



Preparation of Biopolymer Based on Agar Extracted from Persian Gulf Red Algae *Acanthophora* and Evaluation of Its Properties

P. Dianat¹, M. Haji Abdolrasouli^{ID}*², M. Yousefzadi³

1- Studnet, Department of Marine Biotechnology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2- Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemical Engineering, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

(*- Corresponding Author Email: abdorrasouli@hormozgan.ac.ir)

3- Full Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran

How to cite this article:

Received: 2022.09.10
Revised: 2022.12.24
Accepted: 2023.01.01
Available Online: 2023.01.02

Dianat, P., Haji Abdolrasouli, M., & Yousefzadi, M. (2023). Preparation of biopolymer based on agar extracted from Persian Gulf red algae *Acanthophora* and evaluation of its properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(5), 635-648. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78025.1196>

Introduction

Consumer demand for healthy food free of chemical preservatives and environmental concerns with plastic packaging environments are analyzed, which can be replaced by aquatic environments that can be contaminated, for the development of bio-based packaging materials. Natural polymers have the ability to be biodegradable due to the presence of oxygen or nitrogen atoms in their main polymer chain compared to the dominant carbon-carbon bonds in fossil-based polymers. Among the various biopolymers used to prepare multilayer films, polysaccharides are considered as the main components of the film due to their abundance and non-toxicity. These films generally have good mechanical strength, moderate physical properties, and most importantly, are edible and easily degradable. However, they are very brittle and hydrophilic, and these properties are undesirable in food packaging applications. Among polysaccharides, agar, commercially extracted from seaweed, is one of the most common and widely studied base materials. Agar is insoluble in cold water, but soluble in water at 90-100°C. When making an agar film, the solution and casting surface must be kept above the agarose gel setting temperature to avoid premature gelation. Compared to other biopolymers, agar is more stable at low pH and high temperature. This thermoplastic and biocompatible polysaccharide creates films with high mechanical strength, transparency and moderate barrier properties to carbon dioxide and oxygen, and most importantly, it is edible and easily biodegradable. Mixing agar with other polymers such as polyvinyl alcohol (PVA) and polyethylene improves the mechanical, thermal and biodegradability properties of bio composites. The main goal of this study is to make biofilms for use in packaging industries with agar polymer extracted from macroalgae species *Acanthophora* sp. Agar was extracted by sodium hydroxide/heating method and the film was prepared in combination with industrial polymer PVA and glycerol.

Materials and Methods

To make biofilms based on agar polymer, firstly, optimization of agar polymer extraction from macroalgae species *Acanthophora* sp. was done by sodium hydroxide/heating method, and in the next step, total phenolic compounds and the amount of soluble protein in extracted agar were measured. In the next step, glycerol with 30% by weight was used as a softener and PVA polymer with a weight ratio of 25% to the dry weight of agar powder was used to make bio composite by solvent casting method, in order to strengthen the mechanical and physical properties of bio composites. Characterization tests of the prepared composites included: XRD, FTIR and Tensile test. Laboratory tests include; The



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78025.1196>

percentage of solubility in water and degree of swelling for all bio-composites were evaluated to determine the optimal physical properties of bio-films.

Results and Discussion

he results showed that; 15% extraction efficiency was obtained for sodium hydroxide/heating pretreatment method. The results of measuring the amount of total phenolic compounds in agar solution extracted by sodium hydroxide/heating method showed that the number of phenolic compounds in agar solution was 0.077 ± 0.004 in terms of mg of gallic acid/g of agar. The results of measuring the amount of protein in extracted agar determined by Bradford method showed that the agar solution contains 0.040 ± 0.019 mg/ml of protein. A decrease in the swelling rate and an increase in the water solubility of the agar bio composite occurred with the addition of glycerol and PVA polymer. The results of the tensile test showed that the addition of glycerol, a small hydrophilic molecule, to the agar bio composite leads to a decrease in the elastic modulus and an increase in flexibility. Adding PVA to agar/glycerol biofilm caused a decrease in the amount of elastic modulus and percentage of flexibility, which is the main factor of this phenomenon, the low values of elastic modulus and flexibility of PVA. Finally, the results confirm the use of these coatings for packing fruits and vegetables in tropical regions by increasing their shelf life for at least 5 days at 25°C.

Keywords: Bioplastic, Bio-polymer, Packing, Polysaccharide, PVA



مقاله پژوهشی

جلد ۱۹، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۲، ص. ۶۴۸-۶۳۵

تهیه بیوپلیمر بر پایه آگار استخراج شده از جلبک قرمز *Acanthophora* خلیج فارس و ارزیابی خواص آن

پریسا دیانت^۱ - مهدی حاجی عبدالرسولی^{۲*} - مرتضی یوسف زادی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۱

چکیده

در میان پلیمرهای زیستی مختلف مورد استفاده برای تهیه فیلم، پلی‌ساکاریدها به دلیل فراوانی و غیر سمی بودن به عنوان اجزای اصلی فیلم به‌شمار می‌آیند. مخلوط آگار با سایر پلیمرها مانند PVA، خواص مکانیکی و زیست تخریب‌پذیری کامپوزیت‌های زیستی بهبود می‌بخشد. هدف اصلی این پژوهش ساخت بیوپلیمر به منظور کاربرد در صنایع بسته‌بندی با آگار استخراج شده از ماکرو جلبک *Acanthophora* در ترکیب با پلیمر صنعتی پلی‌وینیل‌الکل و گلیسرول است. برای ساخت بیوپلیمر آگار، در ابتدا بهینه‌سازی استخراج پلیمر آگار از ماکرو جلبک با روش سدیم هیدروکسید/ گرمادهی انجام و در مرحله بعد سنجش ترکیبات محلول آگار استخراجی صورت گرفت. سپس برای ساخت کامپوزیت زیستی با روش قالب‌گیری از گلیسرول (۳۰ درصد وزنی-وزنی) و پلیمر PVA (۲۵ درصد وزنی-وزنی) استفاده شد. نتایج نشان داد که بازده استخراج برای روش پیش‌تیمار سدیم هیدروکسید/ گرمادهی ۱۵ درصد است. آزمون سنجش میزان کل ترکیبات فنلی محلول آگار استخراج شده نشان داد که میزان ترکیبات فنولی محلول آگار 0.04 ± 0.07 بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم آگار و میزان پروتئین محلول آگار استخراج شده، حاوی 0.19 ± 0.40 پروتئین بر حسب میلی‌گرم/میلی‌لیتر آگار است. نتایج آزمون کشش بیانگر این بود که افزودن گلیسرول به آگار باعث افزایش انعطاف‌پذیری و افزودن پلیمر PVA باعث افزایش در میزان استحکام کششی و بهبود خواص فیزیکی نظیر افزایش درجه تورم، کاهش درصد حلالیت در آب فیلم‌های زیستی بر پایه آگار می‌شود. در نهایت نتایج، استفاده از این پوشش‌ها جهت بسته‌بندی میوه و سبزیجات در مناطق گرمسیری با افزایش طول عمر مفید آن‌ها به مدت حداقل تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تایید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی، بیوپلیمر، پلاستیک زیستی، پلی‌ساکارید، PVA

مقدمه

بازیافت بسته‌بندی مواد غذایی به دلیل باقیمانده مواد غذایی دشوار و گران است. بنابراین، توسعه مواد بسته‌بندی مواد غذایی ساخته شده از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مورد نیاز است. همچنین تقاضای مصرف‌کننده برای غذای سالم و عاری از مواد نگهدارنده مصنوعی و نگرانی‌های زیست‌محیطی مرتبط با زباله‌های بسته‌بندی پلاستیکی تجزیه‌ناپذیر که اکوسیستم از جمله محیط‌های آبی را آلوده می‌کنند،

