

## Cellulose nanofibers/protein nanofibrils nanocomposite aerogels: Preparation and characterization

Mandana Dilamian<sup>1</sup>, Dina Morshedi<sup>\*2</sup>

1. Postdoctoral Researcher, Bioprocess Engineering Research Group, Department of Industrial and Environmental Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran. E-mail: [m.dilamian@gmail.com](mailto:m.dilamian@gmail.com)
2. Corresponding Author, Associate Prof., Bioprocess Engineering Research Group, Department of Industrial and Environmental Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran. E-mail: [morshedi@nigeb.ac.ir](mailto:morshedi@nigeb.ac.ir)

### Article Info

#### Article type:

Full Length Research Paper

#### Article history:

Received: 01.12.2023

Revised: 02.21.2023

Accepted: 02.24.2023

#### Keywords:

Aerogel,  
Cellulose nanofibrils,  
Chitosan,  
Protein nanofibrils

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** Bio-nanocomposites are a group of polymer nanocomposites constructed from the combination of biodegradable polymers and inorganic solids, in which at least one of their dimensions is in the nanometer range. Aerogels are materials with 3D porous interconnected structures, consisting of various polymer components. Regarding their spectacular features, such as high specific surface, high porosity and very low density, aerogels have interesting and broad potential applications in various sciences. In this research, biocompatible nanocomposite aerogels are produced from non-toxic, sustainable, and renewable materials, which are mostly by-products of the dairy industry and agricultural wastes. These nanocomposite aerogels contain large amounts of polysaccharides and proteins. These aerogels have properties of non-toxic nature, renewability, and biodegradability and can be broadly applied in various fields.

**Materials and Methods:** This study prepared several nanocomposite aerogels composed of various cellulose nanofibrils, chitosan, and protein nanofibrils using the freeze-drying method. The obtained aerogels were evaluated via multiple techniques to verify their components and evaluate their compatibilities. Consequently, an anionic dye was chosen as a model dye to investigate the efficiency of these aerogels in removing azo dye from water.

**Results:** Ultralight ( $15 \text{ mg cm}^{-3}$ ) and highly porous (98.91%) aerogels were produced. Cellulose nanofibers reinforced the structure and chitosan and protein nanofibrils added extra functional groups to the aerogel. The results obtained from the evaluation of Thioflavin-T confirmed the presence of protein nanofibrils (PNF) in composition. Overall, by reducing the cellulose fraction and increasing the protein proportion, the stability of hybrid aerogels of cellulose nanofibers/chitosan decreases up to 90% in a wet state. In contrast, the wet strength of composite aerogel containing cellulose nanofiber/chitosan/protein increased, even though the protein fraction was at its highest value, and these aerogels revealed the highest efficiency in removing anionic dye from water as well.

**Conclusion:** The results show that adding natural fillers, such as cellulose nanofibers, has a striking effect on promoting the mechanical stability of composite aerogels. The highly porous structure of three-component aerogel consists of optimum fractions of cellulose nanofibrils, chitosan, and

---

protein nanofibrils perfectly prepared via establishing ionic and hydrogen bonds after the drying process in freeze-drying. Comparing the results of dimensional stability and water absorption of composite aerogels, it can be claimed that nanocomposite aerogel containing 50% cellulose with equal proportions of chitosan/protein nanofibrils can be regarded as the optimum sample for further studies. Notably, all three-component aerogels containing PNF exhibited a maximum absorption capacity of  $70 \text{ mg.g}^{-1}$  and the highest 100% removal efficiency for Congo red anionic dye.

