



## اثر افزودن نانوذرات اکسیدروی بر ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار-کاپاکاراژینان

سیدمهدی اجاق<sup>1\*</sup>، افشین عادل<sup>2</sup>، مهدی عبدالهی<sup>3</sup>، محسن کاظمی<sup>4</sup>، مریم حبیبی<sup>5</sup>

1. دانشیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
2. استادیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
3. دکتری، فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
4. دانشجوی دکتری، فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
5. کارشناسی ارشد، فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: 96/2/6، تاریخ پذیرش: 96/3/16)

### چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر افزودن نانو اکسیدروی بر خواص فیلم دولایه آگار- کاپاکاراژینان صورت پذیرفت. فیلم دولایه حاوی نانو اکسیدروی به روش قالب‌گیری با افزودن نانوذرات در غلظت‌های مختلف 0، 0/5، 1 و 1/5٪ به کاپاکاراژینان و در نهایت افزودن این مخلوط بر بستر پلیمری تولیدشده از آگار تهیه گردید. ویژگی‌های نانوکامپوزیت ساخته شده شامل رنگ، حلالیت، رطوبت، خواص مکانیکی، کدورت، عبور نور و نفوذپذیری به بخار آب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن نانو اکسیدروی به‌طور قابل ملاحظه‌ای عبور امواج فرابنفش را در فیلم‌ها کاهش داد اما موجب افزایش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) کدورت در غلظت‌های متفاوت گردید به‌گونه‌ای که بیش‌ترین کدورت در فیلم حاوی 1/5٪ نانو اکسیدروی مشاهده گردید. میزان حلالیت در آب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و از 84/96٪ در فیلم شاهد به 32/45٪ در فیلم حاوی 0/5٪ نانو اکسیدروی رسید. نتایج آزمون‌های مکانیکی نشان داد که افزودن نانو اکسیدروی موجب افزایش مقاومت کششی و افزایش طول در لحظه پاره شدن در فیلم حاوی 0/5٪ نانو اکسیدروی گردید. هم‌چنین میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و از  $0/61 \times 10^{-10} \text{g/m}^2 \text{s Pa}$  در فیلم شاهد به  $0/34 \times 10^{-10} \text{g/m}^2 \text{s Pa}$  در فیلم حاوی 0/5٪ نانو اکسیدروی رسید.

واژه‌های کلیدی: نانو اکسیدروی، آگار، کاپاکاراژینان، نانوکامپوزیت.

## 1- مقدمه

بسته بندی از راهکارهای موثر و مهم حفاظت ماده غذایی در برابر تغییرات نامطلوب شیمیایی و میکروبی است. هم‌چنین مواد مورد استفاد جهت بسته‌بندی، محافظ فیزیکی فرآورده بوده و با ایجاد شرایط فیزیکی مناسب منجر به افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌گردند [1]. با توجه به نگرانی فزاینده عمومی در رابطه با اثرات مخرب مصرف پلیمرهای سنتزی بر منابع طبیعی و محیط زیست، تمایل به استفاده از منابع زیست تخریب‌پذیر/تجدیدپذیر جهت تولید مواد بسته‌بندی با هدف کاهش تولید زباله، در حال افزایش است [2]. در همین راستا تحقیقات در زمینه بسته‌بندی مواد غذایی به‌طور فزاینده‌ای به تولید فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر با منشا پروتئینی، مانند ژلاتین، گلوتن گندم، زئین ذرت، کازئین و پروتئین آب پنیر، لیپیدی مثل واکس‌ها، آسپیل گلیسرول و اسیدهای چرب و کربوهیدراتی مانند دکسترین، کیتوزان، نشاسته، مشتقات سلولز، آلژینات و کاراژینان و آگار متمرکز بوده است که این ترکیبات می‌توانند از ضایعات کشاورزی و صنایع غذایی به‌دست آیند [3]. در این میان کاراژینان پلی‌ساکاریدی است که از جلبک قرمز رودوفیسه<sup>1</sup> به‌دست می‌آید که دارای وزن مولکولی بالا بوده و واحدهای تکرار شونده آن را گالاکتوز تشکیل می‌دهد و قادر به تشکیل فیلم شفاف و چسبنده می‌باشد [4]. هم‌چنین آگار کربوهیدرات طبیعی، زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر به‌دست آمده از جلبک‌های دریایی است که از آگارز و آگارو پکتین تشکیل شده است و به‌عنوان یک عامل ژل‌ساز در صنعت غذایی، مواد قالب‌گیری دندان و پل‌های نمکی در الکتروشیمی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

از سوی دیگر استفاده از پوشش‌های چند لایه می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی مهندسی قابل قبول به‌منظور بهبود خواص مکانیکی، قدرت چسبندگی، پوشش حفاظتی، ایزولاسیون حرارتی و ویژگی سدکنندگی گاز و بخار آب استفاده گردد [5]. با این وجود فیلم‌های خوراکی بر پایه پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها از جمله کاراژینان و آگار علی‌رغم داشتن ویژگی‌های مطلوب مکانیکی به‌علت ماهیت هیدروفیل خود اغلب سد مناسبی در برابر بخار آب نمی‌باشند و حساسیت بالایی نسبت به رطوبت دارند. یک رویکرد نوین برای غلبه

بر این مشکل، تهیه فیلم‌های نانوکامپوزیت است. کاربرد تکنولوژی نانو در این پلیمرها می‌تواند راه‌های نوینی نه تنها برای بهبود خصوصیات آن‌ها فراهم کند، بلکه هزینه‌های آن‌ها را نیز کاهش دهد [6، 7]. افزودن مقادیر کم از نانوذرات به این فیلم‌ها سبب کاهش نفوذپذیری به رطوبت و بهبود ویژگی‌های مکانیکی در آن‌ها می‌گردد.

