ویژگی و تکنیک های ساخت پلیمرهای بیواکتیو

**مظاهری تسبیه، مسعود و [1]صداقت، ناصر

گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[1]

پلیمرهای بیواکتیو غیرمهاجر(NMBP) دسته ای از پلیمرها می باشند که دارای فعالیت بیولوژیکی هستند بدون اینکه ترکیبات فعال آنها بتوانند از پلیمر مهاجرت کنند. این ترکیبات شامل آنزیمها،پپتیدها، پروتئین ها و باکتریوسین ها می باشند ولی اغلب آنزیمها هستند که در سطح پلیمرها تثبیت می‌شوند. کاربرد پلیمرهای بیواکتیو تحت عنوان بسته بندی های بیواکتیو شناخته می شود که یکی از زیر مجموعه های بسته بندی های فعال محسوب می شوند و به دو دسته پلیمرهای بیواکتیو مصنوعی و ذاتی تقسیم می گردند. از روش تثبیت کردن ترکیبات فعال یا تابش اشعه فرابنفش جهت تولید پلیمرهای بیواکتیو مصنوعی و از موادی نظیر پلی اتیلن گلایکول (PEG)، پلی لاکتیک اسید و کیتوزان برای تهیه پلیمرهای دارای فعالیت بیواکتیو ذاتی استفاده می شود که مورد آخر از اهمیت و کاربرد بیشتری برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: پلیمرهای بیواکتیو غیرمهاجر ، تثبیت کردن، کیتوزان، بسته بندی های فعال

18th National Congress on Food Technology
هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی

ویژگی و تکنیک های ساخت پلیمرهای بیواکتیو

مظاهری نسب مسعود[1*]، صداقت ناصر[2]

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲.استادیار دانشگاه فردوسی مشهد.sedaghat@um.ac.ir

خلاصه

پلیمرهای بیواکتیو غیرمهاجر(NMBP) دسته ای از پلیمرها می باشند که دارای فعالیت بیولوژیکی هستند بدون اینکه ترکیبات فعال آنها بتوانند از پلیمر مهاجرت کنند. این ترکیبات شامل آنزیمها،پپتیدها، پروتئین ها و باکتریوسین ها می باشند ولی اغلب آنزیم‌ها هستند که در سطح پلیمرها تثبیت می‌شوند. کاربرد پلیمرهای بیواکتیو تحت عنوان بسته بندی های بیواکتیو شناخته می شود که یکی از زیر مجموعه های بسته بندی های فعال محسوب می شوند و به دو دسته پلیمرهای بیواکتیو مصنوعی و ذاتی تقسیم می گردند. از روش تثبیت کردن ترکیبات فعال یا نمایش اشعه فرابنفش جهت تولید پلیمرهای بیواکتیو مصنوعی و از موادی نظیر پلی انیلن گلایکول (PEG)، پلی لاکتیک اسید و کیتوزان برای تهیه پلیمرهای دارای فعالیت بیواکتیو ذاتی استفاده می شود که مورد آخر از اهمیت و کاربرد بیشتری برخوردار است.

کلمات کلیدی : پلیمرهای بیواکتیو غیرمهاجر ، تثبیت کردن، کیتوزان، بسته بندی های فعال

مقدمه

هدف صنعت بسته بندی حفظ مواد غذایی به موثرترین شکل و با کمترین هزینه می باشد، به طوری که مصرف کننده و تولید کننده بیشترین رضایت را داشته باشد و ماده غذایی ایمن بماند و مشکلات زیست محیطی نیز به حداقل برسد(۱۰)..پلیمرهای بیواکتیو غیرمهاجر[1] دسته ای از پلیمرها می باشند که دارای فعالیت بیولوژیکی هستند بدون اینکه ترکیبات فعال آنها بتوانند از پلیمر مهاجرت کنند (۱و۹). این پلیمرها حاوی مولکول های زیستی می باشند که قادرند نقش های ویژه ای را مثلاً برای تولید بسته بندی های ضد میکروبی، بهبود طعم مواد غذایی، شاخص های آشکار کننده فساد و شرایط غیرمطلوب بسته بندی و ... ایفا کنند. مثال هایی از این ترکیبات شامل آنزیمها،پپتیدها، پروتئین ها و باکتریوسین ها می شود. آنزیم ها پرکاربردترین ترکیبات بیواکتیو جهت تولید این دسته از پلیمرها به شمار می روند (۱). سابقه استفاده از آنزیمها در بسته بندی های بیو اکتیو به حدود ۵۰ سال قبل در سالهای ۱۹۵۶ و ۱۹۶۱ می رسد.با پیشرفت علوم مختلف و فراوانتر شدن مواد اولیه،تولید این دسته از پلیمرها در اواخر دهه ۱۹۸۰ رونق بیشتری یافت(۶).