---

Cite this article: Dilamian, Mandana, Morshedi, Dina. 2023. Cellulose nanofibers/protein nanofibrils nanocomposite aerogels: Preparation and characterization. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 29 (4), 113-138.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JWFST.2023.20904.1998

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

## تولید و ارزیابی آبروژل نانوکامپوزیتی بر پایه نانوفیبریل‌های سلولزی و پروتئینی

ماندانا دیلمیان<sup>۱</sup>، دینا مرشدی<sup>۲\*</sup>

۱. محقق پسادکتری، گروه مهندسی زیست فرآیند، پژوهشکده زیست‌فناوری صنعت و محیط‌زیست، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران. رایانامه: [m.dilamian@gmail.com](mailto:m.dilamian@gmail.com)
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه مهندسی زیست فرآیند، پژوهشکده زیست‌فناوری صنعت و محیط‌زیست، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران. رایانامه: [morshedi@nigeb.ac.ir](mailto:morshedi@nigeb.ac.ir)

اطلاعات مقاله	چکیده
<b>نوع مقاله:</b> مقاله کامل علمی- پژوهشی	<b>سابقه و هدف:</b> زیست نانوکامپوزیت‌ها گروهی از نانوکامپوزیت‌های پلیمری هستند که از ترکیب پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر و جامدات غیرآلی تشکیل شده‌اند و حداقل یکی از ابعادشان در حد نانومتر است. آبروژل‌ها، موادی با ساختار شبکه‌ای سه‌بعدی حاوی حفره‌های بهم‌پیوسته و متشکل از ترکیب مواد مختلف هستند. این مواد به دلیل ویژگی‌های بسیار جالب‌توجهی مانند سطح مخصوص، منافذ زیاد و چگالی بسیار کم خواص جالب‌توجه و مصارف پرکاربردی در علوم مختلف دارند. در این پژوهش، آبروژل‌های نانوکامپوزیتی زیست‌سازگار از مواد غیرسمی و تجدیدپذیر که اغلب محصولات جانبی صنایع لبنی و ضایعات کشاورزی هستند تولید شده‌اند. این آبروژل‌های زیست نانوکامپوزیتی، حاوی مقادیر فراوان پلی‌ساکارید و پروتئین بوده و به دلیل ماهیت غیرسمی، تجدیدپذیری و زیست‌تخریب‌پذیری، کاربردهای گسترده‌ای در مصارف مختلف دارند.
<b>تاریخ دریافت:</b> ۱۴۰۱/۱۰/۲۲	
<b>تاریخ ویرایش:</b> ۱۴۰۱/۱۲/۰۲	
<b>تاریخ پذیرش:</b> ۱۴۰۱/۱۲/۰۵	
<b>واژه‌های کلیدی:</b> آبروژل، کیتوسان، نانوفیبریل‌های پروتئینی، نانوفیبریل‌های سلولزی	<b>مواد و روش‌ها:</b> در این مطالعه چند نوع آبروژل نانوکامپوزیتی متشکل از ترکیب نانوفیبریل‌های سلولزی، کیتوسان و نانوفیبریل پروتئینی با استفاده از خشک‌کن انجمادی تهیه شده و سپس با استفاده از روش‌های آنالیزی متعدد محتویات این آبروژل‌ها مورد بررسی و تأیید قرار گرفت. درنهایت کارایی این آبروژل‌ها در حذف رنگزای آزو از آب، بر روی یک مدل رنگزای آنیونیک ارزیابی گردید.
	<b>یافته‌ها:</b> آبروژل‌های سه‌جزئی فوق سبک ( $15 \text{ mg cm}^{-3}$ ) و بسیار متخلخل (۹۸/۹۱ درصد)، با موفقیت تولید شدند. در این آبروژل‌ها از نانوالیاف سلولزی به‌عنوان تقویت‌کننده و کیتوسان و نانوفیبریل‌های پروتئینی به‌عنوان بهبوددهنده استفاده گردید. نتایج آزمون نشر تیوفلاوین-تی بر روی آبروژل‌های نانوکامپوزیتی با نسبت‌های ترکیب مختلف، وجود فیبریل‌های پروتئینی را