تقویت کننده‌های نانومقیاس با توجه به سطح زیاد و میزان بالای انرژی، دارای تعامل سطحی بسیار عالی با پلیمرها هستند و در نتیجه باعث بهبود قابل توجه خواص فیزیکی و مکانیکی پلیمرها می‌گردند [8]. اکسیدهای فلزی مانند اکسیدروی، اکسیدتیتانیوم و اکسیدمنیزیم به‌طور گسترده به‌دلیل پایداری تحت شرایط سخت آماده‌سازی و ایمنی در فعالیت‌های انسانی و حیوانی برای ساخت پوشش‌ها و نانوکامپوزیت‌های زیستی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند [9]. به‌علاوه، این مواد دارای ویژگی‌های ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد الکتریسیته ساکن هستند و هم‌چنین در برابر عبور اشعه ماورا بنفش نیز خاصیت سدکنندگی دارند. اکسیدروی به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان پرکننده جاذب UV برای استفاده در مواد دارویی، آرایشی و بهداشتی، پوشش‌ها و رنگدانه کاربرد دارد [10]. اکسیدروی دارای مزایای بهتری نسبت به سایر اکسیدهای فلزی می‌باشد، زیرا دارای قابلیت جذب اشعه‌ی ماورابنفش در تمام محدوده‌های امواج فرابنفش (UVA، UVB، UVC) است [11]. هم‌چنین این ماده بر بهبود خواص فیزیکی، مقاومت کششی و افزایش طول در لحظه پاره‌شدن پلیمرهای حاوی آن اثر مثبت دارد. لی هوا و همکاران [12] در تحقیقی خاصیت ضدباکتریایی پلیمر نانوکامپوزیت کیتوزان-نانو اکسیدروی / نقره مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پلیمر کیتوزان در ترکیب با اکسیدروی / نقره دارای خاصیت ضدباکتریایی قوی‌تری در برابر باکتری‌های اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، پنسیلیوم نسبت به نانوکامپوزیت کیتوزان مرکب با نقره یا اکسیدروی به‌صورت تکی است. با این وجود تاکنون گزارشی در زمینه کاربرد نانوذرات روی در فیلم کاراژینان و یا فیلم دولایه آن با آگار منتشر نشده است. بنابراین تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر افزودن نانوذرات اکسیدروی در غلظت‌های مختلف بر ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و ممانعت به اشعه UV

پوشش‌دهنده/پاشنده تا نقطه بحرانی خشک و به مدت دو دقیقه با طلا پوشش داده شدند. تصویربرداری از نمونه‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی با کاربری 20 کیلووات و در بزرگنمایی‌های مختلف انجام گرفت [13].

### 2-3- سنجش میزان رطوبت فیلم‌ها

نمونه‌ها با اندازه  $2/5 \times 2/5$  سانتی‌متر، و وزن مشخص درون پلیت‌های شیشه‌ای که از قبل آزمایش به تعادل رطوبتی رسیده و توزین شده بودند قرار گرفت. سپس به مدت 24 ساعت در دمای 115 درجه سانتی‌گراد خشک گردید. نمونه همراه با پلیت پس از این مدت خارج شده و پس از سرد شدن در دسیکاتور مجدداً توزین گردید. محتوای رطوبت روکش‌ها بر پایه‌ی وزن مرطوب از رابطه (1) محاسبه گردید [14].

$$(1) \quad \text{میزان رطوبت} (\%) = \frac{\text{وزن فیلم اولیه}}{100} \times (\text{وزن فیلم خشک} - \text{وزن فیلم اولیه})$$

### 2-4- سنجش میزان حلالیت در آب

وزن اولیه نمونه‌های فیلم  $2/5 \times 2/5$  سانتی‌متر مربع پس از خشک شدن در دمای 115 درجه سانتی‌گراد تعیین شد و سپس نمونه‌های فیلم در ظروف حاوی 50 میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. ظروف به مدت 24 ساعت در دمای اتاق (25 درجه سانتی‌گراد) در جای ثابت قرار داده شد. پس از این مدت نمونه‌ها به وسیله کاغذهای صافی خشک فیلتر و مجدداً در دمای 115 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت خشک گردید. میزان حلالیت فیلم‌ها به کمک رابطه (2) محاسبه گردید [14].

$$(2) \quad \text{میزان حلالیت} (\%) = \frac{\text{وزن فیلم خشک بعد از غوطه‌وری} - \text{وزن فیلم خشک}}{\text{وزن فیلم خشک}} \times 100$$

### 2-5- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم تولید شده در برابر بخار آب به روش E96 مصوب ASTM انجام شد [15]. از

فیلم دولایه آگار-کاپاکاراژینان صورت پذیرفت.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- تهیه نانوکامپوزیت

