

تهیه و مشخصه‌یابی پوشش زیست تخریب‌پذیر ضد میکروبی بر پایه نشاسته تقویت شده با آلونئهورا/نانو کیتوزان برای بسته‌بندی نان

مریم زارعی^۱، علی حسنی^۲ و زهرا هجری^{۱*}

۱- گروه مهندسی شیمی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

۲- گروه شیمی و علوم محیط زیست، دانشگاه فناوری نیوجرسی، نیو آرک، نیوجرسی، آمریکا

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۷/۱۱/۲۵، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۸/۰۲/۱۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۸/۰۳/۱۹

چکیده

در تحقیق حاضر، فیلم ضد میکروبی زیست تخریب‌پذیر بر پایه نشاسته ذرت به روش ریخته‌گری محلول تهیه شد. در ساختار این فیلم، از آلونئهورا و نانوذرات کیتوزان به عنوان عوامل تقویت‌کننده و ضد میکروبی و از گلیسرول به عنوان ماده نرم‌کننده استفاده گردید. اثر مقدار نانو کیتوزان در سه سطح (۰، ۲/۵ و ۵٪) و آلونئهورا در سه سطح (۰، ۱۰، ۲۰٪) بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، مکانیکی، شفافیت، تراوش‌پذیری نسبت به بخار آب و نیز خاصیت ضد باکتریایی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی فیلم‌های تولید شده مورد بررسی قرار گرفتند. قطر هیدرودینامیکی نانوذرات کیتوزان سنتز شده در محدوده ۴۰ تا ۶۰ nm تعیین گردید. نتایج آزمون‌های مکانیکی نشان دادند که صمغ آلونئهورا موجب کاهش و نانوذره کیتوزان باعث افزایش استحکام کششی فیلم نانو کامپوزیتی (تا ۲۹/۳۸٪) گردیدند. در فیلم حاوی هر دو عامل، افزایش استحکام کششی به میزان ۴/۹۲٪ و ازدیاد طول ۱۰۴٪ نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد. به منظور بررسی خاصیت ضد باکتریایی فیلم‌های تهیه شده، تاثیر فیلم بر روی دو نوع باکتری پاتوژن مواد غذایی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل حاکی از آن بود که با افزایش غلظت نانوذرات کیتوزان و آلونئهورا خواص ضد باکتریایی فیلم تولید شده افزایش یافته بطوریکه فیلم حاوی ۵٪ نانو کیتوزان و ۲۰٪ آلونئهورا بیشترین خاصیت ضد باکتریایی را از خود نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده فعالیت ضد باکتریایی نانو کامپوزیت حاوی آلونئهورا و نانو کیتوزان موجب افزایش قطر هاله عدم رشد باکتری اشرشیاکلی تا حدود ۴۴/۶۵٪ شده است در حالی که در مورد استافیلوکوکوس اورئوس به ۷۸/۵٪ هم رسید.

واژه‌های کلیدی: ضد میکروبی، زیست تخریب‌پذیر، نشاسته ذرت، نانوذرات کیتوزان، آلونئهورا.

۱- مقدمه

توجه به رشد روز افزون مصرف مواد بسته‌بندی و در نتیجه گسترش صنعت بسته‌بندی به خصوص پلاستیک‌ها که در بسیاری از مواد غذایی، آشامیدنی، دارویی و بهداشتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، ضایعات دور ریختنی موجب افزایش آلودگی‌های زیست محیطی در کشورهای جهان از جمله

هدف از تولید فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر پیشگیری از آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از ضایعات پلاستیکی و حفظ ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی بسته‌بندی شده است [۱]. با

* عهده‌دار مکاتبات: زهرا هجری

نشانی: قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، گروه مهندسی شیمی

تلفن: ۰۵۱-۴۷۰۱۱۰۱، دورنگار: ۰۵۱-۴۷۰۱۱۰۱، پست الکترونیکی: zahrahejri@iauu.ac.ir

می نمایند که البته با کاهش اندازه پرکن، این تاثیرات بهبود قابل ملاحظه‌ای می‌یابند. از این رو پرکن‌هایی با مقیاس نانو که دارای سطح بیشتری هستند عملکرد بهتری خواهند داشت [۹]. نشاسته و مشتقات آن، از پلیمرهای طبیعی مهم هستند که تجدیدپذیر و قابل تخریب زیستی بوده و علاوه بر این ارزان قیمت، فراوان و در دسترس می‌باشند. نشاسته $(C_6H_{10}O_5)_n$ ، در واقع پلیمری شبه کریستالی می‌باشد که در اکثر گیاهان به صورت دانه‌ای ذخیره شده است. نشاسته از تکرار واحدهای 1,4- α -D گلوکوپیرانوزیسل (1,4- α -D glucopyranosyl)، یعنی آمیلوز و آمیلوپکتین ترکیب یافته است. آمیلوز تقریباً خطی بوده و در آن واحدهای تکرار شونده با پیوندهای $\alpha(1-4)$ بهم اتصال یافته‌اند. آمیلوز پلیمری خطی است که می‌تواند به صورت خطی قرار گرفته و یا از طریق پیوند هیدروژنی اتصال برقرار کند. این ویژگی آمیلوز عامل اصلی ژل شدن و تشکیل فیلم در نشاسته می‌باشد. سیلوا و همکاران در سال ۲۰۱۹، فیلم خوراکی با حلالیت پایین را از نشاسته کاساوا تهیه و مشخصه‌یابی نمودند. آنها برای بهبود ویژگی‌های فیلم خود از کیتوزان و ژلاتین استفاده کردند. فیلم تهیه شده دارای ویژگی‌های مکانیکی و فیزیکوشیمیایی مناسبی برای بسته‌بندی میوه‌جات بود [۱۰]. شهابی و همکاران در سال ۲۰۱۹ بیوپلیمر زمینه نشاسته را با واکنش فتوشیمی سبز در نواحی UV متفاوت برای بسته‌بندی مواد غذایی تولید کردند. بر اساس نتایج این مطالعه، اشعه ماوراء بنفش می‌تواند به عنوان یک فرآیند سبز، آسان و قابل دسترس برای اصلاح فیلم‌های مبتنی بر نشاسته مورد توجه قرار گیرد [۱۱].

افزودن نانوذرات به پلیمرها می‌تواند تاثیرات دیگری از جمله فعالیت ضد میکروبی را نیز به دنبال داشته باشد. ترکیبات ضد میکروبی می‌توانند موجب فعال و هوشمند شدن پوشش بسته‌بندی گردیده و در نتیجه فیلم بسته‌بندی در کنترل رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد مؤثر بوده و عمر قفسه‌گذاری محصول افزایش چشمگیری پیدا خواهد کرد [۱۲]. دام و همکاران کارایی نانو و میکرو کامپوزیت‌های پلی آمید نقره را مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که

ایران شده است [۲]. هر ساله حدود ۱۰۰ تن از انواع پلاستیک‌ها وارد محیط زیست شده که منبع ایجاد مشکلات فراوان برای انسان و محیط زیست می‌باشد [۳]. بین ۲۵۰ تا ۵۰۰ سال طول می‌کشد تا این مواد مخرب در طبیعت تجزیه شده و در نهایت سمومی را وارد چرخه حیاتی می‌کنند که بدن انسان و اکوسیستم را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۴]. از طرفی این مواد پلاستیکی بی‌اثر نبوده و هر جا که تماس مستقیم بین محصول و ظرف یا پوشش پلاستیکی برقرار باشد، امکان مهاجرت مواد پلیمری به درون محصول وجود خواهد داشت که میزان مهاجرت به داخل ماده غذایی، به غلظت اولیه ترکیبات موجود در پلیمر، میزان حلالیت آنها، دما، تنش‌های مکانیکی و نیز مدت زمان تماس محصول با ماده پلیمری بستگی دارد [۵].