---

تأیید می‌نماید. به‌طور کلی در آبروژل‌های دوجزئی نانوالیاف سلولزی/پروتئین، با کاهش جزء سلولز و افزایش جزء پروتئین تا ۹۰ درصد استحکام در حالت تر کاهش می‌یابد. درحالی‌که آبروژل‌های سه‌جزئی (حتی در حالتی که جزء پروتئین بیش‌ترین مقدار را نسبت به کیتوسان داشت)، علاوه بر بهره‌وری از ثبات ابعادی و پایداری بسیار خوب در آب، در حذف رنگزای آنیونیکی نیز عملکرد بسیار مؤثری نشان دادند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این پژوهش نشان می‌دهد افزودن مواد پرکننده طبیعی مانند نانوالیاف سلولزی، تأثیر به‌سزایی در تقویت خواص مکانیکی آبروژل کیتوسان و نانوفیبریل پروتئینی دارد. ساختار بسیار متخلخل آبروژل سه‌جزئی متشکل از مقادیر بهینه نانوفیبریل‌های سلولزی، کیتوسان و نانوفیبریل‌های پروتئینی است که پس از فرایند خشک‌شدن در دستگاه خشک‌کن انجمادی با برقراری پیوندهای یونی و هیدروژن میان اجزا به‌خوبی حاصل شده است. با ارزیابی نتایج پایداری و جذب آب آبروژل‌های کامپوزیتی می‌توان آبروژل‌های حاوی ۵۰ درصد سلولز و نسبت‌های برابر کیتوسان/نانوفیبریل‌های پروتئینی را به‌عنوان نمونه‌های مطلوب برای ادامه مطالعات در نظر گرفت. لازم به ذکر است، کلیه آبروژل‌های سه‌جزئی حاوی نانوفیبریل‌های پروتئینی با گنجایش جذب حداکثر  $70 \text{ mg g}^{-1}$  و بازدهی ۱۰۰ درصد رنگزای کنگو رد را جذب نمودند.

---

استناد: دیلمیان، ماندانا، مرشدی، دینا (۱۴۰۱). تولید و ارزیابی آبروژل نانوکامپوزیتی بر پایه نانوفیبریل‌های سلولزی و پروتئینی.

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل، ۲۹ (۴)، ۱۳۸-۱۱۳.

DOI: 10.22069/JWFST.2023.20904.1998



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

## مقدمه

آبروژل‌ها مواد جامدی با منافذ زیاد و ساختار شبکه‌ای سه‌بعدی (D3) هستند که فضاهای توخالی آن‌ها در حد مرزی مابین لایه‌های جامد، با هوا (محتوی ۹۵-۹۹ درصد هوا) پر شده است. این ساختار همگن حاوی نانو حفره‌های به هم پیوسته است که عامل تعیین‌کننده و ضروری در انتقال جرم مایعات و گازها است. این مواد به دلیل سطح مخصوص ( $11000-2000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ) و منافذ زیاد ( $5-100 \text{ g cm}^{-3}$ ) و چگالی بسیار کم ( $0.03-0.15$ ) در طیف وسیعی از نیازمندی‌های صنایع کاربرد دارند و کارایی فراتر از انتظار، از خود نشان می‌دهند. با توجه به ماهیت فیزیکی و ساختاری آبروژل‌ها، پژوهش‌گران بسیاری به مطالعه و بررسی تولید آبروژل‌ها با خصوصیات ویژه از مواد مختلف پرداخته‌اند (۱). کیستلر<sup>۱</sup> در دهه ۱۹۳۰ آبروژل سیلیکا را معرفی نمود که به دلیل تخلخل بسیار زیاد و سبکی فوق‌العاده مورد توجه بسیاری از پژوهش‌گران قرار گرفته است (۲). خشک نمودن آبروژل‌ها در خشک‌کن انجمادی<sup>۲</sup>، ساختار فومی متخلخل، حاوی کانال‌هایی هم‌جهت، مانند ساختار لاملا و یا خانه خانه<sup>۳</sup> ایجاد می‌نماید. با کنترل نمودن و تغییر مکان‌های تشکیل هسته و نرخ دمای انجماد، امکان کنترل و تغییر ساختار میکرونی آبروژل‌ها و فوم‌ها فراهم می‌گردد (۳). خواص آبروژل برگرفته از نحوه توزیع و چیدمان دو فاز مختلف است. به عبارت دیگر فاز جامد و شبکه متخلخل. خصوصیات فاز متخلخل<sup>۴</sup> به‌طور برجسته‌ای تعیین‌کننده خواص نهایی آبروژل است. علاوه بر این، خواص حفره و نوع آن نقش اساسی در تعیین رفتار ساختارهای متخلخل دارد (۴، ۵).

