شیمی سبز و فناوری های پایدار

مروری بر ساختار، روش‌های استخراج وکاربرد فیلم‌های نازک و هیدروژل‌های سوپرامولکول کاراگینان

اکبر میرزایی ملیانی[1#]، مریم اسم خانی[1#]، شهرزاد جوانشیر[1*]

[1]- گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه علم وصنعت ایران، تهران

[#] این نویسندگان مشارکت یکسان در نوشتن مقاله داشته اند.

Email: shjavan@iust.ac.ir

چکیده

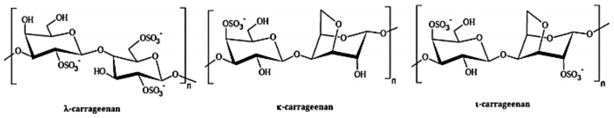
سوپرامولکول کاراگینان یک کربوهیدرات طبیعی است که عمدتا از جلبک‌ها استخراج می‌شود. این پلی‌ساکارید باتوجه به ساختار خود به انواع مختلفی تقسیم بندی می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که عمده مصرف کاراگینان در تهیه فیم‌های نازک، هیدروژل و همچنین کامپوزیت‌هایی بر پایه کاراگینان با استفاده از انواع مختلف پرکننده‌های طبیعی و سنتزی است. به طور عمده از انواع مخلتف کاراگینان در صنایع گوناگون مانند بسته‌بندی مواد غذایی، صنایع لبنی، دارورسانی، مهندسی بافت، حسگر، کاتالیزگر و تهیه مواد آنتی باکتریال استفاده می‌شود. هدف ما در این مقاله مروری بررسی روش‌های استخراج ، ساختار و کاربردهای مواد ترکیبی زیستی بر پایه سوپرامولکول کاراگینان است.

واژگان کلیدی: سوپرامولکول کاراگینان، مواد ترکیبی زیستی، فیلم‌های نازک، هیدروژل، خواص ضدباکتری.

مقدمه

کاراگینان یک پلی‌ساکارید خطی است که گروه‌های استر سولفات و گالاکتوز ستون فقرات اصلی ساختار آن می‌باشند. این پلی ساکارید از واحدهای دی-گالاکتوز و 6و3-انیدروگالاکتوز تشکیل شده است که توسط پیوندهای گلیکوزیدی آلفا-1،3 و بتا-1،4 به یکدیگر متصل شده‌اند[1, 2]. نام کاراگینان از جلبک‌های کوندروس [1] و دنتیکولاتوم [2] مشتق شده که به صورت تجاری این جلبک‌ها آیریش‌موس [3] و یا کاراگینان‌موس [4] نامیده می‌شوند[3].

سوپرامولکول کاراگینان به طور معمول از وزن مولکولی بالایی برخوردار است و میانگین جرم مولکولی آن در حدود 100 تا 1000 کیلو دالتون است[1]. سه نوع کاراگینان تجاری وجود دارد که بسته به تعداد گروه‌های عاملی سولفات قرار گرفته در زنجیره پلی‌ساکاریدی آن‌ها به انواع آیوتا(ι)، کاپا(κ) و لامبدا(λ) تقسیم‌بندی می‌شود(جدول 1). به دلیل همین تفاوت در تعداد گروه‌های عاملی، انواع کاراگینان خواص متفاوتی ازجمله انحلال در آب، استحکام، انعطاف‌پذیری، جرم‌مولکولی و... از خود نشان می‌دهند[1-4] (شکل 1).



شکل 1 : ساختار مولکولی ι، κ و λ کاراگینان

جدول 1: مقادیر واحدهای سازنده انواع مختلف کاراگینان

نوع کاراگینان	آیوتا (ι)	کاپا (κ)	لامبدا (λ)
گروه‌های استر سولفات	28-30٪	25-30٪	32-39٪
6،3-انیدروگالاکتوز	25-30٪	28-35٪	0

نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که میزان انحلال کاراگینان در آب به میزان محتوای گروه استر سولفات وابسته است به طوری که لامبدا کاراگینان به دلیل دارا بودن بالاترین میزان گروه استر سولفات به طور کامل در آب محلول می‌باشد [1, 2]. کاراگینان دارای کاربردهای مختلفی از جمله تغلیظ-کننده، امولسیون‌کننده و تثبیت‌کننده مواد غذایی، قوام‌دهنده بستنی و لبنیات، پایدارکننده خمیر دندان و... می‌باشد. همچنین در زمینه‌ی بیوتکنولوژی به عنوان بستر برای سلول-ها و آنزیم‌ها و در پزشکی جهت بررسی اثرات ضدالتهابی داروها مورد استفاده قرار می‌گیرد. ازجمله کاربردهای مهم دارویی کاراگینان می‌توان به فعالیت‌های ضد تومور، ضد ویروس و ضدباکتری و نیز توان آن‌ها در طراحی حامل‌های دارویی اشاره کرد. همچنین دارای اثر ضد انعقاد ناشی از حضور گروه‌های سولفات کاراگینان مورد بررسی قرار گرفته است. از سوی دیگر تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌ی عایق‌ها و پوشش‌های خوراکی ساخته شده از کاراگینان صورت گرفته است که در ادامه به طور مفصل به بررسی آن‌ها خواهیم پرداخت[3, 5-8].

استخراج کاراگینان:

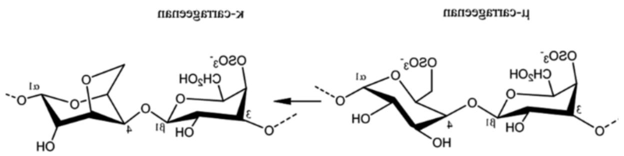
استخراج کاراگینان از جلبک‌های کوندروس [5]، گیگارتیون [6]، کاپافیکوس [7]، ماستوکارپوس [8] و... با استفاده از روش‌هایی مانند تقطیر، رفلاکس، امواج مایکروویو، اولتراسونیک و به دنبال آن رسوب دهی با الکل و رسوب دهی با پتاسیم کلرید انجام شده است[9].

استخراج به کمک رفلاکس و تقطیر:

در فرایند استخراج ابتدا جلبک موردنظر با محلول آب داغ به مدت چند ساعت شسته می‌شود تا آلودگی و نمک‌های آن به طور کامل حذف گردد و سپس با افزودن الکل (اتانول یا متانول) یا پتاسیم کلرید رسوب داده می‌شود. استخراج کاراگینان می‌تواند در حضور یا عدم حضور محلول قلیایی انجام شود. در حضور محلول قلیایی کاراگینان به دست آمده خالص‌تر است و به آن کاراگینان تصفیه شده [9] (RC) گفته می‌شود، اما درغیاب محلول قلیایی، ماده استخراج شده حاوی

[1] Chondrus Crispus
[2] Eucheuma Denticulatum
[3] Irish Moss
[4] Carrageenan Moss
[5] Chrondrus
[6] Gigartion
[7] Kappaphyccus
[8] Mastocarpus
[9] Refined Carrageenan

ناخالصی‌هایی از جمله سلولز و یون‌های فلزی (پتاسیم و سدیم) است. در واقع در حضور محلول قلیایی گروه‌های سولفات گالاکتوز، هیدرولیز شده و به دنبال آن با یون-های K^+،Na^+ تولید K_2SO_4 و Na_2SO_4 می‌کنند به طور کلی استخراج قلیایی کاراگینان به منظور بهبود استحکام ژل حاصله و تولید محصولات تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد. مشخص گردیده‌است که استخراج کاراگینان در محیط قلیایی موجب تبدیل μ-کاراگینان به κ-کاراگینان می‌شود و کاهش درصد گروه سولفات طبق واکنش زیر اتفاق می افتد (شکل2 [8-13].



شکل2: تبدیل μ- کاراگینان به κ - کاراگینان در حضور محلول قلیایی

استخراج به کمک امواج فراصوت:

با توجه به پیشرفت‌های اخیر در تکنولوژی، استفاده از روش-های جدید استخراج مانند اولتراسونیک و مایکروویو بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته است. با به کارگیری این روش-ها حلال به نسبت به روش‌های دیگر به میزان کمتری مصرف شده و همچنین در مدت زمان کمتر، فرآیند استخراج از منبع مختلف با بازده بالاتر انجام می‌شود. تحقیقات رفیق الزمان[10] و همکاران نشان می‌دهد که استفاده از روش اولتراسونیک در استخراج کاراگینان، بازده تولید محصول را به‌میزان 20 درصد افزایش می‌دهد[14]. همچنین تحقیقات دادوکو[11] و همکاران نشان می دهد که بازده استخراج i-کاراگینان با روش اولتراسونیک، 6 درصد نسبت به روش حرارتی افزایش پیدا کرده است.

این پدیده مربوط به انرژی منتقل شده به دیواره‌های سلول گیاهی جلبک در اثر انفجار حفره‌های به وجود آمده تحت امواج اولتراسونیک است. در واقع این حباب‌ها در اثر اعمال امواج فراصوت به محلول و انقباض مولکول‌های حلال به وجود می‌آیند که پس از رشد کردن، انفجار آن‌ها موجب انتقال ضربه با انرژی بالا به دیواره جلبک و استخراج کاراگینان می‌شود. اثر مکانیکی حفره‌زایی[12] قادر است انتشار ترکیبات داخل سلولی موجود در بدن گیاهان را تسهیل کند. این پدیده عمدتا به دلیل ایجاد اختلال در دیواره‌های سلولی است که انتقال جرم محتوای سلول را افزایش می‌دهد[15, 16].

استخراج به کمک امواج مایکروویو:

این روش از انرژی مایکروویو برای گرم کردن حلالهای در تماس با یک نمونه استفاده می‌کند. جلبک به دلیل محتوای بالای رطوبت طبیعی در معرض تابش مایکروویو قرار می‌گیرد و گرمایش سریع داخلی باعث پارگی سلول شده و مواد خود را در حلال آزاد می کند. مزایای اصلی این روش، کاهش مصرف حلال‌ها در مقایسه با روش‌های سنتی، استفاده از انرژی کمتر و کاهش زمان استخراج است. علی رغم مزایای این تکنیک جدید، کاربرد آن برای استخراج کاراگینان کمتر مورد توجه بوده است.

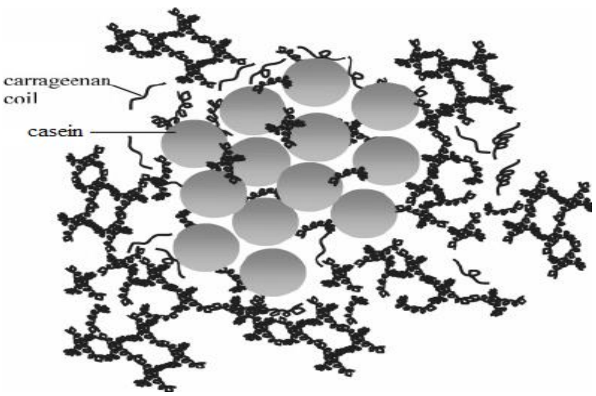
در سال 2014 تحقیقاتی در زمینه استخراج کاراگینان با استفاده از امواج مایکروویو صورت پذیرفت. در این پژوهش استخراج کاراگینان با روش‌های مرسوم در مقابل استخراج به کمک امواج مایکروویو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن اند که استفاده از امواج مایکروویو بازده کمتری را نسبت به روش‌های استخراج به کمک آب گرم دارد. همچنین بررسی اثر pH و زمان نشان داده است که استخراج در محیط قلیایی منجر به کاهش و افزایش زمان استخراج موجب افزایش بازده کاراگینان می‌شود[17].