استفاده از ظروف یکبار مصرف گیاهی و کیسه‌های پلاستیکی زیست تخریب‌پذیر مزایای فراوانی از جمله سازگاری با محیط زیست (تجزیه‌پذیری در خاک حداکثر پس از شش ماه)، عاری بودن از هرگونه اثرات مضر مواد پلاستیکی به دلیل تماس با غذای داغ، اسیدی و چرب، بدون هیچ‌گونه آثار تخریبی بر محیط زیست پس از تجزیه شدن در خاک، تهیه شده از منابع اولیه تجدیدپذیر و نیز عدم وابستگی به مواد اولیه نفتی را به همراه خواهد داشت [۶]. اسپیتیا و همکاران در تحقیقات خود فیلم‌های خوراکی بر مبنای پکتین را مورد مطالعه قرار دادند. پکتین به دلیل زیست تخریب‌پذیری، سازگاری با محیط زیست، خوراکی بودن، دارا بودن خواص فیزیکی و شیمیایی مطلوب و نیز فیلم‌پذیری بالا، برای تولید پوشش‌های بسته‌بندی خوراکی و فعال مناسب می‌باشد [۷]. اما پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر خود به تنهایی عملکرد ضعیفی دارند چراکه اکثراً نسبت به آب حساس بوده و از خواص مکانیکی ضعیفی برخوردارند. لذا این خواص را باید به نحوی مثلاً از طریق اصلاح به روش شیمیایی، پرتودهی، ترکیب با پلیمرهای سنتزی و یا افزودن ترکیبات تقویت کننده به صورت پرکن، بهبود بخشید [۸]. اکثر تقویت کننده‌ها برهمکنش ضعیفی با ماده زمینه ایجاد

حاکی از عدم رشد باکتری و ویروس در حضور الیاف تهیه شده از آلئوئورا بود [۲۱]. در تحقیق حاضر، فیلم پلاستیکی زیست تخریب پذیر بر پایه نشاسته تهیه شده و از ترکیبات طبیعی آلئوئورا و نانوذرات کیتوزان به منظور بهبود ویژگی‌های مکانیکی، فیزیکی، شیمیایی و ایجاد خاصیت ضد میکروبی در فیلم استفاده گردید.

۲- فعالیت‌های تجربی

۲-۱- مواد اولیه

جهت سنتز نانو کیتوزان، کلریدریک اسید تیترازول، هیدروکسید سدیم تیترازول، مالئیک اسید (با درجه خلوص ۹۹/۵ درصد) و پتاسیم پرسولفات از شرکت مرک آلمان خریداری شده و کیتوزان (با جرم مولکولی پایین) از شرکت سیگما آلدریج تهیه گردید. به منظور تهیه فیلم و آزمون‌های میکروبی، نشاسته ذرت از شرکت سیگما آلدریج و گلیسرین، کلرید باریم، سولفوریک اسید، تریتون سوی براث و مولر هینتون آگار از شرکت مرک آلمان خریداری گردیدند. همچنین سوبه‌های باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1764 و اشرشیاکلی PTCC 1330 نیز از مرکز کلکسیون میکروارگانسیم‌های صنعتی ایران و آلئوئورا به صورت پودر از شرکت گیاه سلامت نسیم فراز خریداری گردیدند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- سنتز نانو کیتوزان

سنتز نانوذرات آبدوست کیتوزان طبق روش شای و همکاران، بر پایه بسپار شدن مالئیک اسید در محلول کیتوزان صورت گرفت. بدین منظور مقدار ۰/۰۰۳ مول مالئیک اسید در ۱۰۰ ml آب دیونیزه حل شد. سپس به آن ۰/۰۰۶ مول کیتوزان اضافه و به مدت ۳ ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی مخلوط گردید [۲۲].

نانو کامپوزیت‌های با میزان نقره کم در مقایسه با میکرو کامپوزیت‌های دارای میزان نقره بالاتر، تاثیر بیشتری بر اشرشیاکلی دارند. همچنین آنها مشاهده نمودند که پلی آمید پر شده با نقره حتی پس از ۱۰۰ روز غوطه‌ور شدن در آب، در برابر اشرشیاکلی مؤثر می‌باشد [۱۳]. همچنین، لیو و همکاران فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های کامپوزیتی حاوی ذرات TiO_2 و Ag/TiO_2 را در مورد اشرشیاکلی گزارش نمودند [۱۴]. در تحقیقی دیگر، چانگ و همکاران نانو کامپوزیت نشاسته ترموپلاستیک/خاک رس ساختند که محتوی تنها ۵ درصد وزنی خاک رس بود. این نانو کامپوزیت خواص مکانیکی بهتری از خود نشان داده و تراوش پذیری کمتری نسبت به بخار آب داشت [۱۵]. علاوه بر این، سایانجالی و همکاران پوشش خوراکی بر مبنای کربوکسی متیل سلولز حاوی پتاسیم سوربات را تولید و ویژگی‌های فیزیکی و ضد میکروبی آن را مورد بررسی قرار دادند [۱۶]. کیتوزان یکی از مهمترین مشتقات کیتین است که در نتیجه واکنش حذف گروه استیل از کیتین به دست می‌آید. کیتین ساختاری کریستالی، سخت و سفید رنگ دارد که به وفور در پوست سخت پوستان، حشرات و میسلیم قارچ‌ها یافت می‌شود. کیتوزان یک ماده غیرسمی، تجزیه پذیر و زیست سازگار و نیز دارای خواص ضد باکتری است. وزن مولکولی کیتوزان و حضور گروه آمین در آن، بر فعالیت ضد باکتریایی این پلی ساکارید تاثیر بارزی دارند [۱۷، ۱۸]. زای و همکاران فیلم‌های نشاسته/کیتوزان را به کمک پرتو دهی در دمای اتاق تهیه کرده، تاثیر کیتوزان و پرتو دهی را بر روی خواص فیلم‌های تولید شده مورد بررسی قرار دادند. استحکام کششی و انعطاف پذیری فیلم نشاسته، با افزودن ۲۰٪ کیتوزان، افزایش قابل توجهی پیدا کرد [۱۹]. آلئوئورا نیز ماده‌ای طبیعی می‌باشد که خاصیت ضد میکروبی آن به اثبات رسیده است [۲۰]. آقامحمدی و همکاران الیاف استات و الکتروریسی شده آلئوئورا را به عنوان مواد ضد باکتری تولید و مشخصه‌یابی نمودند. نتایج حاصل از آزمون‌های میکروبی

همگن در آمده و نهایتاً به منظور خشک شدن به ظرف منتقل شدند.

۲-۲-۳- تعیین قطر هیدرودینامیکی و آنالیز SEM نانوذرات کیتوزان

به منظور آماده سازی اولیه نمونه برای تعیین اندازه نانوذرات سنتز شده، حمام التراسونیک مدل Ti-h-20 ساخت شرکت ELMA آلمان مورد استفاده قرار گرفت. جهت اندازه گیری و آنالیز قطر هیدرودینامیکی نانوذرات از دستگاه اندازه گیری سائز نانوذرات مدل VASCO3 ساخت شرکت Cordouan فرانسه استفاده گردید. برای بررسی وضعیت مورفولوژیکی نانوذرات تهیه شده نیز، از آنالیز نمونه ها توسط میکروسکوپ الکترونی SEM مدل LEO 1450 VP ساخت کشور آلمان استفاده شد. به این منظور از سطح نمونه ها تصاویری با بزرگنمایی متفاوت تهیه گردید.