تولید آبروژل‌های بیونانوکامپوزیتی به‌منظور بهبود ویژگی‌های آن‌ها، افزایش بهره‌وری و پایداری بیش‌تر و قابلیت تولید در مقیاس صنعتی می‌تواند بسیار ارزشمند باشد (۱، ۶، ۷، ۸). با تبدیل پسماندهای لیگنوسلولزی ارزان به محصولات با قابلیت‌های فوق‌العاده و ارزش افزوده بسیار، علاوه بر جلوگیری از رهايش منابع کربنی به اتمسفر و کاهش گازهای گلخانه‌ای، از منابع انرژی محدود و تجدیدناپذیر نیز محافظت می‌شود. فیبریل‌های سلولزی در ابتدا به ماکروفیبریل‌ها، سپس به فیبریل‌های میکرونی و در نهایت به فیبریل‌های اولیه تجزیه می‌شوند. ماده تجزیه‌شده در نهایت سلولز میکروفیبریلی نامیده می‌شود. استفاده از واژه نانوفیبریل سلولزی یا نانوسلولز برای فیبریل‌هایی با ضخامتی در ابعاد نانو رایج است (۹). کیتوسان یک پلیمر خطی با ساختار ساکاریدی است که از هیدرولیز طبیعی کیتین به دست می‌آید. کیتین یک منبع فراوان پلی‌ساکاریدی و ماده موجود در حشرات و سخت‌پوستان دریایی، دومین پلی‌ساکارید فراوان طبیعی بعد از سلولز است. ساختار این ترکیب مشابه سلولز است با این تفاوت که در کیتوسان گروه‌های آمینی وجود دارند. حلالیت و فعالیت شیمیایی آن مانند سلولز بسیار کم است (۱۰). پروتئین‌های آمیلوئیدی، پروتئین‌هایی هستند که در شرایط خاص می‌توانند فیبریل‌های بلند و بدون شاخه با ساختار صفحات بتا عمود بر محور رشد فیبریل ایجاد کنند. فیبریل‌های آمیلوئیدی دارای قطر ۸-۲۰ نانومتر و طول چندین میکرومتر بوده و به دلیل ساختار بندی متقاطع، ساختارهایی بسیار پایدار و مستحکم و درعین حال انعطاف‌پذیر دارند (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴). فیبریل‌های آمیلوئیدی یا نانوفیبریل‌های پروتئینی می‌توانند به‌خوبی با سایر مواد ترکیب شوند. این مواد معمولاً به‌سادگی توسط سیستم‌های زیستی ساخته‌شده و معمولاً به‌وفور و با قیمت ارزان در

- 1- Kistler
- 2- Freeze dryer
- 3- Honey comb
- 4- Void

دسترس هستند و هم‌چنین دوستدار محیط‌زیست محسوب می‌شوند. به‌طورکلی نانوفیبریل‌های پروتئینی در مقایسه با سایر نانورشته‌ها، خواص مکانیکی فوق‌العاده‌ای از خود نشان می‌دهند. بر اساس این ویژگی‌های بارز، نانوفیبریل‌های پروتئینی نقش مهمی در علوم مختلف دارند. این مواد کاملاً تجدیدپذیر و طبیعی هستند و انرژی اندکی برای تولیدشان مورد نیاز است و بنابراین پروسه تولید این مواد از نظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه است.