کاربرد پلیمرهای بیواکتیو تحت عنوان بسته بندی های بیواکتیو شناخته می شوند. بسته بندی بیواکتیو یکی از زیر مجموعه های بسته بندی های فعال[2] هستند که در آن از ترکیبات بیواکتیو مهاجر و غیرمهاجر در تماس با مواد غذایی استفاده می کنند. اثر متقابل این ترکیبات با مواد غذایی سبب حفظ محصول می شود (۹).

---

[1].Non-Migratory Bioactive Polymer.
[2].Active Packaging.

پلیمرهای حاوی ترکیبات بیواکتیو

تثبیت کردن[3] ترکیبات بیواکتیو جهت تولید پلیمرهای دارای خواص عملکردی در طول دهه گذشته توسعه فراوانی یافته است. از این روش در صنایع بسته‌بندی مواد غذایی، داروسازی و غیره استفاده می‌شود (۷). ترکیبات بیواکتیو مختلفی می‌توانند در عملیات تثبیت کردن استفاده شوند مانند پروتئین، پپتیدها، ترکیبات ضدمیکروبی و غیره ولی اغلب آنزیم‌ها هستند که در سطح پلیمرها تثبیت می‌شوند. (۱). اولین مرحله در فرایند تثبیت کردن، طراحی یا انتخاب یک پلیمر مناسب می‌باشد. خواص مکانیکی یک پلیمر که می‌تواند مد نظر قرار گیرد شامل الاستیسیته، استحکام، شفافیت و قابلیت تجزیه شدن می‌باشد (۷). عملیات تثبیت کردن می‌تواند در سطح یا درون پلیمر انجام شود. بنابراین باید سطح پلیمر آمادگی پذیرش بیومولکول‌ها را داشته باشد. ایجاد قابلیت پذیرش و اتصال با ترکیبات بیواکتیو در پلیمرها تحت عنوان عملیات خاصی به نام ایجاد خواص عملکردی[4] خوانده می‌شود (۱).

تکنیک های تثبیت کردن

عملیات تثبیت کردن می‌تواند سبب ایجاد تغییرات ناخواسته‌ای در ساختار بیومولکول‌ها شود که در نتیجه فعالیت آنها را کاهش دهد. مثلاً کاهش فعالیت بیولوژیکی پروتئین‌ها در اثر دناتوراسیون، اکسیداسیون و از دست دادن آب اتفاق می‌افتد و مقدار کاهش فعالیت بستگی به شدت فرایند دارد (۲).

مقاومت حرارتی آنزیم‌ها در اثر تثبیت شدن دچار تغییراتی می‌شود. در حقیقت فعل و انفعال بین حامل و مولکول آنزیم می‌تواند تغییراتی را در تعداد پیوندهایی که سبب پایداری ساختار فضایی آنزیم می‌شود، ایجاد کند. در این حالت دمای تغییر حالت فضایی آنزیم افزایش می‌یابد و در نتیجه آنزیم نسبت به حرارت مقاومتر می‌گردد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت هر چند در اثر تثبیت آنزیم ها روی پلیمر مقداری از فعالیت کاسته می شود اما به دلایل دیگری از جمله افزایش مقاومت حرارتی و نیز قابلیت استفاده مجدد از آنزیم طی فرایند، راندمان استفاده از آنزیم افزایش می‌یابد (۳). عملیات تثبیت کردن بیومولکول‌ها و ترکیبات بیواکتیو در پلیمرها به روش های زیر انجام می‌شود:

جذب فیزیکی[5]: یک روش ساده برای پوشش دادن سطوح، جذب فیزیکی می‌باشد که طی آن بیومولکول‌ها از طریق نیروهای واندروالسی، هیدروفوبی و پیوند هیدروژنی به پلیمر متصل می‌شوند. در این روش پیوند کووالان ایجاد نمی‌شود.