جدول ۱: فاکتورهای مورد بررسی در تهیه فیلم ها.

سطح	فاکتور
سطح ۱	A: مقدار آلونته‌ورا (%)
سطح ۲	B: مقدار نانوکیتوزان (%)
سطح ۳	

۲-۲-۴- تعیین ویژگی های فیزیکی فیلم ها

ضخامت فیلم های تولید شده، توسط میکرومتر دیجیتالی مدل (Mitutoyo, Japan) در ۱۰ نقطه تصادفی از نمونه های فیلم، در دمای ۲۵ °C و رطوبت نسبی ۵۰٪ اندازه گیری شد. برای تعیین دانسیته فیلم، قطعات مستطیل شکل به ابعاد ۳×۲ cm² از فیلم بریده شده و به مدت ۱۰ روز در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل در دمای ۲۵ °C قرار داده شدند. سپس ضخامت قطعات در ۵ نقطه (یک نقطه در مرکز و چهار نقطه در اطراف) اندازه گیری گردیده و وزن آنها با استفاده از ترازوی دیجیتالی مدل Mettler Tolepo ساخت کشور سوئیس با دقت ۰/۰۰۰۱ g تعیین شد. دانسیته از تقسیم جرم نمونه بر ابعاد آن

pH محلول با استفاده از محلول های کلریدریک اسید ۰/۱ مولار و سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار در مقدار ۴ تنظیم شد. نمونه به مدت ۸ ساعت دیگر در دمای ۲۵ °C تحت عمل هم زدن در داخل جار بی هوازی که کاملاً درزبندی شده بود و اکسیژن آن توسط جاذب های اکسیژن گرفته می شد (برای جلوگیری از فرآیند زود هنگام اختتام پلیمریزاسیون به دلیل وجود مولکول های ممانعت کننده اکسیژن)، قرار گرفت. سپس مقدار ۰/۰۵۴ g پتاسیم پرسولفات جهت فراهم کردن بستری برای قرار گرفتن نانوذرات بر روی آن و سهولت در جداسازی هنگام عمل سانتریفیوژ، اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت دیگر در همان شرایط بی اکسیژن در دمای ۷۰ °C تحت هم زدن قرار گرفت.

با ظاهر شدن ذرات معلق، مخلوط حاصل در حمام یخ سرد شده و نانوذرات بدست آمده با سانتریفیوژ با دور ۱۶۰۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه جدا شدند. سپس نانوذرات با فریزدرایر خشک شده و برای آزمایش های جذب مورد استفاده قرار گرفتند [۲۳].

۲-۲-۲- تهیه فیلم

به منظور تهیه فیلم، مقدار مشخص از نشاسته ذرت در ۱۰۰ ml آب دیونیزه ریخته شد، سپس گلیسرول به عنوان نرم کننده با غلظت معین به آن اضافه گردید، این مخلوط در دمای ۸۰ °C توسط همزن مغناطیسی بطور پیوسته هم زده شد تا اینکه ژل مناسبی تشکیل گردید. عمل هم زدن و حرارت دادن مخلوط تا رسیدن به حجم ۴۰ ml ادامه یافت. در نهایت ژل حاصل به ظرف هایی با قطر ۱۵ cm که در سطحی تر از قرار داده شده بودند به آهستگی بدون اینکه جابجایی تشکیل شود منتقل گردیده و در مدت ۴۸ ساعت در مجاورت هوا و دمای محیط خشک شد. در فیلم هایی که طبق طرح آزمایشات، نانوذرات کیتوزان و آلونته‌ورا باید اضافه می شدند، بعد از افزودن نشاسته، نانوذرات کیتوزان و آلونته‌ورا نیز اضافه گردیده و پس از افزودن گلیسرول به مدت ۲۵ دقیقه در هموژنایزر اولتراسونیک به صورت کاملاً

به مدت ۴۸ ساعت در دسیکاتور با رطوبت نسبی معین، تعدیل رطوبتی گردیدند. سپس ۴ g سولفات کلسیم که رطوبت نسبی معادل صفر ایجاد می‌کند، داخل ظرف مقاوم به نفوذ بخار آب (ظرف شیشه‌ای به قطر ۲/۵ و ارتفاع ۸ cm) قرار داده شد. لازم به ذکر است که سولفات کلسیم قبل از استفاده به مدت ۲ ساعت در آون °C ۱۰۵ قرار گرفت تا فاقد هر گونه رطوبت احتمالی گردد. روی درپوش این ظروف منفذی به قطر ۱۸ mm تعبیه و قطعه‌ای از فیلم مشروط شده در این منفذ قرار داده شد. دهانه ظرف به صورت کامل درزبندی گردید تا امکان ورود رطوبت به جز از سطح فیلم ممکن نباشد. سپس ظروف شیشه‌ای و محتویات آنها توزین شده و در داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع کلرید سدیم که رطوبت نسبی ۷۵٪ ایجاد می‌کند، قرار گرفتند. به دلیل اختلاف فشار بخار در دو طرف فیلم، رطوبت از فیلم عبور و توسط ماده جاذب رطوبت جذب می‌شود و وزن ظرف افزایش می‌یابد. دسیکاتور داخل گرم‌خانه °C ۲۵ قرار داده شد و به مدت ۲ روز هر چند ساعت یکبار ظروف توزین گردیدند؛ میزان انتقال بخار آب از رابطه (۴) محاسبه شد.

$$WVP = \frac{mL}{At \Delta P} \left[\frac{g \text{ mm}}{m^2 d \text{ kPa}} \right] \quad (4)$$

در این رابطه m میزان افزایش وزن ظروف بعد از گذشت زمان آزمون، t مدت زمان آزمون (m/t) شیب خط نمودار m بر حسب t می‌باشد، L ضخامت فیلم، A مساحت مؤثر فیلم، و ΔP تفاوت فشار بخار بیرون و درون ظروف آزمایش (۳۲۰۰ پاسکال) می‌باشد.

۲-۲-۷- آزمون میکروبی

برای فعال‌سازی سوبه‌های میکروبی ابتدا باکتری در محیط کشت رشد داده شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تعیین میزان فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات کیتوزان و پودر آلونوره‌ورا، روش دیسک و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد مورد استفاده

(حجم) طبق $\rho = m/v$ بدست آمد. ویژگی ممانعت‌کنندگی در برابر نور مرئی در فیلم‌ها با استفاده از روش یان و همکاران با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis مدل CAM SPECT M550 ساخت کشور انگلستان در طول موج ۶۰۰ nm اندازه‌گیری شد. بدین منظور، قطعاتی از فیلم‌ها به اندازه $1 \times 4 \text{ cm}^2$ بریده و ضخامت آنها در ۵ نقطه در امتداد طول اندازه‌گیری شد، سپس قطعه فیلم در دیواره شفاف داخل سل کوارتزی دستگاه قرار داده شد و میزان جذب (A) قرائت گردید. میزان شفافیت از رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$\text{Transparency} = A_{600} / X \quad (1)$$

در این رابطه A_{600} میزان جذب در ۶۰۰ nm و X متوسط ضخامت فیلم بر حسب mm می‌باشد [۱۷].