مواد بسته‌بندی به‌عنوان آلاینده‌های زیست محیطی در سراسر جهان عمل می‌کنند. زیرا عموماً از پلیمرهای تجزیه‌ناپذیر از جمله پلی اتیلن، پلی‌پروپیلن و اتیلن ترفتالات ساخته شده‌اند. علاوه بر این، بسته بندی مواد غذایی بیشترین ضایعات بسته‌بندی را تشکیل می‌دهد، زیرا

۱- دانشجو، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریا، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲- استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

*- نویسنده مسئول: (Email: abdorrasouli@hormozgan.ac.ir)

۳- استاد تمام، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

جمله نشاسته از منابع گیاهی مختلف (Fakhouri *et al.*, 2013; Marichelvam *et al.*, 2019; Marichelvam *et al.*, 2022) ژلاتین استخوان جانداران (Fakhouri *et al.*, 2012; Susilawati *et al.*, 2019; Wulandari *et al.*, 2022) کیتوزان (Hasan & Rahman, 2018; Suryanegara *et al.*, 2021) پلی‌لاکتیک‌اسید (Abdullah *et al.*, 2019; Yusoff *et al.*, 2021) آگار (Arham *et al.*, 2018; Basumatary *et al.*, 2018; Hii *et al.*, 2016; Hong *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2019; Rhim, 2014; Shankar *et al.*, 2013; Rhim *et al.*, 2011) و آگار در ترکیب با سایر بیوپلیمرها (Lee *et al.*, 2021; Madera-Santana *et al.*, 2011; Madera-Santana *et al.*, 2009; Nguyen *et al.*, 2021; Orsuwan *et al.*, 2016) انجام شده است. در مطالعه حاضر آگار استخراج شده از ماکرو جلبک قرمز *Acanthophora* در ترکیب با پلیمر PVA برای تولید فیلم‌های زیستی مورد استفاده و خواص فیزیکی و مکانیکی آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماده اولیه جهت استخراج پلی‌ساکارید آگار شامل سدیم هیدروکسید از شرکت سیگما آلدریج (کشور آلمان) است. در ساخت پلاستیک زیستی از گلیسرول و پلیمر صنعتی پلی‌وینیل الکل با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ دالتون تهیه شده از شرکت مرک (کشور آلمان) استفاده شد.

جمع‌آوری و شناسایی جلبک قرمز دریایی

جهت استخراج آگار، ماکرو جلبک قرمز در پاییز از ناحیه جزر و مدی، در زمان حداکثر جزر از سواحل شیب‌دراز جزیره قشم واقع در خلیج فارس جمع‌آوری گردید. توده‌های جمع‌آوری شده با آب دریا شسته شد و بعد از جداسازی شن و یا جانداران اپی‌فیت به آزمایشگاه زیست‌فناوری دریایی دانشگاه هرمزگان منتقل گردید و نمونه‌ها چندین بار با آب شهری شستشو شد تا هر گونه مواد و جسم خارجی از جلبک خارج شود. در آخرین مرحله شستشو، یک بار با آب مقطر شسته شد تا شوری اضافه زدوده گردد و سپس در سایه در رطوبت ۵۰٪ و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک گردید. نمونه جمع‌آوری شده با کلیدهای شناسایی معتبر [۱۴-۱۶]، اطلس و چک لیست‌های موجود از ماکرو جلبک‌های منطقه خلیج فارس [۱۷، ۱۸]، جست‌وجو در پایگاه علمی بانک جلبک (Algae base) و نیز براساس خصوصیات مورفولوژیک تا سطح جنس شناسایی شدند.

منجر به توسعه مواد بسته‌بندی زیستی جایگزین شده است. پلاستیک‌های زیستی عمدتاً از زیست‌توده‌های تجدیدپذیر مانند پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌هایی که جایگزین‌های جذابی برای پلیمرهای پلاستیکی بر پایه نفت هستند، تهیه می‌شوند (Spierling *et al.*, 2018). پلیمرهای طبیعی به دلیل وجود اتم‌های اکسیژن یا نیتروژن در زنجیره اصلی پلیمری آن‌ها در مقایسه با پیوندهای کربن-کربن غالب در پلیمرهای برپایه نفت، قابلیت زیست‌تخریب‌پذیری دارند (Kumar *et al.*, 2018). در میان پلیمرهای زیستی مختلف مورد استفاده برای تهیه فیلم‌های چند لایه، پلی‌ساکاریدها به دلیل فراوانی و غیرسمی بودن به عنوان اجزای اصلی فیلم به‌شمار می‌آیند. این فیلم‌ها عموماً دارای استحکام مکانیکی خوب، خواص فیزیکی متوسط و مهم‌تر از همه، خوراکی هستند و به راحتی تجزیه می‌شوند. با این حال، آن‌ها بسیار شکننده و آب‌دوست هستند. این ویژگی‌ها در کاربردهای بسته‌بندی مواد غذایی نامطلوب هستند. نشاسته، آگار، سلولز و مشتقات آن، پکتین، کیتوزان، آلزینات و کاراگینان مواد پلی‌ساکارید اصلی هستند که به عنوان مواد بسته‌بندی خوراکی عموماً مورد استفاده قرار می‌گیرد (da Rocha *et al.*, 2018). در میان پلی‌ساکاریدها، آگار که به صورت تجاری از جلبک‌های دریایی استخراج می‌شود، یکی از رایج‌ترین مواد پایه‌ای است که به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (Basumatary *et al.*, 2018; Hernández *et al.*, 2022; Kumar *et al.*, 2019; Madera-Santana *et al.*, 2011). آگار در آب سرد نامحلول است، اما در دمای ۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در آب محلول است. هنگام ساخت یک فیلم آگار، محلول و سطح قالب‌گیری باید بالاتر از دمای تنظیم ژل آگاروز نگهداری شود تا از ژل شدن زودرس جلوگیری شود. در مقایسه با سایر پلیمرهای زیستی، شفاف و با خواص سدپذیری متوسط نسبت به گاز کربن‌دی‌اکسید و اکسیژن ایجاد می‌کند و مهم‌تر از همه، خوراکی و به آسانی قابل تجزیه زیستی است (da Rocha *et al.*, 2018). مخلوط آگار با سایر پلیمرها مانند پلی‌وینیل الکل (PVA) و پلی‌اتیلن، خواص مکانیکی، حرارتی و زیست‌تخریب‌پذیری کامپوزیت‌های زیستی بهبود می‌بخشد (Madera-Santana *et al.*, 2009). PVA یک ماده با انحلال‌پذیری عالی است که به دلیل ماهیت محلول در آب، زیست‌تخریب‌پذیری و سازگاری بالا آن برای کاربردهای بسته‌بندی، استفاده می‌شود (Haghighi *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2021; Mathew *et al.*, 2019). این پلیمر غیرسمی سنتزی و نیمه کریستالی شفاف، بی‌بو، بسیار انعطاف‌پذیر با خواص امولسیون‌کنندگی و چسبندگی عالی است. از این رو، PVA در چسب‌ها و پوشش‌های کاغذ و مواد بسته‌بندی استفاده می‌شود. اما محدودیت‌های این پلیمر شامل ماهیت قطبی بالا، بازدارندگی ضعیف و خواص مکانیکی نامطلوب می‌باشد (Madera-Santana *et al.*, 2014). تا اکنون ساخت پلاستیک زیستی توسط محققان با استفاده از پلیمرهای مختلف؛ از



