobial and antioxidant properties, which are essential for extending the shelf life of food products and reducing spoilage. Thus, the combination of these two nanomaterials can yield a bio-nanocomposite with suitable mechanical and physical performance, demonstrating high potential for food packaging applications. In this study, an innovative partial dissolution method was employed to fabricate cellulose nanofiber-chitosan bio-nanocomposites, followed by comprehensive characterization of the resulting specimens in terms of their physical, mechanical, and antibacterial properties.
Article history: Received: 04.22.2025 Revised: 05.24.2025 Accepted: 05.26.2025	
Keywords: Biodegradable packaging, Bio-nanocomposite, Cellulose nanofibers, Chitosan nanofibers, Mechanical properties	
	Materials and Methods: Two types of raw materials were used: cellulose nanofiber gel and chitosan nanofiber gel, both supplied by Nanonovin Polymer Company. Before bio-nanocomposite fabrication, the exact concentration of each gel was determined, and various gel combinations were prepared based on predefined ratios. The gels were mixed with a specific amount of distilled water and homogenized using a magnetic

stirrer to obtain a uniform suspension. This homogeneous mixture was then transferred to a vacuum filtration system for nanopaper fabrication. After forming the initial nanopaper mat, it was removed from the apparatus and dried completely in a vacuum oven at 70 °C for 24 h. Subsequently, these pure and hybrid raw nanopapers were transformed into cellulose nanofiber–chitosan bio-nanocomposites using a dissolution method. For this purpose, the specimens were immersed in a 0.5% acetic acid solution for 4 minutes and then neutralized with a 1% NaOH solution. Following stabilization of the physical structure through multiple washing steps with distilled water, the samples were thoroughly dried. Finally, the properties of the fabricated nanopapers and bio-nanocomposites were evaluated through several tests, including X-ray diffraction (XRD), field emission scanning electron microscopy (FESEM), Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, static tensile testing, and antibacterial activity assessment.

Results: The integration of cellulose nanofibers and chitosan nanofibers significantly enhanced the structural and functional properties of the fabricated nanopapers and bio-nanocomposites. XRD and FTIR analyses confirmed the successful formation of chemical bonds between the composite components and the development of a crystalline structure suitable for the reinforcing and matrix phases. FESEM micrographs revealed that both cellulose and chitosan nanofibers were within the nanoscale range (1-100 nm) and that cellulose nanofibers were uniformly dispersed within the chitosan matrix as the reinforcing phase. The nanobiocomposite composed of 70% cellulose nanofibers and 30% chitosan nanofibers exhibited improvements of 25.6% and 94.8% in key properties compared to pure cellulose nanofiber and pure chitosan nanofiber nanopapers, respectively. Additionally, antimicrobial testing (colony count method) demonstrated that the prepared nanobiocomposites possess effective inhibitory properties against pathogenic bacteria, which can significantly extend the shelf life of food products.

Conclusion: The innovative partial dissolution method for fabricating cellulose, chitosan bio-nanocomposites was successfully implemented, and the resulting materials demonstrated significant potential as sustainable alternatives to conventional packaging materials. These bio-nanocomposites represent an eco-friendly solution for the packaging industry, combining enhanced mechanical performance with functional antibacterial properties.

Cite this article: Javadian, Zahra, Farrokhpayam, Saeed Reza, Yousefi, Hossein, Dahmardeh Ghalehno, Mohammad, Zolfaghari, Mahdi, Nishino, Takashi. 2025. Preparation and evaluation of biological properties of bio-nanocomposite from cellulose nanofibers-chitosan nanofibers. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 32 (1), 129-147.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/jwfst.2025.23560.2106

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تهیه و ارزیابی ویژگی‌های زیستی نانوبیوکامپوزیت از نانوالیاف سلولز – نانوالیاف کیتوسان

زهره جوادیان^{۱*}، سعیدرضا فرخ‌پیام^۲، حسین یوسفی^۳، محمد دهمرده قلعه‌نو^۴،
مهدی ذوالفقاری^۵، تاکاشی نیشینو^۶

۱. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری صنایع چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
رایانامه: zahra.javadian.zj@gmail.com
۲. دانشیار گروه صنایع چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: farrokhpayam@uoz.ac.ir
۳. دانشیار گروه تکنولوژی و مهندسی چوب، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: hyousefi.ir@gmail.com
۴. دانشیار گروه صنایع چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: mmdahmardeh@uoz.ac.ir
۵. استادیار گروه عمل‌آوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: zolfaghari.mz@gau.ac.ir
۶. استاد گروه شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه کوبه، کوبه، ژاپن. رایانامه: tnishino@kobe-u.ac.jp

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: در سال‌های اخیر، توسعه مواد زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط‌زیست برای کاربردهای بسته‌بندی به دلیل نگرانی‌های زیست‌محیطی و محدودیت‌های ناشی از استفاده از پلیمرهای مصنوعی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. نانوبیوکامپوزیت‌ها به عنوان جایگزین‌های پایدار برای بسته‌بندی مواد غذایی معرفی شده‌اند. در این میان، نانوبیوکامپوزیت‌های متشکل از نانوالیاف سلولز به عنوان فاز تقویت‌کننده و کیتوسان به عنوان فاز زمینه به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد خود، از جمله تجدیدپذیری، زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری و خواص ضدباکتریایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. نانوالیاف سلولز به دلیل مقاومت مکانیکی بالا و توانایی ایجاد ساختارهای شبکه‌ای، نقش مهمی در بهبود خواص مکانیکی و ممانعتی فیلم‌های بسته‌بندی ایفا می‌کند. در مقابل، فاز زمینه کیتوسان خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را بهبود می‌بخشد که این ویژگی‌ها برای افزایش ماندگاری مواد غذایی و کاهش فساد مهم است؛ بنابراین، ترکیب این دو نانوماده می‌تواند منجر به تولید نانوبیوکامپوزیتی شود که ضمن داشتن عملکرد مکانیکی و فیزیکی مناسب، پتانسیل بالایی برای کاربردهای بسته‌بندی مواد غذایی دارد. در این مطالعه، تسهیل در تولید نانوبیوکامپوزیت نانوفیبر سلولز- کیتوسان از طریق روشی نوآورانه (انحلال جزئی) و سپس مشخصه‌یابی نمونه‌های ساخته‌شده از نظر خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدباکتریایی بوده است.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۲	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۳	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۵	
واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر، خواص مکانیکی، نانوالیاف سلولز، نانوالیاف کیتوسان، نانوبیوکامپوزیت	

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، از دو نوع ماده اولیه شامل ژل نانوفیبرسلولز و ژل نانوفیبرکیتوسان که از شرکت نانو نوین پلیمر تأمین شده بودند، بهره گرفته شد. ابتدا غلظت دقیق هر یک از این ژل‌ها تعیین گردید و سپس با توجه به نسبت‌های مشخص‌شده، ترکیب‌های گوناگونی از آن‌ها تهیه شد. اختلاط این ژل‌ها به همراه مقدار معینی آب مقطر و یکنواخت‌سازی آن‌ها با کمک همزن مغناطیسی انجام گرفت تا سوسپانسیونی همگن حاصل شود. این محلول سپس جهت ساخت نانوکاغذ به دستگاه فیلتراسیون خلأ منتقل شد و پس از شکل‌گیری نمد اولیه نانوکاغذها طی ۲ ساعت، از دستگاه خارج و برای خشک شدن کامل، به مدت ۲۴ ساعت در آن خلأ با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعد، این نانوکاغذهای خام خالص و ترکیبی به نانوبیوکامپوزیت نانوفیبر سلولز- کیتوسان تبدیل شدند که برای این منظور، از روش انحلال جزئی بهره گرفته شد. بدین‌صورت که نمونه‌ها به مدت ۴ دقیقه در محلول اسید استیک ۰/۵ درصد قرار گرفتند و سپس با سود ۱ درصد خنثی‌سازی شدند. پس از تثبیت ساختار فیزیکی از طریق چندین مرحله شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها به‌طور کامل خشک گردیدند. درنهایت، به‌منظور بررسی ویژگی‌های این نانوکاغذها و نانوبیوکامپوزیت‌ها، آزمون‌های پراش پرتو ایکس (XRD)، آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FESEM)، طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FTIR)، آزمون کشش استاتیک و ارزیابی خاصیت آن‌تی‌باکتریالی انجام شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از آزمون‌های مختلف نشان داد که فرآیند ترکیب نانوفیبرسلولز و نانوفیبر کیتوسان، منجر به بهبود قابل‌توجهی در ویژگی‌های ساختاری و عملکردی نانوکاغذها و نانوبیوکامپوزیت‌ها شده است. آنالیزهای XRD و FTIR تأیید کردند که پیوندهای شیمیایی بین اجزای کامپوزیت به‌درستی شکل گرفته و ساختار نهایی کریستالی برای ایجاد فازهای تقویت‌کننده و زمینه مناسب است. بررسی ریزنگاره‌های FE-SEM نشان داد که نانوفیبرسلولز و نانوفیبر کیتوسان در مقیاس واقعی نانومتری (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) قرار داشته و هم‌چنین نانوفیبر سلولز به‌عنوان فاز تقویت‌کننده در زمینه کیتوسان پراکنش و توزیع یکنواخت داشته است. هم‌چنین، آزمون کششی بیانگر افزایش معنی‌دار مقاومت کششی در مقایسه با نمونه‌های نانوکاغذ خالص و ترکیبی خام بود. به‌طوری‌که نانوبیوکامپوزیت حاصل از ترکیب ۷۰ درصد نانوفیبرسلولز و ۳۰ درصد نانوفیبر کیتوسان نسبت به نانوکاغذهای خالص حاصل از نانوفیبرسلولز و نانوفیبر کیتوسان به ترتیب ۲۵/۶ و ۹۴/۸ درصد افزایش یافت. در علاوه بر این، نتایج آزمون ضدمیکروبی (روش شمارش پرگنه) نشان داد که نانوبیوکامپوزیت‌های تهیه‌شده دارای خاصیت مهارکنندگی مؤثری در برابر باکتری‌های بیماری‌زا هستند که می‌تواند ماندگاری مواد غذایی را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری: در مجموع، روش انحلال جزئی تولید نانوبیوکامپوزیت نانوسلولز- کیتوسان مورد استفاده در این مطالعه به‌طور موفق اجرا شده و نانوبیوکامپوزیت‌های تهیه‌شده پتانسیل بالایی برای جایگزینی مواد بسته‌بندی دارند و می‌توانند به‌عنوان یک راهکار پایدار و زیست‌سازگار در صنایع بسته‌بندی مورد استفاده قرار گیرند.