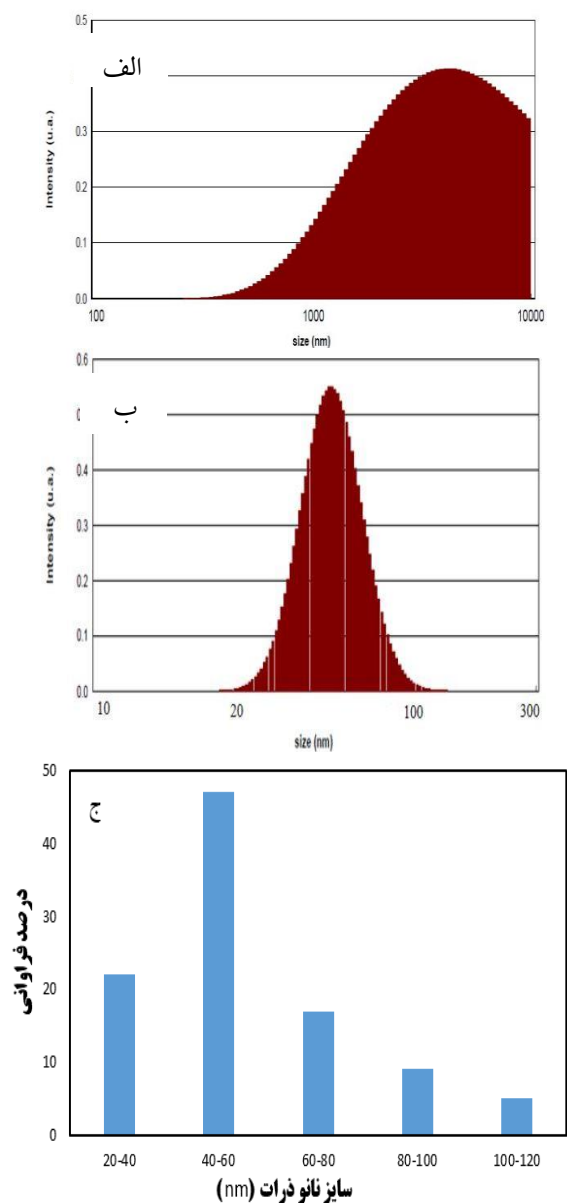
۲-۲-۵- خواص مکانیکی فیلم

ویژگی‌های مقاومت کششی و درصد افزایش طول تا نقطه پارگی بر اساس استاندارد ASTM D882-09 با اندکی تغییرات بوسیله دستگاه بافت‌سنج LLOYD مدل RS232 ساخت شرکت AMETEK آمریکا اندازه‌گیری شدند. بدین منظور، از نمونه‌ها قطعاتی به اندازه $10 \times 10 \text{ cm}^2$ بریده و ضخامت آنها در ۱۰ نقطه در امتداد فیلم اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات منیزیم که رطوبت نسبی $50 \pm 5\%$ در دمای °C ۲۵ ایجاد می‌کند به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند تا از نظر میزان رطوبت و احراز شرایط استاندارد مذکور تعدیل گردند. برای انجام این آزمایشات فاصله دو فک دستگاه قبل از شروع آزمون ۸۰ mm و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰ mm/min و سلول بار ۱ kN تنظیم گردید.

۲-۲-۶- تعیین نفوذپذیری نسبت به بخار آب

میزان انتقال بخار آب فیلم‌ها با استاندارد ASTM E96(1995) و به روش دیسکانت تعیین شد [۲۴]. بدین منظور ابتدا فیلم‌ها

نانوذرات کیتوزان در این تحقیق قابل مقایسه با تحقیقی مشابه از اصغری و همکاران بر روی بهینه‌سازی تولید نانوذرات کیتوزان است [۲۶].



شکل ۱: الف) نمودار پراکنندگی اندازه ذرات کیتوزان بر حسب شدت پراش اشعه لیزر، ب) پراکنندگی نانوذرات تولید شده بر حسب شدت پراش اشعه لیزر و ج) توزیع اندازه نانوذرات تولید شده.

قرار گرفت [۲۵]. برای این منظور سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با رقت 10^8 cfu/ml (بر اساس محلول نیم مک‌فارلند)، توسط سوآپ بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت چمنی داده شد. سپس دیسک‌های ۶ میلی‌متری از ورقه نانو فیلم حاوی مقادیر مختلف نانوکیتوزان و آلوه‌ورا برش داده شده، با الکل اتیلیک ۷۰٪ ضد عفونی گردیده و بر روی محیط کشت آغشته به باکتری مورد نظر قرار داده شدند. سپس ظرف‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C در گرم خانه قرار گرفتند. لازم بذکر است که محیط کشت فاقد دیسک به عنوان کنترل منفی و دیسک بدون نانوذرات کیتوزان و آلوه‌ورا به عنوان شاهد در آزمون مورد استفاده قرار گرفتند. آزمون در ۳ تکرار انجام شده و قطر هاله‌ها با استفاده از کولیس دیجیتالی و بر حسب mm اندازه‌گیری شد.

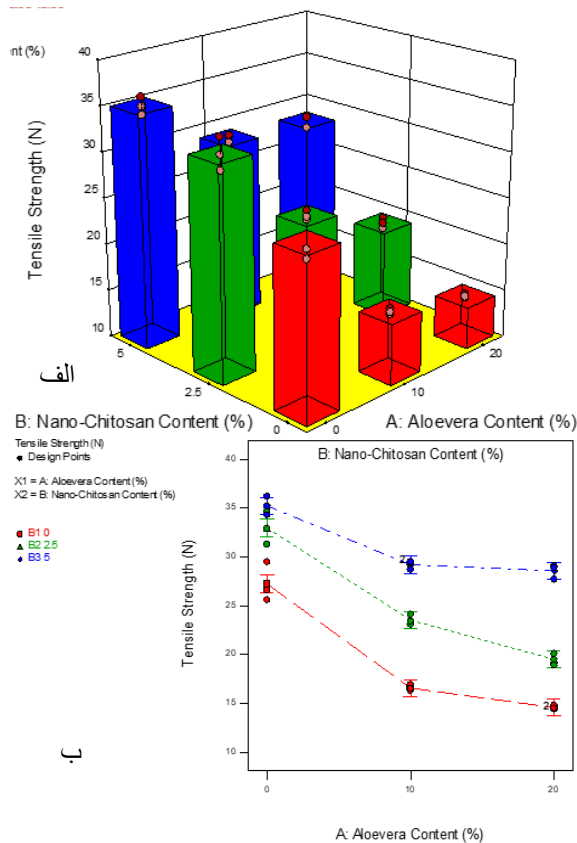
۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج حاصل از آنالیزهای قطر

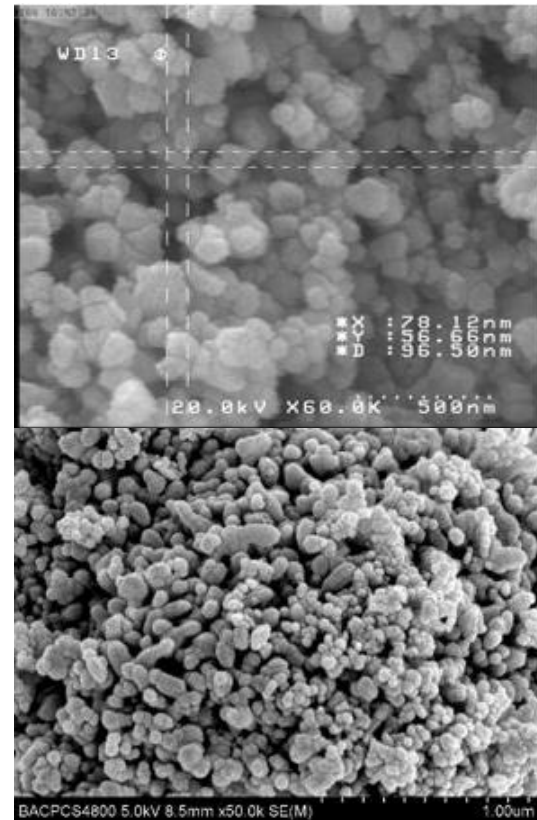
هیدرودینامیکی و SEM نانوذرات کیتوزان

نمودار پراکنندگی پلیمر کیتوزان، نانوذرات کیتوزان و نیز توزیع اندازه نانوذرات کیتوزان تولید شده در شکل (۱-الف) نشان داده شده‌اند. همانطور که در شکل (۱-ب) مشاهده می‌شود اندازه نانوذرات در محدوده ۲۰ تا ۱۲۰ nm می‌باشد. ۹۵ درصد نانوذرات قطری در محدوده کمتر از ۲۰ تا ۱۰۰ nm دارند و تنها ۵ درصد از ذرات دارای قطری بیشتر از ۱۰۰ nm هستند که احتمالاً به دلیل بهم چسبیدن نانوذرات می‌باشد.