به‌طورکلی آبروژل‌های سلولزی از سلولز و مشتقات آن و یا سلولز حل‌شده و بازیافتی حاصل می‌شود. فیشر و همکاران به بررسی محتوی پیونددهنده عرضی و درجه پلیمریزاسیون بر روی تشکیل آبروژل‌های استات سلولز مشتق شده بوتیرات پرداختند و آبروژلی با مساحت سطحی  $250 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  حاصل شد (۱۵). آبروژل‌های سلولزی دارای تخلخل و سطح به حجم بسیار زیاد، چگالی کم و خواص مکانیکی مطلوب می‌باشند. از آنجایی‌که تقریباً تمام کاربردهای آبروژل سلولزی به سطح و درجه مناسبی از استحکام نیاز دارد، لازم است استحکام نانوکامپوزیت‌های آبروژل سلولزی با استفاده از پیونددهنده بین عرضی بهبود یابد. گروهون و همکاران (۲۰۱۱) آبروژل نانوسلولزی را با چگالی  $30-20 \text{ g cm}^{-3}$  و درصد منافذی بیش از ۹۸ درصد (نسبت به کل ساختار آبروژل) تولید نمودند (۱۶). ناین و همکاران (۲۰۱۳) آبروژل‌های سلولزی را از ضایعات کاغذ تولید نمودند (۱۷). فرایند تولید سلولز از این ضایعات به‌صورت شیمیایی و با استفاده از دستگاه همگن‌ساز فراصوتی بوده است. جهت خشک‌کردن محلول سوسپانسیونی ژل شده از خشک‌کن انجمادی استفاده شد. در این مطالعه آبروژل سلولزی با استفاده از متیل تری متوکسی سیلان به‌واسطه فرایند رسوب بخار شیمیایی، خاصیت

آبگریزی و روغن‌دوستی می‌یابد و زاویه تماس آب در آن به  $145^\circ$  افزایش می‌یابد. فنگ و همکاران (۲۰۱۵) روشی آسان و مقرون‌به‌صرفه را برای تولید آبروژل‌های سلولزی زیست‌سازگار از کاغذ باطله بررسی نمودند (۱۸). لی و همکاران (۲۰۱۸) با استفاده از کاغذهای باطله و زیست‌پلیمرکیتوسان آبروژل‌های جاذب را برای حذف یون‌های فلزی سنگین تولید نمودند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، با ترکیب کیتوسان و کاغذ باطله، آبروژل‌هایی با خواص مکانیکی بهبودیافته، مقاومت در برابر حلال اسیدی و ظرفیت جذب زیاد ( $3/156 \text{ mg g}^{-1}$ ) حاصل می‌شود (۱۹). لی و همکاران (۲۰۱۸) آبروژل کامپوزیت کیتوسان/ نانوالیاف سلولزی را تولید و جهت حذف فلزات سنگین مورد مطالعه قرار دادند. در این مطالعه در ابتدا، کیتوسان در محلول اسیدی حل شده و سپس سوسپانسیون نانوالیاف سلولزی به ترکیب آن افزوده می‌شود (۲۰). پس از خشک شدن نمونه در خشک‌کن انجمادی آبروژل حاصل در داخل محلول هیدروکسید سدیم قرار گرفته تا اسید باقی‌مانده در آن خنثی گردد. تو و همکاران (۲۰۱۷) هیدروژل‌های کیتوسان/ سلولز/رکتوریت را به روشی ساده تولید نمودند. هیدروژل‌های تولیدشده از استحکام و الاستیسیته کافی برخوردار بوده، به‌گونه‌ای که به‌خوبی تابیده و یا خم می‌شوند و ساختار اولیه خود را بلافاصله پس از اعمال فشار بازیابی می‌نمایند (۲۱). لیونگ و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعات خود در ابتدا نانوفیبریل‌های پروتئینی اصلاح‌شده با اتیلن دی آمین را از پروتئین لیزوزیم تولید نموده و سپس کارایی آن‌ها را در جهت حذف یون‌های سمی کرم از آب مورد مطالعه قرار دادند (۲۲). مرشدی و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهش‌های خود از نانوفیبریل‌های پروتئینی جهت رسوب رنگزای آزوپی و جداسازی آن‌ها از محیط آبی استفاده نمودند (۲۳). بنابراین بر طبق این نتایج، می‌توان عملکرد