شکل ۱- ماکرو جلبک قرمزگونه *Acanthophora* sp. عکس از نگارنده

Fig. 1. Red macroalgae *Acanthophora* sp. Photo by the author

استخراج پلیمر آگار

برای استخراج آگار از ماکرو جلبک بومی خلیج فارس جنس *Acanthophora* استفاده شد. استخراج به روش گرمادهی صورت گرفت. علاوه بر این، اثر یک مرحله پیش تصفیه قلیایی اولیه برای حذف ناخالصی‌ها از جلبک دریایی خام، قبل از فرآیندهای استخراج نیز مورد بررسی قرار گرفت (Martínez-Sanz et al., 2019). در ابتدا، نمونه‌های یک گرمی ماکرو جلبک خشک شده در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر غوطه‌ور شد و سپس جهت افزایش خلوص و قدرت ژل شدگی آگار استخراج شده، سدیم هیدروکسید ۱۰ درصد (وزنی - حجمی) قطره قطره اضافه گردید تا به pH معادل ۱۱ برسد و سپس به مدت زمان ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری (کمپانی Daihan Scientific، مدل WB-11) قرار گرفت. سپس فیلتراسیون با استفاده از دستگاه سانتری فیوژ (کمپانی سیگما، مدل 2-16P) صورت گرفت و چندین بار با آب شهری شستشو داده شد تا اسیدیته باقی‌مانده توده ماکرو جلبک خنثی شود. در مرحله بعد باقی‌مانده ماکرو جلبک در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر خیسانده شد و سپس به مدت زمان ۲ ساعت تحت تاثیر دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از انجام فیلتراسیون محلول آگار از باقی‌مانده توده ماکرو جلبک جدا گردید و بعد از دو چرخه انجماد_ذوب (۲۱-۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شد. در انتها میزان بازدهی استخراج آگار برای روش استخراجی فوق، طبق معادله ۱ محاسبه شد:

$$\text{Yield (\% W/W)} = \frac{\text{dry weight agar (g)}}{\text{initial dry weight seaweed (g)}} \times 100 \quad (1)$$

سنجش محتوی ترکیبات فنلی آگار

ترکیبات فنلی محلول آگار با روش رنگ‌سنجی فولین سیو کالتو با اندکی تغییر برآورد شد (Soleimani et al., 2022). اساس کار در این روش، احیا معرف فولین سیو کالتو توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۵

نانومتر نشان می‌دهد. در این آزمایش، ابتدا غلظت‌های مختلفی از اسید گالیک (۰/۰۰۳ - ۰/۰۲۴ میلی گرم بر میلی لیتر) به عنوان استاندارد تهیه شد. به طور خلاصه، معرف فولین - سیو کالتو به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شد و ۳ میلی لیتر از رقت نهایی با ۰/۶ میلی لیتر از نمونه محلول آگار (محلول در آب مقطر با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) در دمای اتاق مخلوط شد. در نهایت ۲/۴ میلی لیتر کربنات سدیم (۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری قرار گرفتند و مقادیر جذب در ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. آب مقطر به عنوان بلانک استفاده شد. یک منحنی کالیبراسیون با استفاده از اسید گالیک به عنوان استاندارد ساخته شد و محتوای فنلی کل به صورت میلی گرم اسید گالیک در گرم آگار استخراج شده بیان شد. همه آزمایشات در سه تکرار انجام شد. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره طبق فرمول ۲ محاسبه گردید:

$$C = c \cdot \frac{v}{m'} \quad (2)$$

C میزان کل ترکیبات فنلی موجود در محلول آگار را نشان می‌دهد (mg/g)، c غلظت معادل اسید گالیک که از منحنی استاندارد به دست می‌آید (mg/ml)، v حجمی از محلول آگار که با آن آزمایش صورت گرفت (ml) و m' میزان آگار به دست آمده از یک گرم توده جلبک می‌باشد.

سنجش محتوی پروتئین آگار

محتوی پروتئین محلول آگار استخراجی، طبق روش برادفورد مورد سنجش قرار گرفت. در این روش، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول آگار (۱ میلی گرم در میلی لیتر) با ۳ میلی لیتر محلول برادفورد مخلوط شد. پس از ورتکس لوله‌ها و ماندن در دمای آزمایشگاه به مدت ۵ دقیقه، جذب مخلوط واکنش در دستگاه اسپکتروفتومتر (کمپانی Cecil، مدل ۹۰۰۰) و در طول موج ۵۹۵ نانومتر سنجیده شد. سپس میزان پروتئین نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر نمونه‌ها به دست آمد. میزان پروتئین محلول آگار با سرم آلبومین گاوی (Bovine serum albumin (BSA)) به عنوان استاندارد مقایسه شد. سدیم کلراید ۰/۱۵ مولار نیز به عنوان بلانک استفاده شد. جهت رسم نمودار استاندارد، ابتدا با استفاده از محلول ۰/۱۵ مولار سدیم کلراید، محلول ۰/۵ مولار سرم آلبومین گاوی در غلظت‌های ۰/۰۳۱، ۰/۰۶۲، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد، سپس آزمایش مانند روش بیان شده در بالا انجام شد.

آماده‌سازی بیوپلیمر

ساخت فیلم‌های زیستی آگار/گلیسرول طبق روش قالب‌گیری با اندکی تغییر انجام شد. برای بهینه‌سازی نسبت آگار استخراجی و

$$\text{Water solubility} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100 \quad (۴)$$

که در آن W_1 وزن خشک فیلم‌های زیستی و W_2 وزن نهایی فیلم‌های زیستی است.

آزمون کشش

خواص مکانیکی فیلم‌های زیستی بر اساس استاندارد ASTM D 882 با استفاده از دستگاه تست جهانی Tinius Olsen H50 KT با اعمال یک سلول بارگذاری ۵۰۰ نیوتن با سرعت ۵ میلی‌متر در دقیقه اندازه‌گیری شد. هر نمونه (۳ cm × ۱۰ cm) به صورت عمودی در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه دو فک دستگاه روی ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت گیره در ۵۰ میلی‌متر در دقیقه تنظیم شد. ضخامت نمونه با استفاده از میکرومتر الکترونیکی با دقت ۱ میکرومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر متوسط خواص مکانیکی استحکام (مگاپاسکال)، درصد انعطاف‌پذیری، مدول الاستیک (مگاپاسکال) و چقرمگی (ژول) از نتایج ۶ آزمایش محاسبه و به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد.

طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس

از طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس جهت بررسی بیوپلیمرهای ساخته شده استفاده شد. این آزمون برای هر ۴ نمونه لایه نازک بیوپلیمر با ابعاد ۲ cm × ۲ cm، توسط دستگاه XRD مدل X'pert شرکت Philips ساخت کشور هلند انجام شد. الگوی پراش پرتو ایکس با وضوح بالا در Kw 3 با استفاده از طیف‌گسیل شده با طول موج ۱/۵۸ آنگستروم در ۴۰ kV و ۴۰ mA اندازه‌گیری شد و در محدوده ۰° - ۸۰° $2\theta = 5^\circ$ برای فیلم‌های زیستی ثبت گردید.

طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه

برای شناسایی ساختار شیمیایی بیوپلیمرها ساخته شده از طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد. برای این منظور از دستگاه ATR-FTIR مدل ALPHA-E همراه با Zn-Se ATR شرکت Bruker ساخت کشور آلمان استفاده شد. بیوپلیمرهای تهیه شده در محدوده طول موج ۴۰۰۰-۵۰۰ cm^{-1} اندازه‌گیری شد.

آزمون پایداری میوه و سبزیجات

بیوپلیمرهای ساخته شده برای آزمایش افزایش ماندگاری توت فرنگی مورد مطالعه قرار گرفت. توت فرنگی با اندازه، شکل، بلوغ و رنگ تقریباً مشابه از بازار محلی خریداری شد و با هر نمونه فیلم

نرم‌کننده گلیسرول، ۲/۵ گرم پودر آگار استخراجی با ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد (وزنی-وزنی) گلیسرول مخلوط شد. در ابتدا، پودر آگار خشک (۲/۵ گرم) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ۹۰ درجه سانتی‌گراد با هم زدن به‌طور مداوم در دور بالا با استفاده از دستگاه هیتر همزن مغناطیسی (کمپانی IKA آلمان، مدل RH Basic 2) مخلوط شد، تا محلول شفاف شود. سپس گلیسرول به میزان ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد (وزنی-وزنی) نسبت به وزن خشک آگار قطره قطره به محلول آگار اضافه شد و به مدت زمان ۲ ساعت به‌طور مداوم هم‌زده شد. بعد از رسیدن دمای محلول به ۶۰ درجه سانتی‌گراد در ظروف بزرگ پتری‌دیش ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه خشک شد (Kumar et al., 2019). طبق آنالیز خواص مکانیکی و تعیین بهینه‌ترین میزان نرم‌کننده گلیسرول، در مرحله بعد برای ساخت بیوپلیمر آگار/گلیسرول/PVA، ۲۵ درصد (وزنی-وزنی) پلی‌ونیل‌الکل (PVA) به محلول بهینه ۲/۵ گرم پودر آگار استخراجی و گلیسرول اضافه شد (Madera-Santana et al., 2014).