به دام اندازی[6]: در این روش ترکیبات بیواکتیو با مواد اولیه مورد استفاده برای تولید پلیمر مخلوط می‌شوند و سپس پلیمریزاسیون انجام می‌شود. در نتیجه این مولکول‌ها در ماتریکس پلیمر به دام می‌افتند.

---

[3].Immobilisation.
[4].Functionalisation.
[5].Physical Adsorption.
[6].Entrapment.

تثبیت کردن کووالانی[7]: پایدارترین شکل تولید پلیمرهای بیواکتیو اتصال این ترکیبات به وسیله پیوندهای کووالان به پلیمر می‌باشد. برای انجام عملیات تثبیت کردن کووالانی باید در هر دو بخش یعنی حامل و بیومولکول،گروه‌های شیمیایی عاملی وجود داشته باشند.

تثبیت کردن میل ترکیبی[8]: در این روش از میل ترکیبی خاص برخی از انواع بیومولکول‌ها مانند مالتوز پیوندی با پروتئین و یا کیتین پیوندی برای تثبیت آنها روی پلیمر استفاده می‌شود (۲).

پلیمریزاسیون توسط اشعه فرابنفش

پلیمریزاسیون ترکیبات پلیمری توسط امواج UV به عنوان یک روش سریع و راحت در صنعت بسته‌بندی و تولید بیوسنسورها شناخته می‌شود. در یک تحقیق امکان اتصال ترکیبات فعال بیولوژیکی به شکل سیستم آنزیمی گلوکز اکسیداز به عنوان گیرندهٔ اکسیژن در پلیمرهای بسته‌بندی در تماس با مواد غذایی با استفاده از رزین‌های پرتودهی شده با اشعه UV به عنوان یک ماتریکس تثبیت شده بررسی شد (۹). عملیات تثبیت کردن دارای مزایایی نظیر ممانعت از مهاجرت ترکیبات و عدم استفاده از واژه «افزودنی» برای این ترکیبات می باشد و چون ترکیبات قادر به خروج از مادهٔ بسته‌بندی نیستند بنابراین تا زمانی که سوبسترای آن وجود داشته باشد یعنی محصول مصرف نشده باشد، اثر گذاری این ترکیبات ادامه خواهد یافت. (۵ و ۹)

بقیه روش‌های ساخت پلیمرهای حاوی ترکیبات بیواکتیو

به جز روش‌های بالا محققین از روش‌های دیگری نیز جهت سنتز این دسته از پلیمرها استفاده می‌کنند. به عنوان مثال ترکیبات ضدمیکروبی از طریق پیوندهای کووالانی که به وسیله اتصالات عرضی گلوتار آلدهید[9] ایجاد می‌شود، استفاده از فرایند کواکستروژن[10]، بمباران سطح پلیمرها مانند فیلم‌های PET یا ترکیبات سلولزی مثل کاغذ به وسیله آرگون پلاسما و سپس در معرض هواگذاردن آن که سبب تشکیل پراکسیدهای سطحی می‌شود که فعالیت ضدمیکروبی دارند (۸). روش QCM[11] نیز سبب اتصال و پخش بیومولکول‌ها روی ترکیبات و سطوح جامد می‌شود. (۷).

عملیات تغییر سطح پلیمرها

همزمان با افزایش کاربرد پلیمرها در صنعت بحث تغییر سطح آنها نیز بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. سطح بیشتر پلیمرهای معمول خنثی، با ماهیت آبگریز و دارای انرژی پایینی می‌باشد. بنابراین این سطوح فاقد خصوصیات خاصی هستند که در اکثر مواقع ما به دنبال آن می‌باشیم (۱۲). تغییر سطح یک پلیمر به عنوان یک پیش نیاز برای اتصال ترکیبات بیواکتیو محسوب می‌شود به دلیل اینکه بیومولکول‌ها برای اتصال به پلیمرها به گروه‌های عاملی خاص نیاز دارند که این حالت به طور معمول در پلیمرها وجود ندارد و تحت عملیات خاصی

---

[7].Covalent Immobilisation.
[8].Affinity Immobilisation.
[9].Glutaraldehyde cross-linking.
[10]. Co-extrosion.
[11].Quartz crystal microbalance.