محلول‌ها استفاده گردید. جهت تنظیم pH از اسید هیدروکلریک (HCl) ۶ مولار و سدیم هیدروکسید (سود) (NaOH) ۶ مولار استفاده گردید. آماده‌سازی هیدروژل کیتوسان: محلول کیتوسان با غلظت ۲ درصد وزنی در محلول اسیدی ۲ درصد (استیک اسید) به مدت ۲۴ ساعت هم زده شد تا ترکیب هم‌وزنی حاصل شود. پس‌از آن، محلول کیتوسان به داخل محلول سدیم هیدروکسید (۴ مولار) قطره‌قطره تزریق شد تا هیدروژل‌های کیتوسان تولید شدند. در نهایت ترکیب ژل‌مانند یکنواختی حاصل شد. برای ارزیابی درصد وزن خشک این ژل، مقدار ۱ گرم از آن در داخل ظرفی با وزن مشخص ریخته شد و به مدت ۱۲ ساعت در داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس خشک شد.

الف ساختارهای نانوفیبریلی از پروتئین آب‌پنیر<sup>۳</sup> خالص‌سازی مونومرهای بتا لاکتالگلوبین: به منظور خالص‌سازی مونومرهای بتا-لاکتالگلوبین از ایزوله‌های پروتئین آب‌پنیر استفاده شد. ۱۰ گرم از پروتئین آب‌پنیر در ۹۰ گرم آب مقطر حل شد و pH محلول با استفاده از هیدروکلریک‌اسید غلیظ به ۴/۲ رسانده شد و پس‌از آن در داخل حمام آبی به مدت بیش از ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس انکوبه شد. این فرایند تا تغییر رنگ محلول و شیری شدن آن ادامه یافت که بیانگر تجمع آلفا-لاکتالبومین<sup>۴</sup> در نقطه ایزوالکتریک آن بود. جهت جداسازی جزء آلفا-لاکتالبومین، محلول مات در وزن مشخص به فالدکون منتقل شد و به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید (شکل ۱- الف). محلول شفاف حاصل عمدتاً شامل مونومرهای بتا-لاکتالگلوبین، رسوبات نمکی و کربوهیدرات بود. این محلول به

نانوفیبریل‌های پروتئینی را در جهت حذف رنگزاهای آرویی دانست. در این پژوهش، آبروژل‌های زیست‌سازگار از مواد غیرسمی و تجدیدپذیر که اغلب محصولات جانبی صنایع لبنی و ضایعات کشاورزی و حاوی مقادیر فراوان پلی‌ساکارید و پروتئین می‌باشند تولید شده‌اند. وجه تشابه این زیست مواد در قابلیت ژل‌شوندگی در حضور آب و یا کاتیون‌ها، پیونددهنده‌های عرضی و یا ترکیب و مخلوط شدن با سایر پلی‌ساکاریدها است. آبروژل‌های نانوبیوکامپوزیتی از نظر ساختار شیمیایی و خواص فیزیکی مانند تخلخل، چگالی، استحکام، حفظ پایداری در آب و کارایی آن در حذف رنگزای آنیونی مورد بررسی قرار گرفتند.

### مواد و روش‌ها

نانوفیبریل سلولزی تولید شده به روش مکانیکی از شرکت نانو نوین پلیمر (ایران) تهیه گردید. غلظت حدودی نانوفیبریل سلولزی در حدود ۳ درصد وزنی- وزنی بود. با افزودن آب بدون یون به ژل سلولزی، سوسپانسیون نانوفیبریل‌های سلولزی در غلظت‌های مختلف (۲-۱/۰ درصد وزنی-وزنی) آماده گردید. ماده پیونددهنده عرضی و استحکام‌دهنده در حالت تر، پلی‌آمید اپی کلرو هاید رین رزین، توسط شرکت مواد شیمیایی هوبای<sup>۱</sup> تهیه شد. کیتوسان با وزن مولکولی ۱۰۰-۳۰۰ کیلودالتون از شرکت اکروس خریداری گردید. اسید استیک ۱۰۰ درصد گلاسیال به عنوان حلال از شرکت مرک خریداری گردید. پروتئین وی<sup>۲</sup> از کارخانه‌های لبنی تهیه گردید. رنگ کنگو رد (حداکثر طول موج ۴۹۷ نانومتر) مورد بررسی در این پژوهش از شرکت سیگما خریداری شد. در تمامی مراحل آزمایش از آب یون‌زدایی شده برای تهیه