ارزیابی خواص بیوپلیمرها

درجه تورم

برای تعیین درجه تورم هر کدام از بیوپلیمرها، ابتدا هر کدام از بیوپلیمرها به طور تصادفی در سه تکرار در ابعاد ۵ cm × ۵ cm برش داده شد و پس از تعیین وزن اولیه (W_1)، به مدت ۴۵ دقیقه در آب مقطر غوطه‌ور شد. در مرحله بعد بیوپلیمرها از آب خارج شدند و پس از خشک کردن آب سطحی، وزن ثانویه (W_2) تعیین شد (Shankar & Rhim, 2017). درجه تورم هر کدام از فیلم‌ها مطابق فرمول ۳ محاسبه شد:

$$\text{Swelling ratio} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_1} \right) \times 100 \quad (۳)$$

که در آن W_1 وزن خشک فیلم‌های زیستی و W_2 وزن نهایی فیلم‌های زیستی است.

حلالیت در آب

جهت تعیین میزان حلالیت در آب بیوپلیمرها، ابتدا فیلم‌ها در سه تکرار در ابعاد ۳ cm × ۳ cm برش داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد و سپس وزن اولیه (W_1) تعیین شد. هر بیوپلیمر در بشرهای جداگانه در حجم ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. در مرحله بعد، بیوپلیمرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد و سپس وزن ثانویه (W_2) محاسبه شد (Shankar & Rhim, 2017). درصد حلالیت هر کدام از بیوپلیمرها در آب طبق فرمول ۴ محاسبه شد:

قدرت ژل می‌شود. از سوی دیگر، آگار در طی تیمار قلیایی تحت تخریب و انتشار به سمت محیط آبی قرار می‌گیرد، بنابراین به طور قابل توجهی بازده استخراج را کاهش می‌دهد؛ (Kumar & Fotedar, 2009; Martínez-Sanz et al., 2019; Sasuga et al., 2017). به علاوه مطالعات مشابه نشان داده است که استخراج آگار با یک مرحله پیش تیمار با سدیم هیدروکسید، باعث حداکثر میزان خلوص ژل آگار استخراجی با حداقل میزان ترکیبات فنولی و پروتئین خواهد شد و در نهایت استحکام کششی ژل استخراجی را بهبود می‌بخشد (Ganesan et al., 2018; Martínez-Sanz et al., 2019).

ارزیابی خواص بیوپلیمرها

درجه تورم و حلالیت در آب فیلم‌های زیستی

نتایج درجه تورم و درصد حلالیت بیوپلیمرها به ترتیب در شکل ۲ و شکل ۳ قابل مشاهده است. طبق نتایج به دست آمده (شکل ۲)، میزان درجه تورم آگار خالص $3/25 \pm 3/18$ است و درجه تورم PVA خالص، به دلیل حلالیت در آب بالا، صفر گزارش شد. افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار، طبق انتظار باعث کاهش درجه تورم فیلم‌های زیستی تا $4/95 \pm 1/38$ درصد شد. افزودن پلیمر PVA تاثیر چندانی بر میزان درجه تورم فیلم زیستی مبتنی بر آگار نداشت. نتایج جذب آب کامپوزیت‌های زیستی آگار خالص، PVA خالص، آگار/ گلیسرول و آگار/ گلیسرول/ PVA (شکل ۳) قابل مشاهده است. در مقابل، فیلم‌های زیستی آگار خالص و PVA خالص به ترتیب دارای کمترین و بیشترین میزان جذب آب است. افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار باعث افزایش ۸۲ درصدی میزان جذب آب فیلم‌های کامپوزیتی شد. اما زمانی که PVA به بیوپلیمر آگار/ گلیسرول افزوده شد، درصد حلالیت بیوپلیمر به $2/3 \pm 8/2$ درصد کاهش یافت. شبکه‌های قوی زنجیره‌های آگار از متلاشی شدن ماتریس فیلم در آب جلوگیری می‌کند و منجر به افزایش مقاومت در برابر نفوذ آب، یعنی افزایش درجه تورم و کاهش حلالیت در آب می‌شود (Wongphan & Harnkarnsujarit, 2020). بر این اساس، بر خلاف پلیمر PVA، فضاهای بین زنجیره‌های آگار خالص، بدون فروپاشی ساختاری آن‌ها، به‌طور چشمگیری با افزایش طول زنجیره‌های پلیمر آگار در تماس مستقیم با آب گسترش می‌یابد، که اجازه می‌دهد مقدار زیادی آب را حفظ کند (Lee et al., 2021; Samadi et al., 2018). افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار، به دلیل اینکه گلیسرول کوچک مولکول بین زنجیره‌های پلیمری آگار نفوذ می‌کند و باعث تسهیل در باز شدن گره خوردگی‌های بین زنجیره‌ای آگار می‌شود، علاوه بر افزایش انعطاف‌پذیری، منجر به افزایش حلالیت در آب و کاهش درجه تورم فیلم‌های زیستی آگار/ گلیسرول می‌شود.

کامپوزیت زیستی ۳ تکرار توت فرنگی پیچیده شد. توت فرنگی‌ها با ۳ تکرار بدون پوشش و به عنوان شاهد با فیلم پلاستیکی (پلی اتیلن) نگهداری شد. نمونه‌های بسته‌بندی شده برای شبیه‌سازی شرایط، در شرایط محیطی (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد که در آن توسط فروشندگان و خرده‌فروشان محلی نگهداری می‌شوند و میوه‌های بسته‌بندی شده به طور مرتب تا ۵ روز ارزیابی شد (Kumar et al., 2019).

آنالیز آماری

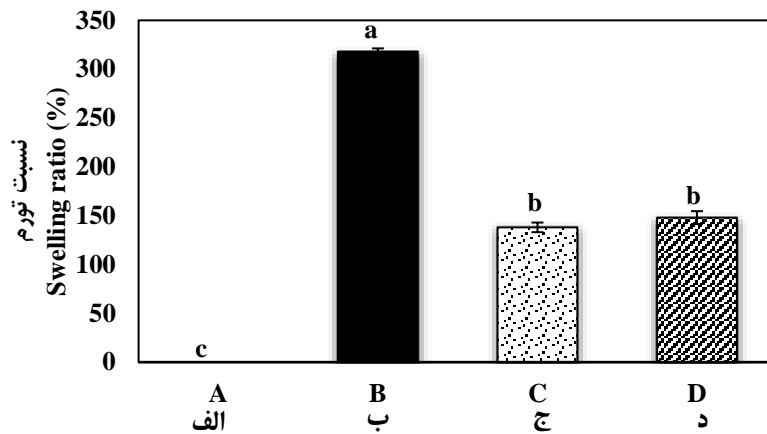
در این پژوهش تمامی آزمون‌های زیستی و غیرزیستی با سه بار تکرار انجام شد. تحلیل آماری نتایج با نرم افزار SPSS و Excel 2019 (IBM Corp., USA; V26.0) انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزارهای Excel 2019 و Origin pro 2019 رسم و نتایج به وسیله آزمون ANOVA با مقدار معنی داری p کمتر از ۰/۰۵ ارزیابی و میانگین نتایج به همراه انحراف معیار ($\pm SD$) گزارش شد.