پایداری و انحلال کاراگینان :

پایداری و انحلال کاراگینان وابسته به عوامل مختلفی از جمله دما، pH، کاتیون، نوع کاراگینان و نوع حلال مورد استفاده است. با افزایش تعداد گروه‌های سولفات حلالیت کاراگینان در آب افزایش پیدا می کند که منجر به کاهش قدرت تشکیل ژل می‌شود، به طوری که لامبدا کاراگینان به دلیل حلالیت بالا

[10] Rafiquzzaman S M
[11] Duduku Krishnaiah
[12] Cavitation

در آب توانایی تشکیل ژل را ندارد[9]. به طور دقیق‌تر و با درنظرگرفتن اثر دما می‌توان گفت تمامی انواع کاراگینان در آب داغ محلول هستند. نوع کاپا و آیوتا در صورتی در آب سرد حل می‌شوند که نمک سدیم آن‌ها مورد استفاده قرار گرفته باشد و درصورتی که از نمک‌های کلسیم و پتاسیم کاراگینان استفاده شود آن‌ها فقط توانایی حل‌شدن در آب داغ(50-60 درجه سانتی گراد) را دارند. همچنین برهمکنش‌های گروه سولفات مولکول‌های کاراگینان با پروتئین‌های شیر موجب می‌شود که کاراگینان در شیر داغ محلول باشد(شکل 3). این برهمکنش بین گروه‌های منفی سولفات کاراگینان با گروه‌های مثبت کازئین شیر صورت می‌گیرد .در واقع کاپاکاراگینان در pH خنثی با شیر برهمکنش می‌دهد و به همین دلیل از کاراگینان به عنوان قوام‌دهنده‌ی لبنیات استفاده می‌کنند[9].



شکل3: برهمکنش پروتئین شیر با کاراگینان

بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد وجود گروه‌های سولفات و هیدروکسیل، کاراگینان را نسبت به pH حساس میکند به طوری‌که محلول کاراگینان در محیط‌های اسیدی با pH کمتر از 4/5 هیدرولیز شده و با افزایش دما تخریب کاراگینان افزایش پیدا می‌کند. این امر موجب می‌شود در محصولات اسیدی صنایع غذایی، کاراگینان در آخرین لحظه به محیط افزوده شود تا تخریب مولکول‌های آن به حداقل برسد[9].

هیدروژل‌های کاراگینان:

بر اساس یکی از دقیق‌ترین تعاریف، هیدروژل‌ها مواد متورم در آب برپایه زنجیره‌های پلیمری دارای اتصالات متقابل یا همان پیوند عرضی[13] می‌باشند. همچنین گروهی دیگر بیان کرده‌اند که هیدروژل از شبکه‌های سه بعدی پلیمری آبدوست ساخته شده‌اند که قادر به جذب مقدار زیادی آب و افزایش حجم هستند [18]. هیدروژل‌ها را می‌توان براساس عوامل مختلف از جمله میزان بار ساختار(یونی، غیریونی و آمفوتریک) ، ظاهر فیزیکی (ماتریس، فیلم یا میکروسفر)، نوع اتصال متقابل (شیمیایی یا فیزیکی) و پیکربندی (آمورف، نیمه کریستالی و کریستالی) دسته‌بندی کرد [18]. یکی از مشخص‌ترین ویژگی‌های کاراگینان توانایی تشکیل هیدروژل است. امروزه هیدروژل‌ها از مواد گوناگونی از جمله پکتین، سلولز، کیتوسان، پلی وینیل الکل، کاراگینان و غیره تهیه می‌شوند. در این میان کاراگینان به دلیل ارزان بودن، دردسترس بودن، عدم سمیت و سهولت تهیه هیدروژل از آن بسیار مورد توجه است. ایجاد شبکه‌ی ژل با تغییر دما یا pH و یا افزودن نمک هایی مانند KCl، $CaCl_2$ و $NaCl$ صورت می‌گیرد. در واقع کاراگینان‌های نوع آیوتا و کاپا در اثر تغییر دما می‌توانند تشکیل ساختارهای سیم‌پیچ مانند بدهند و از این طریق شبکه‌ی ژل را ایجاد کنند[19-21]. خواص و استحکام ژل‌های کاراگینان به نوع کاراگینان مصرفی و گونه کاتیون فلزی استفاده شده بستگی دارد. درحضور یون‌های سدیم و کلسیم، ژل بدست آمده از تراکم کمتر و انعطاف‌پذیری بیشتری برخوردار است، اما یون‌های پتاسیم ژل متراکم تری به وجود می آورند. ژل های بدست آمده از کاپا کاراگینان نسبت به ژل‌های بدست آمده از آیوتا کاراگینان استحکام و انعطاف‌پذیری کمتری دارند که این امر ناشی از مقدار گروه‌های سولفات و برهمکنش آن‌ها با کاتیون است[9, 19].

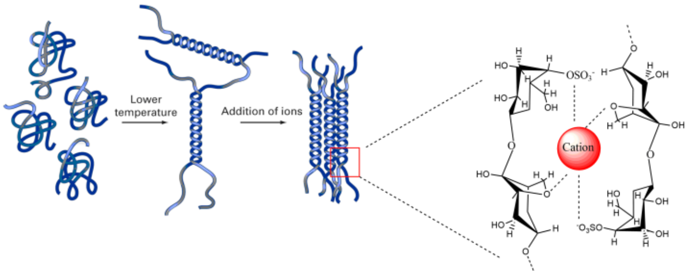
مکانیسم تشکیل ژل

به طور معمول هیدروژل‌ها به کمک برهمکنش‌های الکترواستاتیک و یا از طریق تشکیل پیوند شیمیایی ایجاد

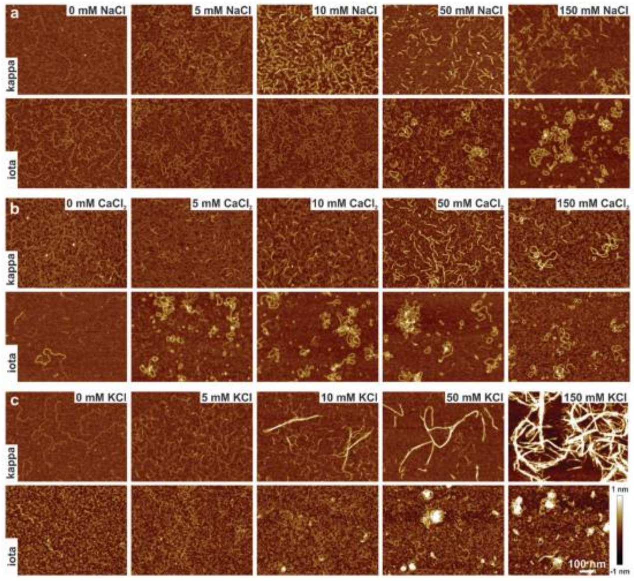
[13] Crosslink

می‌شوند که در پژوهش حاضر تشکیل شبکه هیدورژل به کمک برهمکنش الکترواستاتیک با استفاده از کاتیون‌های فلزی تبیین شده‌است. مکانیسم تشکیل ژل‌های کاراگینان مربوط به خودتجمعی مولکول‌های کاراگینان و برهمکنش با کاتیون است و از دو مرحله تشکیل شده است: در ابتدا ساختارهای سیم‌پیچ مانند در اثر خودتجمعی مولکول‌های کاراگینان به وجود می‌آیند و در مرحله‌ی بعد در اثر برهمکنش این ساختارهای به وجود آمده و تشکیل سیم‌پیچ های دوگانه و چندگانه تشکیل ژل کامل می‌شود. در این میان برهمکنش‌ها به صورت یونی است بدین صورت که کاتیون‌های فلزی به صورت پل میان زنجیره‌ی سیم‌پیچ‌های تشکیل شده عمل می‌کنند. همچنین در بین سیم‌پیچ‌های تشکیل شده نیز پیوند هیدروژنی وجود دارد(شکل4)[9، 19، 22].

در سال 2015، شفر[14] و همکارانش اثر نوع و غلظت یون‌ها را بر روی ژل های کاراگینان تشکیل شده مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) نشان می‌دهد که آیوتا کاراگینان به دلیل انعطاف-پذیری بیشتر نسبت به کاپا کاراگینان، ساختارهای سیم‌پیچ پیچیده‌تری تشکیل می‌دهد. همچنین مشخص شده است که یون‌های سدیم ژل‌هایی با کمترین استحکام را بدست می-دهند. ازسوی دیگر یون‌های پتاسیم با تشکیل ساختارهای پیچیده‌تر، ساختارهایی با استحکام بیشتر حاصل می‌کنند. در مورد یون‌های کلسیم می‌توان گفت این یون‌ها به دلیل داشتن بار یونی بیشتر، برهمکنش الکترواستاتیک قوی‌تری با مولکول‌های کاراگینان ایجاد می‌کنند پس در غلظت پایین-تری نسبت به K^+ و Na^+ می‌توانند ایجاد ساختار مارپیچ نمایند[19](شکل5). همچنین مقایسه ژل‌های بدست آمده از برهمکنش کاراگینان با کاتیون‌های K^+، Ca^{2+} نشان می‌دهد که ژل بدست آمده از K^+ دارای مقاومت کششی بالاتری نسبت به ژل تولید شده با Ca^{2+} است.



شکل4: مکانیسم تشکیل ساختار هیدروژل کاپا کاراگینان درحضور کاتیون فلزی



شکل5: تأثیر نوع و غلظت یون‌های a)سدیم ، b)پتاسیم و c)کلسیم بر ساختار ژل کاراگینان

کاربرد حسگر هیدروژل کاراگینان:

به طور کلی نتایج تحقیقات از سال 2010 تا 2020 نشان می‌دهد که هیدروژل‌های تهیه شده برپایه کاراگینان در صنایع غذایی [23]، غیر غذایی نظیر پزشکی [24، 25] ، مهندسی بافت [26])، ترمیم زخم [27] و سیستم‌های دارورسانی [28] استفاده می‌شوند. این مواد به‌دلیل ویژگی پایداری، زیست‌تخریب پذیری و زیست‌سازگاری بسیار مورد توجه است. برای مثال در سال 2017 یک هیدروژل با ساختار شبکه‌ای دوگانه که دارای خاصیت قابل کشش فوق العاده بود

[14] Larissa Schefer

با استفاده از کاپا کاراگینان ساخته و به‌عنوان یک سنسور کشش معرفی گردید. در این پژوهش، هیدروژل شبکه دوگانه پلی آکریل آمید/کاراگینان توسط اتصال دهنده‌های عرضی فیزیکی و شیمیایی تشکیل شد. همچنین تأثیر مقادیر مختلف اتصال دهنده‌های عرضی شامل پتاسیم کلرید، متیلن بیس آکریل آمید، آکریلامید بر مقاومت مکانیکی هیدروژل بررسی و نتایج نشان داد که با افزایش مقادیر K^+ و MBA مدول الاستیک (EM) هیدروژل افزایش می‌یابد. هیدروژل به دست آمده به دلیل حساسیت بالا به کشش با ضریب سنجش 0.63 در فشار 1000٪ به عنوان حسگر کشش جهت کاربرد در رباتیک و تشخیص حرکات انسانی پیشنهاد شده است [29]. همچنین تهیه سنسورگازهای NH_3 و NO_2 با حساسیت بالا و حد تشخیص پایین (1.2 ppb) با استفاده از هیدروژل-های رسانای یونی بر پایه کاراگینان و پلی آکریل آمید در سال 2017 گزارش شده است. هیدورژل بدست آمده دارای مقاومت زیادی در برابر تغییر شکل شدید ناشی از فشار و خم شدگی بوده است؛ به طوری که این تغییرات تاثیری بر خاصیت سنسوری آن ندارد. سنسور تهیه شده می‌تواند تا 9 ماه حساسیت خود را نسبت به NO_2 حفظ کند. این حساسیت بالا ناشی از برهمکنش بین مولکول‌های گاز و گروه-های عاملی فراوان اکسیژن در زنجیره‌های پلیمری است. مکانیسم تشخیص گاز توسط هیدروژل کاراگینان/پلی‌آکریل-آمید شامل مسدود شدن حرکت یون‌های هیدروژل توسط مولکول‌های گاز است. نتایج نشان می‌دهند که این هیدورژل در دمای اتاق حساسیت بالا و حد تشخیص پایین داشته و می‌تواند به عنوان یک سنسور با ایمنی بالا عمل کند [30].