به نام ایجاد خواص عملکردی[12] در سطح پلیمر ایجاد می‌شود (۴). هدف از تغییر سطح یک پلیمر ایجاد گروه‌های فعال در سطوح می‌باشد که بتواند قابلیت‌های خیس شدن، دوخته شدن، پرینت شدن، جذب رنگ‌ها، مقاومت به براقی وجلا[13] و همچنین توانایی چسبیدن به بقیه پلیمرها یا فلزات را بهبود بخشد در حالی که خواص توده ای[14] پلیمر حفظ شود. (۱۲).

روش‌های تغییر سطح[15] پلیمر

– روش شیمیایی مرطوب: در این روش پلیمر تحت تأثیر یکسری از حلال‌های شیمیایی قرار می‌گیرد تا با ایجاد یکسری از گروه‌های خاص شیمیایی مانند تیول‌ها، آلدهیدها، اسیدهای کربوکسیلیک، هیدروکسیل‌ها و آمین‌های اولیه بتوانیم خواص عملکردی خاصی را در سطح یک پلیمر ایجاد کنیم.

– سیلان‌های تک لایه: تثبیت سیلان‌های آلی در سطح یک پلیمر برای اولین بار جهت ترکیب یک پلیمرآلی به یک ترکیب غیرآلی مثلاً ترکیب شیشه با یک پلیمر برای تولید فایبرگلاس مورد استفاده قرار گرفت.

– عملیات توسط گازهای یونی شده: به وسیله دو روش به نام‌های پلاسما و روش کرونا صورت می‌گیرد.

– تابش UV: وقتی سطح یک پلیمر تحت تابش طول موج خاصی از پرتوهای UV قرار می‌گیرد تعدادی از گروه‌های عاملی سطحی، فعال می‌شوند. با تنظیم طول موج می‌توان عمق و میزان این گروه‌ها را در پلیمر تعیین کرد (۴). هر چند که روش‌های شیمیایی تغییر سطح پلمرها برای سال‌های طولانی استفاده می‌شود اما به دلیل وجود مشکلاتی از قبیل نیاز به کنترل دقیق پروسه، ایجاد تغییرات سطحی نامطلوب، آلودگی سطحی و مشکلات زیست محیطی ناشی از کاربرد مواد شیمیایی، امروزه بیشتر ترجیح داده می‌شود که از روش‌های فیزیکی استفاده شود (۱۲). روش‌های فیزیکی شامل روش شعله[16]،روش کرونا[17]، امواج UV، امواج گاما، تابش‌های الکترونی، تابش‌های یونی، پلاسما[18] و لیزر می‌باشد (۱۳).

روش لیزر به علت صدمه دیدگی کمتر سطح پلیمر، سادگی در روش کار، عدم نیاز به کنترل شدید فرایند و ایمن بودن از نظر مسائل زیست محیطی به عنوان یک روش مطلوب به شمار می‌رود. تنها مشکل این روش هزینه بالاتر آن نسبت به بقیه روش‌هاست (۱۲). یکی از مشکلات موجود در اتصال مواد بیواکتیو به پلیمرها لزوم حفظ پایداری ساختار و شکل فضایی ترکیبات متصل شده می‌باشد. به دلیل اینکه فعالیت بسیاری از ترکیبات فعال نیاز به حفظ ساختار مولکولی آنها دارد. ماهیت آبگریز اکثر پلیمرها می‌توانند به ساختار آبدوست ترکیبات بیواکتیو آسیب برساند. برای جلوگیری از این حالت می‌توان از مولکول‌های آبدوست خاصی بین پلیمر و ترکیبات بیواکتیو استفاده کرد که S.M[19] نامیده می‌شود (۱). Waschinski در سال ۲۰۰۳ از یک S.M بر پایه ۲- اتیل ۱و۳- اکسازولین[20] جهت حمل گروه‌های عاملی استفاده کرد. گروه‌های عاملی از یک طرف با اتصالات کووالانی به

12.Functionalisation.
13.Glazing.
14.Bulk Properties.
15.Surface Modification.
16.Flame.
17. Corona Discharge.
18.Plasma.
19. spacer molecule
20.2-ethyl-1,3-oxazoline

سطح پلیمر متصل می‌شوند و از طرف دیگر با گروه‌های عاملی ترکیبات بیواکتیو پیوند ایجاد می‌کنند و به این طریق بیومولکول‌ها به پلیمرها متصل می‌شوند (۱۵).