میکروگراف‌های SEM نانوذرات کیتوزان در شکل (۲) نشان داده شده‌اند. نتایج آنالیز SEM نشان دهنده ساختاری همگن و نیمه کروی و نیز اندازه زیر ۱۰۰ nm از نانو ذرات کیتوزان بوده و تجمعی نیز بین ذرات مشاهده نمی‌شود. ساختار



شکل ۳: تاثیر آلوه‌ورا و نانو کیتوزان بر استحکام کششی فیلم زمینه نشاسته.



شکل ۲: تصاویر SEM نانوذرات کیتوزان.

۳-۲- اثر افزودن آلوه‌ورا و نانوذرات کیتوزان بر استحکام کششی فیلم‌ها

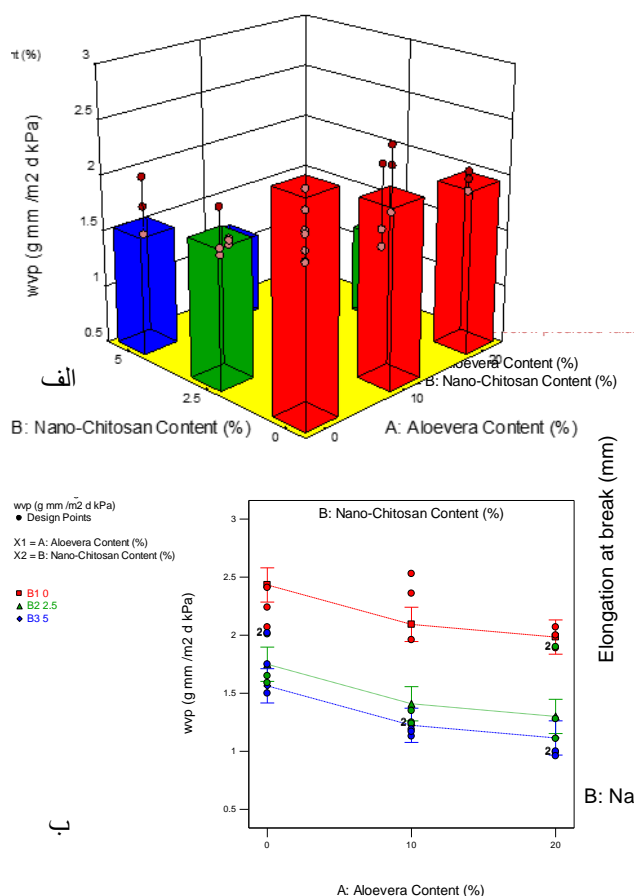
تاثیر افزودن آلوه‌ورا و نانو کیتوزان بر استحکام کششی فیلم زمینه نشاسته در شکل (۳-الف و ب) نشان داده شده است. چنانکه ملاحظه می‌گردد، صمغ آلوه‌ورا موجب کاهش و نانوذره کیتوزان باعث افزایش مقاومت فیلم در برابر کشش می‌شود. صمغ آلوه‌ورا بین زنجیره‌های نشاسته (آمیروز و آمیلو پکتین) قرار گرفته و باعث کاهش میزان نیروی بین مولکولی میان زنجیره‌های آمیروز و آمیلو پکتین می‌گردد. به همین علت زنجیره‌های آمیروز و آمیلو پکتین روی یکدیگر بهتر حرکت کرده و این امر باعث کاهش مقاومت به کشش می‌شود [۲۷]. نانوذرات کیتوزان به دلیل تشکیل پیوندهای آمینی با زنجیره‌های آمیروز و آمیلو پکتین، باعث تقویت نیروی بین مولکولی شده و افزایش مقاومت به کشش فیلم را به دنبال خواهد داشت.

چنانکه ملاحظه می‌گردد، در حضور نانوذرات کیتوزان در شرایطی که مقدار آلوه‌ورا صفر بوده است، میزان افزایش استحکام کششی نسبت به نمونه شاهد (فیلم نشاسته بدون آلوه‌ورا و نانو کیتوزان) ۲۱/۱٪ به ازای سطح اول (۲/۵٪ نانو کیتوزان) و ۲۹/۳۸٪ به ازای سطح دوم (۵٪ نانو کیتوزان) بوده است، اما در حالی که مقدار نانوذرات کیتوزان صفر بوده، استحکام کششی فیلم‌ها در حضور آلوه‌ورا به میزان ۳۹٪ در سطح اول (۱۰٪ آلوه‌ورا) و ۴۶/۴٪ در سطح دوم (۲۰٪ آلوه‌ورا) کاهش یافته است. نکته قابل توجه این است که مقاومت فیلم تولید شده به کشش در حضور ماکزیمم مقدار هر دو عامل آلوه‌ورا و نانو کیتوزان (۲۰٪ آلوه‌ورا و ۵٪ نانو کیتوزان) ۴/۹۲٪ افزایش نسبت به نمونه شاهد نشان داده است که حاکی از تاثیر متقابل مثبت دو عامل تقویت کننده در ساختار فیلم می‌باشد.

طول افزایش قابل ملاحظه‌ای در حد ۱۰۴٪ نسبت به فیلم شاهد نشان داده است. نتیجه حاصل نشان می‌دهد که بین پلیمر زمینه (نشاسته) و نیز نانوذرات کیتوزان و آلوه‌ورا، برهمکنش مناسبی در حضور گلیسرول وجود دارد.

۳-۴- بررسی میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم‌ها

در شکل (۵)، میزان نفوذپذیری فیلم‌های تهیه شده نسبت به بخار آب نشان داده شده است.



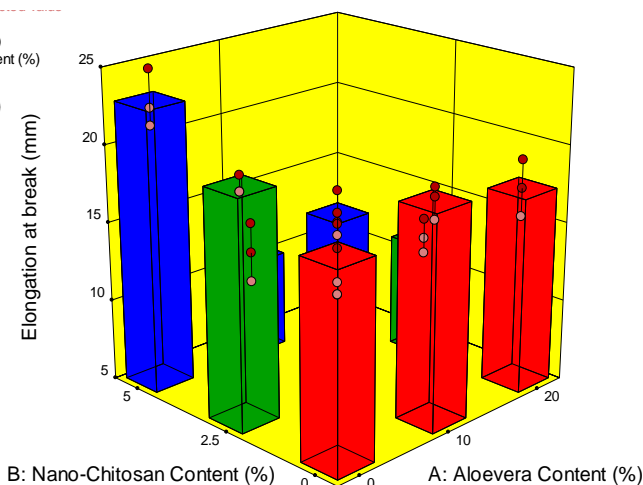
شکل ۵: تاثیر میزان آلوه‌ورا و نانوکیتوزان بر نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم نانوکامپوزیتی زمینه نشاسته.