استناد: جوادیان، زهرا، فرخ‌پیام، سعیدرضا، یوسفی، حسین، دهمرده قلعه‌نو، محمد، ذوالفقاری، مهدی، نیشینو، تاکاشی (۱۴۰۴). تهیه و ارزیابی ویژگی‌های زیستی نانوبیوکامپوزیت از نانوالیاف سلولز- نانوالیاف کیتوسان. نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل، ۳۲ (۱)، ۱۴۷-۱۲۹.

DOI: 10.22069/jwfst.2025.23560.2106



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

نانوکامپوزیت‌ها به دلیل خواص مکانیکی، زیستی و عملکردی منحصربه‌فرد، توجهات زیادی در زمینه‌های مختلف صنعتی و پژوهشی جلب کرده‌اند (۱). نانوبیوکامپوزیت‌ها موادی پیشرفته و چندمنظوره هستند که از ترکیب یک فاز زمینه زیستی (مانند پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر یا زیست‌سازگار) با نانوذرات یا نانوفازهای معدنی، آلی یا زیستی تشکیل می‌شوند. این ترکیبات با هدف بهبود خواص مکانیکی، حرارتی، زیستی و عملکردی مواد پایه طراحی شده‌اند (۲). فاز زمینه زیستی معمولاً از موادی مانند کیتوسان، کلاژن، پلی‌لاکتیک اسید (PLA) یا ژلاتین تشکیل شده است (۳)، درحالی‌که نانوفازها می‌توانند شامل نانولوله‌های کربنی، نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت، نانورس‌ها، نانوذرات فلزی یا نانوسلولز باشند. این ترکیب منحصربه‌فرد باعث افزایش مقاومت، پایداری و زیست‌سازگاری شده و به مواد اجازه می‌دهد در کاربردهای پیشرفته مورد استفاده قرار گیرند (۴، ۵، ۶).

سلولز به دلیل فراوانی در طبیعت، تجدیدپذیری و خواص زیست‌سازگارانه ذاتی جایگاه ویژه‌ای در توسعه مواد پیشرفته پیدا کرده است (۷). نانوالیاف سلولزی به‌عنوان یکی از پایدارترین و زیست‌سازگارترین مواد زیستی شناخته می‌شوند که به‌واسطه ساختار نانومتری خود، قابلیت بهبود خواص مکانیکی، حرارتی و سطحی مواد را دارند (۸). با این‌حال، برای افزایش عملکرد و کاربرد این نانوالیاف، ترکیب آن‌ها با سایر مواد زیستی، از جمله کیتوسان مورد توجه قرار گرفته است (۹).

کیتوسان که از مشتقات طبیعی کیتین و یکی از پلیمرهای زیستی پرکاربرد است. این ماده به دلیل خواص زیست‌فعال، زیست‌تخریب‌پذیری و سازگاری با بدن انسان، پتانسیل بسیار زیادی برای استفاده در

کاربردهای مختلف از جمله بسته‌بندی مواد غذایی، پزشکی و داروسازی دارد. ترکیب نانوالیاف کیتوسان با نانوالیاف سلولز، به دلیل ایجاد تعاملات فیزیکی و شیمیایی بین این دو ماده، می‌تواند منجر به تولید نانوکامپوزیت‌هایی با عملکرد بهینه و خواص چندمنظوره شود. این نانوکامپوزیت‌ها علاوه بر افزایش مقاومت مکانیکی، می‌توانند ویژگی‌هایی مانند مقاومت به رطوبت، خاصیت ضد میکروبی و ظرفیت زیست‌تخریب‌پذیری را بهبود بخشند (۱۰، ۱۱).

نانوبیوکامپوزیت ساخته‌شده از نانوالیاف سلولزی و زمینه کیتوسانی نیز به دلیل ساختار لایه‌ای و منسجم خود، فرصت‌های بی‌نظیری برای استفاده در صنایع نوظهور فراهم کرده‌اند. این ساختارها با بهره‌گیری از نانومقیاس و تعاملات بین مولکولی میان اجزای تشکیل‌دهنده، خواصی مانند کاهش نفوذپذیری گازها، افزایش انعطاف‌پذیری و مقاومت کششی را ارائه می‌دهند. علاوه بر این، حضور کیتوسان در این ساختارها، خاصیت ضد میکروبی و مقاومت در برابر عوامل زیستی را بهبود می‌بخشد و به‌این‌ترتیب کاربردهای بالقوه در بسته‌بندی مواد غذایی حساس و سامانه‌های پزشکی فراهم می‌سازد (۱۲، ۱۳، ۱۴).

با وجود پژوهش‌های متعددی که در زمینه نانوکامپوزیت سلولز-کیتوسان انجام شده، ولی فرآیند ساخت آن هنوز جای مطالعات بیش‌تری دارد. در مطالعات گذشته برای ساخت نانوکامپوزیت نانوسلولز-کیتوسان ابتدا کیتوسان معمولی در مقیاس پودر میکرومتری در محلول اسید استیک حل کرده سپس نانوسلولز را به آن اضافه کرده و فیلم نهایی از طریق خشک‌کردن به دست می‌آمد. این روش چالش‌هایی به همراه دارد که مهم‌ترین آن‌ها بحث ایجاد توزیع مناسب نانوسلولز در زمینه کیتوسان است. چالش توزیع به دلیل (۱) تفاوت در قطبیت آب و اسید استیک، (۲) پروتون‌دار شدن کیتوسان محلول در اسید

استیک و بنابراین ایجاد اختلاف در شارژ سطحی بین کیتوسان (مثبت) و سلولز (منفی) که سبب جذب الکترواستاتیکی بین آن‌ها شده و دلمه‌گی‌ها زیاد می‌شود. (۳) ویسکوزیته زیاد کیتوسان محلول در اسید استیک هم موانع زیادی جهت دستیابی به توزیع مناسب ایجاد می‌کند. (۴) به‌علاوه هم ژل نانوفیبرسلولز همراه با آب است و هم حجم زیادی آب در کیتوسان حل شده در اسید استیک وجود دارد. بنابراین حجم آب زیاد در فرآیند ساخت با روش قالب‌گیری محلول به دلیل محدودیت ظرفیت حجم ظروف قالب‌گیری و نیز دستیابی به فیلم با گراماژ مناسب و نیز تولید نانوبیوکامپوزیت در درصدهای اختلاط بالای نانوفیبر سلولز مشکلاتی ایجاد می‌کند.