اثرات ضدمیکروارگانیسم هیدروژل کاراگینان:

به طورکلی میکروارگانیسم‌ها به ویژه باکتری‌ها از جمله عوامل مهم بیماری در انسان، حیوانات و گیاهان زراعی هستند و موجب تخریب پارچه و تجزیه و فساد مواد غذایی می‌شوند. بنابراین مبارزه با این عوامل بیماری‌زا از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. تاکنون آنتی بیوتیک‌های زیادی بر پایه مواد طبیعی و غیرطبیعی ارائه شده اما استفاده از منابع گیاهی توجه زیادی را به خود جلب کرده است [31, 32]. در این میان استفاده از هیدروژل بر پایه مواد طبیعی به عنوان جایگزین مواد آنتی باکتریال سنتزی جای خود را در صنایع دارویی بهداشتی غذایی بخوبی پیدا کرده است. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که خاصیت آنتی باکتریال هیدروژل بر پایه کاراگینان نیز مورد توجه بوده است. اثرات ضد میکروبی هیدروژل بر پایه کاراگینان در سال 2019 توسط گول[۱۵] و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت. نانوکامپوزیت‌های کاراگینان-نقره طبق اصول شیمی سبز به کمک مایکروویو و با استفاده از K^+ و همچنین کاراگینان به عنوان یک عامل کاهنده و تثبیت کننده تهیه شد. نتایج مشخص کرده‌اند که ژل‌های مقاوم به دما (تا 95°C) و غیرمرتجع در حضور یون-های K^+ تشکیل شدند اما درعدم حضور K^+ این ژل‌ها در دمای بالاتر از 60°C کاملاً ذوب می‌شوند [33].

در همان سال جایسوال[۱۶] و همکارانش هیدروژل‌های برپایه کاراگینان تقویت شده با نانوذرات گوگرد و عصاره دانه گریپ فروت را تهیه کردند. در این هیدروژل‌ها استحکام مکانیکی، تورم و ممانعت در برابر نور ماوراء بنفش بهبود داده شد. همچنین خواص آنتی باکتریال فوق العاده‌ای در برابر باکتری-های ای کلای و اس اپیدرمیس[۱۷] مشاهده شد. این هیدروژل به عنوان یک پوشش بهبوددهنده زخم به کار گرفته شد و نتایج نشان داد تنها پس از دو هفته مساحت ناحیه زخم به 1/3٪ رسید [27].

کاربرد هیدروژل‌های کاراگینان به عنوان جاذب:

امروزه به‌دلیل اهمیت محیط زیست، جداسازی و یا تخریب رنگ و دیگر مواد آلاینده از آب به یکی از بحث‌های مهم و قابل توجه در این حوزه بدل گشته است و همگان سعی دارند تا به نحوی از این آلودگی بکاهند. از این رو گزارشاتی برپایه کاراگینان نیز در این زمینه وجود دارد.

در گزارش دیگری لی[۱۸] و همکاران ژل شبکه دوگانه از کاپاکاراگینان و سدیم آلژینات تهیه نمودند و آن را برای جذب

[15] Apoorva Goel
[16] Lily Jaiswal
[17] *Staphylococcus Epidermis*
[18] Liqing Li

سیپروفلوکسازین هیدروکلراید[۱۹] (CIP) به کار بردند. این ژل دارای خاصیت تورم کمی در آب بود اما این تورم وابسته به میزان کاراگینان است؛ به طوری‌که با افزایش میزان کاراگینان خواص مکانیکی و تورم افزایش پیدا می‌کند. این افزایش به‌دلیل افزایش گروه‌های SO_3^- می‌باشد. علاوه بر این گروه‌های عاملی موجود بر سطح هیدروژل، pH را به عاملی مهم در جذب CIP بدل می‌کنند. در حقیقت این پدیده به این دلیل است که CIP غالبا در محیط اسیدی به فرم کاتیونی و در محیط بازی فرم به آنیونی می‌باشد. لذا در محیط اسیدی برهمکنش‌های الکترواستاتیک میان جاذب و CIP سبب افزایش جذب و در محیط بازی دافعه میان CIP و بارمنفی ایجاد شده بر سطح هیدروژل موجب کاهش جذب خواهند شد [34].

در سال 2020 پراسانان[۲۰] و همکارانش برای حذف یون‌های فلزی و رنگ‌های آلی ازآب‌های آلوده و فاضلاب، غشایی با خاصیت چربی‌گریزی فوق‌العاده از κ-کاراگینان و نانوکلی لاپونیت ساختند. این غشا ظرفیت جداسازی قابل‌توجه و بالایی (99.3٪ برای امولسیون‌های روغن در آب) از خود نشان داد. همچنین برای حذف رنگ‌های درخشان آبی[۲۱] (آنیونی) و رودامینB[۲۲] (کاتیونی) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که رنگ محلول‌ها پس از عبور از غشاها کاملاً بی‌رنگ می‌شود [32].

درسال 2020 هیدروژل بر پایه کارگینان و آگار به منظور حذف آلاینده‌ی متلین بلو توسط عثمان دومان[۲۳] و همکاران تهیه شد. آنها از تری (اتیلن گلیکول) دی وینیل اتر[۲۴] به عنوان عامل پیوند دهنده میان کاراگینان و آگار استفاده کردند. در این مطالعه زمان تماس ، غلظت رنگ ، pH و دما بهینه و اصلاح شد. اثر pH به دلیل حضور گروه‌های سولفات بر روی سطح هیدروژل آگار/کاپا-کاراگینان به عنوان یک عامل مهم و تعیین کننده بررسی گردید و نتایج نشان داد که با افزایش pH ، میزان جذب به دلیل تعدد گروه‌های سولفات در pH بازی افزایش یافته است. علاوه‌براین، ثابت شد که میزان جذب به غلظت رنگ بستگی دارد. نتایج نشان داده است که حداکثر ظرفیت جذب رنگ متیلن بلو توسط هیدورژل بدست آمده در دمای 37°C و pH =7 برابر $242.3\ mg.g^{-1}$ بوده است. همچنین مشخص شده است که بیشترین واجذب رنگ جذب شده در حلال اتانول رخ می‌دهد [31].

جذب و به دام انداختن آنزیم‌ها و سایر مولکول‌ها یکی از روش‌های مفید جهت محافظت آن‌ها از تماس مستقیم با محیط اطراف است. ماتریس‌های متخلخل همانند هیدروژل-ها، مولکول‌های کوچک را در خود جای داده و عملکرد آن‌ها را بهبود می‌بخشند. یک مثال خوب دراین رابطه، محصورسازی لاکتاز است. لاکتاز آنزیمی است که با هیدرولیز پیوندهای β-گلیکوزیدی در لاکتوز سبب تشکیل گلوکز و گالاکتوز می‌شود. در سال 2016 با تزریق محلول آبی از β-گالاکتوزیداز و کاراگینان، به محلول 5٪ کلرید پتاسیم یک هیدروژل ساخته شد. توانایی رهایش و انتشار β-گالاکتوزیداز، pH و پایداری دمایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که محصورسازی موجب افزایش فعالیت β-گالاکتوزیداز می-شود. افزایش pH به 7 سبب افزایش فعالیت شده و گزارش های قبلی مبنی بر لزوم حضور یون پتاسیم جهت عملکرد مناسب این آنزیم را تأیید می‌کنند. اثر یون پتاسیم بدین گونه توجیه می‌شود که یون‌های پتاسیم در آماده‌سازی شبکه هیدروژل شرکت کرده و یون‌های باقیمانده با آنزیم برهمکنش می‌نمایند و فعالیت آن را افزایش می‌دهند [35].

در سال 2020 تهیه‌ی هیدروژل ترکیبی کیتوزان-کاپا-کاراگینان ضد انعقاد به منظو برای پاکسازی همزمان اندوتوکسین و باکتری‌ها در خون چرکی گزارش شده است. هیدروژل‌های کیتوزان-کاپا-کاراگینان به طور قابل توجهی از اثرات ضد انعقادی بهتری نسبت به هیدروژل‌های خام کیتوزان به نمایش گذاشته‌اند. همچنین این هیدروژل‌ها قادر به از بین بردن 63.3٪ از اندوتوکسین در خون چرک آلود با حداکثر ظرفیت جذب$95.0\ EU.g^{-1}$ در طی یک روش همو

[19] Ciprofloxacin Hydrochloride
[20] Adhimoorthy Prasannan
[21] Brilliant Blue
[22] Rhodamine-B
[23] Osman Duman
[24] Tri (ethylene glycol) divinyl ether

پرفیوژن[25] سه ساعته بودند. آزمایش‌های پاک سازی باکتری بیشتر نشان داد که هیدروژل‌های کیتوزان-کاپا-کاراگینان به ترتیب 46.0٪ و 68.7٪ رشد باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* را کاهش دادند [36].

فیلم‌های بر پایه کاراگینان :

یکی از زمینه‌های مورد توجه محققان ساخت فیلم‌هایی نازک با قابلیت‌های انعطاف‌پذیری، رطوبت‌پذیری و جذب گاز می‌باشد. هریک از این پارامترها با توجه به کاربرد مورد نظر برای فیلم ساخته شده میتواند متغیر باشد. امروزه ساخت فیلم‌های نازک برای موارد گوناگونی نظیر پوشش سطوح، پوشش میوه-ها، بسته‌بندی گوشت و غذا، جلوگیری از نفوذپذیری رطوبت و اکسیژن به موادغذایی و... موردتوجه قرارگرفته‌است. کاراگینان یکی از شناخته‌شده‌ترین ترکیبات برای ساخت فیلم‌های نازک محافظت‌کننده است که به صورت هیبرید و کامپوزیت مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی‌های انجام شده از سال‌های 2011 تا 2020 نشان می‌دهد که با انتخاب نوع پرکننده مناسب و نوع کاراگینان می‌توان خواص فیلم‌های بدست آمده را کنترل کرد. نکته حائز اهمیت در این میان برهمکنش بین فیلم کاراگینان و ذرات پر کننده است که می-تواند از نوع هیدروژنی، الکترواستاتیک و غیره باشد. همچنین در تعیین خواص مکانیکی فیلم حاصله عواملی نظیر نفوذ پذیری نسبت به اکسیژن و بخار آب، استحکام کششی و... بسیار موثر است. فیلم‌های کاراگینان بر حسب نوع ماده به کاررونده در کامپوزیت به دو دسته طبیعی و غیرطبیعی تقسیم بندی میشوند که در ادامه به بررسی هریک خواهیم پرداخت.