ابتدا محلول 1/5٪ آگار، ساخت شرکت سیگما-آلدریچ، آلمان، در دمای 100 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه هم‌زده و سپس به میزان 33٪ وزن ماده‌ی خشک موجود، گلیسرول به محلول اضافه و به مدت 20 دقیقه مخلوط شد. محلول در دمای 45 درجه سانتی‌گراد به ظروف پلی‌اتیلن انتقال یافت و در آن 45 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 ساعت قرار گرفت. سپس محلول 1٪ کاپاکاراژینان، ساخت شرکت سیگما-آلدریچ، آلمان، در دمای 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 50 دقیقه هم‌زده و 30٪ وزن خشک محلول، به آن گلیسرول اضافه و به مدت بیست دقیقه در دمای 50-65 درجه سانتی‌گراد هم‌زده شد. محلول‌های 0/5، 1 و 1/5٪ نانو اکسیدروی، ساخت شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان، (اندازه نانوذرات بین 10-30 نانومتر و خلوص 99٪) با حل کردن مقادیر مناسب اکسیدروی در آب مقطر برحسب وزن خشک پلیمر تهیه و پس هم‌زدن به مدت یک ساعت در دمای اتاق به مدت 4 دقیقه اولترا سوند شد و به محلول کاپاکاراژینان اضافه و مخلوط شد. محلول کاپاکاراژینان-نانو اکسیدروی در دمای 30 درجه سانتی‌گراد به ظروف حاوی فیلم آگار اضافه شد و به مدت 48 ساعت در آن 30 درجه سانتی‌گراد خشک شد. پس از خشک شدن کامل و قبل از انجام آزمایش‌های مربوطه، فیلم‌ها در شرایط ثابت رطوبت  $50 \pm 2\%$  و دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در داخل دسیکاتور حاوی محلول نیترا-منیزیم به مدت 48 ساعت نگهداری شدند. سپس آزمون‌های زیر روی فیلم‌ها انجام گردید.

### 2-2- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی تاثیر افزودن نانو ذرات اکسیدروی بر ریز ساختار روکش‌های تولید شده، تصاویر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی JSM-6700F, JEOL، ساخت کشور ژاپن، از سطح روکش‌ها تهیه گردید. ابتدا روکش‌ها به کمک چسب کربن روی پایه چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه

$$(6) \quad \frac{100 \times \text{ازدیاد طول در لحظه شکست}}{\text{فاصله دو فک دستگاه}} = \text{درصد ازدیاد طول}$$

## 2-7- کدورت و انتقال نور فیلم‌ها

به‌منظور سنجش میزان کدورت و هم‌چنین میزان عبور نور از فیلم‌ها، نمونه‌های فیلم به ابعاد  $9 \times 40$  میلی‌متر در درون سلول‌های اسپکتروفتومتری قرار گرفتند. برای سنجش میزان عبوردهی نور، فیلم‌ها در طول موج‌های 200-600 نانومتر توسط دستگاه اسکن شدند. هم‌چنین به‌منظور محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها از رابطه (7) استفاده شد [16].

$$(7) \quad \text{کدورت فیلم} = \frac{\text{ضخامت فیلم} / \text{میزان جذب نور در طول موج 600 نانومتر}}$$

## 2-8- سنجش رنگ

ابتدا دستگاه توسط کاشی مخصوص کالیبره شد و سپس نمونه‌های فیلم به‌منظور سنجش رنگ درون دستگاه قرار داده شدند و 3 فاکتور  $L^*$  (شفافیت)،  $a^*$  (+ قرمز/- سبز) و  $b^*$  (+ زرد/- آبی) توسط دستگاه رنگ سنج BYK Gardner، ساخت کشور آمریکا، برای آن‌ها تعیین گردید. هم‌چنین برای محاسبه اختلاف رنگ نمونه‌ها با کاشی استاندارد ( $\Delta E$ ) و شاخص سفیدی (WI)، داده‌های به‌دست آمده برای سه فاکتور فوق مربوط به مرجع و نیز سه فاکتور  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  مربوط به هر نمونه در رابطه‌های (8) و (9) قرار داده شد [17].

$$(8) \quad \Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2}$$

$$(9) \quad WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

## 2-9- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 16 انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف (Kolomogorav-Smirnov) و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون (Leven) انجام گردید.

سلول‌های اندازه‌گیری استفاده شده و درون آن‌ها آب ریخته شد و سطح سلول با فیلم پوشانده شد و سپس فیلم توسط گریس و پارافیلیم روی سلول اندازه‌گیری ثابت شده و درون دسیکاتور حاوی سلیکاژل قرار داده شدند. آب در دمای 25 درجه سانتی‌گراد رطوبت 100٪ ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای 25 درجه سانتی‌گراد اختلاف فشار بخاری معادل  $2/337 \times 10^3$  پاسکال ایجاد می‌کند. تغییرات وزن سلول‌ها در طول زمان با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. سپس با رسم منحنی تغییرات وزن سلول نسبت به زمان، یک خط راست حاصل شد. نرخ انتقال بخار آب معادل با شیب خط حاصله تقسیم بر سطح سلول است و از رابطه (3) به‌دست می‌آید.

$$(3) \quad \text{نرخ انتقال بخار آب} = \frac{\text{سطح سلول/شیب خط}}{\text{نرخ انتقال بخار آب (WVTR) (g/m}^2 \text{ s}^{-1})}$$

جهت محاسبه میزان نفوذپذیری به بخار آب از رابطه (4) استفاده شد.

$$(4) \quad \text{نفوذپذیری به بخار آب (WVP) (10}^{-10} \text{g/m}^2 \text{ s Pa)} = \frac{2/337 \times 10^3}{\text{ضخامت فیلم} \times \text{نرخ انتقال بخار آب}}$$

## 2-6- اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمایش کشش با استفاده از دستگاه تجزیه و تحلیل بافت TexVol، ساخت کشور سوئیس، انجام گرفت. قبل از انجام آزمایش کشش تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل گردیدند. فیلم‌ها به شکل مستطیل در ابعاد  $2/5 \times 10$  سانتی‌متر بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه 5 سانتی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها 50 میلی‌متر در دقیقه انتخاب شد. فاکتورهای شامل مقاومت کششی و درصد کرنش در نقطه شکست مطابق روش شماره D882-10 مصوب ASTM از روی منحنی‌های نیرو برحسب تغییر شکل و طبق روابط (5) و (6) به‌دست آمدند [15].