هدف این پژوهش حاضر حل این چالش‌ها با ارائه روشی نوآورانه است. در روش معرفی شده این مطالعه، ابتدا با اختلاط مکانیکی و همگن نانوالیاف سلولز و نانوالیاف کیتوسان نانوکاغذ ترکیبی اولیه با نسبت‌های مختلف نانوفیبر سلولز و نانوفیبر کیتوسان تولید شده و سپس با غوطه‌وری نانوکاغذهای ترکیبی حاصله در محلول با pH اسیدی، پدیده انحلال نانوالیاف کیتوسان و متعاقب آن نفوذ کیتوسان حل شده در بین نانوفیبرهای سلولزی اتفاق افتاده و درنهایت با خروج حلال و سفت شدن مجدد کیتوسان در نقش فاز زمینه عمل کرده و سبب چسبندگی نانوفیبرهای سلولز به یکدیگر می‌گردد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه و آماده‌سازی آن: مواد اولیه این مطالعه شامل ژل نانوفیبرسلولز (CNF) و ژل نانوفیبر

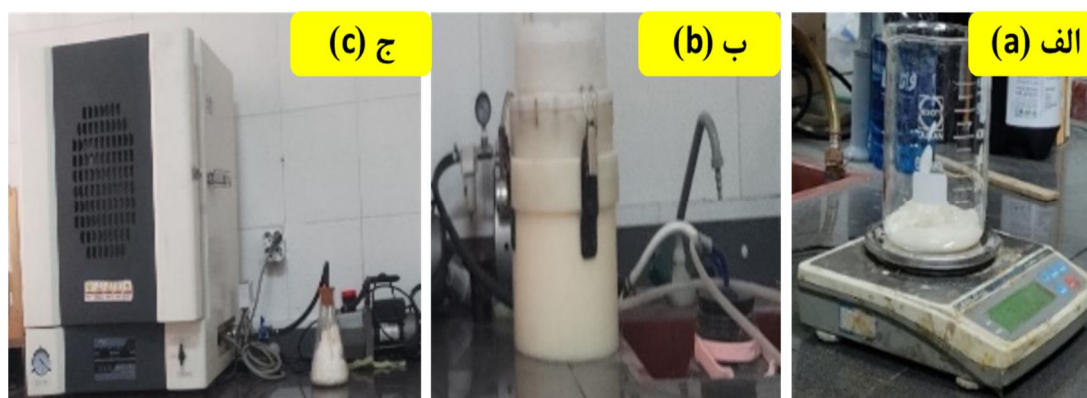
کیتوسان (ChNF) تهیه‌شده با روش سوپراسیاب دیسکی بود که از شرکت نانو نوین پلیمر (ایران) تأمین گردید. هم‌چنین، ChNF دارای وزن مولکولی ۸۰-۵۰ کیلودالتون، درجه استیل‌زدایی حدود ۸۰ درصد و قابل‌حل در اسید استیک یک درصد بود.

تهیه نانوکاغذ ترکیبی: جهت ساخت نانوبیوکامپوزیت (کاغذهای ترکیبی) ابتدا نانوکاغذهای حاصل از ترکیب نانوفیبرنانوسلولز به نانوکیتوسان در سه سطح ۹۰/۱۰، ۷۰/۳۰ و ۵۰/۵۰ درصد تهیه گردید که جهت اختصار در این مطالعه به‌این‌ترتیب NP-90/10، NP-70/30 و NP-50/50 نام‌گذاری شدند (جدول ۱). غیر از یک مورد که سهم دو مدل نانوفیبر برابر بود در بقیه این ترکیبات، سهم نانوفیبر سلولز نسبت به نانوفیبر کیتوسان بیش‌تر بود. افزون بر این، جهت مقایسه و ارزیابی دقیق‌تر، نمونه‌های خالص نانوکاغذ سلولز و نانوکاغذ کیتوسان نیز به‌عنوان نمونه‌های شاهد جداگانه تولید شدند. جهت ساخت نانوکاغذهای اولیه خالص و ترکیبی، پس از توزین مقدار مناسب از هر ژل و اختلاط آن با آب مقطر، محلول حاصل برای یکنواخت‌سازی بر روی همزن مغناطیسی بدون حرارت و با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس، سوسپانسیون یکنواخت تهیه‌شده با روش فیلتراسیون خلأ طی زمان ۲ ساعت به نمد نانوفیبر تبدیل شده و در مرحله بعد در آون خلأ با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند (شکل‌های ۱ و ۲). درنهایت، نمونه‌ها پس از خنک‌شدن، از میان صافی‌ها جدا شده و در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری شدند.

جدول ۱- کدهای اختصاری نمونه‌ها در این مطالعه.

Table 1. Abbreviation codes of the samples in this study.

کد اختصاری نمونه	جزئیات
CNF	نانوفیبر سلولز تهیه‌شده به روش سوپراسایاب دیسکی (خریداری‌شده)
ChNF	نانوفیبر کیتوسان تهیه‌شده به روش سوپراسایاب دیسکی (خریداری‌شده)
CNF-NP	نانوکاغذ خالص تهیه‌شده از نانوفیبر سلولز به روش فیلتراسیون خلأ
ChNF-NP	نانوکاغذ خالص تهیه‌شده از نانوفیبر کیتوسان به روش فیلتراسیون خلأ
NP-90/10	نانوکاغذ ترکیبی ۹۰ درصد CNF و ۱۰ درصد ChNF تهیه‌شده به روش قالب‌گیری محلول
NP-70/30	نانوکاغذ ترکیبی ۷۰ درصد CNF و ۳۰ درصد ChNF تهیه‌شده به روش قالب‌گیری محلول
NP-50/50	نانوکاغذ ترکیبی ۵۰ درصد CNF و ۵۰ درصد ChNF تهیه‌شده به روش قالب‌گیری محلول
NC-90/10	نانوبیوکامپوزیت شامل ۹۰ درصد CNF و ۱۰ درصد ChNF تهیه‌شده به روش قالب‌گیری محلول
NC-70/30	نانوبیوکامپوزیت شامل ۷۰ درصد CNF و ۳۰ درصد ChNF تهیه‌شده به روش قالب‌گیری محلول
NC-50/50	نانوبیوکامپوزیت شامل ۵۰ درصد CNF و ۵۰ درصد ChNF تهیه‌شده به روش قالب‌گیری محلول



شکل ۱- مراحل تهیه نانوکاغذها: الف) توزین ژل‌ها، ب) دستگاه فیلتراسیون خلأ و ج) آون خلأ.

Figure 1. Steps for preparing nanopapers: a) weighing gels, b) vacuum filtration device, and c) vacuum oven.



شکل ۲- نانوکاغذهای تهیه‌شده.

Figure 2. Prepared nanopapers.

تهیه نانوکامپوزیت نانوفیبرسلولز-کیتوسان: در مرحله ساخت نانوبیوکامپوزیت، ابتدا محلول اسید استیک ۰/۱ مولار تهیه شده و نانوکاغذهای ترکیبی جداگانه به مدت ۴ دقیقه در آن قرار داده شدند. در طی این مدت، نانوکیتوسان دچار انحلال شده و از فاز نانوفیبر به زنجیر پلیمری کیتوسان در مقیاس آنگستروم تبدیل می‌شوند. سپس، با محلول هیدروکسید سدیم ۱ درصد، pH محیط انحلال خنثی شده تا زنجیرهای حل شده کیتوسان مجدد جامد شوند. برای تثبیت و برای جلوگیری از احتمال تخریب با مازاد هیدروکسید سدیم، پس از خنثی‌سازی بلافاصله چند مرحله شستشو با آب مقطر انجام شد. در واقع نانوکیتوسان بعد از انحلال ساختار نانوالیافی خود را از دست داده و به فاز زمینه پیوسته‌ای تبدیل می‌گردد که در نقش یک ماده چسبنده سبب اتصال نانوفیبرهای سلولزی به هم می‌گردد. برای مقایسه نمونه‌های نانوفیلم‌های خالص نیز با روش انحلال جزئی به مدت ۴ دقیقه تحت تأثیر اسیداستیک ۰/۱ مولار قرار گرفتند. نانوکامپوزیت نانوفیبرسلولز-کیتوسان در سه سطح ۹۰/۱۰، ۷۰/۳۰ و ۵۰/۵۰ درصد تهیه گردید که جهت اختصار در این پژوهش به این ترتیب NC-90/10، NC-70/30 و NC-50/50 نام‌گذاری شدند.

مشخصه‌یابی نمونه‌ها

آزمون طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FTIR): برای بررسی گروه‌های عاملی و پیوندهای شیمیایی موجود در نمونه‌ها، از آزمون طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FTIR) استفاده شد. این آزمون با استفاده از دستگاه FTIR (مدل TENSOR 27 ساخت شرکت بروکر آلمان) طیف‌های FTIR در بازه عدد موجی 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} با وضوح مناسب ثبت شدند.

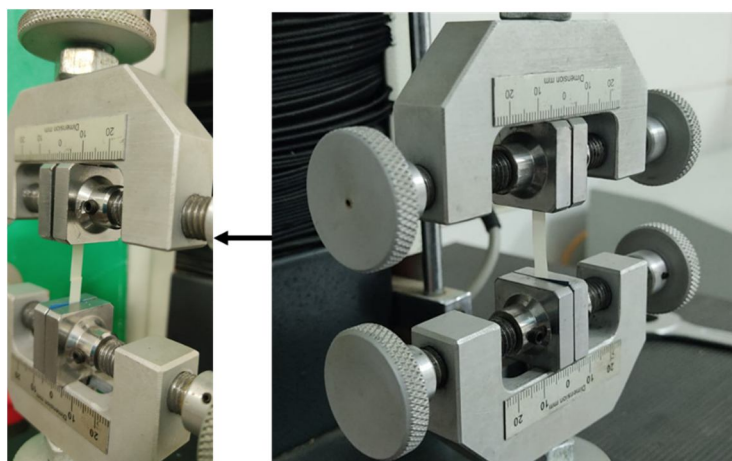
آزمون پراش اشعه ایکس (XRD): برای بررسی ساختار بلوری نمونه‌ها، از آزمون پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده شد. این آزمون با دستگاه XRD (مدل D8 ADVANCE-BRUKER) انجام گرفت. الگوی پراش اشعه ایکس در بازه زاویه‌ای دوتتا (2θ) تا 80° (درجه) با استفاده از اشعه ایکس با طول موج ($1.5406\text{ \AA}$ آنگستروم برای Cu K α) و شدت جریان و ولتاژ مناسب ثبت شد. داده‌های حاصل برای شناسایی فازهای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان (FE-SEM): برای بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ساختاری نمونه‌های مورد مطالعه، از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان (FE-SEM) مدل Sigma 300-HV ساخت شرکت Zeiss آلمان استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها در شرایط محیطی کنترل‌شده خشک شدند. سپس، نمونه‌ها با استفاده از دستگاه پوشش‌دهی اسپاترینگ^۱ با یک لایه نازک از طلا پوشش داده شدند تا رسانایی سطحی آن‌ها افزایش یابد و کیفیت تصاویر بهبود پیدا کند. در ادامه، نمونه‌ها بر روی نگهدارنده‌های مخصوص نصب شده و درون محفظه خلأ دستگاه قرار داده شدند. پس از تنظیم ولتاژ شتاب‌دهنده (۵ کیلوولت) و تنظیم سیستم، تصویربرداری در بزرگنمایی‌های مختلف انجام شد. در نهایت، تصاویر حاصل برای بررسی ویژگی‌های سطحی و ساختار ریخت‌شناسی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