پلیمرهای سنتزی بیواکتیو ذاتی

پلیمرهای بیواکتیو غیر مهاجر که در بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شوند می‌توانند به دو صورت وجود داشته باشند، پلیمرهای با ترکیبات بیواکتیو تثبیت شده و پلیمرهایی که ذاتاً دارای فعالیت بیواکتیو می‌باشند. مهمترین پلیمرهای بیواکتیو ذاتی شامل پلی اتیلن گلایکول (PEG)، پلی لاکتیک اسید و کیتوزان می باشد که مورد آخر از اهمیت و کاربرد بیشتری برخوردار است (۱۴).

کیتوزان

کیتوزان یک پلیمر کربوهیدراتی می باشد که می‌توان آن را از پسماند غذاهای دریایی حاصل از سخت‌پوستان مانند صدف، خرچنگ و میگو تهیه کرد. کیتوزان شکل دِ استیله شده کیتین (پلی بتا (1→4) N– استیل D– گلوکزآمین) می‌باشد. کیتین یک پلیمر سلولزی طبیعی می‌باشد که در بسیاری از موجودات زنده مثل حشرات و قارچ‌ها وجود دارد (۴). امروزه تحقیقات زیادی در ارتباط با اثر و کاربرد ضدمیکروبی کیتوزان انجام شده است و می‌توان گفت که کیتوزان معروف‌ترین بیوپلیمر دارای خواص ضدمیکروبی ذاتی می‌باشد (۱).

تحقیقات اخیر نشان داده است که کیتوزان غشای خارجی باکتری‌ها را تخریب می‌کند. به طور کلی مکانیسم عمل ضدمیکروبی کیتوزان شامل: ۱- تداخل طبیعت پلی کاتیونی کیتوزان با بار منفی ماکرومولکول‌های سطح سلول‌ها ۲- ورود پلیمر کیتوزان به سلول و جلوگیری از انتقال DNA به RNA می‌شود. (۱۱)

فعالیت کیتوزان روی طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها در بسیاری از زمینه‌ها مانند دندانپزشکی، داروسازی، صنایع نساجی و بسته‌بندی مواد غذایی بررسی شده است. حداقل میزان ممانعت‌کنندگی کیتوزان بسته به نوع میکروارگانیسم و نیز درجه کاهش گروه‌های استیل دارد. در یک تحقیق اثر ضدقارچی کیتوزان بر آسپرجیلوس نایجر[21] در سطح مواد غذایی بررسی شد و نتایج حاصله نشان داد که کیتوزان حتی در مقادیر خیلی کم نیز می‌تواند از رشد این میکروارگانیسم جلوگیری کند. ضمناً کیتوزان به عنوان یک ترکیب ماده غذایی در ژاپن مصرف می‌شود که خواص تغذیه‌ای آن کاهش ۳۰-۲۰٪ سرعت تولید کلسترول در بدن انسان و اثر گذاری مثبت در نقش یک فیبر برای سلامتی دستگاه گوارش می‌باشد (۱۴).

نتیجه

کاربرد پلیمرهای بیواکتیو در بسته بندیهای مواد غذایی روز به روز در حال افزایش می باشد. دلیل این امر می توان وجود ویژگی های منحصر به فرد این نوع از بسته بندیهای فعال مانند سهولت روشهای تولید، گستردگی دامنه کاربرد برای انواع مختلف مواد غذایی، افزایش قابلیت ماندگاری مواد غذایی و حفظ سلامت مصرف کننده به دلیل عدم مهاجرت این ترکیبات دانست. امروزه اکثر تحقیقات محققان روی این ترکیبات مربوط به انواع دارای

[21].A niger

خـواص بیواکتیـو ذاتـی خـصوصاً کیتـوزان متمرکـز شـده اسـت و بنـابراین در آینـده ای نـه چنـدان دور شـاهد افـزایش چشمگیر در کاربرد این ترکیبات به عنوان ماده بسته بندی محصولات مختلف غذایی خواهیم بود.