$$(5) \quad \text{حداکثر نیرو لحظه پاره شدن} = \frac{\text{کششی مقاومت}}{\text{عرض فیلم} \times \text{ضخامت فیلم}}$$

داده‌شود که این مشاهدات با نتایج جیگان و همکاران [18] پیرامون ساخت و شناخت ویژگی‌های فیلم نانوکامپوزیت آگار-اکسیدروی مطابقت داشت. در رابطه با تولید پلیمرهای نانوکامپوزیت گزارش شده است که پرکننده‌های نانومقیاس به‌طور معمول در حجم‌های پایین اثر مثبت دارند، زیرا پراکندگی و توزیع همگن آن‌ها در ماتریکس اصلی در سطوح پایین صورت می‌گیرد و افزایش میزان آن از سطحی خاص در اثر تجمع و کلوخه‌شدن نانوذرات طی مرحله خشک شدن فیلم، منجر به افت برخی خواص کیفی مورد نظر می‌شود [19].

### 3-2- رطوبت

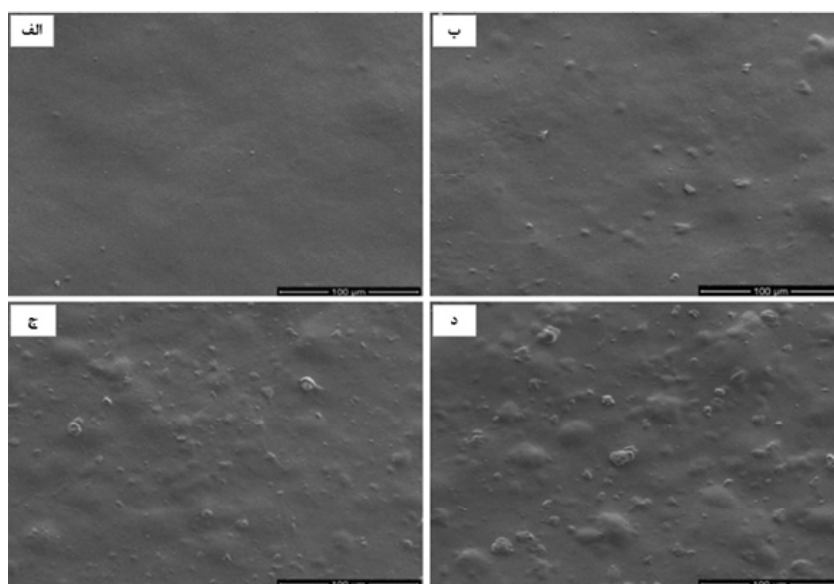
بررسی میزان رطوبت فیلم‌های نانوکامپوزیت نشان داد که با افزودن نانوذرات اکسیدروی به ماتریکس فیلم آگار-کاپاکاراژینان محتوای رطوبت آن‌ها به‌شکل معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0/05$ ) از 32/74٪ در تیمار شاهد به 25/93٪ در تیمار محتوی 1/5٪ نانوذرات اکسیدروی رسید (جدول 1) که با نتایج لی‌هوا و همکاران [12] پیرامون افزودن نانو ذرات اکسیدروی به کیتوزان مطابقت داشت. نتایج این تحقیق نشان دادند که با افزایش میزان نانو اکسیدروی از میزان رطوبت کامپوزیت‌ها کاسته شد. به نظر می‌رسد که در نتیجه افزودن نانو اکسیدروی، اتصال‌های قوی بین زنجیره‌های پلیمری ایجاد

جهت آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش از آنالیز واریانس استفاده گردید و در مواردی که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید.

### 3- نتایج و بحث

#### 3-1- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

در شکل (1) تصاویر میکروسکوپ الکترونی سطح فیلم آگار-کاپاکاراژینان حاوی غلظت‌های مختلف نانو اکسیدروی نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود فیلم آگار-کاپاکاراژینان شاهد دارای نمای سطحی بدون ترک و پیوسته بود. با افزایش درصد نانوذرات سطح فیلم ناهموارتر گردید، اما باعث ایجاد ترک در فیلم‌ها نگردید. اندازه نانوذرات اکسیدروی مورد استفاده در این تحقیق در تصاویر میکروسکوپ الکترونی بین 50-100 نانومتر تخمین زده شد. تصاویر نشان داد که نانو ذرات در ماتریکس کاپاکاراژینان به‌طور مناسبی در غلظت‌های پایین پراکنده شدند که این می‌تواند یکی از عوامل تاثیرگذار بر بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها در غلظت پایین نانوذرات باشد. اما با افزایش درصد نانوذرات بافتی ناهمگن و زبر در سطح فیلم‌ها مشاهده شد که می‌تواند به تجمع و توزیع غیریکنواخت نانوذرات در بستر پلیمر در اثر غلظت بالای آن‌ها نسبت



شکل (1) تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) سطح فیلم آگار-کاپاکاراژینان خالص، نانوکامپوزیت‌های آگار-کاپاکاراژینان محتوی (ب) 0/5٪ نانو اکسید روی، (ج) 1٪ نانو اکسید روی، و (د) 1/5٪ نانو اکسید روی.