آزمون مقاومت کششی: برای بررسی استحکام مکانیکی نمونه‌ها، آزمون کشش تک‌محوره با استفاده از دستگاه MP48A ساخت شرکت سنتام (ایران) انجام شد. آزمون مطابق با استانداردهای مربوطه بر روی نمونه‌هایی با طول ۴ سانتی‌متر، طول مؤثر دهانه

طول نمونه‌ها به صورت پیوسته ثبت شد و منحنی تنش- کرنش ترسیم گردید.

۲ سانتی‌متر و پهنای ۵ میلی‌متر انجام گرفت. سرعت بارگذاری در طول آزمون یک میلی‌متر بر دقیقه تنظیم شد. طی فرآیند کشش، نیروی اعمالی و تغییر



شکل ۳- آزمون کششی نانوکاغذها.

Figure 3. Tensile test of nanopapers.

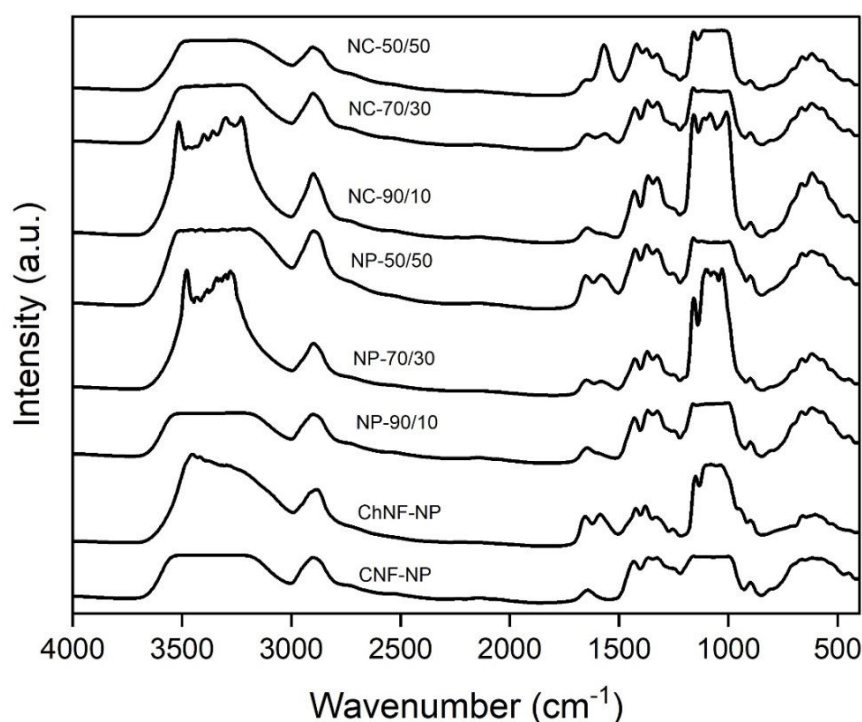
نتایج و بحث

طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل فوری (FTIR): تکنیک FTIR روشی قدرتمند برای شناسایی گروه‌های عاملی موجود در نانوبیوکامپوزیت‌های تهیه‌شده از نانوالیاف سلولز و نانوالیاف کیتوسان است. شکل ۴، طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل فوری (FTIR) نمونه‌های حاصل از نانوالیاف سلولز- نانوالیاف کیتوسان نشان می‌دهد. در نانوکاغذ خالص نانوالیاف سلولز، باندهای مشخصی در محدوده $3400-3300 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی گروه‌های هیدروکسیل (O-H) مشاهده شد که نشان‌دهنده حضور گسترده پیوندهای هیدروژنی در ساختار سلولزی است. همچنین، باندهای مربوط به پیوندهای کششی C-H در محدوده $2900-2800 \text{ cm}^{-1}$ و باندهای C-O-C در محدوده $1100-1000 \text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده ساختار انیدروگلوکز سلولز هستند (۱۵، ۱۶). در فیلم خالص نانوالیاف کیتوسان، حضور باندهای مربوط به ارتعاشات کششی آمین (N-H) در محدوده $3300-3200 \text{ cm}^{-1}$ و باندهای

بررسی خواص آنتی‌باکتریال نانوکاغذهای تولیدی: در این مطالعه، جهت بررسی خواص آنتی‌باکتریال نمونه‌ها، باکتری‌های اشرشیاکلاهی، استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ کاندیدا آلبیکنس از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی ایران تهیه و پس از احیاء و کشت در محیط‌های مناسب، در شرایط کنترل‌شده مورد آزمایش قرار گرفتند. محیط‌های کشت جامد و مایع تحت شرایط استریل تهیه و آماده‌سازی شدند و نمونه‌های نانوکاغذ و نانوبیوکامپوزیت پس از برش و استریل‌سازی، برای کشت میکروبی مورد استفاده قرار گرفتند. فرآیند کشت با روش‌های استاندارد و در شرایط استریل هود لامینار انجام شد و انکوباسیون نمونه‌ها در دمای $37/5$ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت صورت گرفت. پس از پایان دوره انکوباسیون، نتایج با شمارش پرگنه‌های رشد یافته مورد تحلیل قرار گرفت تا تأثیر نانوبیوکامپوزیت‌های ساخته‌شده بر کاهش رشد میکروبی ارزیابی گردد.

برهمکنش‌های هیدروژنی بین سلولز و کیتوسان وجود دارد. در نمونه‌های نانویوکامپوزیت، تغییراتی در موقعیت و شدت باندهای FTIR دیده شد. یکی از اثرات مهم اسید استیک در فرآیند انحلال کیتوسان، پروتون‌دهی به گروه‌های آمین در کیتوسان است که می‌تواند باعث افزایش شدت باندهای $C=O$ در $1660-1640\text{ cm}^{-1}$ شود (۱۷). همچنین، به دلیل تشکیل پیوندهای جدید بین گروه‌های کربونیل و آمین پروتونه‌شده، جابجایی باندهای مربوط به $C-N$ و $N-H$ محتمل است. در ترکیباتی که میزان نانوالیاف کیتوسان بیش‌تر است (۳۰ و ۵۰ درصد)، این اثرات واضح‌تر می‌باشد. علاوه بر این، کاهش شدت باند $O-H$ و تغییر جزئی در موقعیت آن نشان‌دهنده تغییر در ساختار پیوندهای هیدروژنی پس از تشکیل نانویوکامپوزیت است.

مشخص $C=O$ آمیدی در محدوده $1660-1640\text{ cm}^{-1}$ تأییدکننده حضور ساختار کیتوسانی است. همچنین، ارتعاشات $C-N$ در محدوده $1420-1380\text{ cm}^{-1}$ قابل‌مشاهده خواهد بود (۱۷، ۱۸). در نمونه‌های نانوکاغذ ترکیبی، نسبت شدت باندهای سلولز و کیتوسان بسته به درصد ترکیب تغییر خواهد کرد. در ترکیب ۹۰ درصد نانوالیاف سلولز و ۱۰ درصد نانوالیاف کیتوسان (خام)، باندهای شاخص سلولز غالب بوده و تنها تغییرات اندکی در باندهای $N-H$ و $C=O$ کیتوسان مشاهده گردید. با افزایش درصد کیتوسان به ۳۰ و ۵۰ درصد، شدت باندهای مربوط به آمین و آمید افزایش یافته و درعین‌حال، شدت باندهای مربوط به گروه‌های هیدروکسیل کاهش خواهد یافت. همچنین، احتمال جابجایی باند $O-H$ به سمت اعداد موجی پایین‌تر به دلیل افزایش