چنانکه ملاحظه می‌گردد، نفوذپذیری نسبت به بخار آب (water vapor permeability) در فیلم با افزایش درصد آلوه‌ورا و نیز نانوذرات کیتوزان در پلیمر زمینه، کاهش یافته است، ذرات نانوکیتوزان بین زنجیره‌های آمیلوز و آمیلو

خصوصیات مکانیکی فیلم‌های کامپوزیتی به توزیع ذرات در پلیمر زمینه و برهمکنش‌های درون و بین مولکولی در شبکه کامپوزیت بستگی دارند [۲۸]. برهمکنش بین نانوذرات کیتوزان از طریق پیوندهای هیدروژنی و الکترواستاتیکی و در نتیجه تشکیل کمپلکس‌های پلی الکتروولیت موجب ارتقاء ویژگی‌های مکانیکی فیلم شده است.

۳-۳- اثر افزودن آلوه‌ورا و نانوذرات کیتوزان بر ازدیاد طول فیلم‌ها

چنانکه در شکل (۴) ملاحظه می‌گردد، افزایش آلوه‌ورا به میزان ۱۰٪، اندکی موجب افزایش ازدیاد طول فیلم شده ولی در مقادیر بیشتر از آن کاهش ازدیاد طول فیلم را بدنبال دارد. دیواندری و همکاران نیز در سال ۲۰۰۱ گزارش نمودند که افزایش میزان صمغ‌هادر فیلم‌های خوراکی اساساً منجر به کاهش میزان ازدیاد طول می‌شود [۲۹].



شکل ۴: تاثیر میزان آلوه‌ورا و نانوکیتوزان بر ازدیاد طول فیلم زمینه نشاسته.

افزودن نانوذرات کیتوزان به ساختار فیلم، در غیاب آلوه‌ورا باعث افزایش ازدیاد طول فیلم تا ۳۱٪ گردیده است. همچنین همانطور که در شکل مشاهده می‌شود، برهمکنش آلوه‌ورا و نانوکیتوزان دارای اثر افزایشی بر ازدیاد طول فیلم بوده است، چنانکه در فیلم حاوی ۲۰٪ آلوه‌ورا و ۵٪ نانوکیتوزان ازدیاد

پذیرش و کاربرد آن افزایش خواهد یافت. در شکل (۶) نمونه‌هایی از فیلم تهیه شده قابل مشاهده است.



شکل ۶: نمونه‌هایی از فیلم‌های تولید شده.

شکل (۷) نیز تاثیر میزان آلئوئه‌ورا و نانوکیتوزان بر میزان شفافیت در فیلم‌های نانوکامپوزیتی زمینه نشاسته تهیه شده را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج بدست آمده، افزودن هر دو عامل تقویت کننده به ساختار فیلم، موجب قدری کاهش شفافیت فیلم شده است؛ اما استفاده از آلئوئه‌ورا نسبت به نانوذرات کیتوزان کاهش بیشتری را در شفافیت فیلم‌ها موجب گردیده است. گیاه آلئوئه‌ورا به دلیل دارا بودن فیبر در ساختار خود و ایجاد اتصالات با نشاسته باعث تغییر رنگ و کاهش شفافیت فیلم می‌شود [۳۳]. بقای و همکاران نیز در تحقیق خود بر روی تاثیر افزودن اسانس سیر به فیلم‌های خوراکی از پروتئین سویا به نتیجه‌ای مشابه رسیدند. بر اساس آزمایشات آنها، افزودن اسانس سیر موجب کاهش میزان

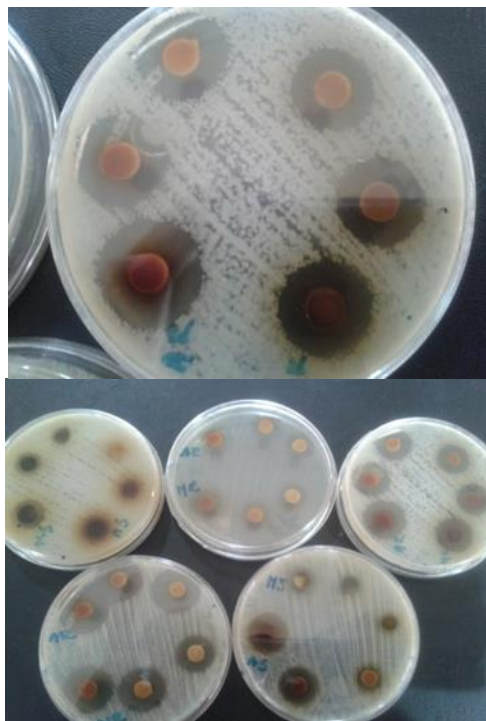
پکتین قرار گرفته و با کاهش فاصله بین زنجیره‌ها باعث کاهش نفوذ بخار آب می‌شوند.

با قرارگیری نانوذرات در بین رشته‌های بیوپلیمر نشاسته، بازدارندگی فیلم در مقابل مولکول‌های بخار آب افزایش می‌یابد، زیرا از یک طرف تحرک موضعی زنجیره‌های پلیمر کاهش یافته و فضای خالی بین آنها کمتر می‌شود و از طرف دیگر مولکول‌های بخار آب برای عبور از پلیمر بایستی مسیر زیگزاگی طولانی را طی کنند. بدین ترتیب زمان لازم برای عبور این مولکول‌ها از فیلم افزایش یافته و در نتیجه نفوذپذیری آنها از فیلم کاهش می‌یابد [۳۰]. از طرفی نانوکیتوزان به دلیل گروه آمین موجود در ساختار خود دارای خاصیت چربی دوستی می‌باشد [۳۱]. هر چه نسبت برهمکنش‌های قطبی-یونی به برهم کنش‌های غیر قطبی (آبگریز) بیشتر باشد، فیلم نسبت به بخار آب بازدارندگی بالاتری نشان می‌دهد؛ از این رو در نمونه‌های فیلم تهیه شده با نانوکیتوزان، میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب کاهش پیدا کرده است. آلئوئه‌ورا و نانوذرات کیتوزان هر یک به تنهایی موجب کاهش نفوذپذیری فیلم زمینه نشاسته به ترتیب به میزان ۱۱/۱۶ و ۲۱/۴۳ درصد نسبت به نمونه شاهد شدند. همچنین در فیلم حاوی مقدار ماکزیمم از هر دو عامل تقویت کننده (سطح سوم آلئوئه‌ورا و نانوذرات کیتوزان)، نفوذپذیری نسبت به بخار آب تا ۵۶/۲۵٪ نسبت به شاهد کاهش یافته است که این امر بیانگر اثر افزایشی برهمکنش ژل آلئوئه‌ورا و نانوکیتوزان در ساختار فیلم زمینه نشاسته می‌باشد. این کاهش میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب منطبق بر نتایج بدست آمده توسط بلقیسی و همکاران در مورد کاهش نفوذپذیری فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر در اثر افزودن منوگلیسیرید، نسبت به بخار آب و اکسیژن می‌باشد [۳۲].

۳-۵- بررسی شفافیت

به طور کلی، هر چه یک فیلم پلیمری شفاف‌تر بوده و به پلاستیک‌های حاصل از پلیمرهای سنتزی شبیه‌تر باشد، میزان

اما همانطور که قابل مشاهده می‌باشد، فیلم تولید شده اثر بازدارندگی بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت داشته است.