نفوذپذیری به بخار آب گردید (جدول 1) به طوری که باعث کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب از  $0/61 \cdot 10^{-10} \text{g/m}^2 \text{s Pa}$  در نمونه فاقد نانو اکسیدروی به  $0/34 \cdot 10^{-10} \text{g/m}^2 \text{s Pa}$  در نمونه حاوی 0/5% نانو اکسیدروی گردید که با نتایج مروی زاده و همکاران [21] پیرامون افزودن نانو اکسیدروی به کامپوزیت ژلاتین گاوی-نشاسته مطابقت داشت. کاهش معنی‌دار در میزان نفوذپذیری به بخار آب بعد از افزودن نانو اکسیدروی ممکن است موجب به وجود آمدن مسیری پر پیچ و خم برای عبور مولکول‌های بخار آب گردد [22]. به علاوه افزودن نانو اکسیدروی 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 [23]. نفوذپذیری به بخار آب در تیمارهای حاوی 1 و 1/5 درصد نانوذرات مجدداً افزایش نشان داد. عدم پخش همگن، تجمع و برهم خوردن ریز ساختار فیلم در اثر حضور غلظت بالای نانوذرات و متعاقب آن ایجاد شکستگی و بافت ناهمگن و ناپیوسته، مسیریابی را برای عبور بخار آب ایجاد کرده و می‌تواند دلیل این مساله باشد [24]. این پدیده در نتایج حاصل از ارزیابی خواص مکانیکی فیلم‌ها نیز مشهود است که در واقع با تجاوز میزان نانوذرات از سطح 0/5 درصد میزان استحکام کششی فیلم‌ها کاهش یافت. در تصاویر SEM نیز مشاهده شد که فیلم حاوی 0/5 درصد نانوذرات سطح صاف تر و در واقع پراکنش همگن‌تری از نانوذرات را نسبت به دو تیمار دیگر (حاوی 1 و 1/5 درصد نانوذرات) نشان می‌دهد.

### 3-5- خواص مکانیکی

نتایج مقاومت کششی و درصد افزایش طول فیلم‌های تولیدی در جدول (2) نشان داده شده است. مقاومت کششی در فیلم دولایه آگار-کاپاکاراژینان  $17/28 \text{ MPa}$  بود که با افزودن 0/5 درصد نانو اکسیدروی به طور معنی‌داری افزایش یافت و به  $26/11 \text{ MPa}$  رسید. افزودن مقادیر بیش‌تر نانوذرات روی تا 1/5 درصد موجب کاهش مجدد مقاومت کششی در نانو کامپوزیت‌ها شد اما هرگز از فیلم شاهد کم‌تر نشد. بهبود مقاومت کششی فیلم‌ها در درصد‌های کم نانوذره ممکن است

شده که ایجاد این اتصال‌ها منجر به کاهش گروه‌های هیدروکسیل موجود در شبکه فیلم و به دنبال آن کاهش اتصال این گروه‌های آزاد آب دوست به آب گردیده است. تشکیل ساختار یکپارچه‌تر و فشرده‌تر در نتیجه حضور نانوذرات اکسیدروی نیز می‌تواند منجر به کاهش درصد رطوبت فیلم‌ها شده باشد [18].

### 3-3- حلالیت

حلالیت یک ویژگی مهم در فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر است، زیرا می‌تواند میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، به خصوص در محیط حاوی رطوبت مثل فراورده‌های گوشتی و همچنین سرعت آزاد شدن ترکیبات ضد اکسیداسیونی و ضد میکروبی فیلم را زمانی که در تماس با سطح ماده غذایی است، تعیین کند. به طور کلی افزودن نانو اکسیدروی منجر به تغییر معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) حلالیت فیلم‌ها گردید. به طوری که میزان حلالیت از  $84/96\%$  در تیمار شاهد به  $38/30\%$  در تیمار حاوی 0/5% نانو اکسیدروی کاهش یافت (جدول 1). این نتیجه با مشاهدات لی هوا و همکاران [12] پیرامون افزودن نانوذرات اکسیدروی به پلیمر کیتوزان مطابقت داشت. نتایج به دست آمده نشان دادند که با افزودن نانو اکسیدروی در غلظت‌های کم (0/5%) میزان حلالیت در آب کاهش می‌یابد و اما با افزایش غلظت نانوذرات در ماتریکس پلیمری میزان حلالیت دوباره افزایش یافت، اما همواره از فیلم شاهد کم‌تر بود. این یافته‌ها را می‌توان به پیوندهای احتمالی به وجود آمده بین نانو اکسیدروی و کاپاکاراژینان در ساختار فیلم‌ها نسبت داد. مطالعات نشان داده‌اند که افزودن نانو اکسیدروی موجب پیوند هیدروژنی بین نانو اکسیدروی و ماتریکس پلیمرها می‌شود و به این ترتیب اتصالات مولکول‌های آزاد آب با گروه‌های آب دوست بیوپلیمرها در مقایسه با نمونه شاهد کم‌تر شده و متعاقباً حلالیت فیلم کاهش می‌یابد [20]. در غلظت‌های بالاتر نانوذره احتمالاً به دلیل عدم پراکنش یکنواخت و تجمع نانوذرات دسترسی آن‌ها به زنجیره پلیمر کم‌تر و قابلیت بهبود خواص کاهش می‌یابد.

### 3-4- نفوذپذیری به بخار آب

افزودن نانو اکسیدروی موجب تغییر معنی‌دار در میزان

**جدول (1)** ویژگی‌های رطوبت، حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب نانوکامپوزیت‌های دولایه آگار-کاپاکاراژینان حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدروی

نوع فیلم	رطوبت (%)	حلالیت (%)	نفوذپذیری به بخار آب $10^{-10} \text{g/m}^2 \text{s Pa}$
ک-آ	$32/74 \pm 0/85^a$	$84/96 \pm 1/77^a$	$0/61 \pm 0/00^a$
ک-آ-0/5	$31/79 \pm 0/93^a$	$38/30 \pm 5/84^d$	$0/34 \pm 0/01^b$
ک-آ-1	$28/75 \pm 0/21^{ab}$	$49/76 \pm 5/77^c$	$0/60 \pm 0/00^a$
ک-آ-1/5	$25/93 \pm 0/41^b$	$59/28 \pm 1/17^b$	$0/59 \pm 0/00^a$

ک: کاپاکاراژینان؛ آ: آگار؛ ر: نانو اکسیدروی  
حروف متفاوت (c, b, a, ..) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  است.  
داده‌ها به صورت میانگین (حداقل 3 تکرار)  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.