نتایج و بحث

بهینه‌سازی استخراج آگار و سنجش ترکیبات محلول آگار استخراج شده

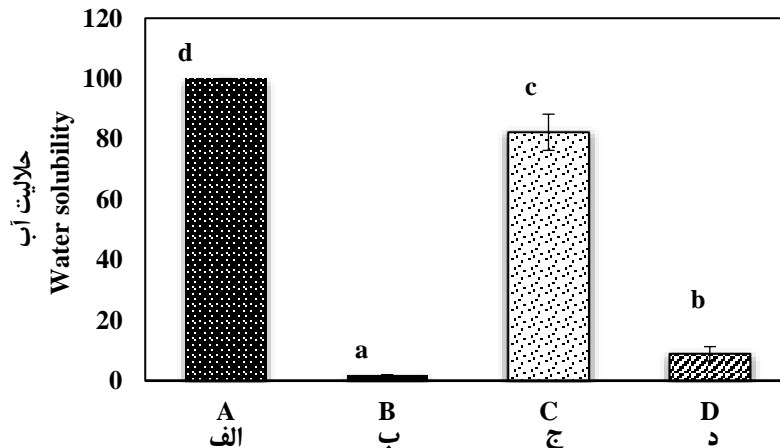
بازده استخراج ۱۵٪ برای روش پیش‌تیمار سدیم هیدروکسید/ گرمادهی بدست آمد. نتایج سنجش میزان کل ترکیبات فنلی محلول آگار استخراج شده به روش پیش‌تیمار سدیم هیدروکسید/ گرمادهی نشان داد که میزان ترکیبات فنولی محلول آگار $0/004 \pm 0/077$ بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم آگار است. نتایج حاصل از سنجش میزان پروتئین محلول آگار استخراج شده به روش برادفورد نشان داد که محلول آگار حاوی $0/019 \pm 0/040$ پروتئین بر حسب میلی‌گرم/ میلی‌لیتر آگار است.

مقایسه بازده استخراج با مقادیری که قبلاً در مقالات گزارش شده است به دلیل ۱- تنوع زیاد در پارامترهای استخراج مانند زمان استخراج، دمای استخراج و نسبت آب به جلبک دریایی گزارش شده در مقالات (Kumar & Fotedar, 2009; Mensi, 2019; Sousa et al., 2010; Sudhakar et al., 2021) و ۲- تنوع در محتوای آگار در گونه‌های مختلف جلبک دریایی مورد استفاده، بسیار پیچیده است (Sasuga et al., 2017). یک واقعیت که به طور مداوم در مقالات متعددی گزارش شده است این است که پیش‌تیمار قلیایی منجر به کاهش قابل توجه بازده استخراج می‌شود. پیش‌تیمار قلیایی به دلیل تبدیل L-گالاکتوز-۶-سولفات (L-Galactose-6-sulphate) به ۳-۶-انهدیدرو-L-گالاکتوز (3,6-anhydro-L-galactose) شناخته شده است، بنابراین توانایی ژل‌سازی آگار را بهبود می‌بخشد و منجر به افزایش



شکل ۲- درجه تورم کامپوزیت‌های زیستی (الف) پلی وینیل الکل، (ب) آگار، (ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/گلیسرول/ پلی وینیل الکل هر کدام از داده‌ها ذکر شده میانگین سه تکرار با \pm انحراف معیار است.

Fig. 2. Swelling ratio of (a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/glycerol/PVA bio composites
Each of the mentioned data is the average of three replicates with \pm standard deviation



شکل ۳- حلالیت در آب کامپوزیت‌های زیستی (الف) پلی وینیل الکل، (ب) آگار، (ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/گلیسرول/ پلی وینیل الکل هر کدام از داده‌ها ذکر شده میانگین سه تکرار با \pm انحراف معیار است.

Fig. 3. Water solubility of (a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/glycerol/PVA biocomposites
Each of the mentioned data is the average of three replicates with \pm standard deviation.

و با کاهش میزان گره‌خوردگی بین زنجیره‌های آگار بطور نسبی باعث کاهش مدول الاستیک (سفتی) و استحکام و در مقابل باعث افزایش درصد کرنش در شکست (انعطاف‌پذیری) شده‌است. این یافته نشان می‌دهد که فیلم‌های آگار با افزایش گلیسرول نرم‌تر و انعطاف‌پذیرتر شدند (Madera-Santana *et al.*, 2014). با توجه به اینکه در بیوپلیمر آگار حاوی ۳۰٪ وزنی گلیسرول انعطاف‌پذیری بطور قابل ملاحظه‌ای بهبود یافته و در عین حال افت سفتی و استحکام قابل توجه نیست، نمونه حاوی ۳۰٪ وزنی گلیسرول به‌عنوان نمونه بهینه در نظر گرفته می‌شود. همانطور که در جدول ۱ دیده می‌شود، افزودن PVA به فیلم زیستی آگار/گلیسرول (۳۰٪) باعث افزایش استحکام از حدود $9/2 \pm$

خواص مکانیکی فیلم‌های زیستی

ارزیابی خواص مکانیکی بیوکامپوزیت‌های برای کاربرد در صنایع بسته‌بندی مواد غذایی حائز اهمیت است. اثر غلظت گلیسرول بر استحکام کششی، انعطاف‌پذیری و مدول الاستیک بیوپلیمر آگار/گلیسرول و همچنین خواص مکانیکی بیوکامپوزیت‌های آگار خالص، PVA خالص و آگار/گلیسرول (۳۰٪) PVA طبق نتایج به‌دست آمده در جدول ۱ قابل مشاهده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار، به دلیل اینکه گلیسرول کوچک مولکول می‌باشد بین زنجیره پلیمری آگار نفوذ کرده و بعنوان یک نرم‌کننده تحرک زنجیره‌های پلیمری آگار را افزایش داده

امتزاج پذیری PVA با آگار به دلیل ساختار شیمیایی متفاوت، ارتباط دارد. در نتیجه فصل مشترک به نسبت ضعیف تشکیل شده بین این دو جز در کامپوزیت، باعث کاهش مدول الاستیک (سفتی) می شود. کرنش در شکست آگار/گلیسرول حدود ۵٪ می باشد که در نمونه کامپوزیتی به حدود ۲/۵ درصد کاهش می یابد. کاهش نسبی انعطاف پذیری نمونه کامپوزیتی به انعطاف پذیری پایین جز PVA (کرنش در شکست برابر با ۲/۱٪) در مقایسه با انعطاف پذیری آگار/گلیسرول ارتباط دارد.

۳۵/۴۲ مگاپاسکال به $5/53 \pm 41/36$ مگا پاسکال می شود. با توجه به اینکه استحکام کششی PVA از آگار بیش تر است، افزایش استحکام در کامپوزیت به جایگزینی آگار (بخشی از آن) با PVA و همچنین برقراری پیوند هیدروژنی بین مولکول آگار و PVA مرتبط هست (Lee *et al.*, 2021). کاهش مدول کششی (سفتی) نمونه آگار/گلیسرول از $1/39 \pm 0/49$ مگاپاسکال به $0/36 \pm 0/01$ مگاپاسکال با افزودن PVA علی رغم بالاتر بودن سفتی PVA خالص از آگار/گلیسرول، به عدم

جدول ۱- ضخامت و خواص مکانیکی آزمون کشش کامپوزیت های زیستی ساخته شده: پلی وینیل الکل، آگار، آگار/گلیسرول و آگار/گلیسرول/پلی وینیل الکل

Table 1- Thickness and mechanical properties of tensile test of bio composites made: PVA, agar, agar/glycerol and agar/glycerol/PVA