فیلم‌های کاراگینان با مواد سنتزی :

تحقیقات انجام شده در سال 2011 توسط کاربوویاک[26] و همکاران نشان می‌دهد که گلیسرول به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل و برهمکنش آن‌ها با کاراگینان می‌تواند جهت جلوگیری از شکنندگی فیلم‌های کاراگینان مورد استفاده قرارگیرد. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان می‌دهد که با افزایش غلظت گلیسرول میزان رطوبت جذب شده توسط فیلم افزایش پیدا می‌کند؛ اما هیچ رابطه‌ی خطی میان میزان آب جذب شده و غلظت گلیسرول وجود ندارد [4]. درواقع آب جذب شده موجب افزایش تحرک مولکولی، کاهش ویسکوزیته و افزایش کشش(الاستیسیته) فیلم می‌گردد [37]. به طور کلی میتوان گفت آب و گلیسرول با کاهش دمای انتقال شیشه‌ای (Tg) به عنوان پلاستیک‌کننده به کار می‌روند [38].

در سال 2013 گلوتارآلدهید برای ایجاد پیوند عرضی بین مولکول‌های فیلم کاراگینان مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیقات مشخص گردید که روش استخراج کاراگینان (در حضور محلول قلیایی و یا در محیط خنثی) به شدت بر روی ویژگی تورم کاراگینان اثرگذار است. در واقع کاراگینانی که توسط محلول قلیایی استخراج شد، تورم بیشتری از خود نشان داد. در این پژوهش فیلم‌ها از طریق حل کردن کاراگینان در اب داغ و سپس سرد شدن بر روی یک صفحه پلاستیکی تشکیل شدند. فیلم‌های تشکیل شده به منظور ایجاد پیوند عرضی در محلول 4٪ وزنی گلوتارآلدهید غوطه‌ور و سپس با آب و اتانول شست‌وشو داده شد[39].

میزان تورم فیلم‌های بدست‌آمده با غوطه‌ور کردن آن‌ها در آب و برطبق معادله زیر محاسبه گردیده‌است. (Md وزن قبل از خیساندن Mw وزن پس از خیساندن و SD درجه تورم می باشد)

$$SD = (Mw - Md) / Md$$

نتایج تحقیقات دیستانتینا[27] و همکاران حاکی از آن است که فیلم کاراگینانی فاقد پیوند عرضی نسبت به فیلم‌های دارای پیوند عرضی از تورم بیشتری در آب برخوردار است، اما در مدت زمان کوتاهتری (کمتر از 30 دقیقه) در آب تجزیه می-شود. درمقابل فیلم‌های حاوی پیوند عرضی در آب پایداری خوبی از خود نشان می دهند. همچنین مشخص گردید که کاراگینان دارای پیوند عرضی که در محیط قلیایی استخراج شده بود نسبت به کاراگینان حاوی پیوند عرضی که درعدم

[25] Hemoperfusion

[26] Thomas Karbowiak

[27] Sperisa Distantina

حضور محیط قلیایی استخراج شده بود دارای تورم بیشتری در محلول بافر فسفات و سدیم هیدروکسید 0/1 مولار است [39].

علاوه بر شرایط استخراج، pH نیز بر میزان تورم کاراگینان موثر است. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که با افزایش pH از خنثی به 13 میزان تورم از 5 g/g به 20 g/g افزایش می‌یابد. در توجیه این پدیده گفته شده است که هنگامی که pH از pKa گروه‌ها بیشتر باشد گروه‌ها شروع به جدا شدن از هم می‌کنند و در نتیجه پیوند هیدروژنی کاهش پیدا می‌کند. در pH های بالاتر از 2/8 (مربوط به گروه سولفونیک اسید هیدروژن زدایی ($-H^+$) رخ می‌دهد و گروه سولفونات($-SO_3^-$) به وجود می‌آید. بار منفی گروه‌های سولفونات موجب فاصله گرفتن زنجیره‌های پلیمری شبکه از یکدیگر شده و درنتیجه آب بیشتری در ساختار جای می‌گیرد و تورم افزایش پیدا می‌کند [39]. در پژوهش دیگری از K_2SO_4 جهت ایجاد پیوند عرضی استفاده شد. قرارگیری K^+ بین گروه های سولفات سبب ایجاد پیوند عرضی می‌گردد. در فیلم هایی که پیوند عرضی از طریق K_2SO_4 ایجاد گردیده است، جذب آب نسبت به فیلم‌های دارای پیوند عرضی گلوتارآلدهید، افزایش یافت. علت اصلی تورم در ساختارهای به‌دست آمده از کاراگینان، دافعه الکترواستاتیک بین گروه‌های سولفات موجود در زنجیره آن می‌باشد. به طور کلی ساختارهای به‌دست‌آمده به کمک K_2SO_4 نسبت به ساختارهایی که با استفاده از گلوتارآلدهید تهیه شده‌اند دارای محتوای آب بیشتری هستند. بنابراین تعداد بیشتر گروه‌های سولفات در ساختار کاراگینان باعث می‌شود که پلیمر، آبگریزی بیشتری داشته باشد و دافعه الکترواستاتیک افزایش پیدا کند که این امر منجر به افزایش معنی‌دار درجه تورم فیلم‌های تهیه شده با K_2SO_4 نسبت به فیلم‌های تهیه شده با گلوتارالدهید در محیط آبی می‌گردد. با افزایش pH محیط، گروه‌های سولفاتی که با یون پتاسیم برهمکنش نداشته‌اند ایجاد $-SO_3^-$ می‌کنند. گروه‌های $-SO_3^-$ ایجاد شده با یون‌های موجود در محیط مانند Na^+ برهمکنش می‌کنند و این امر موجب جذب آب کمتر می‌گردد [40].

استفاده از نانوذرات سیلیکون در سنتز فیلم‌های بر پایه کاپا-کاراگینان در سال 2014 توسط لوکش[28] و همکاران انجام شد و مشخص گردید که حضور نانوذرات سیلیکون موجب افزایش استحکام کششی(TS[29]) این فیلم‌ها می‌شود. بیشترین استحکام کششی در غلظت 0/5٪ نانوذرات سیلیکون بوده که موجب افزایش استحکام شده است. در توجیه این ویژگی می‌توان گفت خاصیت آب دوستی کاراگینان و سیلیکون سبب برهمکنش مناسب بین آن‌ها شده و کاپا کاراگینان در اطراف نانوذرات سیلیکون جهت‌گیری کرده و ساختاری کریستالی به وجود می‌آورد .

در غلظت های بالاتر از 0/5٪ نانوذرات سیلیکون تجمع[30] و سطح موثر برای برهمکنش کاپا کاراگینان و نانوذرات سیلیکون کاهش پیدا میکند. این کاهش برهمکنش موجب کاهش EB[31] و TS می‌گردد. همچنین به‌دلیل ماهیت (عایق حرارتی بودن) نانوذرات سیلیکون و به‌دلیل کریستالی شدن کاپا کاراگینان دمای تخریب حرارتی کامپوزیت ساخته شده افزایش پیدا کرده است[5].

درسال 2018 تحقیقات جالبی بر روی پوشش های تهیه شده از نانوذرات سیلیکا، گلیسرول، کاپا کاراگینان و کنجاک گلوکومانان[32](KGM) به منظور ساخت پوشش‌هایی برای بسته بندی قارچها انجام شد. در این پژوهش، طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز پوشش‌ها نشان داد که پیوند هیدروژنی قوی بین نانوذرات سیلیکا و فیلم کاپاکاراگینان/ KGM وجود دارد.

درسال 2018 تحقیقات جالبی بر روی پوشش های تهیه شده از نانوذرات سیلیکا، گلیسرول، کاپا کاراگینان و کنجاک گلوکومانان[33](KGM) به منظور ساخت پوشش‌هایی برای بسته بندی قارچها انجام شد. در این پژوهش طیف طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز پوشش‌ها نشان داد که پیوند

[28] Lokesh R. Rane

[29] Tensile strength

[30] Agglomerate

[31] Elongation-At-Break

[32] Konjac Glucomannan

[33] Konjac Glucomannan

هیدروژنی قوی بین نانوذرات سیلیکا و فیلم کاپاکاراگینان/ KGM وجود دارد.

فیلم‌های کاراگینان/KGM (CG/KGM) دارای معایبی از جمله مقاومت کم در برابر رطوبت، خواص مکانیکی پایین و خواص ضد میکروبی کم می باشند. بنابراین تلاش گردیده است که با کامپوزیت‌کردن آن با سایر مواد خواص آن بهبود یابد. در این تحقیقات مشخص گردید که میزان بهینه‌ی نانوذرات سیلیکا در فیلم‌های کاپاکاراگینان/KGM 0/3 درصد وزنی می‌باشد. پس از تهیه کامپوزیت کاپاکاراگینان/KGM و نانوسیلیکا (CG/KGM/N-silica)، برای بسته‌بندی قارچ مورد استفاده قرارگرفتند. قارچهایی که توسط این کامپوزیت در شرایط رطوبت نسبی 50 درصد و دمای 23 درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند کمتر دچار تغییر رنگ (از سفید به قهوه ای) شده بودند(شکل6).

شکل6: قارچهای بسته بندی شده با فیلم‌های تهیه شده از CG(a (b CG/KGM (c CG/KGM/N-silica

آنالیز مقاومت کششی نشان می‌دهد که در ابتدا افزایش غلظت نانوذرات سیلیکا موجب افزایش TS می‌گردد اما در ادامه با افزایش غلظت، نانوذرات سیلیکا دچار تجمع شده و درنتیجه TS کاهش پیدا می‌کند. همچنین کامپوزیت نانوذرات سیلیکا–کاراگینان/KGM نفوذپذیری کمتری نسبت به آب نشان داد. البته استفاده از پلاستیک کننده‌ای[34] مانند گلیسرول می‌تواند منجر به افزایش نفوذ پذیری و جذب آب گردد [41].

شفافیت نیز یکی از زمینه‌های مورد توجه در ساخت پوشش-های موادغذایی است. مطالعات انجام شده توسط عفیفه[35] و همکاران مشخص کرده است که افزودن نانوذرات سیلیکون به فیلم‌های تهیه شده از آیوتا کاراگینان نیمه تفصیه شده و گلیسرول، اثر خاصی بر روی شفافیت کامپوزیت بدست آمده ندارد. درواقع به علت کوچک‌تر بودن اندازه نانو ذرات سیلیکون از طول موج نور مرئی شفافیت فیلم تغییر زیادی نمیکند و امواج نور توانایی عبور از فیلم بدست آمده را دارند. از طرفی نانوذرات سیلیکا پراکندگی خوبی در آیوتا کاراگینان نیمه تصفیه شده دارند؛ بنابراین میزان پراش نور کاهش پیدا می‌کند. نتایج این تحقیقات با نتایج حاصل از تحقیقات پیشین همخوانی داشته است.