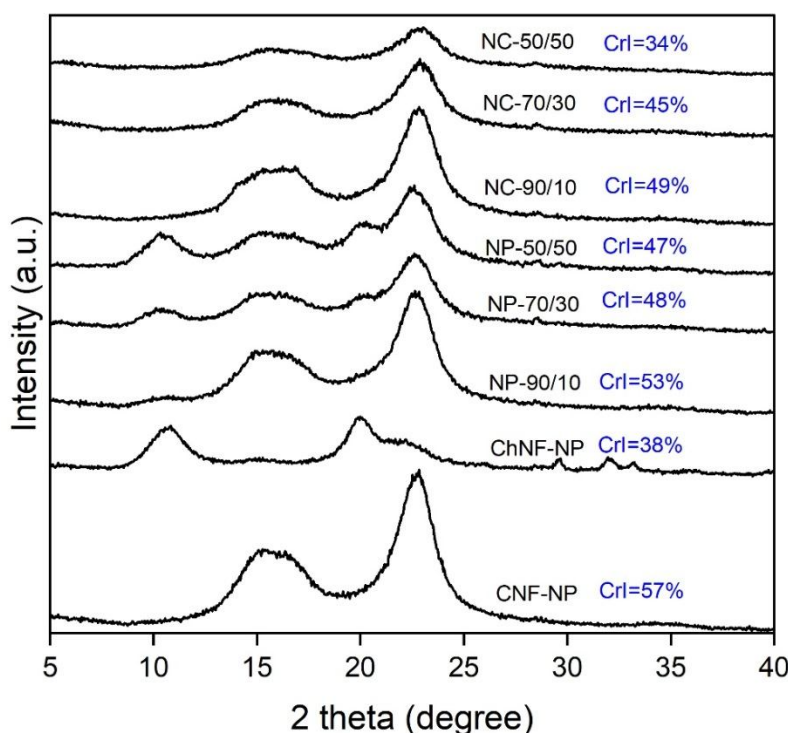


شکل ۴- طیف FTIR نمونه‌ها.

Figure 4. FTIR spectra of specimens.

نمونه‌ها می‌باشد. این امر به دلیل حضور بیشتر نانوالیاف کیتوسان با درجه کریستالی کمتر در ترکیب است. در نمونه‌های نانوبیوکامپوزیت، تغییرات بیش‌تری در شدت و موقعیت پیک‌ها مشاهده می‌شود. در مقایسه با نمونه‌های خام، درجه کریستالی نمونه‌های نانوبیوکامپوزیت نسبت به نمونه‌های متناظر خام کاهش داشته که دلیل آن تخریب کریستال‌های کیتوسان در اثر انحلال و تبدیل آن به فاز بی‌شکل و زمینه نانوبیوکامپوزیت بوده است. با افزایش درصد کیتوسان در نمونه‌های نانوبیوکامپوزیت، شدت پیک‌های مربوط به ساختار کریستالی کاهش یافته که بیانگر اثر غالب فاز آمورف کیتوسان است. نتایج این بخش از پژوهش با نتایج به‌دست آمده توسط یوسفی و همکاران (۲۰۱۱) و ایزه و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت دارد (۱۹، ۲۰).

پراش اشعه ایکس (XRD): الگوی XRD ارائه‌شده نشان‌دهنده ساختار بلوری و تأثیر فرآیند انحلال بر ترکیب نانوکاغذها و نانوکامپوزیت‌ها است (شکل ۵). در طیف XRD نانوالیاف سلولز (CNF)، یک پیک مشخص در محدوده دوتای ۲۲-۲۳ درجه مشاهده می‌شود که مربوط به صفحه اتمی (۰۰۲) ساختار بلوری سلولز نوع I است و بیانگر آرایش منظم زنجیره‌های سلولزی کریستال می‌باشد. نانوالیاف کیتوسان (ChNF) نیز دارای الگوی XRD با شدت کم‌تر و پیک‌هایی در محدوده ۱۰ و ۲۰ درجه است که بیانگر ماهیت نیمه‌بلوری آن به دلیل ساختار آمورف (بی‌شکل) و مناطق کریستالی (بلوری) محدود است. در نمونه‌های نانوکاغذ ترکیبی خام، افزایش درصد کیتوسان موجب کاهش شدت پیک اصلی سلولز شده که نشان‌دهنده افزایش فاز آمورف در ساختار کلی

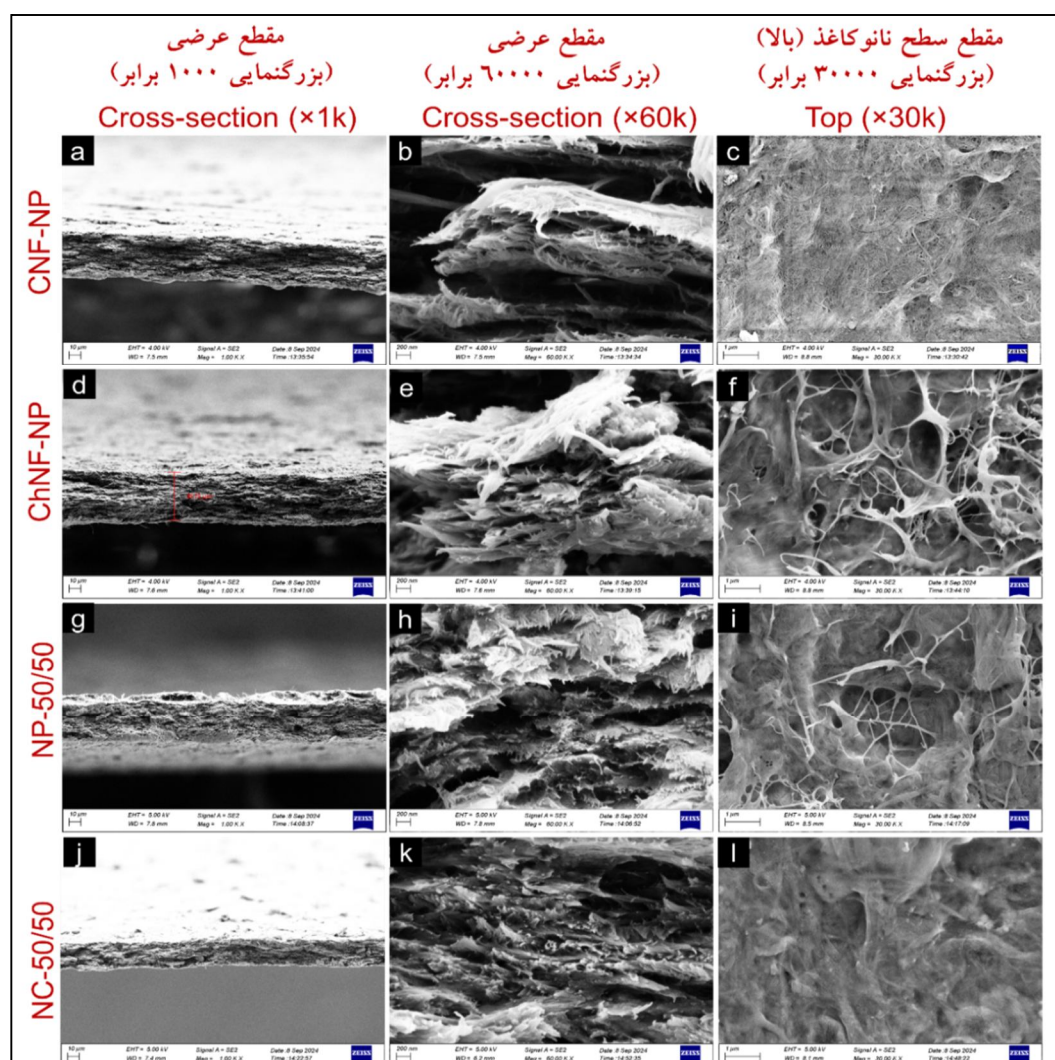


شکل ۵- پروفایل XRD نمونه‌ها.

Figure 5. XRD profile of specimens.