Sample نمونه	Elastic modulus (GPa) $*10^{-3}$ مدول الاستیک	Elongation at break (%) انعطاف پذیری	Tensile strength (MPa) استحکام	Thickness (mm) ضخامت
پلی وینیل الکل خالص Pure PVA	2.30 ± 0.12	2.1 ± 0.03	48.46 ± 0.05	0.10
آگار خالص Pure agar	7.87 ± 0.15	1.48 ± 0.02	32.46 ± 0.02	0.025
آگار/گلیسرول ۱۰ درصد Agar/ glycerol (10%)	1.00 ± 0.20	3.32 ± 1.48	22.93 ± 3.78	0.040
آگار/گلیسرول ۲۰ درصد Agar/glycerol (20%)	0.41 ± 0.04	3.96 ± 1.22	16.21 ± 3.22	0.035
آگار/گلیسرول ۳۰ درصد Agar/glycerol (30%)	1.39 ± 0.46	12.97 ± 3.81	35.42 ± 9.2	0.035
آگار/گلیسرول ۴۰ درصد Agar/ glyceol (40%)	0.07 ± 0.02	19.17 ± 3.61	9.33 ± 2.76	0.030
آگار/گلیسرول ۳۰ درصد/ پلی وینیل الکل Agar/ glycerol (30%)/PVA	0.36 ± 0.01	2.49 ± 0.34	41.36 ± 5.53	0.032

* داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده اند.

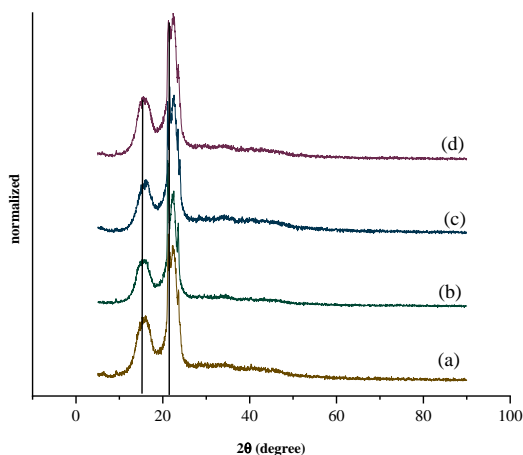
* The data shown are the standard deviation \pm mean.

طیف سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه

بیوکامپوزیت های PVA، آگار، آگار/گلیسرول و آگار/گلیسرول/PVA توسط آزمون طیف سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۵). طیف مربوط به فیلم PVA، نوارهای معمولی را برای پلیمر مصنوعی پلی وینیل الکل با باند جذب گسترده بین $3600 - 3100$ cm^{-1} ، در محدوده های $1660 - 1650$ cm^{-1} و 1090 cm^{-1} نشان می دهد (Madera-Santana *et al.*, 2014).

طیف سنجی پراش پرتو ایکس

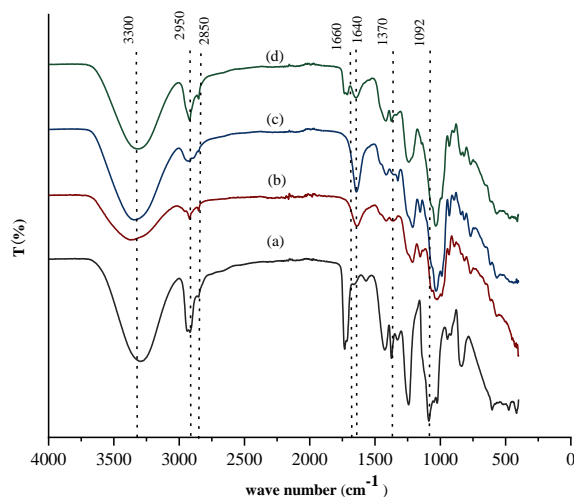
نتایج آنالیز و تشخیص فاز کامپوزیت های زیستی بر پایه پلیمر آگار استخراجی (شکل ۴) نشان داده شده است. براساس الگوی طیفی پراش پرتوی ایکس، زاویه پراش 2θ در $20/5$ به صفحه (۱۰۱) با تداخل بین مولکولی در بین زنجیره های PVA مرتبط است و اطلاعات مفیدی در مورد ویژگی پیوندهای هیدروژنی ارائه می دهد. همچنین زاویه پراش 2θ در $14/9$ و 20 نیز مشخص کننده فاز پلیمر پایه آگار است، که برای همه نمونه های مورد مطالعه مشاهده شده است. ضمناً قابل ذکر می باشد که با توجه به عدم تغییر زاویه و شدت پیک ها PVA در نتایج XRD به واسطه افزودن گلیسرول و یا آگار بنظر می رسد تغییری در ساختار بلورهای PVA صورت نگرفته است.



شکل ۴- مقایسه الگوی پراش پرتو ایکس مربوط به (الف) پلی‌وینیل الکل، (ب) آگار، (ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/گلیسرول/ پلی‌وینیل الکل
 Fig. 4. Comparison of X-ray diffraction (XRD) patterns of (a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/ glycerol/ PVA

(Rhim, 2017). رفتار مشابهی در گستره 1370 cm^{-1} مشاهده می‌شود که به استر سولفات مرتبط است (Madera-Santana *et al.*, 2014). همچنین پیک در گستره $2850\text{--}2950\text{ cm}^{-1}$ به گروه متوکسیل مرتبط است که با افزودن آگار تغییرات قابل توجهی نشان داد (Madera-Santana *et al.*, 2014). افزایش شدت پیک با افزودن گلیسرول در گستره 3300 cm^{-1} ، به رفتار آب‌دوستی گلیسرول و تشکیل پیوندهای هیدروژنی ارتعاشی تک‌پل در تعامل با ساختار آگار و PVA نسبت داده می‌شود (Madera-Santana *et al.*, 2014).

پیک در گستره 3300 cm^{-1} به ارتعاشات گروه هیدروکسیل (O-H)، در گستره 1092 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی گروه کربونیل (C=O) و پیک در گستره 1660 cm^{-1} می‌تواند به ارتعاشات مرتبط به اسکلت بنزن نسبت داد (Nguyen *et al.*, 2021; Orsuwan *et al.*, 2016; Shankar & Rhim, 2017). در طیف فیلم زیستی آگار خالص یک پیک فشرده در گستره 1640 cm^{-1} مشاهده شد که مربوط به کشش پیوند پپتیدی مزدوج تشکیل شده توسط گروه آمین (NH) و گروه کربونیل (C=O) است که با افزودن PVA کاهش می‌یابد (Madera-Santana *et al.*, 2014; Orsuwan *et al.*, 2016; Shankar &

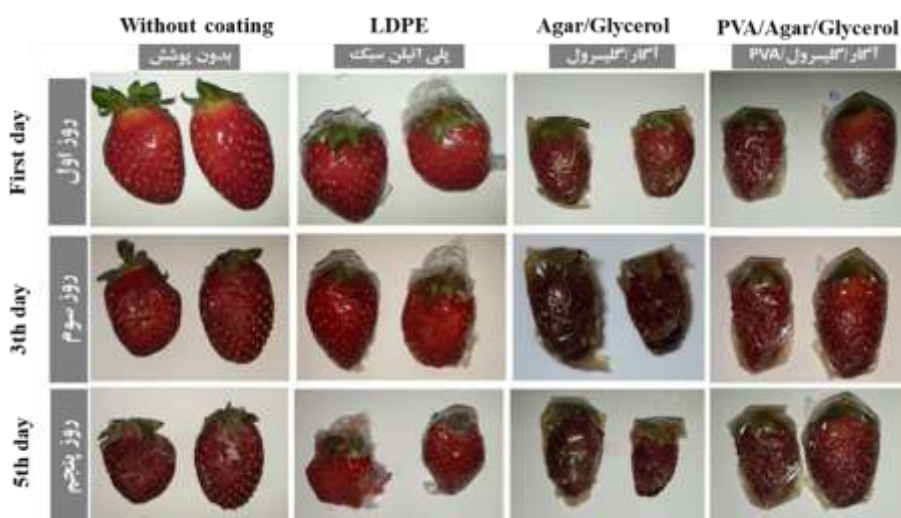


شکل ۵- طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه کامپوزیت زیستی (الف) PVA، (ب) آگار، (ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/گلیسرول/PVA
 Fig. 5. FTIR spectrum of bio composite (a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/glycerol/PVA