Abstract
Non-migratory bioactive polymers (NMBP) are a class of polymers that possess biological activity without the active components migrating from the polymer to the substrate. These components are consist of enzymes , peptides ,proteins and bacteriocins but often enzymes are used to immobilize on the polymer surface. Application of bioactive polymers is known as bioactive packaging that it is a subdivision of active packaging. These bioactive polymers are divided in two main types ,first inherently bioactive polymers and second polymers with covalently immobilized bioactive agents. In order to produce NMBP that have inherently bioactive components some materials such as polyethylene glycol (PEG) ,polylactic acid and chitosan are used while the last one is more important than others. Second type of NMBP are produced by using two processes immobilisation of bioactive components and UV irradiation process.
Key words : Non-migratory bioactive polymers , Immobilisation , chitosan , active packaging.

References

1) Ahvenainen, R. (ED) (2003) **Novel food packaging techniques**, CHAPTER 05. Boca Raton, USA, Woodhead Publishing Limited.
2) Aikio, S. (2006) **Bioactive paper and fibre products. Patent and literary survey**. VTT Technical Research Centre of Finland.
3) Dinnella, C., Monteleone, E., Farenga, M.F. AND Hourigan,G.A. (2004) **The use of enzymes for thermal process monitoring: modification of milk alkaline phosphatase heat resistance by means of an immobilization technique**. *Food Control* **15**:427–433
4) Goddard, J.M. and Hotchkiss, J.H. (2007) **Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds**. *Progress in polymer science* 32:698-725.
5) GODDARD, J.M., TALBERT, J.N. and HOTCHKISS, J.H. (2007) **Covalent Attachment of Lactase to Low-Density Polyethylene Films**. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*:Vol. 72, Nr. 1
6) Gross, R. A. and Kalra, B. (2002) **Biodegradable Polymers for the Environment**. *Science, New Series*, Vol. 297, No. 5582. pp. 803-807.
7) Guillou-Buffello, D.L., Helary, G., Gindre, M., Pavon-Djavid, G., Laugier, P. and Migonney, V. (2005) **Monitoring cell adhesion processes on bioactive polymers with the quartz crystal resonator technique**. *Biomaterials* 26: 4197–4205
8) Joerger, R. D. (2007) **Antimicrobial Films for Food Applications:**
A Quantitative Analysis of Their Effectiveness. *Packag. Technol. Sci.* 20: 231–273.
9) KOTHAPALLI, A., HAYES, K., SADLER, G. AND MORGAN, M. (2007) **Comparison of Kinetic Profile of Free and Immobilized Glucose Oxidase, Immobilized on Low-Density Polyethylene Using UV Polymerization**. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*:Vol. 00, Nr. 0.
10) MARSH, K. PH.D., AND BUGUSU, B. PH.D. (2007) **Food Packaging—Roles, Materials, and Environmental Issues**. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*: Vol. 72, Nr. 3
11) Nadarajah, K., (2005) **DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF ANTIMICROBIAL EDIBLE FILMS FROM CRAWFISH CHITOSAN**. requirements for the degree of Doctor of Philosophy, Faculty of the Louisiana State University.
12) Ozdemir, M. and Sadikoglu, H. (1998) **A new and emerging technology: Laser- induced surface modi®cation of polymers**. *Trends in Food Science & Technology* **9**:159-167
13) Ozdemir, M., Yurteri, C.U. AND Sadikoglu, H. (1999) **Physical Polymer Surface Modification Methods and Applications in Food Packaging Polymers**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Volume 39, Issue 5, pages 457 – 477.
14) SEBTI, I., MARTIAL-GROS, A., CARNET-PANTIEZ, A., GRELIER, S. and COMA, v. (2005) **Chitosan Polymer as Bioactive Coating and Film against *Aspergillus niger* Contamination**. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*:Vol. 70, Nr. 2
15) Waschinski, C. AND Tiller, J.C. (2003) **POLYMERIC SPACERS FOR ANTIMICROBIAL AGENTS**. *European Cells and Materials* Vol. 6. Suppl. 1, page 51.