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان (FE-SEM): شکل ۶ ریزنگاره‌های الکترونی FE-SEM نمونه‌ها را نشان می‌دهد. در تصویر مربوط به CNF-NP و ChNF-NP یک شبکه پیوسته با نانوفیبرهای درهم‌تنیده مشاهده می‌شود. متوسط قطری نانوفیبرها در دو نمونه ذکر شده به ترتیب برابر با 28 ± 8 و 35 ± 12 نانومتر می‌باشد. اندازه‌گیری طول این نانوفیبرها به دلیل ساختار سه‌بعدی و درهم‌تنیده آن‌ها مشکل است. در تصاویر مربوط به نانو کاغذ ترکیبی NP-50/50 (g,h,i) نیز ظاهری شبیه به نانوفیبرهای موجود در CNF-NP و ChNF-NP دارند که امری طبیعی است؛ اما در نمونه‌های نانوبیوکامپوزیت NC-50/50، تغییرات فراوانی در ساختار مشاهده می‌شود. درحالی‌که در نمونه‌های نانو کاغذ خالص و ترکیبی نانوفیبرها و تخلخل ساختار به‌وضوح قابل‌رؤیت است ولی در نمونه‌های نانوبیوکامپوزیت نانوفیبرها به‌سختی قابل‌مشاهده و تخلخل موجود در ساختار هم کاهش فراوانی نشان داد. دلیل این پدیده به اثر اسید استیک به‌عنوان حلال کیتوسان مربوط است. در فرآیند انحلال، اسید نانوفیبرهای کیتوسان را حل نموده و آن‌ها را از فاز نانو ساختار به فاز زنجیره‌های کیتوسانی تبدیل نموده است؛ بنابراین، ابعاد کاهش و کیتوسان حل شده جریان پیدا کرده و بین نانوفیبرهای سلولزی نفوذ کرده

است. با خروج حلال و جایگزینی آب به‌جای آن و در نتیجه خشک‌کردن و پرس کیتوسان حل شده مجدداً جامد و سفت شده و دیگر به نانوفیبر کیتوسان تبدیل نگردید، بلکه در نقش زمینه پیوسته کیتوسانی درآمده که نانوفیبرهای سلولز را کپسوله کرده و اتصالات بهتری را برای شبکه ایجاد کرده است. با کاهش ابعاد کیتوسان از مقیاس نانو به فاز زنجیر (آنگستروم) و افزایش قدرت نفوذ آن به منافذ موجود در ساختار، در کل تراکم‌پذیری ساختار تحت بار فشار پرس و همکشدگی بیشتر شده، بنابراین احتمالاً موجب همکشدگی الیاف در شرایط اسیدی و کاهش ضخامت نانوبیوکامپوزیت شده و دانسیته آن از ۰/۹ در NP-50/50 به ۱/۰۵ گرم بر سانتی‌مترمربع در NC-50/50 افزایش پیدا کرده است. از لحاظ کیفی این پدیده کاهش ضخامت در تصویر [ج] شکل ۶ قابل‌مشاهده است. به‌طورکلی، نتایج FE-SEM نشان داد که فرآیند انحلال نانوالیاف کیتوسان با اسید استیک سبب ایجاد فاز پیوسته زمینه کیتوسانی شده که این امر موجب بهبود پیوستگی فازها، کاهش تخلخل، افزایش دانسیته و همگنی ساختار و بهبود چسبندگی شده است. نتایج مشابهی نیز توسط یوسفی و همکاران (۲۰۱۱، ۲۰۱۵) در بهره‌گیری از تکنیک انحلال جزئی نانوسلولز گزارش شده است (۱۹، ۲۱).



شکل ۶- میکروگراف‌های FE-SEM نمونه‌ها.

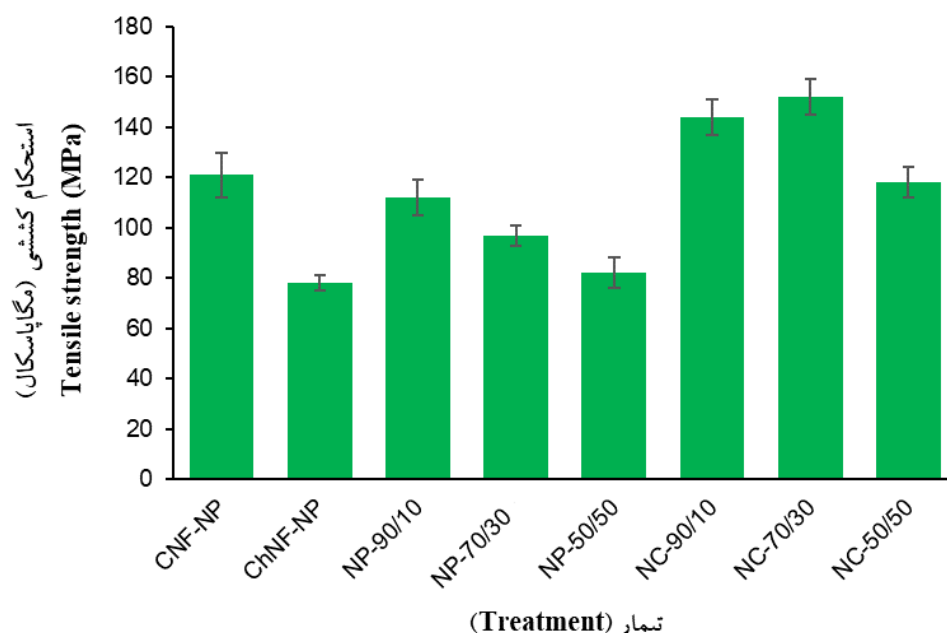
Figure 6. FE-SEM micrographs of specimens.

پوست میگو در معرض واکنش‌های شدید قلیایی قرار گرفته تا فرآیند استیل‌زدایی تا بیش از ۷۰ درصد انجام شده که همین نکته سبب کاهش درجه پلیمریزاسیون آن می‌گردد که در نتیجه موجب کاهش ظرفیت‌های مقاومت مکانیکی آن می‌گردد. به‌طور کلی افزایش درجه کریستالی و درجه پلیمریزاسیون سبب افزایش مقاومت‌ها می‌شود (۲۲، ۲۳). افزودن ChNF به CNF منجر به کاهش معنی‌دار مقاومت کششی نانوکاغذها شده که با توجه به کم‌تر بودن سهم نانوفیبرکیتوسان در تحمل بار کششی، این نتیجه

مقاومت کششی نانوکاغذها: در شکل ۷، نتایج مقاومت کششی نانوکاغذ خالص و ترکیبی نانوالیاف سلولز (CNF) و نانوالیاف کیتوسان (ChNF) و نیز نمونه‌های نانوکامپوزیت‌ها ارائه شده است. نمونه‌های نانوکاغذ CNF و ChNF خالص به ترتیب دارای مقاومت کششی ۱۲۱ و ۷۸ مگاپاسکال هستند که نشان می‌دهد نانوکاغذ حاصل از CNF به دلیل ساختار با درجه کریستالی و نسبت منظر بیشتر، مقاومت کششی بالاتری نسبت به نانوکاغذ ChNF دارد. برخلاف کیتین، جهت تولید کیتوسان لازم است مواد اولیه مانند

کیتوسان حل شده و سپس جامد می‌شود مقاومت‌های آن نیز کاهش می‌یابد، چرا که در نانوفیبرها کریستال‌ها حضور دارند که نقش مهمی در تحمل بار مکانیکی ایفا می‌کنند؛ ولی در اثر انحلال، عمده این کریستال‌ها تخریب شده که سبب کاهش مقاومت می‌شود. به‌طورکلی، در این آزمون عواملی که سبب کاهش مقاومت نانوکامپوزیت‌ها شدند شامل افزایش حضور نانوفیبر کیتوسان (در نانوکاغذها) و تبدیل آن به کیتوسان زمینه‌ای در درصد بالا بوده و در مقابل عواملی که سبب افزایش مقاومت شدند عبارت‌اند از نفوذ کیتوسان زمینه‌ای بین نانوفیبرهای سلولزی و افزایش سطح پیوندها، افزایش یکپارچگی در ساختار، افزایش قابلیت فشردگی و دانسیته با تبدیل ChNF به کیتوسان زمینه‌ای؛ بنابراین، تقابل این عوامل با همدیگر و افزایش و کاهش وزن اثرگذاری هر یک سبب تغییرات در مقاومت کششی نمونه‌ها گردید.

منطقی است. در نمونه‌های نانوکامپوزیت با افزایش سهم نانوالیاف کیتوسان مقاومت کششی به مقدار ۱۴۴ و ۱۵۲ مگاپاسکال در نمونه‌های NC-90/10 و NC-70/30 رسید که نسبت به هم تفاوت معنی‌دار نداشتند. سپس، با افزایش سهم کیتوسان به ۵۰ درصد مقاومت کاهش معنی‌داری داشته اما همچنان نسبت به نمونه متناظر نانوکاغذ (NP-50/50) افزایش معنی‌داری در مقاومت کششی نشان داد. افزایش مقاومت‌های نانوکامپوزیت نسبت به نانوکاغذهای متناظر به انحلال نانوالیاف کیتوسان و جابجایی آن‌ها در فضای تخلخلی فیلم و افزایش دانسیته و اتصالات بیشتر و بهتر با نانوالیاف سلولز و نیز تشکیل ساختار یکنواخت‌تر و منسجم‌تر مربوط است که درنهایت سبب بهبود انتقال تنش در سراسر شبکه ساختار زمینه تقویت‌شده می‌گردد. از طرفی، کاهش معنی‌دار مقاومت کششی در درصد فاز زمینه کیتوسان بالا (۵۰ درصد) را به این دلیل نسبت داد که وقتی نانوفیبر



شکل ۷- مقاومت کششی نانوکاغذ و نانوکامپوزیت نانوالیاف سلولز- نانوالیاف کیتوسان (بازه‌های روی هر ستون در سطح اطمینان ۹۵ درصد تنظیم شده است).

Figure 7. Tensile strength of nanopapers and nanocomposites made from cellulose nanofibers-chitosan nanofibers (The intervals on each column are set at a 95% confidence level).