همچنین بررسی خواص مکانیکی فیلم‌های حاصله نشان می-دهد که غلظت بهینه برای نانوذرات سیلیکا 0/5 درصد وزنی بوده که در آن بیشترین TS بدست آمده است. با افزایش غلظت مقدار EB افزایش پیدا می‌کند اما مقدار TS به دلیل تجمع ذرات شدن ذرات کاهش پیدا میکند[6].

فیلم های برپایه کاراگینان و دیگر مواد طبیعی :

امروزه یکی دیگر از زمینه‌های مورد توجه، کامپوزیت و هیبرید کاراگینان با مواد طبیعی است. مواد طبیعی به دلیل فراوانی و در دسترس بودن از اهمیت بالایی برخوردارند. گزارشات فراوانی مبنی بر استفاده از مواد طبیعی برای ساخت فیلم‌های نازک وجود دارد. برای مثال پائولا[36] و همکارانش نشان دادند که افزودن آلژینات به کاپاکاراگینان موجب بهبود خواص کششی و عدم نفوذ پذیری نسبت به اکسیژن می‌شود در حالی که آیوتا کاراگینان موجب کاهش خواص و کیفیت فیلم بدست آمده می‌گردد [42].

ساخت فیلم خوراکی کاراگینان با استفاده از صمغ لوبیا[37] (LBG) و گلیسرول به عنوان پلاستیک کننده (30 درصد وزنی) در سال 2012 مورد بررسی قرار گرفت. تحقیقات شامل دو نتیجه‌ی مهم بودند: 1- حضور LBG سبب افزایش EB و کاهش TS نسبت به فیلم کاراگینان خالص می‌شود که این امر ناشی از ساختار کریستالی به وجود آمده توسط LBG است. 2- همچنین میزان محتوای آب در فیلم‌های کاراگینان/LBG نسبت به فیلم کاراگینان بیشتر است. درواقع به‌دلیل برهمکنش بین زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی در

[34] Plasticizer
[35] Afifah Iswara Aji
[36] Paula
[37] Locust Bean Gum

فیلم‌های کاراگینان، توانایی گروه‌های هیدروکسیل جهت برقراری پیوند هیدروژنی با مولکول‌های آب کاهش می‌یابد [43].

در سال 2013 ساخت فیلم کاراگینان خوراکی با استفاده از روغن نخل به عنوان پلاستیک‌کننده و به روش تبدیل فازی به منظور پوشش سیب مورد بررسی قرار گرفت. حداکثر Ts در 1/25٪ کاراگینان نسبت به روغن نخل مشاهده شد اما در 1٪/75 کاراگینان نتیجه‌ی خوبی به دست نیامد. جدول2 نشان‌دهنده‌ی میزان تغییرات Ts با تغییر درصد روغن نخل در فیلم‌های بدست آمده است.

جدول2: تغییرات Ts با افزایش غلظت روغن نخل در فیلم

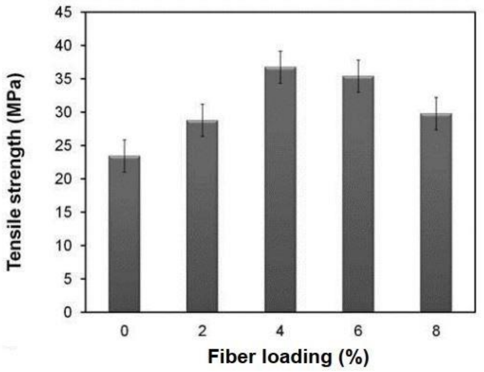
فیلم با محتوای کاراگینان متفاوت (w/v) ٪	قدرت کشش (Pa)
1	51.67
1.25	102.50
1.5	83.33

همچنین نفوذپذیری پوشش نسبت به اکسیژن مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص گردید که چگالی فیلم با افزودن روغن نخل به فیلم کاراگینان کاهش پیدا می‌کند و درنتیجه آن نفوذپذیری نسبت به اکسیژن افزایش پیدا می‌کند. به طوری-که بیشترین نفوذپذیری نسبت به اکسیژن در غلظت 40٪ روغن نخل می‌باشد. با درنظرگرفتن این موضوع که فیلم مناسب برای پوشش میوه‌ها باید نفوذپذیری کمی نسبت به اکسیژن داشته باشد مشخص گردید که غلظت 10٪ روغن نخل بدین منظور مناسب می‌باشد. فیلم خوراکی ساخته شده از روغن نخل و کاراگینان به خوبی در آب حل می‌گردد و مقاومت خوبی در برابر چربی دارد[7].

همچنین فیلم‌های ساخته شده از کاراگینان/نشاسته(2014) در غلظت‌های مختلف، خواص مکانیکی و نفوذپذیری متفاوتی نسبت به اکسیژن نشان دادند. در ساخت این فیلم‌ها از پلاستیک‌کننده گلیسرول استفاده شد. به طورکلی با افزایش غلظت کاراگینان مقدار TS و EB افزایش پیدا می‌کند.

اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به آب مقدار 90٪ را در دمای 38 درجه سانتی گراد نشان می‌دهد [44].

یکی دیگر از فیلم‌های کامپوزیت ساخته شده با استفاده از کاپاکاراگینان نیمه تصفیه شده، سلولز و گلیسرول با مورفولوژی کنفی است که در سال 2015 توسط زارینا[38] و ایشاک[39] بدست آمد. مقدار بهینه سلولز در این کامپوزیت 4٪ بود که بهترین خواص کششی(Ts) را ایجاد نمود(شکل7). در این مقدار، نانوذرات سلولز از پراکندگی و سطح برهمکنش مناسبی(پیوند هیدورژنی) در بستر کاراگینان برخوردار هستند. افزایش مقدار نانوذرات سلولز موجب تجمع ذرات و درنتیجه نامرغوب شدن کامپوزیت سنتز شده می‌گردد [45].



شکل7: نمودار Ts فیلم تهیه شده از کاراگینان نیمه تصفیه شده و سلولز

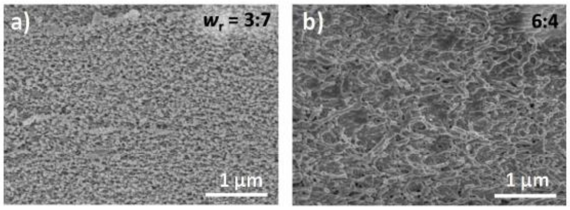
تهیه فیلم‌های هیدروژل مبتنی بر پلی‌ساکارید با خاصیت مکانیکی بالا با استفاده از κ-کاراگینان و کیتوسان در سال 2018 گزارش شده است. فیلم هیدروژل بدست آمده با ترکیب محلول آبی κ-کاراگینان و کیتوزان پروتونی و در مرحله بعدی پس از تبخیر حلال، فیلم در آب متورم شد تا به یک تعادل پایدار برسد. فیلم به دست آمده با ضخامت 40-60 میکرومتر، به دلیل اثر هم‌افزایی پیوندهای یونی و هیدروژنی بین κ-CG و کیتوزان، TS میزان 2-6.7 مگاپاسکال و کرنش(σb) 80-120٪ را نشان می‌دهد.

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) در نسبت‌های وزنی 3:7 و 6:4 کاراگینان در مقابل کیتوسان،

[38] Siti Zarina

[39] Ahmad Ishak

تشکیل دانه‌هایی در ابعاد نانو را نشان می‌دهند. با توجه به اینکه این دانه‌ها به دلیل وجود پیوند یونی شدید بین زنجیره کاراگینان و کیتوسان به وجود می‌آید، با افزایش نسبت کاراگینان به کیتوسان اندازه دانه‌های تشکیل شده افزایش پیدا می‌کند(شکل 8).



شکل 8: تصاویر SEM از سطح مقطع فیلمهای هیدروژل با 3:7(a و 6:4 (b

خصوصیات مکانیکی فیلم حاصله نشان می‌دهد که σb، EB و EM به طیف گسترده‌ای از نسبت جرم کاراگینان/کیتوزان بستگی دارد. نتایج نشان می‌دهد که حداکثر میزان کرنش(6.7 MPa) و EB (100٪) در نسبت جرم 5:5 مشاهده شده در حالی که در نسبت جرم 7: 3 دارای بالاترین مدول یانگ بدست آمده است. در واقع وقتی ساختار ترکیب بدست آمده به نقطه‌ی تعادل بار نزدیک می‌شود بیشترین σb بدست می‌آید.

در این پژوهش مشخص گردید که در صورت استفاده از مقدار اضافی کاراگینان، مدول یانگ (EM) به حداکثر خود می‌رسد. درواقع در نمونه‌های کاراگینان/کیتوسان با نسبت 8:2 و 7:3 علاوه بر پیوند هیدروژنی ساختار کاراگینان/پلی‌آمید نیز مشاهده می‌گردد. همچنین کاراگینان در غلظت‌های بالا تشکیل ساختار سیم‌پیچ دوگانه می‌دهد؛ در حالیکه در غلظت پایین تنها پیوند هیدورژنی بین زنجیره‌های کاراگینان وجود دارد. بنابراین می‌توان توجیه کرد که با افزایش غلظت کاراگینان به بیش از 50 درصد وزنی، مدول یانگ دارای حداکثر مقدار خود نسبت به سایر غلظت‌ها باشد [46].

شایان توجه است که انکوباتور(تورم) فیلم بدست آمده در محلول اسیدی موجب تغییر خواص مکانیکی فیلم بدست آمده می‌گردد. به طوری‌که برای EM و σb کاهش شدیدی مشاهده شد. این مشاهدات حاصل پروتون‌دار شدن گروه‌های آمین کیتوسان در محیط اسیدی و به دنبال آن ایجاد دافعه الکتروستاتیکی و درنهایت فروپاشی ساختار فیلم است. همچنین انکوباتور کردن فیلم در محلول نمکی (NaCl) به علت کاهش برهمکنش‌های الکترواستاتیکی موجب کاهش خواص مکانیکی ژل می‌گردد. خصوصیات مکانیکی و جلوگیری از ورود رطوبت فیلم کاراگینان در نوع کاربرد آن بسیار تاثیرگذار است [46].

خصوصیات مکانیکی فیلم کاراگینان با استفاده از نانورس بنتونیت(BNC)، پلی‌کاپرولاکتون(PCL) و کاراگینان نیمه تصفیه شده(SRC) در سال 2019 گزارش شده است. بدین منظور، فیلم‌های کاراگینان/BNC و کاراگینان/PCL/BNC با استفاده از گلیسرول به عنوان پلاستیک کننده تهیه شد. بررسی ضخامت فیلم‌های بدست آمده نشان داده است که افزودن 6٪ وزنی BNC نسبت به SRC سبب افزایش ضخامت فیلم می‌گردد، در حالی که اضافه کردن همین مقدار از PCL به ماتریس کاراگینان باعث تغییر زیادی در ضخامت فیلم نمی‌شود. این پدیده به دلیل تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه کربونیل PCL و گروه هیدروکسیل گلیسرول یا SRC و درنهایت چسبندگی سطوح رخ می‌دهد. نتایج حاکی از آن است که PCL موجب کاهش تعداد گروه‌های هیدروکسیل فیلم‌های SRC و به دنبال آن کاهش جذب رطوبت و نفوذ پذیری بخار آب و همچنین کاهش تورم در آب می‌شود. همچنین بررسی خواص مکانیکی فیلم‌های تهیه شده نشان می‌دهد که که BNC تأثیر زیادی در استحکام کششی (TS) ندارد، اما EM به دلیل تعامل SRC با BNC افزایش می‌یابد [47].