آزمون پایداری میوه

سوم، توت فرنگی بدون پوشش و دارای پوشش پلی اتیلن دچار از دست دادن طراوت و تغییر رنگ شدند. همچنین توت فرنگی با پوشش کامپوزیتی آگار/گلیسرول در روز سوم مستعد پوسیدگی بود. در روز پنجم، توت فرنگی بدون پوشش، با پوشش پلی اتیلن و دارای پوشش کامپوزیت زیستی آگار/گلیسرول دچار پوسیدگی و کپک زدگی شدند. همچنین توت فرنگی با پوشش کامپوزیت زیستی آگار/گلیسرول/PVA، اندکی دچار از دست دادن تازگی و طراوت و تیرگی شد. بررسی‌ها کاربرد کامپوزیت زیستی بر پایه آگار را برای نگهداری میوه را به مدت یک هفته تایید می‌کند.

در این آزمون، توت فرنگی با کامپوزیت‌های زیستی آگار/گلیسرول و آگار/گلیسرول/PVA با ۳ تکرار پوشانده شد (شکل ۶). همچنین به منظور مقایسه اثر کامپوزیت‌های زیستی ساخته شده بر پایه آگار در نگهداری میوه، با پلی اتیلن بازاری نیز پوشانده شد. خصوصیات ظاهری توت فرنگی در روزهای ۱، ۳ و ۵ با پوشش کامپوزیت زیستی، پلی اتیلن و بدون پوشش به صورت بصری بررسی شد (Kumar et al., 2019). همان‌طور که در شکل ۶ قابل مشاهده است، همه توت فرنگی‌ها در روز اول کاملا سالم و دارای رنگ طبیعی است. با گذشت زمان تا روز



شکل ۶- کاربرد بیوکامپوزیت‌های آگار/گلیسرول و آگار/گلیسرول/ پلی وینیل الکل در بسته‌بندی و خواص ظاهری توت فرنگی (*Fragaria ananassa*) در مدت زمان ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

Fig. 6. Application of agar/glycerol and agar/glycerol/PVA biocomposites in packaging and appearance properties of strawberry (*Fragaria ananassa*) and broccoli (*Brassica oleracea*) during 5-10 days at 25°C

نتیجه‌گیری

پلیمر صنعتی پلی‌ونیل‌الکل، جهت تقویت خواص مکانیکی و فیزیکی کامپوزیت‌های زیستی استفاده شد. افزودن پلیمر PVA باعث افزایش در میزان استحکام کششی و بهبود خواص فیزیکی نظیر افزایش درجه تورم، کاهش درصد حلالیت در آب فیلم‌های زیستی بر پایه آگار شد. همچنین نتایج استفاده از این پوشش‌ها جهت بسته‌بندی میوه و سبزیجات در مناطق گرمسیری با افزایش طول عمر مفید آن‌ها به مدت حداقل تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تایید می‌کند. علاوه بر این، استفاده از بسته‌بندی جدید بر پایه‌ی پلیمرهای طبیعی، کم هزینه و در دسترس است، پتانسیل زیادی در حفظ محصولات کشاورزی پس از برداشت، ارائه و از مشکل توزیع و ذخیره‌سازی کالاهای گرمسیری جلوگیری می‌کنند و همچنین باعث کاهش استفاده از بسته‌بندی‌های مصنوعی می‌شود، که در حال حاضر مشکل شدید آلودگی محیط زیستی، ایجاد کرده‌اند.

هدف مطالعه حاضر، ساخت پلاستیک زیستی بر پایه پلیمر آگار استخراج شده از ماکرو جلبک قرمز گونه *Acanthophora sp.* بهینه سازی خواص مکانیکی، فیزیکی و زیستی کامپوزیت‌های زیستی بر پایه پلیمر آگار، با افزودن گلیسرول (به عنوان نرم‌کننده) و پلیمر صنعتی زیست تخریب‌پذیر پلی‌ونیل‌الکل است. استخراج آگار از ماکرو جلبک قرمز *Acanthophora* با استفاده از روش استخراج گرمادهی و یک مرحله پیش تیمار سدیم هیدروکسید، محلول آگار به دست آمده عمدتاً از آگار خالص تشکیل شده که دارای میزان ترکیبات فنلی و پروتئین کم است و محلول شفاف تقریباً بی‌رنگ بدست آمد. خلوص بیش‌تر محلول آگار منجر به افزایش استحکام ژل استخراجی شد که برای استفاده در صنایع بسته‌بندی بهینه است. در ادامه برای ساخت فیلم‌های زیستی مناسب بر پایه پلیمر آگار، از گلیسرول به عنوان نرم‌کننده و

این پژوهش توسط بنیاد ملی نخبگان (دوره پنجم طرح احمدی روشن)، وزارت علوم و تحقیقات و همچنین مرکز رشد دانشگاه هرمزگان مورد حمایت بوده است.

منابع

1. Abdullah, A.H.D., Fikriyyah, A.K., Putri, O.D., & Asri, P.P.P. (2019). *Fabrication and characterization of poly lactic acid (PLA)-starch based bioplastic composites*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2023.108000>
2. Arham, R., Salengke, S., Metusalach, M., & Mulyati, M. (2018). Optimization of agar and glycerol concentration in the manufacture of edible film. *International Food Research Journal*, 25(5), 1845-1851.
3. Basumatary, K., Daimary, P., Das, S.K., Thapa, M., Singh, M., Mukherjee, A. & Kumar, S. (2018). Lagerstroemia speciosa fruit-mediated synthesis of silver nanoparticles and its application as filler in agar based nanocomposite films for antimicrobial food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 17, 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.06.003>
4. da Rocha, M., de Souza, M.M., & Prentice, C. (2018). *Biodegradable films: An alternative food packaging [Interview]*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811516-9.00009-9>
5. Fakhouri, F.M., Costa, D., Yamashita, F., Martelli, S.M., Jesus, R.C., Alganer, K., Collares-Queiroz, F.P., & Innocentini-Mei, L.H. (2013). Comparative study of processing methods for starch/gelatin films. *Carbohydrate Polymers*, 95(2), 681-689. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.027>
6. Fakhouri, F.M., Martelli, S.M., Bertan, L.C., Yamashita, F., Mei, L.H.I., & Queiroz, F.P.C. (2012). Edible films made from blends of manioc starch and gelatin—Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. *LWT*, 49(1), 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.017>
7. Ganesan, A.R., Shanmugam, M., Palaniappan, S., & Rajauria, G. (2018). Development of edible film from *Acanthophora spicifera*: Structural, rheological and functional properties. *Food Bioscience*, 23, 121-128. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.009>
8. Haghghi, H., Gullo, M., La China, S., Pfeifer, F., Siesler, H.W., Licciardello, F., & Pulvirenti, A. (2021). Characterization of bio-nanocomposite films based on gelatin/polyvinyl alcohol blend reinforced with bacterial cellulose nanowhiskers for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 113, 106454. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106454>
9. Hasan, M., & Rahmayani, R.F.I. (2018). *Bioplastic from chitosan and yellow pumpkin starch with castor oil as plasticizer*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, (Vol. 333,p, 012087). IOP Publishing.
10. Hernández, V., Ibarra, D., Triana, J.F., Martínez-Soto, B., Faúndez, M., Vasco, D.A., Gordillo, L., Herrera, F., García-Herrera, C., & Garmulewicz, A. (2022). Agar biopolymer films for biodegradable packaging: A reference dataset for exploring the limits of mechanical performance. *Materials*, 15(11), 3954. <https://doi.org/10.3390/ma15113954>
11. Hii, S.-L., Lim, J.-Y., Ong, W.-T., & Wong, C.-L. (2016). Agar from Malaysian red seaweed as potential material for synthesis of bioplastic film. *Journal of Engineering Science and Technology*, 11, 1-15.
12. Hong, S.-I., Cho, Y., & Rhim, J.-W. (2021). Effect of agar/AgNP composite film packaging on refrigerated beef loin quality. *Membranes*, 11(10), 750. <https://doi.org/10.3390/membranes11100750>
13. Kumar, S., Boro, J.C., Ray, D., Mukherjee, A., & Dutta, J. (2019). Bionanocomposite films of agar incorporated with ZnO nanoparticles as an active packaging material for shelf life extension of green grape. *Heliyon*, 5(6), e01867. <https://doi.org/10.1016%2Fj.heliyon.2019.e01867>
14. Kumar, S., Shukla, A., Baul, P.P., Mitra, A., & Halder, D. (2018). Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.008>
15. Kumar, V., & Fotedar, R. (2009). Agar extraction process for *Gracilaria cliftonii* (Withell, Millar, & Kraft, 1994). *Carbohydrate Polymers*, 78, 813-819. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.001>
16. Lee, J.-S., Choi, I., & Han, J. (2021). Mathematical modeling of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark oil release from agar/PVA biocomposite film for antimicrobial food packaging: The effects of temperature and relative humidity. *Food Chemistry*, 130306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130306>
17. Madera-Santana, T., Freile-Pelegrín, Y., & Azamar-Barrios, J. (2014). Physicochemical and morphological properties of plasticized poly (vinyl alcohol)–agar biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 176-184. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.044>