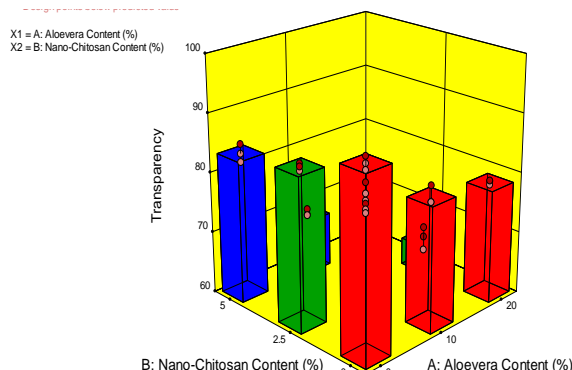
شکل ۸: قطر هاله عدم رشد تعدادی از نمونه‌ها.

بر اساس نتایج بدست آمده فعالیت ضد باکتریایی نانوکامپوزیت حاوی آلونئورا و نانوکیتوزان موجب افزایش قطر هاله عدم رشد باکتری اشرشیاکلی تا حدود ۴۴/۶۵٪ شده است در حالی که در مورد استافیلوکوکوس اورئوس به ۷۸/۵ درصد هم رسیده است. همچنین قطر هاله تولید شده در فیلم‌های حاوی نانوکیتوزان بیشتر از فیلم‌های حاوی آلونئورا می‌باشد.

خاصیت ضد میکروبی نانوکیتوزان ناشی از گروه‌های آمینی با بار مثبت است [۳۶]. این گروه‌ها با غشاء سلولی میکروارگانسیم‌ها که دارای بار منفی است واکنش می‌دهند. این واکنش منجر به نشت پروتئین و سایر اجزا درون سلولی میکروارگانسیم‌ها می‌گردد [۳۷].

تفاوت عملکرد ضد میکروبی فیلم‌ها در مورد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به ساختار و شکل ظاهری این دو گروه باکتری مرتبط است.

شفافیت در نمونه‌های فیلم خوراکی گردید که این کاهش به ماهیت روغنی اسانس سیر نسبت داده شد [۳۴].



شکل ۷: تاثیر میزان آلونئورا و نانوکیتوزان بر میزان شفافیت در فیلم‌های نانوکامپوزیتی زمینه نشاسته.

شفافیت شاخصی مؤثر در تعیین اطلاعات مربوط به اندازه ذرات پراکنده شده در ماتریکس پلیمر بوده بطوریکه ذرات گرانول‌های بزرگتر از طول موج مرئی مسیر عبور نور را مسدود نموده و باعث افزایش کدورت فیلم می‌شوند [۳۵]. در فیلم‌های تولید شده حاوی سطح سوم آلونئورا (۲۰٪)، میزان کاهش شفافیت نسبت به نمونه شاهد ۱۲/۴۳٪ و در مورد سطح سوم نانوذرات کیتوزان (۵٪)، ۷/۰۶ بوده است. فیلم حاوی ۲۰٪ آلونئورا و ۵٪ کیتوزان نیز به میزان ۲۷/۳٪ کاهش شفافیت نشان داد.

۳-۶- بررسی خواص ضد میکروبی

هاله عدم رشد تشکیل شده پیرامون تعدادی از نمونه‌ها در شکل (۸) نشان داده شده است. تاثیر میزان آلونئورا و نانوکیتوزان بر قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری گرم منفی اشرشیاکلی و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس نیز در شکل‌های (۹- الف و ب) نشان داده شده اند. چنانکه در شکل (۹) ملاحظه می‌گردد، فیلم‌های حاوی آلونئورا و نانوکیتوزان اثر کاهشی بر رشد هر دو نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت داشته‌اند و قطر هاله متناسب با افزایش میزان آلونئورا و نانوکیتوزان در ساختار فیلم، افزایش پیدا کرده است.

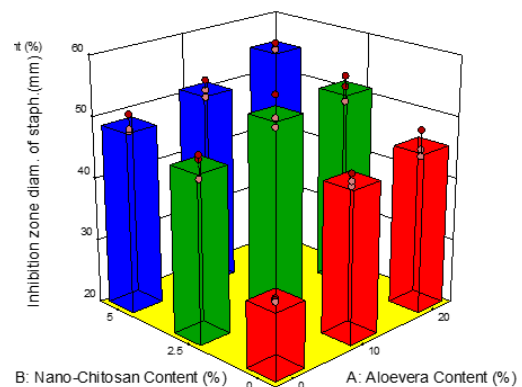
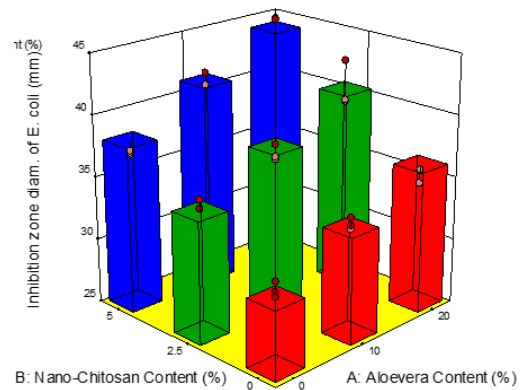
در تحقیقی مشابه از طباطبایی و همکاران در تولید پوشش خوراکی ضد میکروبی بر پایه موسیلاژ دانه بارهنگ در ترکیب با اسانس گلپر، بیشترین تاثیر اسانس گلپر بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و در غلظت ۱۶ mg/ml گزارش شد. همچنین، کمترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری های گرم منفی (سودوموناس اثرورینوزا و اشرشیا کلی) در غلظت های مختلف اسانس گلپر بود [۳۸].

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق فیلم نانوکامپوزیتی ضد میکروبی زیست تخریب پذیر بر پایه نشاسته ذرت تهیه شده و در ساختار آن از آلوهورا و نانوذرات کیتوزان به عنوان عوامل تقویت کننده و ضد میکروبی استفاده گردید. نانوذرات کیتوزان بر پایه بسیار شدن اسید مالئیک تهیه شدند. میانگین قطر ذرات سنتز شده کمتر از ۱۰۰ nm بدست آمد. طبق نتایج بدست آمده از آزمون مکانیکی، مقاومت فیلم تولید شده به کشش در حضور ماکریم مقدار هر دو عامل آلوهورا و نانوکیتوزان (۲۰٪ آلوهورا و ۵٪ نانوکیتوزان) ۴/۹۲ درصد افزایش نسبت به نمونه شاهد و ازدیاد طول نیز افزایش قابل ملاحظه ای در حد ۱۰۴٪ نسبت به فیلم شاهد نشان داده است که حاکی از تاثیر متقابل مثبت دو عامل تقویت کننده در ساختار فیلم می باشد. نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم با افزایش درصد آلوهورا و نیز نانوذرات کیتوزان در پلیمر زمینه، کاهش یافت. همچنین تاثیر عوامل ضد میکروبی آلوهورا و نانوکیتوزان بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت مورد بررسی قابل توجه بوده است. قطر هاله تشکیل شده در فیلم های حاوی نانوکیتوزان بیشتر از قطر هاله در فیلم های تشکیل شده از آلوهورا بود.

مراجع

- [1] M. Kolybaba, L. Tabil, S. Panigrahi, W. Crerar, T. Powell, B. Wang, *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, **32**, 2006, 1.
- [2] M. Zhai, F. Yoshi, *Carbohydrate Polymers*, **52**, 2003, 311.
- [3] K. Majdzadeh-Ardakani, A. Navarchian, F. Sadeghi, *Carbohydrate Polymers*, **79**, 2010, 547.