در سال 2020، یک فیلم نازک بر اساس κ-CG، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) و عصاره گیلاس کره‌ای (PMPE) برای پاسخ همزمان به pH و آنتی‌اکسیدان تهیه شد. گزارش شده است که فیلم κ-CG/HPMC/PMPE می‌تواند جهت افزایش ماندگاری روغن و نشان دادن کیفیت موادغذایی غنی از پروتئین به‌کار رود. همچنین اثر عصاره بر خواصی مانند نفوذپذیری نسبت به اکسیژن، پاسخ به تغییرات pH، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خواص مکانیکی بررسی شده است. با افزایش PMPE تا میزان 8٪، EB و TS به ترتیب

تا 0/28±4/86٪، 0/43±28/85 مگاپاسکال افزایش و نفوذپذیری اکسیژن کاهش پیدا می‌کند. همچنین، طیف مرئی-فرابنفش این فیلم با تغییر pH از 2 تا 12 به دلیل وجود PMPE تغییر قابل توجهی نشان داده که این امر بیانگر عملکرد مناسب فیلم تهیه شده به عنوان سنسور است [48].
ژانگ و همکارانش فیلم نازکی از κ-CG، نشاسته کربوکسی متیل سدیم (CMS) و عصاره آنتوسیانین توت (MAE) را جهت بررسی طراوت ماهی تهیه نمودند. افزایش غلظت عصاره منجر به تغییر TS از 17.56 MPa به 25.35 MPa می شود ، در حالی که EB کاهش می‌یابد. همچنین ژانگ اظهار داشته است، انتقال نور (در 500 نانومتر) فیلم به‌دلیل پراکندگی نور در مناطق کریستالی κ-CG تحت تأثیر اتصال متقاطع آنتوسیانین کاهش پیدا می‌کند. طبق گزارش‌های ارائه شده، با افزایش MAE پیوندهای هیدروژنی بین κ-CG و مولکول‌های آب کاهش یافته و نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌یابد. از آنجاییکه آنتوسیانین به تغییرات pH حساس است از این فیلم‌ها می‌توان برای تعیین طراوت ماهی استفاده کرد. تأیید شده است که کاهش مقدار نیتروژن اساسی فرار (TVB-N) منجر به کاهش طراوت گوشت می‌شود و این تغییر کیفیت در رنگ فیلم منعکس می‌گردد. به عبارت دیگر، با کاهش طراوت، رنگ فیلم از قرمز به آبی تیره تغییر کرده و درنهایت زرد می‌شود [49].
تهیه فیلم کامپوزیت خوراکی از ترکیب نشاسته مروارید (PMS)، گلیسرول و کاراگینان در سال 2019 گزارش شد و نشان داد که خاصیت مکانیکی و حلالیت در آب به غلظت PMS، CG و گلیسرول وابسته است. با افزایش غلظت نشاسته، حلالیت در آب به دلیل تعامل بیشتر با مولکول‌های CG کاهش می‌یابد، در حالی که افزایش گلیسرول پیوند بین مولکولی را کاهش می‌دهد و منجر به افزایش حلالیت می‌شود. نتایج آزمایش‌های انجام شده بر روی نفوذپذیری پوشش نسبت به بخار آب، TS و میزان حلالیت نشان می‌دهد که فیلم نازک به‌دست آمده می‌تواند برای بسته‌بندی مواد غذایی استفاده شود [50].

در همان سال، فیلم‌های هوشمند مبتنی بر کاراگینان با حساسیت بالا به pH با استفاده از پودر پوست انگور غنی از آنتوسیانین (AGSP) و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) با موفقیت تهیه شدند. AGSP با ماتریس پیوند هیدروژنی برقرار کرده و آبگریزی را کاهش می‌دهد. حضور AGSPبه مقدار 8٪ در ماتریس باعث کاهش EB و TS شد. همچنین طیف انتقال نور کاهش چشمگیر انتقال نور از 83/10 درصد به 42/60 درصد را نشان می‌دهد. این فیلم با رنگ بنفش در pH =7 به رنگ آبی-سبز تبدیل می‌شود ، از این رو حساسیت زیادی به pH می‌دهد و هنگامی که TVB-N برابر با 14/6 میلی گرم در 100 گرم بود رنگ بنفش به سبز تغییر یافت. پیشنهاد شده است که از این فیلم می توان برای سنجش طراوت گوشت خوک استفاده کرد [51].
همچنین در سال 2018، ساخت فیلم نازک بر اساس κ-CG همراه با کورکومین (CUR) برای نظارت بر میزان تازه بودن میگو و گوشت خوک گزارش شد. در این فیلم نازک، κ-CG و CUR از طریق پیوند هیدروژنی با یکدیگر برهمکنش می‌کنند. تغییرات pH، رنگ فیلم κ-CG /CUR را تغییر داده و بدین ترتیب میزان فساد میگو و گوشت خوک مشخص می‌شود.
فیلم تخریب‌پذیر برپایه کامپوزیت κ-CG/نانوکلی و عصاره رزماری به منظور بهبود خواص مکانیکی و ضدباکتریایی تهیه شده است. افزودن عصاره رزماری موجب افزایش چشمگیر EB و TS می‌شود. علاوه‌براین وجود عصاره رزماری باعث کاهش نفوذپذیری فیلم نازک نسبت به بخار آب می‌گردد. لازم به ذکر است فیلم κ-CG/نانوکلی/رزماری بصورت معناداری (99٪) رشد باکتری‌های استافیلی کوکوس اورئوس، ایشریشای کلای، باسیلوس سرئوس[40] و سودوموناس آئروژینوزا[41] را مهار می‌کند.

[40] Bacillus cereus

[41] Pseudomonas aeruginosa

فرحان[42] با استفاده از سلولز نیمه تصفیه شده (SRC) و گلیسرول یا سوربیتول به عنوان پلاستیک‌کننده موفق به تهیه فیلم خوراکی شد. برطبق نتایج آزمایش‌های انجام شده بر روی این پوشش پیشنهاد شد که این فیلم‌های تخریب‌پذیر در بسته‌بندی موادغذایی مورد استفاده قرار گیرند. فیلم‌های SRC حاوی پلاستیک کننده (25-30٪)، TS و EB بالاتری از فیلم SRC بدون پلاستیک کننده دارا می‌باشند. همچنین فیلم‌های ساخته شده با سوربیتول در مقایسه با فیلم های پلاستیکی شده با گلیسرول دارای نفوذپذیری کمتری نسبت به اکسیژن بودند. احتمالاً سازگاری زیاد بین شبکه SRC و سوربیتول منجر به تشکیل شبکه کوچکتر و تراوا نسبت به اکسیژن شده است [52].

کاربرد کاراگینان و کامپوزیت‌های آن به عنوان عامل احیا کننده، پوشش دهنده، بسترکاتالیزوری و عامل ضد میکروارگانیسم:

علاوه بر برهمکنش با فلزات و تشکیل هیدروژل، کاراگینان در زمینه‌هایی نظیر احیای فلزات با استفاده از تکنیک‌های گوناگون، استفاده به عنوان بستر برای تهیه نانوکاتالیزورهای مغناطیسی و کاربرد به عنوان قالب جهت شکل‌دهی ساختار مورد استفاده قرار گرفته است .

در سال 2016 نانوذرات نقره با استفاده از تکنیک مایکروویو و درحضور کاراگینان به منظور کاربرد حذف رنگ توسط حسین حسین‌زاده[43] سنتز شد. در این پژوهش ابتدا کاهش نانوذرات نقره به کمک محلول کاراگینان صورت گرفت و پس از افزودن KCl ساختار شبکه‌ی کاراگینان تشکیل شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM) حاکی از قرارگیری نانوذرات نقره با اندازه حدودا 15 نانومتر در بستر متخلخل کاراگینان بود. درواقع کاراگینان به صورت یک قالب زیستی[44] عمل می‌کند. بررسی‌ها نشان می‌دهند که نانوذرات نقره سنتز شده به این روش دارای ساختار تک کریستالی هستند. نتایج آزمون‌های گوناگون مشخص کرد که بسترکاراگینان حاوی نانوذرات نقره را می‌توان برای حذف رنگ‌های مختلف کاتیونی استفاده کرد[53].

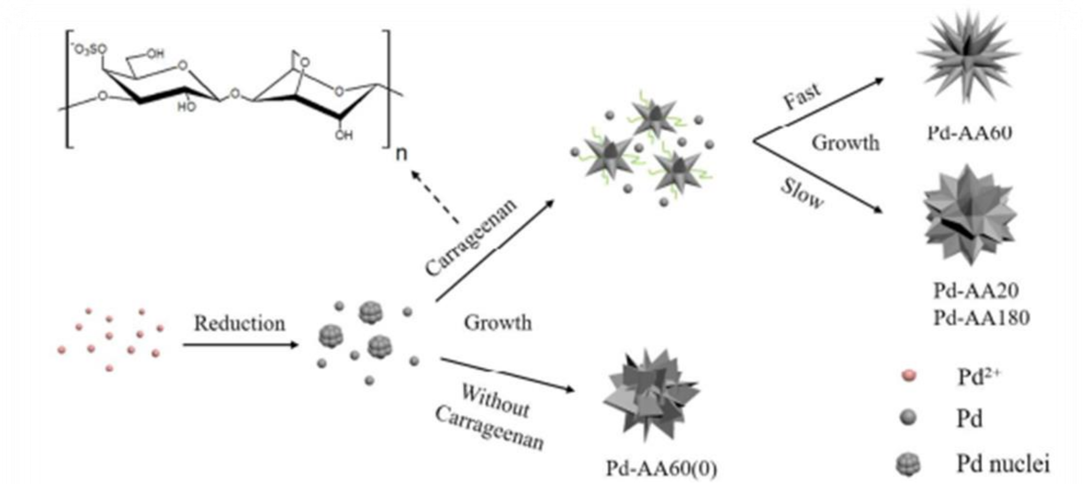
بدلیل اهمیت بالای عواملی همچون pH، غلظت و دمای محیط در میزان جذب رنگ متیلن بلو هریک از این موارد به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته است. بررسی اثر pH در این پژوهش نشان داد که تغییرات pH بر میزان جذب رنگ متیلن بلو توسط محصول بدست آمده موثر نمی‌باشد. علت این پدیده مربوط به ساختار یونی کاراگینان است که موجب می‌شود زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی در یک محدوده کلی از pH به‌طورکامل از یکدیگر جدا باشند.

جالب توجه است که با افزایش غلظت رنگ، میزان جذب نیز افزایش پیدا می‌کند. چرا که مجاورت مولکول‌های رنگ با ساختار نقره/کاراگینان افزایش می‌یابد. همچنین از آنجایی‌که افزایش دما منجر به افزایش میزان انتشار رنگ درون ساختار کاراگینان/نقره می‌گردد جذب رنگ نیز افزایش می‌یابد [53].

هیدروژل‌ها و فیلم‌های کاراگینان/فلز :

مثال دیگر در استفاده از کاراگینان به عنوان قالب زیستی، ساخت نانوذرات پلادیوم با موفولوژی گل است. در این مورد ساخت نانوذرات پالادیوم به کمک احیاءکننده آسکوربیک اسید در عدم حضور کاراگینان موفولوژی گل را ایجاد نکرده است. به عبارتی دیگر کاراگینان به کمک برهمکنش‌های الکترواستاتیک خود با سطح یون‌های پالادیوم موجب جهت-دهی رشد نانوذرات می‌گردد(شکل9). در این پژوهش مشخص شد که غلظت کاراگینان تنها بر روی مورفولوژی موثر است و اثر قابل توجهی بر اندازه ذرات ندارد [54].