18. Madera-Santana, T.J., Robledo, D., & Freile-Peegrín, Y. (2011). Physicochemical properties of biodegradable polyvinyl alcohol–agar films from the red algae *Hydropuntia cornea*. *Marine Biotechnology*, 13(4), 793-800. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.158>
19. Madera- Santana, T., Misra, M., Drzal, L., Robledo, D., & Freile- Pelegrin, Y. (2009). Preparation and characterization of biodegradable agar/poly (butylene adipate- co- terephthalate) composites. *Polymer Engineering & Science*, 49(6), 1117-1126. <https://doi.org/10.1002/pen.21389>
20. Marichelvam, M.K., Jawaid, M., & Asim, M. (2019). Corn and rice starch-based bio-plastics as alternative packaging materials. *Fibers*, 7(4), 32. <https://doi.org/10.3390/fib7040032>
21. Marichelvam, M., Manimaran, P., Sanjay, M., Siengchin, S., Geetha, M., Kandakodeeswaran, K., Boonyasopon, P., & Gorbatyuk, S. (2022). Extraction and development of starch-based bioplastics from *Prosopis juliflora* Plant: Eco-friendly and sustainability aspects. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 5, 100296. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100296>
22. Martínez-Sanz, M., Gómez-Mascaraque, L.G., Ballester, A.R., Martínez-Abad, A., Brodtkorb, A., & López-Rubio, A. (2019). Production of unpurified agar-based extracts from red seaweed *Gelidium sesquipedale* by means of simplified extraction protocols. *Algal Research*, 38, 101420. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101420>
23. Mathew, S., Mathew, J., & Radhakrishnan, E. (2019). Polyvinyl alcohol/silver nanocomposite films fabricated under the influence of solar radiation as effective antimicrobial food packaging material. *Journal of Polymer Research*, 26(9), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10965-019-1888-0>
24. Mensi, F. (2019). Agar yield from R-phycoerythrin extraction by-product of the red alga *Gracilaria verrucosa*. *Journal of Applied Phycology*, 31(1), 741-75. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1533-z>
25. Nguyen, T.T., Nguyen, T.-T.H., Pham, B.-T.T., Van Tran, T., Bach, L.G., Thi, P.Q.B., & Thuc, C.H. (2021). Development of poly (vinyl alcohol)/agar/maltodextrin coating containing silver nanoparticles for banana (*Musa acuminata*) preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100740. <https://doi.org/10.1016/j.foodpack.2021.100740>
26. Orsuwan, A., Shankar, S., Wang, L.-F., Sothornvit, R., & Rhim, J.-W. (2016). Preparation of antimicrobial agar/banana powder blend films reinforced with silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 60, 476-485. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.017>
27. Rhim, J.-W. (2011). Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 691-699. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.010>
28. Rhim, J., Wang, L., & Hong, S. (2013). Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.002>
29. Samadi, N., Sabzi, M., & Babaahmadi, M. (2018). Self-healing and tough hydrogels with physically cross-linked triple networks based on Agar/PVA/Graphene. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 2291-2297. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.104>
30. Sasuga, K., Yamanashi, T., Nakayama, S., Ono, S., & Mikami, K. (2017). Optimization of yield and quality of agar polysaccharide isolated from the marine red macroalga *Pyropia yezoensis*. *Algal Research*, 26, 123-130. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.010>
31. Shankar, S., & Rhim, J.-W. (2017). Preparation and characterization of agar/lignin/silver nanoparticles composite films with ultraviolet light barrier and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 71, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.002>
32. Shankar, S., Teng, X., & Rhim, J.-W. (2014). Properties and characterization of agar/CuNP bionanocomposite films prepared with different copper salts and reducing agents. *Carbohydrate Polymers*, 114, 484-492. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.036>
33. Soleimani, S., Yousefzadi, M., Nezhad, S.B.M., Pozharitskaya, O.N., & Shikov, A.N. (2022). Evaluation of fractions extracted from *Polycladia myrica*: biological activities, UVR protective effect, and stability of cream formulation based on it. *Journal of Applied Phycology*, 34(3), 1763-1777. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02705-2>
34. Sousa, A. M., Alves, V., Morais, S., Delerue-Matos, C., & Gonçalves, M.P. (2010). Agar extraction from integrated multitrophic aquacultured *Gracilaria vermiculophylla*: evaluation of a microwave-assisted process using response surface methodology. *Bioresource technology*, 101(9), 3258-3267. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.061>
35. Spierling, S., Knüpffer, E., Behnsen, H., Mudersbach, M., Krieg, H., Springer, S., Albrecht, S., Herrmann, C., & Endres, H.-J. (2018) Bio-based plastics-A review of environmental, social and economic impact assessments. *Journal of Cleaner Production*, 185, 476-491. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.014>
36. Sudhakar, M.P., Magesh Peter, D., & Dharani, G. (2021). Studies on the development and characterization of bioplastic film from the red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). *Environmental Science and Pollution Research*, 28(26), 33899-33913. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10010-z>
37. Suryanegara, L., Fatriasari, W., Zulfiana, D., Anita, S.H., Masruchin, N., Gutari, S., & Kemala, T. (2021). Novel antimicrobial bioplastic based on PLA-chitosan by addition of TiO₂ and ZnO. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 19(1), 415-425. <https://doi.org/10.1007/s40201-021-00614-z>

38. Susilawati, S., Rostini, I., Pratama, R.I., & Rochima, E. (2019). Characterization of bioplastic packaging from tapioca flour modified with the addition of chitosan and fish bone gelatin. *World Scientific News*, 135, 85-98.
39. Wongphan, P., & Harnkarnsujarit, N. (2020). Characterization of starch, agar and maltodextrin blends for controlled dissolution of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 80-93. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.056>
40. Wulandari, D., Hermiyati, I., Iswahyuni, I., & Tawarniate, A.Z. (2022). Production and characterization of gelatin from rabbit bone as bioplastics material by acid pre-treatment. *World Rabbit Science*, 30(1): 83-93.
41. Yusoff, N.H., Pal, K., Narayanan, T., & de Souza, F.G. (2021). Recent trends on bioplastics synthesis and characterizations: Polylactic acid (PLA) incorporated with tapioca starch for packaging applications. *Journal of Molecular Structure*, 1232, 129954. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129954>