شکل ۹: تاثیر میزان آلوهورا و نانوکیتوزان بر قطر هاله عدم رشد ناشی از: الف) باکتری گرم منفی اشرشیا کلی و ب) باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس.

پوشش سلولی گرم مثبت ها نسبتا ساده بوده، از دو تا سه لایه تشکیل شده است: غشای سیتوپلاسمی، یک یا چند لایه پپتیدوگلیکان ضخیم، و در بعضی باکتری ها یک لایه به نام کپسول باکتری یا یک لایه S در خارج وجود دارد. باکتری های گرم مثبت نسبت به پنی سیلین و مواد ضد باکتریایی حساس تر از گرم منفی ها هستند. پوشش سلولی باکتری های گرم منفی یک ساختمان چندلایه ای و بسیار پیچیده می باشد. غشای سیتوپلاسمی (که در باکتری های گرم منفی، غشای داخلی نامیده می شود) به وسیله یک ورقه مسطح از پپتیدوگلیکان پوشیده می شود که یک لایه پیچیده به نام غشای خارجی به آن متصل می گردد. یک کپسول خارجی نیز ممکن است وجود داشته باشد. در باکتری های گرم منفی، تعداد لایه های پپتیدوگلیکان کم و حداکثر سه تا است؛ در مقایسه با باکتری های گرم مثبت، گرم منفی ها به خاطر دیواره نفوذ ناپذیرشان به آنتی بیوتیک ها مقاوم ترند.

- [23] D. Schlemmer, R. Angelica, M. Sales, *Composite Structures*, **92**, 2010, 2066.
- [24] T. Gutierrez, A. Ponce, V. Alvarez, *Materials Chemistry and Physics*, **194**, 2017, 283.
- [25] A. Giannakas, M. Vlacha, C. Salmas, A. Leontiou, *Carbohydrate Polymers*, **140**, 2016, 408.
- [۲۶] سید محسن اصغری، ساناز ابراهیمی سامانی، زهرا سراج، خسرو خواجه، سامان حسینخانی، "بهبود سازی سنتز نانوذرات کیتوزان"، زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، شماره ۴، ۱۳۹۲، ۹-۱.
- [27] V. Sessini, M. Arrieta, J. Kenny, L. Peponi, *Polymer Degradation and Stability*, **132**, 2016, 157.
- [28] V. Campos-Requena, B. Rivas, M. Perez, C. Figueroa, *Postharvest Biology and Technology*, **129**, 2017, 29.
- [29] M. Divandari, J. Campbell, *Trans. AFS*, **109**, 2001, 433.
- [۳۰] بابک قنبرزاده، هادی الماسی، "نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری زیست تخریب پذیر: روش‌های تولید و ویژگی‌ها"، فصلنامه دنیای نانو، شماره ۱۵، ۱۳۸۸، ۲۰-۱۱.
- [31] H. Tian, K. Wang, D. Liu, J. Yan, A. Xiang, *International Journal of Biological Macromolecules*, **101**, 2017, 314.
- [۳۲] سبا بلقیسی، محمدحسین عزیزی، گیتی ظهوریان، زهرا هادیان، "ارزیابی خواص فیزیکی فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر-منوگلیسرید اثر پوشش دهی آن بر افت رطوبت و ویژگی‌های حسی گوشت تازه گوسفند"، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، شماره ۳، ۱۳۸۷، ۹۳-۸۳.
- [33] A. Edhirej, S. Sapuan, M. Jawaid, N. Zahari, *International Journal of Biological Macromolecules*, **101**, 2017, 75.
- [۳۴] هما بقایی، فریماه آقایی، ناصر صداقت، محبت محبی، "بررسی اثر افزودن اسانس سیر بر ویژگی‌های مکانیکی، فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا" پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، شماره ۸، ۱۳۹۱، ۲۷۹-۲۸۷.
- [35] M. Lai, P. Liu, H. Lin, Y. Luo, H. Li, X. Wang, R. Sun, *Carbohydrate Polymers*, **137**, 2016, 375.
- [36] P. Cazon, G. Velazquez, J. Ramirez, M. Vazquez, *Food Hydrocolloids*, **68**, 2017, 136.
- [37] S. Chang, H. Lai, *Food Hydrocolloids*, **56**, 2016, 254.
- [۳۸] فریده طباطبایی بزدی، بهروز علیزاده بهبهانی، علیرضا وسیعی، سحر روشنک، سید عل مر ترضوی، "تولید پوشش خوراکی ضد میکروبی بر پایه موسیلاژ دانه بارهنگ کبیر در ترکیب با اسانس گلپر: بررسی ویژگی‌ها و کاربرد آن در گوشت گاو نگهداری شده در دمای یخچال"، فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی، شماره ۳، ۱۳۹۶، ۲۱-۱.
- [4] A. Bromand, Z. Emam-Djomeh, M. Hamidi, S.H. Razavi, *Antimicrobial, Science and technology*, **44**, 2011, 2316.
- [5] M. Avella, J.J. De Vlieger, M.E. Errico, S. Fischer, P. Vacca, M.G. Volpe, *J. of Food Chemistry*, **93**, 2005, 467.
- [6] H.R. Bolin, C.C. Huxsoll, *Journal of food science*, **56**, 1998, 416.
- [7] P. Espitia, W. Xian, R. Bustillos, N. Soares, T. McHugh, *Article in Food Hydrocolloids*, **35**, 2014, 287.
- [8] S. Shankar, J. Rhim, *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, **26**, 2019, 1.
- [9] J.P. Paula, F.S. Nilda, F. Reinaldo, S. Jane, R.C. Selia, M. Débora, A.B. Rejane, O.C. Sukarno, J.A. Nelio, A.A. Eber, *J carbohydrate polymers*, **94**, 2013, 199.
- [10] O.A. Silva, Michelly G. Pella, Matheus G. Pella, J. Caetano, D.C. Dragunski, *International Journal of Biological Macromolecules*, **128**, 2019, 290.
- [11] I. Shahabi-Ghahfarrokhi, V. Goudarzi, A. Babaei-Ghazvini, *International Journal of Biological Macromolecules*, **122**, 2019, 201.
- [12] W. Xie, P. Xu, W. Wang, Q. Liu, *Carbohydrate polymers*, **50**, 2002, 35.
- [13] C. Damm, H. Munstedt, *J. of Materials Science*, **42**, 2007, 6067.
- [14] Y. Liu, X. Wang, F. Yang, X. Yang, *J. of Microporous and Mesoporous Materials*, **114**, 2008, 431.
- [15] Y. Chung, S. Ansari, L. Estevez, H. Lai, *Carbohydrate Polymers*, **79**, 2010, 391.
- [16] S. Sayanjali, B. Ghanbarzadeh, S. Ghiassifar, *LWT-Food Science and Technology*, **44**, 2011, 1133.
- [17] A.T. Changa, R. Frias, L.V. Alvarez, U.G. Bigol, J.D. Guzman, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **17**, 2019, 189.
- [18] W. Cao, L. Yue, Z. Wang, *Carbohydrate Polymers*, **215**, 2019, 226.
- [19] F. Xie, E. Pollet, P. Halley, L. Averous, *Progress in Polymer Science*, **38**, 2013, 1590.
- [20] M. Rasouli, M. Koushesh-Saba, A. Ramezani, *Scientia Horticulturae*, **247**, 2019, 27.
- [21] N. Aghamohamadi, N. Sharifi-Sanjani, R. Faridi-Majidi, S. Ahmad-Nasrollahi, *Materials Science and Engineering: C*, **94**, 2019, 445.
- [22] N. Magalhães, C. Andrade, *Carbohydrate Polymers*, **75**, 2009, 712.