**جدول (2)** ویژگی‌های مکانیکی نانوکامپوزیت‌های دولایه آگار-کاپاکاراژینان حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدروی

نوع فیلم	استحکام کششی (MPa)	کشسانی تا نقطه شکست (%)
ک-آ	$18/10 \pm 0/31^c$	$17/28 \pm 0/27^d$
ک-آ-0/5	$21/45 \pm 0/38^a$	$26/11 \pm 0/12^a$
ک-آ-1	$19/30 \pm 0/46^b$	$24/05 \pm 0/09^b$
ک-آ-1/5	$18/95 \pm 0/34^{cb}$	$18/75 \pm 0/20^c$

ک: کاپاکاراژینان؛ آ: آگار؛ ر: نانو اکسیدروی  
حروف متفاوت (c, b, a, ..) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  است.  
داده‌ها به صورت میانگین (حداقل 3 تکرار)  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.

### 3-6- کدورت و انتقال نور

کدورت فیلم‌ها جهت بیان میزان شفافیت فیلم‌ها ارزیابی می‌شود، هرچه میزان کدورت فیلم‌ها بیش‌تر باشد، نشان از کاهش شفافیت فیلم‌های تولید شده می‌باشد. شفافیت از ویژگی‌های مهم فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر می‌باشد زیرا به‌طور مستقیم بر ظاهر محصول پوشش‌دهی شده تاثیر می‌گذارد. هم‌چنین می‌تواند بر سرعت اکسیداسیون چربی‌ها و کیفیت محصول تاثیرگذار باشد. افزودن نانو اکسیدروی باعث افزایش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) کدورت در نانوکامپوزیت‌ها شد. به‌طوری که میزان کدورت از  $2/35\%$  در فیلم شاهد به  $5/45\%$  در نانوکامپوزیت حاوی  $1/5\%$  نانوذرات اکسیدروی رسید (جدول 3). علت این پدیده را می‌توان به تجمع نانوذرات درون بستر پلیمری نسبت داد [24] که مشاهدات حاصل با نتایج به‌دست آمده توسط پردا و همکاران [27] پیرامون افزودن نانوسلولز به فیلم سدیم کازئینات همخوانی داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن نانوسلولز موجب افزایش کدورت فیلم‌ها گردید. از دیگر ویژگی‌های مطلوب مواد بسته‌بندی،

به دلیل نقش پرکنندگی نانوذرات در ساختار شبکه پلیمری به‌عنوان یک پرکننده مناسب در ابعاد نانومتری باشد. هم‌چنین در این زمینه تشکیل برهم‌کنش پرکننده-ماتریکس و هم‌چنین پرکننده-پرکننده عوامل مهمی محسوب می‌شوند. عدم بهبود مقاومت کششی در درصد‌های بالاتر نانوذرات نیز ممکن است به دلیل تجمع نانوذرات (آگلومره شدن) ناشی از نیروی سطحی نانوذرات در درصد‌های بالا باشد که این تجمعات خود به‌عنوان نقطه شکست در حین کشش در ساختار فیلم عمل می‌نمایند [25]. در واقع با افزایش غلظت، نانوذرات قادر به تشکیل شبکه مناسب و پیوندهای تقویت کننده در پلیمر نیست و بنابراین تجمع و توزیع ناهمگن نانوذرات می‌تواند حتی منجر به کاهش استحکام کششی شود. این مطلب با نتایج تحقیق روی تولید نانوکامپوزیت کاپاکاراژینان-نانوسلولز [26] مطابقت داشت. درصد افزایش طول در لحظه پارگی نیز با افزودن  $0/5$  درصد نانو اکسیدروی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. اما افزودن مقادیر بالاتر اکسید روی موجب تغییر معنی‌دار درصد افزایش طول در نانوکامپوزیت‌ها نشد.

### 3-7- رنگ

رنگ مواد بسته‌بندی یکی از عوامل مهم اثرگذار بر ظاهر کلی محصول و پذیرش مصرف کنندگان می‌باشد [30]. رنگ فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر اهمیت زیادی در کاربرد آن‌ها در صنعت بسته بندی دارد و یکی از عوامل مهم در تعیین کیفیت فیلم تهیه‌شده به‌شمار می‌آید [31]. افزودن نانو اکسیدروی در پارامتر  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  فیلم‌ها تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد ( $p < 0/05$ ) (جدول 4). همچنین افزودن نانوذرات بر شاخص اختلاف رنگ با صفحه استاندارد ( $\Delta E$ ) و شاخص سفیدی (WI) فیلم‌های تولیدی که به نوعی طبیعت کننده از شاخص‌های اصلی رنگ ( $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$ ) می‌باشد نیز تاثیری نداشت که این مساله نشان می‌دهد نانوذرات بر رنگ فیلم‌های تولیدی بی‌تاثیر بوده‌اند. این مشاهدات با نتایج گزارش شده توسط کاساریجو و همکاران [32] مطابق داشت. دلیل چنین رفتاری، احتمالاً قرارگیری این نانو ذرات در لابه‌لای زنجیره‌های پلیمری و هم‌رنگ بودن نانو اکسیدروی با پلیمر کاپاکاراژینان است که