[42] Farhan Abdulaal
[43] Hossein Hosseinzadeh
[44] Bio-Template



شکل 9: شماتیک مکانیسم تشکیل نانوذرات پالادیوم

کشاورزی‌پور[۴۵] و همکاران جهت تسهیل واکنش سنتز کینون-ها با استفاده از لامبدا کاراگینان موفق به سنتز کاتالیزگر شدند. بدین‌منظور لامبدا کاراگینان ازطریق برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بر سطح نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 قرار-گرفت. به‌دلیل برهمکنش Zn^{2+} با گروه‌های هیدروکسیل و سولفات کاراگینان، Zn^{2+} برروی Carrageenan/Fe_3O_4 قرارگرفت و درنتیجه کاتالیزگر Zn^{2+}/Carrageenan/Fe_3O_4 ساخته شد. این کاتالیزگر موجب افزایش بازده واکنش سه جزئی بنزآلدهید، آنیلین و بوتانال از 27 ٪ به 95 ٪ شد [55].

اوون[۴۶] و همکاران نشان دادند که افزودن کاراگینان و KCl به‌محلول حاوی یون‌های مس و روی موجب سنتز هیدروژل کاراگینان همراه با اکسیدهای مس و روی می‌شود. بررسی خواص مکانیکی نشان می‌دهد سختی هیدروژل‌های بدست آمده نسبت به هیدورژل Carrageenan/KCl به‌دلیل برهمکنش‌های بین گروه سولفات و نانوذرات مس و روی بالاتر است درحالی که استحکام آن‌ها کمتر می‌باشد. درواقع بار سطحی نانوذرات و برهمکنش آن‌ها با هیدروژل عامل اساسی در بروز خواص مکانیکی هیدروژل است. کاهش پتانسیل زتا پس از اختلاط Zn^{2+} و Cu^{2+} نیز تضعیف خواص مکانیکی پس از تشکیل هیدروژل را تایید می‌کند [56].

جدول 3 نشان می‌دهد که افزایش اکسیدمس و اکسیدروی به فیلم‌های کاراگینان موجب افزایش ضخامت فیلم می‌گردد. همانطور که مشخص است فیلم‌های خالص کاراگینان نسبت به فیلم‌های دارای ذرات اکسید فلزی دارای TS و EM بیشتری هستند. باتوجه به اینکه مقدار KCl استفاده شده در تهیه فیلم‌ها بیشتر از مقدار حلالیت آن در آب بوده، احتمالا به دلیل تبلور مجدد KCl ترک‌های ناپیوسته در ماتریس پلیمری (کاراگینان) ایجاد و خواص مکانیکی کاهش پیدا می-کند.

همچنین نرخ تورم (SR) در جدول گزارش شده است. آزمایشات انجام شده نشان داده‌اند که غوطه‌ورکردن فیلم هیدروژل‌های تهیه شده بر پایه کاراگینان به مدت 15 دقیقه موجب تورم فیلم‌ها می‌شود اما در 30 دقیقه میزان تورم و جذب آب کاهش پیدا می‌کند که این اثر مربوط به انحلال کاراگینان در آب با گذشت زمان است. افزایش نرخ تورم در فیلم‌های Carrageenan/KCl/ZnO احتمالا مربوط به افزایش خواص مکانیکی و حفظ یکپارچگی فیلم است که موجب افزایش جذب آب توسط فیلم می‌شود. در مقابل، تفاوت معناداری بین نرخ تورم فیلم‌های کاراگینان خالص و

[45] Fariba Keshavarzipour

[46] Ahmed A. Oun

کاراگینان حاوی مس‌اکسید مشاهده نشد که با نتایج آزمون کششی تطبیق دارد [56].

فیلم‌ها و هیدروژل‌های ساخته شده برپایه کاراگینان علاوه‌بر ویژگی‌های گفته شده دارای خواص آنتی‌باکتریال هستند که به‌دلیل اهمیت بالای آن به خصوص در موارد پزشکی و غذایی در ادامه به طور جداگانه به آن خواهیم پرداخت.

خواص ضد باکتری فیلم های بر پایه کاراگینان:

درسال 2009 مشخص گردید که فیلم‌های کاپاکاراگینان بر رشد باکتری‌های ای‌کلای[47] و اورئوس[48] اثری ندارند؛ اما افزودن EDTA به فیلم کاپاکاراگینان موجب بروز خاصیت آنتی باکتریال می‌گردد [57]. در این پژوهش فیلم‌های برپایه کاراگینان با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول به عنوان پلاستیک-کننده و اووترانسفرین[49]، پتاسیم سوربات (PS) تهیه شدند. نتایج تست آنتی‌باکتریال مشخص کرده‌اند که حضور EDTA و اووترانسفرین در فیلم باعث بهبود خواص آنتی باکتریال کاراگینان می‌شود.

نتایج تحقیقات در سال (2014) نیز مهر تأییدی بر موارد عنوان شده پیرامون خاصیت ضد باکتریایی در کاراگینان بود. در این پژوهش مشخص گردید که اضافه کردن سیتریک اسید به کاراگینان موجب مهار رشد باکتری‌های ای‌کلای، اورئوس، آروژینوزا[50]، میرابیلیس[51] و کریسانتمی[52] می‌گردد درحالی‌که کاراگینان به تنهایی اثری بر رشد باکتری‌ها ندارد [58].

درسال 2016 پادیل[53] و همکاران نشان دادند که افزودن نانوذرات مس اکسید به کاراگینان موجب مهار رشد باکتری‌ها می‌گردد[59]. درهمین سال در پژوهشی دیگر مشخص گردید که افزودن نانوذرات اکسید مس و اکسید روی به کاپاکاراگینان سبب بروز خاصیت آنتی باکتریال می‌گردد [56].

همچنین طبق گزارشات، قراردادن نانوذرات نقره در تخلخل هیدوژل کاراگینان اصلاح شده با گلوتارآلدهید، موجب مهار رشد باکتری‌های ای‌کلای و اورئوس می‌گردد. بررسی‌ها حاکی از آن‌اند که خاصیت آنتی‌باکتریال مشاهده شده مربوط به وجود نانوذرات نقره است [60].

لازم به ذکر است که خاصیت آنتی‌باکتریال فلزات مربوط به توانایی آن‌ها در واکنش‌پذیری با باکتری است. مکانیسم‌های مختلفی برای خاصیت آنتی‌باکتریال فلزات پیشنهاد شده است. شایع‌ترین مکانیسم برمبنای واکنش‌های گونه فعال اکسیژن[54] (ROS) می‌باشد. در این مکانیسم، فلزات با هیدروژن‌پراکسید تولید شده توسط باکتری واکنش می‌دهند و تولید $OH^{\cdot}$،OH^{-}، M^{+}، $O^{\cdot}_{2}$ می‌کنند. این گونه‌های فعال می‌توانند با پروتئین، کربوهیدرات و DNA باکتری واکنش دهند و آن‌ها را از بین ببرند. در مکانیسم دوم یون فلزی می-تواند با اتم‌های الکترونگاتیو دیواره باکتری(نیتروژن، اکسیژن و فسفر) برهمکنش کند و موجب تخریب باکتری شود. مکانیسم سوم نیز شامل عبور M^{+} از دیواره سلول باکتری و برهمکنش با DNA و پروتئین‌های باکتری و درنهایت مرگ سلول باکتری می‌باشد[61, 62]

بحث و نتیجه گیری

به طور خلاصه سوپرامولکول کاراگینان یک پلی‌ساکارید خطی است که گروه‌های استر سولفات و گالاکتوز ستون فقرات اصلی ساختار آن می‌باشند و با روش‌های مختلفی از جمله استفاده از امواج اولتراسونیک و یا رسوب دهی با استفاده از نمک‌های پتاسیم استخراج می‌شود. نتایج حاکی از آن است که پایداری و انحلال کاراگینان به عوامل مختلفی از جمله دما، pH، کاتیون فلزی، نوع کاراگینان و نوع حلال مورد استفاده وابسته است. از کاراگینان در تهیه کامپوزیت‌های مختلفی با کمک

[47] *E. Coli*
[48] *S. Aureus*
[49] Ovotransferrin
[50] P. Aeruginosa
[51] P. Mirabilis
[52] D. Chrysanthemi
[53] Vinod Vellora Thekkae Padil
[54] Reactive Oxygen Species

مواد پرکننده طبیعی و سنتزی به صورت فیلم نازک و یا هیدورژل استفاده می‌کنند. بررسی مقالات نشان داده است که نوع برهمکنش مواد پرکننده با بستر کاراگینان، مشخص کننده خواص نهایی محصول بدست آمده است و با کنترل پارامترهای مختلف نظیر نوع پرکننده، غلظت، پراکندگی یکنواخت ماده پر کننده در بستر و ... می‌توان تا حد زیادی ویژگی نهایی محصول را کنترل کرد. همچنین لازم به ذکر است که با توجه به ارزان و دردسترس بودن کاراگینان، این پلی ساکارید دارای پتانسیل زیادی برای استفاده در صنایع بسته بندی مواد غذایی، صنایع لبنی، دارورسانی، حسگر، کاتالیزگر و تهیه مواد آنتی باکتریال است.

جدول3: خواص مکانیکی فیلم هیدروژل برپایه کاراگینان

فیلم	ضخامت (µm)	TS (MPa)	EB(٪)	EM (GPa)	SR (٪) در 30دقیقه
کاراگینان	38.5±3.5	55.2±4.7	6.6±1.5	3.37±0.74	2665±118
کاراگینان/KCl	45.7±3.7	44.9±4.8	6.7±3.4	2.24±0.12	2928±241
کاراگینان/KCl/$ZnO^{1\%}$	41.4±1.1	48.2±4.6	10.3±4.5	2.37±0.12	3535±277
کاراگینان/CuO/$KCl^{0.5\%}$/$ZnO^{0.5\%}$	56.6±2.1	32.9±3.9	18.2±0.2	0.89±0.03	2400±240
کاراگینان/KCl/$CuO^{1\%}$	56.1±3.5	30.4±2.5	15.9±2.9	0.88±0.10	2560±138