ویژگی آنتی‌باکتریالی نانوکاغذها: شکل ۸

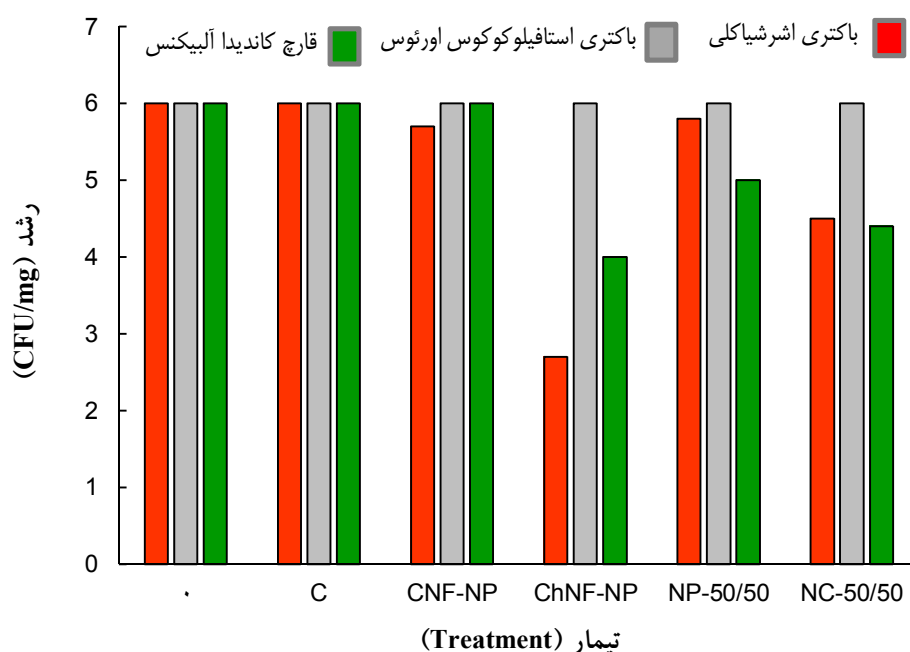
ویژگی‌های آنتی‌باکتریالی و ضدقارچی نمونه‌ها را نشان می‌دهد. در این شکل و در محور ایکس عدد صفر و حرف C به ترتیب بیانگر کشت همان زمان ابتدای رقت‌سازی و کنترل منفی هستند. نتایج نشان داد که نمونه خالص ChNF تأثیر معنی‌داری بر کاهش رشد *E. coli* و *C. albicans* داشته است، درحالی‌که رشد *S. aureus* در تمامی نمونه‌ها بدون تغییر باقی‌مانده است (۶ CFU/ml). برای *E. coli*، کاهش رشد در نمونه ChNF-NP به مقدار ۲/۷ CFU/ml مشاهده شد که بیانگر تأثیر مهاری قابل‌توجه کیتوسان است. این نتایج مطابق با حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به مواد ضد میکروبی به دلیل ساختار دیواره سلولی ضعیف‌تر آن‌ها است. برای *C. albicans*، نمونه Chito-NP موجب کاهش رشد به ۴ CFU/ml شده، درحالی‌که در نمونه‌های NP-50/50 و NC-50/50 مقدار رشد به ۵ و ۴/۴ CFU/ml رسید. این کاهش رشد به دلیل خواص ضد میکروبی کیتوسان در دو حالت نانوفیبر و کیتوسان زمینه (حل شده) است که تأثیر بیشتری بر قارچ‌ها دارند (۲۴). در مقابل، *S. aureus* در برابر تمامی نمونه‌ها مقاوم بوده و مقدار رشد آن در همه موارد ۶ میلی‌متر باقی‌مانده است که نشان می‌دهد این باکتری گرم مثبت در برابر کیتوسان و نانوالیاف آن مقاومت بیشتری دارد. این مقاومت می‌تواند به دلیل دیواره سلولی ضخیم‌تر و ساختار متفاوت پپتیدوگلیکان باشد که نفوذ مواد ضد میکروبی را دشوار می‌سازد (۲۵، ۲۶). تحلیل این نتایج نشان می‌دهد که مواد مورد بررسی بیشتر بر *E. coli* و *C. albicans* اثرگذارند و تفاوت معنی‌داری بین اثر این مواد بر باکتری گرم مثبت و گرم منفی دیده می‌شود. یکی دیگر از دلایل اینکه چرا کیتوسان در حالت نانوفیبر و کیتوسان حل شده تمایلی به تخریب *E. coli* و *C. albicans* دارد، این

است که سطح این دو میکروارگانیسم منفی بوده بنابراین کیتوسان به دلیل شارژ سطحی مثبت تمایل به چسبیدن به این باکتری و قارچ دارد. بنابراین، اثر چسبندگی و تماس مستقیم اثرگذاری آنتی‌باکتریالی کیتوسان بیشتر می‌شود. اینکه چرا کیتوسان زمینه کمی بهتر از نانوفیبر کیتوسان عمل کرده به این دلیل است که وقتی کیتوسان در اسید استیک حل می‌شود گروه آمین آن پروتونه شده، بنابراین بار مثبت کیتوسان در مجموع بیشتر شده و تمایلی بیشتری به چسبیدن به میکروارگانیسم‌هایی با بار منفی ایجاد می‌شود.

حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به مواد ضد میکروبی به ساختار دیواره سلولی آن‌ها مرتبط است (۲۷). برخلاف باکتری‌های گرم مثبت که دارای یک لایه ضخیم پپتیدوگلیکان هستند (۲۵). باکتری‌های گرم منفی مانند *E. coli* دارای یک غشای خارجی غنی از لیپوپلی‌ساکارید (LPS) هستند که اگرچه به‌عنوان یک سد فیزیکی عمل می‌کند، اما نسبت به برخی مواد ضد میکروبی نفوذپذیرتر است (۲۸). هم‌چنین، غشای داخلی آن‌ها نسبت به مواد فعال حساس‌تر بوده و ترکیباتی مانند کیتوسان قادرند از طریق تعامل الکترواستاتیکی با غشای آن‌ها، موجب اختلال در نفوذپذیری سلولی شوند که منجر به نشت محتویات سلولی و درنهایت مرگ سلول می‌شود (۲۹، ۳۰، ۳۱). تأثیر ChNF بر *C. albicans* احتمالاً به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوفیبر کیتوسان است. کیتوسان به‌عنوان یک پلی‌ساکارید طبیعی با خاصیت کاتیونی می‌تواند از طریق برهمکنش با غشای سلولی قارچ، منجر به تغییر در نفوذپذیری غشا، کاهش فشار اسمزی و نشت محتویات سلولی شود. البته باید خاطر نشان شد آزمون آنتی‌باکتریالی نمونه‌ها در این مطالعه به شکل نانوکاغذ یا نانوبیوکامپوزیت انجام گردید. در این حالت به دلیل

S. aureus دارای سیستم‌های مقاومت بیولوژیکی هستند که آن‌ها را در برابر عوامل ضد میکروبی مقاوم‌تر می‌کند. این نتایج نشان می‌دهد که مواد بررسی‌شده تأثیر مهاری قابل توجهی بر باکتری‌های گرم منفی و قارچ‌ها دارند، اما در برابر باکتری‌های گرم مثبت مانند *S. aureus* کارایی چندانی ندارند.

فشرده‌گی نانو ساختار، سطح ویژه آنها به شدت کم شده، بنابراین اثربخشی آنتی‌باکتریالی آن کاهش می‌یابد. عدم تأثیر مواد بر *S. aureus* می‌تواند به ساختار دیواره سلولی ضخیم‌تر آن مرتبط باشد. این باکتری دارای لایه پپتیدوگلیکان ضخیم و فاقد غشای خارجی است که مانع از ورود بسیاری از مواد ضد میکروبی مانند کیتوسان می‌شود. همچنین، برخی از سویه‌های



شکل ۸- مقایسه اثر نمونه‌ها بر رشد باکتری و قارچ.

Figure 8. Comparison of the effect of specimens on the growth of bacteria and fungi.

نانو کاغذها و نانوبیوکامپوزیت‌های تولید شده داشت. به‌طور کلی، این پژوهش علاوه بر تأیید کارایی روش نوآورانه مورد استفاده ساخت نانوبیوکامپوزیت نانوسلولز-کیتوسان، نشان داد که بین خواص نانو کاغذ و نانوبیوکامپوزیت تهیه شده تفاوت فراوانی وجود داشته و انتخاب نسبت مناسب نانوفیبر سلولز-کیتوسان نقش مهمی در بهبود ویژگی‌های ساختاری و مکانیکی نانو کاغذها و نانوبیوکامپوزیت دارد که می‌تواند در طراحی و تولید مواد زیست‌سازگار و دارای عملکرد

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که روش نوآورانه در این پژوهش توانسته چالش‌های موجود در ساخت نانوبیوکامپوزیت نانوفیبر سلولز-کیتوسان (ایجاد توزیع مناسب نانوسلولز در زمینه کیتوسان، ویسکوزیته زیاد کیتوسان محلول در اسید استیک و محدودیت ظرفیت حجم ظروف قالب‌گیری) را مرتفع نماید. ترکیب نانوفیبر سلولز و نانوفیبر کیتوسان اثر قابل توجهی بر ویژگی‌های ساختاری، کریستالی، خواص مکانیکی و آنتی‌باکتریال

نانوبیوکامپوزیت نانوفیبر سلولز- کیتوسان تولید گردد. محصول اصلی ساخته شده در این مطالعه یعنی نانوبیوکامپوزیت نانوفیبر سلولز- کیتوسان که نسبت به نانوکاغذ متناظر دارای ویژگی‌های عملکردی بهتری بود می‌تواند برای کاربردهایی مانند بسته‌بندی آنتی‌باکتریال صنایع غذایی، پانسمان زخم، فیلترهای آنتی‌باکتریال و ... مورد استفاده قرار گیرد. به علاوه مواد افزودنی مناسب با توجه به خواص و کاربرد نهایی محصول نیز می‌توان به نانوبیوکامپوزیت اضافه نمود و فاز پیوسته زمینه کیتوسان می‌تواند این افزودنی‌ها را بهتر در ساختار حفظ نماید.