حفاظت غذا در برابر نور، به‌ویژه اشعه فرابنفش و در واقع فتواکسیداسیون می‌باشد. نمونه‌های فیلم حاوی 0/5٪ نانو اکسیدروی، کم‌ترین میزان عبور نور UV به‌ویژه در طول موج 280 نانومتر را نسبت به نمونه شاهد از خود نشان داد. افزایش موثر در ممانعت از ورود اشعه ماورابنفش و کاهش ورود آن به ماتریکس پلیمر می‌تواند به دلیل ناحیه سطحی کوچک به ازای هر واحد توده و حجم ذرات نانو اکسیدروی باشد [28]. انتقال نور با افزودن نانو اکسیدروی کاهش یافت که با نتایج جیوگائو و همکاران [29] پیرامون افزودن نانو اکسیدروی به کامپوزیت نشاسته نخودفرنگی-کربوکسی متیل-سلولز هم‌خوانی داشت. نتایج این تحقیق نیز نشان دادند که افزودن نانو اکسیدروی به کربوکسی متیل سلولز موجب بهبود ویژگی سدکنندگی در برابر اشعه ماورابنفش گردید. در توضیح آن می‌توان بیان داشت که اختلاط فاز کوچک‌تر و وابسته در فاز پیوسته، باعث کم شدن میزان شفافیت و افزایش میزان ماتریکس فیلم‌ها می‌شود [3].

جدول (3) ویژگی‌های کدورت و نفوذپذیری به نور نانو کامپوزیت‌های دولایه آگار-کاپاکاراژینان حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدروی

کدورت	طول موج (nm)								نوع فیلم
	800	700	600	500	400	300	280	200	
2/35±0/15 <sup>c</sup>	2/89	0/85	0/74	0/37	0/29	0/23	0/21	0/20	ک-آ
2/64±0/18 <sup>c</sup>	1/99	0/44	0/40	0/32	0/30	0/27	0/22	0/20	ک-آ-0/5٪
4/67±0/55 <sup>b</sup>	2/79	0/57	0/48	0/34	0/25	0/29	0/27	0/28	ک-آ-1٪
5/45±0/17 <sup>a</sup>	2/69	0/49	0/45	0/36	0/24	0/26	0/15	0/19	ک-آ-1/5٪

ک: کاپاکاراژینان؛ آ: آگار؛ ر: نانو اکسیدروی  
حروف متفاوت (c, b, a, ...) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  است.  
داده‌ها به صورت میانگین (حداقل 3 تکرار) ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

جدول (4) شاخص‌های رنگ نانو کامپوزیت‌های دولایه آگار-کاپاکاراژینان حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدروی

WI	$\Delta E$	$b^*$	$a^*$	$L^*$	نوع فیلم
93/19±0/50 <sup>a</sup>	3/75±0/01 <sup>a</sup>	-0/40±0/00 <sup>a</sup>	2/70±0/00 <sup>a</sup>	94/50±0/49 <sup>a</sup>	ک-آ
93/50±0/21 <sup>a</sup>	3/78±0/03 <sup>a</sup>	-0/40±0/00 <sup>a</sup>	2/70±0/00 <sup>a</sup>	94/10±0/20 <sup>a</sup>	ک-آ-0/5٪
93/50±0/21 <sup>a</sup>	3/78±0/03 <sup>a</sup>	-0/40±0/00 <sup>a</sup>	2/70±0/00 <sup>a</sup>	94/10±1/20 <sup>a</sup>	ک-آ-1٪
93/13±0/21 <sup>a</sup>	3/86±0/05 <sup>a</sup>	-0/40±0/00 <sup>a</sup>	2/70±0/00 <sup>a</sup>	93/86±0/23 <sup>a</sup>	ک-آ-1/5٪

ک: کاپاکاراژینان؛ آ: آگار؛ ر: نانو اکسیدروی  
حروف متفاوت (c, b, a, ...) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  است.  
داده‌ها به صورت میانگین (حداقل 3 تکرار) ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نداشت. افزودن مقادیر اندک (5/0%) نانو اکسیدروی موجب بهبود مقاومت مکانیکی فیلم‌های دولایه گردید و بر خواص فیزیکی فیلم‌ها از جمله حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب اثر مثبت داشته و سبب کاهش آن‌ها شد. این مشاهدات با نتایج حاصل از آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی مطابقت داشت. کاربرد به‌عنوان پوشش کمکی را در بسته‌بندی مواد غذایی داشته باشد، بنابراین توصیه می‌شود قابلیت آن در نگهداری مواد غذایی در تحقیقی جداگانه مورد بررسی قرار گیرد.

سبب یکسان و همسو شدن رنگ ذرات نانو با ماتریکس پلیمرها می‌گردد [3].

#### 4- نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن نانو اکسیدروی ویژگی شفافیت فیلم‌های دولایه آگار-کاپاکاراژینان را تحت تاثیر قرارداد، به‌طوری‌که میزان جذب اشعه ماورابنفش و همچنین مرئی در فیلم‌های حاوی نانوذرات افزایش پیدا کرد؛ اما بر رنگ و در واقع خواص ظاهر فیلم‌ها تاثیر معنی‌داری