منابع

1. Sedayu, B.B., M.J. Cran, and S.W. Bigger, *A review of property enhancement techniques for carrageenan-based films and coatings.* Carbohydrate polymers, 2019. **216**: p. 287-302.
2. Necas, J. and L. Bartosikova, *Carrageenan: a review.* Veterinarni medicina, 2013. **58**(4).
3. Padhi, J.R., *Preparation and characterization of novel gelatin and carrageenan based hydrogels for topical delivery(Doctoral dissertation)*. 2015.
4. Karbowiak, T., et al., *Effect of plasticizers (water and glycerol) on the diffusion of a small molecule in iota-carrageenan biopolymer films for edible coating application.* Biomacromolecules, 2006. **7**(6): p. 2011-2019.
5. Rane, L.R., et al., *Preparation and characterization of K-carrageenan/nanosilica biocomposite film.* Journal of Materials, 2014. **2014**: p. 1-8.
6. Aji, A.I., et al. *Optical transparency and mechanical properties of semi-refined iota carrageenan film reinforced with SiO2 as food packaging material*. in *AIP Conference Proceedings*. 2018. AIP Publishing LLC.
7. Saleha, S. *Preparation and characterization edible film packaging from carrageenan*. in *Proceedings of The Annual International Conference, Syiah Kuala University-Life Sciences & Engineering Chapter*. 2013.
8. Diharmi, A., et al., *Chemical and physical characteristics of carrageenan extracted from Eucheuma spinosum harvested from three different I ndonesian coastal sea regions.* Phycological Research, 2017. **65**(3): p. 256-261.
9. Wüstenberg, T., *General overview of food hydrocolloids.* Cellulose and Cellulose Derivatives in the Food industry Fundamentals and Applications; Wüstenberg, T., Ed, 2015: p. 1-68.
10. Husin, A., *Extraction of Kappa Carrageenan from Local Seaweed*. 2014, UMP.
11. Ajithkumar, S., et al., *Optimization of carrageenan extraction process from seaweed.* World J Pharm Pharm Sci, 2017. **6**: p. 2205-13.
12. Rideout, C.S. and M.G. Bernabe, *Method for extracting semi-refined carrageenan from seaweed*. 1998, Google Patents.
13. Pereira, L., *Carrageenans: Sources and extraction methods, molecular structure, bioactive properties and health effects*. 2016: Nova Science Publishers, Incorporated.
14. Sjöhag, E., *Algae hydrocarbons designed for bio-based lubricants*. 2020.
15. Medina-Torres, N., et al., *Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources.* Agronomy, 2017. **7**(3): p. 47.
16. Tiwari, B.K., *Ultrasound: A clean, green extraction technology.* TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2015. **71**: p. 100-109.
17. Vázquez-Delfín, E., D. Robledo, and Y. Freile-Pelegrín, *Microwave-assisted extraction of the Carrageenan from Hypnea musciformis (Cystocloniaceae, Rhodophyta).* Journal of applied phycology, 2014. **26**(2): p. 901-907.
18. Kaczmarek, B., K. Nadolna, and A. Owczarek, *The physical and chemical properties of hydrogels based on natural polymers*, in *Hydrogels Based on Natural Polymers*. 2020, Elsevier. p. 151-172.
19. Schefer, L., et al., *Supramolecular chiral self-assembly and supercoiling behavior of carrageenans at varying salt conditions.* Nanoscale, 2015. **7**(39): p. 16182-16188.
20. Geonzon, L.C., R.G. Bacabac, and S. Matsukawa, *Network structure and gelation mechanism of kappa and iota carrageenan elucidated by multiple*

29. Liu, S. and L. Li, *Ultrastretchable and self-healing double-network hydrogel for 3D printing and strain sensor.* ACS Applied Materials & Interfaces, 2017. **9**(31): p. 26429-26437.
30. Wu, J., et al., *Extremely deformable, transparent, and high-performance gas sensor based on ionic conductive hydrogel.* ACS applied materials & interfaces, 2018. **11**(2): p. 2364-2373.
31. Duman, O., et al., *Agar/κ-carrageenan composite hydrogel adsorbent for the removal of Methylene Blue from water.* International Journal of Biological Macromolecules, 2020.
32. Prasannan, A., et al., *Robust underwater superoleophobic membranes with bio-inspired carrageenan/laponite multilayers for the effective removal of emulsions, metal ions, and organic dyes from wastewater.* Chemical Engineering Journal, 2020. **391**: p. 123585.
33. Goel, A., et al., *Microwave assisted κ-carrageenan capped silver nanocomposites for eradication of bacterial biofilms.* Carbohydrate polymers, 2019. **206**: p. 854-862.
34. Li, L., et al., *Ionically cross-linked sodium alginate/κ-carrageenan double-network gel beads with low-swelling, enhanced mechanical properties, and excellent adsorption performance.* Chemical Engineering Journal, 2019. **372**: p. 1091-1103.
35. Zhang, Z., et al., *Encapsulation of lactase (β-galactosidase) into κ-carrageenan-based hydrogel beads: Impact of environmental conditions on enzyme activity.* Food chemistry, 2016. **200**: p. 69-75.
36. Li, Y., et al., *Anticoagulant chitosan-kappa-carrageenan composite hydrogel sorbent for simultaneous endotoxin and bacteria cleansing in septic blood.* Carbohydrate Polymers, 2020: p. 116470.
37. Slade, L., H. Levine, and D.S. Reid, *Beyond water activity: recent advances particle tracking.* Food Hydrocolloids, 2019. **92**: p. 173-180.
21. Rochas, C. and M. Rinaudo, *Mechanism of gel formation in κ-carrageenan.* Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 1984. **23**(4): p. 735-745.
22. Rhein-Knudsen, N., M.T. Ale, and A.S. Meyer, *Seaweed hydrocolloid production: an update on enzyme assisted extraction and modification technologies.* Marine drugs, 2015. **13**(6): p. 3340-3359.
23. Nouri, A., et al., *An investigation of the role of fabrication process in the physicochemical properties of κ-carrageenan-based films incorporated with Zataria multiflora extract and nanoclay.* Food Packaging and Shelf Life, 2020. **23**: p. 100435.
24. Zhang, B., et al., *Effect of kappa-carrageenan oligosaccharides on myofibrillar protein oxidation in peeled shrimp (Litopenaeus vannamei) during long-term frozen storage.* Food chemistry, 2018. **245**: p. 254-261.
25. Prasedya, E.S., et al., *Carrageenan delays cell cycle progression in human cancer cells in vitro demonstrated by FUCCI imaging.* BMC complementary and alternative medicine, 2016. **16**(1): p. 1-9.
26. Deng, Y., et al., *Dual physically cross-linked κ-carrageenan-based double network hydrogels with superior self-healing performance for biomedical application.* ACS applied materials & interfaces, 2018. **10**(43): p. 37544-37554.
27. Jaiswal, L., S. Shankar, and J.-W. Rhim, *Carrageenan-based functional hydrogel film reinforced with sulfur nanoparticles and grapefruit seed extract for wound healing application.* Carbohydrate polymers, 2019. **224**: p. 115191.
28. Sathuvan, M., et al., *κ-Carrageenan: An effective drug carrier to deliver curcumin in cancer cells and to induce apoptosis.* Carbohydrate polymers, 2017. **160**: p. 184-193.

46. Yu, H.C., et al., *Ultrathin κ-carrageenan/chitosan hydrogel films with high toughness and antiadhesion property.* ACS applied materials & interfaces, 2018. **10**(10): p. 9002-9009.
47. Sedayu, B.B., M.J. Cran, and S.W. Bigger, *Improving the moisture barrier and mechanical properties of semi-refined carrageenan films.* Journal of Applied Polymer Science, 2020: p. 49238.
48. Sun, G., et al., *Developing a green film with pH-sensitivity and antioxidant activity based on κ-carrageenan and hydroxypropyl methylcellulose incorporating Prunus maackii juice.* Food Hydrocolloids, 2019. **94**: p. 345-353.
49. Zhang, C., et al., *Accurately intelligent film made from sodium carboxymethyl starch/κ-carrageenan reinforced by mulberry anthocyanins as an indicator.* Food Hydrocolloids, 2020: p. 106012.
50. Sandhu, K.S., et al., *Physical, structural and thermal properties of composite edible films prepared from pearl millet starch and carrageenan gum: Process optimization using response surface methodology.* International Journal of Biological Macromolecules, 2020. **143**: p. 704-713.
51. Chi, W., et al., *Developing a highly pH-sensitive κ-carrageenan-based intelligent film incorporating grape skin powder via a cleaner process.* Journal of Cleaner Production, 2020. **244**: p. 118862.
52. Farhan, A. and N.M. Hani, *Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol.* Food Hydrocolloids, 2017. **64**: p. 48-58.
53. Hosseinzadeh, H., *Microwave-assisted synthesis of kappa-carrageenan beads containing silver nanoparticles with dye adsorption and antibacterial properties.* Journal of Nanostructures, 2016. **6**(2): p. 132-139.

based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 1991. **30**(2-3): p. 115-360.
38. Beck, M., I. Tomka, and E. Waysek, *Physico-chemical characterization of zein as a film coating polymer: A direct comparison with ethyl cellulose.* International journal of pharmaceutics, 1996. **141**(1-2): p. 137-150.
39. Distantina, S. and M. Fahrurrozi, *Synthesis of hydrogel film based on carrageenan extracted from Kappaphycus alvarezii.* Modern Applied Science, 2013. **7**(8): p. 22.
40. Distantina, S. and M. Fahrurrozi, *Stabilization of kappa carrageenan film by crosslinking: comparison of glutaraldehyde and potassium sulphate as the crosslinker.* International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering (IPCBEE), 2014. **74**: p. 1-5.
41. Zhang, R., et al., *Synthesis and characterization of konjac glucomannan/carrageenan/nano-silica films for the preservation of postharvest white mushrooms.* Polymers, 2019. **11**(1): p. 6.
42. Mellinas, C., et al., *Active edible films: Current state and future trends.* Journal of Applied Polymer Science, 2016. **133**(2).
43. Martins, J.T., et al., *Synergistic effects between κ-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof.* Food Hydrocolloids, 2012. **29**(2): p. 280-289.
44. Abdou, E. and M. Sorour, *Preparation and characterization of starch/carrageenan edible films.* International Food Research Journal, 2014. **21**(1): p. 189.
45. Zarina, S. and I. Ahmad, *Biodegradable composite films based on κ-carrageenan reinforced by cellulose nanocrystal from kenaf fibers.* BioResources, 2015. **10**(1): p. 256-271.

reducing and capping agents. Nanoscale research letters, 2020. **15**(1): p. 1-9.

54. Ma, N., et al., *Carrageenan asissted synthesis of palladium nanoflowers and their electrocatalytic activity toward ethanol.* ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2018. **6**(1): p. 1133-1140.
55. Keshavarzipour, F. and H. Tavakol, *Zinc cation supported on carrageenan magnetic nanoparticles: A novel, green and efficient catalytic system for one-pot three-component synthesis of quinoline derivatives.* Applied Organometallic Chemistry, 2017. **31**(8): p. e3682.
56. Oun, A.A. and J.-W. Rhim, *Carrageenan-based hydrogels and films: Effect of ZnO and CuO nanoparticles on the physical, mechanical, and antimicrobial properties.* Food Hydrocolloids, 2017. **67**: p. 45-53.
57. Seol, K.-H., et al., *Antimicrobial effect of κ-carrageenan-based edible film containing ovotransferrin in fresh chicken breast stored at 5 C.* Meat Science, 2009. **83**(3): p. 479-483.
58. El-Fawal, G., *Preparation, characterization and antibacterial activity of biodegradable films prepared from carrageenan.* Journal of food science and technology, 2014. **51**(9): p. 2234-2239.
59. Padil, V.V.T. and M. Černík, *Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application.* International journal of nanomedicine, 2013. **8**: p. 889.
60. Jayaramudu, T., et al., *Iota-Carrageenan-based biodegradable Ag0 nanocomposite hydrogels for the inactivation of bacteria.* Carbohydrate polymers, 2013. **95**(1): p. 188-194.
61. Palza, H., *Antimicrobial polymers with metal nanoparticles.* International journal of molecular sciences, 2015. **16**(1): p. 2099-2116.
62. Shu, M., et al., *Biosynthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using yeast extract as*