مطلوب مورد استفاده قرار گیرد. هم‌چنین، روش مورد استفاده در این مطالعه جهت ساخت نانوبیوکامپوزیت قابلیت صنعتی‌سازی بهتری نسبت به روش‌های متداول قبلی دارد. چرا که در حال حاضر نانوکاغذ سلولز در مقیاس پایلوت و به صورت رول در برخی کشورها مانند فنلاند و ژاپن در حال تولید بوده و انتظار می‌رود این تکنولوژی قابل‌تعمیم به تولید نانوکاغذ ترکیبی نانوفیبر سلولز- نانوفیبر کیتوسان هم باشد. در نتیجه، می‌توان رول نانوکاغذهای ترکیبی را با حلال بسیار ارزان اسید استیک یک درصد به صورت پیوسته حل نموده تا فاز زمینه‌ای کیتوسانی در ساختار شکل گرفته و نهایتاً با خشک‌کنی پیوسته

منابع

1. Rhim, J. W., Park, H. M., & Ha, C. S. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress in Polymer Science*. 38(10-11), 1629-1652.
2. Salimi Bajestani, M. S., Kiani, F., Ebrahimi, S., Malekzadeh, E., & Tatari, A. (2025). Effect of bentonite/alginate/nanocellulose composites on soil and water loss: A response surface methodology (RSM)-based optimization approach. *International Journal of Biological Macromolecules*. 140815.
3. Gulzar, S., Tagrida, M., Nilsuwan, K., Prodpran, T., & Benjakul, S. (2022). Electrospinning of gelatin/chitosan nanofibers incorporated with tannic acid and chitoooligosaccharides on polylactic acid film: Characteristics and bioactivities. *Food Hydrocolloids*. 133, 107916.
4. Salimi Bajestani, M. S., Kiani, F., Ebrahimi, S., Malekzadeh, E., & Tatari, A. (2025). Effects of bentonite/sodium alginate/nanocellulose composites on soil properties and their biodegradability over time. *Scientific Reports*. 15(1), 10596.
5. Sangwan, A., Malik, P., Gupta, R., Ameta, R. K., & Mukherjee, T. K. (2021). Nanocomposites: Preparation, Characterization, and Applications. In *Nanotechnology* (pp. 201-247). Jenny Stanford Publishing.
6. Norizan, M. N., Shazleen, S. S., Alias, A. H., Sabaruddin, F. A., Asyraf, M. R. M., Zainudin, E. S., ... & Norrrahim, M. N. F. (2022). Nanocellulose- based nanocomposites for sustainable applications: A review. *Nanomaterials*. 12(19), 3483.
7. Malekzadeh, E., Tatari, A., & Dehghani Firouzabadi, M. (2023). Preparation, characteristics, and soil-biodegradable analysis of corn starch/nanofibrillated cellulose (CS/NFC) and corn starch/nanofibrillated lignocellulose (CS/NFLC) films. *Carbohydrate Polymers*. 309, 120699.
8. Malekzadeh, E., Tatari, A., & Dehghani Firouzabadi, M. (2024). Effects of biodegradation of starch-nanocellulose films incorporated with black tea extract on soil quality. *Scientific Reports*. 14(1), 18817.
9. Azeredo, H. M., Mattoso, L. H. C., Avena-Bustillos, R. J., Filho, G. C., Munford, M. L., Wood, D., & McHugh, T. H. (2010). Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. *Journal of Food Science*. 75(1), 1-7.

10. Morin-Crini, N., Lichtfouse, E., Torri, G., & Crini, G. (2019). Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. *Environmental Chemistry Letters*. 17(4), 1667-1692.
11. Cazón, P., & Vázquez, M. (2019). Applications of chitosan as food packaging materials. *Sustainable agriculture reviews 36: Chitin and chitosan: applications in food, agriculture, pharmacy, medicine and wastewater treatment*. 81-123.
12. Szymańska-Chargot, M., Chylińska, M., Pertile, G., Pieczywek, P. M., Cieślak, K. J., Zdunek, A., & Frąc, M. (2019). Influence of chitosan addition on the mechanical and antibacterial properties of carrot cellulose nanofibre film. *Cellulose*. 26, 9613-9629.
13. Kong, S., Bai, Y., Wang, L., Liu, X., & Wang, S. (2017). Assembled chitosan-nanocellulose paper and molecular dynamics simulation. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 11(6), 533-542.
14. Xue, M., Wen, Z., Huang, R., Chai, X., Li, W., Chen, C., & Chen, H. (2022). Preparation of coated paper reinforced by a blend of anionic-starch-based nanocellulose/chitosan and its properties. *RSC Advances*. 12(35), 22402-22409.
15. Azeez, S., & Shenbagaraman, R. (2025). Fourier transform infrared spectroscopy in the characterization of bionanocomposites. In *Characterization Techniques in Bionanocomposites*, 209-227. Woodhead Publishing.
16. Sai, H., Fu, R., Xing, L., Xiang, J., Li, Z., Li, F., & Zhang, T. (2015). Surface modification of bacterial cellulose aerogels' web-like skeleton for oil/water separation. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 7(13), 7373-7381.
17. Ahmed, S., & Ikram, S. (Eds.). (2017). *Chitosan: derivatives, composites and applications*. John Wiley & Sons.
18. Kadir, M. F. Z., Aspanut, Z., Majid, S. R., & Arof, A. K. (2011). FTIR studies of plasticized poly (vinyl alcohol)-chitosan blend doped with NH_4NO_3 polymer electrolyte membrane. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 78(3), 1068-1074.
19. Yousefi, H., Faezipour, M., Nishino, T., Shakeri, A., & Ebrahimi, G. (2011). All-cellulose composite and nanocomposite made from partially dissolved micro-and nanofibers of canola straw. *Polymer Journal*. 43(6), 559-564.
20. Izze, S., Yousefi, H., Mashkour, M., & Rasouli, D. (2018). Comparative study on the properties of nanopapers prepared from cellulose and chitin nanofibers. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*. 25(3), 61-72. [In Persian]
21. Yousefi, H., Mashkour, M., & Yousefi, R. (2015). Direct solvent nanowelding of cellulose fibers to make all cellulose nanocomposite. *Cellulose*. 22, 1189-1200.
22. Iwamoto, S., Nakagaito, A. N., & Yano, H. J. A. P. A. (2007). Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. *Applied Physics A*. 89, 461-466.
23. Yousefi, H., Faezipour, M., Hedjazi, S., Mousavi, M. M., Azusa, Y., & Heidari, A. H. (2013). Comparative study of paper and nanopaper properties prepared from bacterial cellulose nanofibers and fibers/ground cellulose nanofibers of canola straw. *Industrial Crops and Products*. 43, 732-737.
24. Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Castillo-Ortega, M. M., Burgos-Hernández, A., Ezquerro-Brauer, J. M., & Plascencia-Jatomea, M. (2011). Antimicrobial activity of chitosan nanofibers obtained by electrospinning. *Polymer International*. 60(12), 1663-1669.
25. Nikolic, P., & Mudgil, P. (2023). The cell wall, cell membrane, and virulence factors of *Staphylococcus aureus* and their role in antibiotic resistance. *Microorganisms*. 11(2), 259.
26. Wang, M., Buist, G., & van Dijk, J. M. (2022). *Staphylococcus aureus* cell wall

- maintenance—the multifaceted roles of peptidoglycan hydrolases in bacterial growth, fitness, and virulence. *FEMS Microbiology Reviews*. 46(5), fuac025.
27. Denyer, S. P., & Maillard, J. Y. (2002). Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 92(s1), 35S-45S.
28. Ebbensgaard, A., Mordhorst, H., Aarestrup, F. M., & Hansen, E. B. (2018). The role of outer membrane proteins and lipopolysaccharides for the sensitivity of *Escherichia coli* to antimicrobial peptides. *Frontiers in Microbiology*. 9, 2153.
29. Goel, S., & Bano, Y. (2025). Chitosan-based nanofibrous membranes for antibacterial filter applications. In *Antimicrobial Materials and Coatings*, 425-447. Woodhead Publishing.
30. Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*. 144(1), 51-63.
31. Yan, D., Li, Y., Liu, Y., Li, N., Zhang, X., & Yan, C. (2021). Antimicrobial properties of chitosan and chitosan derivatives in the treatment of enteric infections. *Molecules*. 26(23), 7136.