#### منابع

- 18(2), 84-95.
- [7] Azeredo, H. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res. Int.*, 42(9), 1240-1253.
- [8] Kovačević, V., Vrsaljko, D., Lučić Blagojević, S., Leskovic, M. (2008). Adhesion parameters at the interface in nanoparticulate filled polymer systems. *Polym. Eng. Sci.*, 48(10), 1994-2002.
- [9] Shi, L., Zhou, J., Gunasekaran, S. (2008). Low temperature fabrication of ZnO-whey protein isolate nanocomposite. *Mater. Lett.*, 62(28), 4383-4385.
- [10] Kumar, A.P., Singh, R.P. (2008). Bio composites of cellulose reinforced starch improvement of properties by photo-induced crosslinking. *Bioresour. Technol.*, 99 (18), 8803-8809.
- [11] Azeredo, H., Mattoso, L.H.C., Wood Williams, T.G., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H. (2009). Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. *J. Food Sci.*, 74(5), 31-35.
- [12] Li, L. H., Deng, J. C., Deng, H. R., Liu, Z. L., Li, X. L. (2010). Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films. *Chem. Eng. J.*, 160(1), 378-382.
- [13] Vejdani, A., Ojagh, S. M., Adeli, A., Abdollahi, M. [1] Baldwin, E. A., Hagenmaier, R., Bai, J. (Eds.). (2011). Edible coatings and films to improve food quality. *CRC Press*.
- [2] Petersen, K., Nielsen, P. V., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M. B., Nilsson, N. H., Mortensen, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends Food Sci. Technol.*, 10(2), 52-68.
- [3] Espitia, P. J. P., Soares, N. D. F. F., Teófilo, R. F., dos Reis Coimbra, J. S., Vitor, D. M., Batista, R. A., Medeiros, E. A. A. (2013). Physical-mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. *Carbohydr. Polym.*, 94(1), 199-208.
- [4] Embuscado, M. E., Huber, K. C. (2009). *Edible films and coatings for food applications.*, Springer, New York, pp 213-214.
- [5] Holmberg, K. (2009). *Coatings tribology: properties, mechanisms, techniques and applications in surface engineering*, 2<sup>th</sup> ed., Elsevier Science, Amsterdam, Boston, London.
- [6] Sorrentino, A., Gorrasi, G., Vittoria, V. (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends Food Sci. Technol.*,

- oxide nanorod. *J. Chem. Health. Rsk.*, 4(4).
- [22] Yu, J., Yang, J., Liu, B., Ma, X. (2009). Preparation and characterization of glycerol plasticized-pea starch/ZnO-carboxymethylcellulose sodium nanocomposites. *Bioresour. Technol.*, 100(11), 2832-2841.
- [23] Adame, D., Beall, G. W. (2009). Direct measurement of the constrained polymer region in polyamide / clay nanocomposites and the implications for gas diffusion. *Appl. Clay Sci.*, 42, 545-552.
- [24] Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., Behrooz, R. (2013). Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocoll.*, 32(2), 416-424.
- [25] Ali, A., Ansari, A. A., Kaushik, A., Solanki, P. R., Barik, A., Pandey, M. K., Malhotra, B. D. (2009). Nanostructured zinc oxide film for urea sensor. *Mater. Lett.*, 63(28), 2473-2475.
- [26] Savadekar, N. R., Karande, V. S., Vigneshwaran, N., Bharimalla, A. K., Mhaske, S. T. (2012). Preparation of nano cellulose fibers and its application in kappa-carrageenan based film. *Int. J. Biol. Macromol.*, 51(5), 1008-1013.
- [27] Pereda, M., Amica, G., Rácz, I., Marcovich, N. E. (2011). Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *J. Food Eng.*, 103(1), 76-83.
- [28] Dhoke, S. K., Narayani, R., Khanna, A. S. (2012). Effect of Nano-Zinc Oxide Particles on the Performance Behavior of Waterborne Polyurethane Composite Coatings. *Int. J. Mater. Sci.*, 68-74.
- [29] Yu, J., Yang, J., Liu, B., Ma, X. (2009). Preparation and characterization of glycerol plasticized-pea starch/ZnO-carboxymethylcellulose sodium nanocomposites. *Bioresour. Technol.*, 100(11), 2832-2841.
- [30] Bourtoom, T., Chinnan, M. S. (2008). Preparation (2016). Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on the physico-mechanical and ultraviolet light barrier properties of fish gelatin/agar bilayer film. *LWT- Food Sci. Technol.*, 71, 88-95.
- [14] Tunc, S., Angellier, H., Cahyana, Y., Chalier, P., Gontard, N., Gastaldi, E. (2007). Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. *J. Membr. Sci.*, 289(1), 159-168.
- [15] ASTM. (1996). *Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting*. Annual book of ASTM. American Society for testing and Material. Philadelphia, 882-910.
- [16] Atef, M., Rezaei, M., Behrooz, R. 2015. Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. *Food Hydrocoll.*, 45, 150-157.
- [17] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem.*, 120(1), 193-198.
- [18] Ramasubbu, A., Karunakaran, K., Vasanthkumar, S. (2012). Synthesis and characterization of zinc oxide-agar nanocomposite. *Int. J. Nano Dimens.*, 2(3), 171-176.
- [19] Santos, T. M., Men de Sá Filho, M. S., Caceres, C. A., Rosa, M. F., Morais, J. P. S., Pinto, A. M., Azeredo, H. M. 2014. Fish gelatin films as affected by cellulose whiskers and sonication. *Food Hydrocoll.*, 41, 113-118.
- [20] Tunc, S., Duman, O. (2010). Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. *Appl. Clay Sci.*, 48 (3), 414-424.
- [21] Marvizadeh, M. M., Nafchi, A. M., Jokar, M. (2014). Improved physicochemical properties of tapioca starch/bovine gelatin biodegradable films with zinc



and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *LWT- Food Sci. Technol.*, 41(9), 1633-1641.

[31] Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Entezami, A. A. (2010). Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. *Int. J. Biol. Macromol.*, 46(1), 1-5.

[32] Casariego, A., Souza, B., Cerqueira, M., Teixeira, J., Cruz, L., Díaz, R., Vicente, A. (2009). Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. *Food Hydrocoll.*, 23(7), 1895-1902.