3- Whey amyloid fibrils

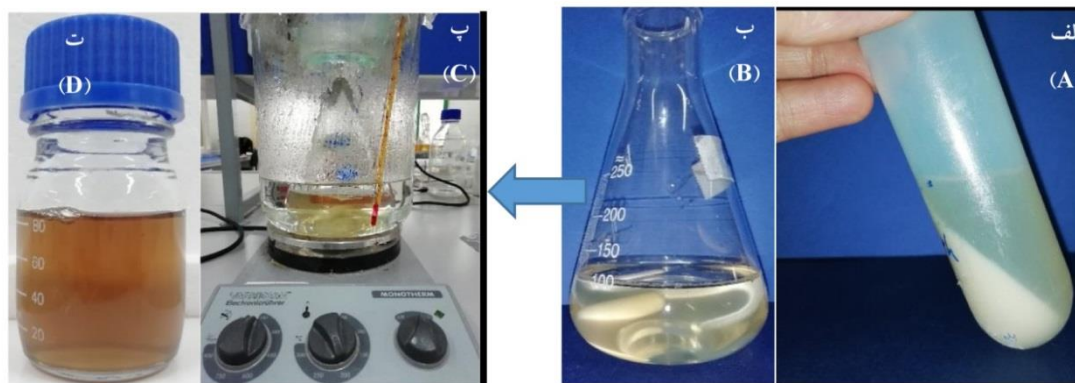
4-  $\alpha$ -lactalbumin

1- Hubei chemical technology

2- Whey

دور ۲۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ ساعت هم زده شد (شکل ۱- پ). جهت متوقف نمودن فرایند، ظرف حاوی محلول در داخل حمام یخ قرار داده شد تا عملیات به یکبار متوقف گردد (شکل ۱- ت). ترکیب حاصل در داخل یخچال با دمای ثابت ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید. به منظور بررسی ساختاری نمونه با استفاده از خشک‌کن انجمادی به صورت پودر خشک گردید.

ظرف درب‌دار شیشه‌ای منتقل شد و درصد وزنی آن با خشک‌کردن مقدار مشخصی از آن در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس ارزیابی گردید (شکل ۱- ب).  
 القا آمیلوئیدهای فیبریلی بتا-لاکتاگلوبین: اسیدیته محلول مونومری بتا-لاکتاگلوبین با استفاده از محلول اسیدی غلیظ هیدروکلریک اسید بر روی pH معادل ۲ تنظیم شد. سپس تا غلظت ۲ درصد وزنی با استفاده از آب مقطر رقیق شد و pH مجدداً بر روی ۲ تنظیم گردید. در نهایت ترکیب بر روی همزن مغناطیسی با



شکل ۱- نمایی از مراحل تولید نانوفیبریل‌های پروتئینی: جداسازی جزء آلفا-لاکتالبومین (الف)، محلول مونومری بتا-لاکتاگلوبین (ب)، القا آمیلوئیدهای فیبریلی بتا-لاکتاگلوبین، با گرماگذاری و هم‌زدن نمونه با سرعت ثابت (پ)، محلول حاوی نانوفیبریل‌های پروتئینی (ت).

**Figure 1. Display of protein nanofibrils preparation, separation of  $\alpha$ -lactalbumin (A),  $\beta$ -lactoglobulin monomer solution (B), Incubation and shaking of  $\beta$ -lactoglobulin solution to induce amyloid fibrillation (C), Solution composed of nanofibril proteins (D).**

سلولزی / نانوفیبریل پروتئینی (کد: CP) و ترکیب سه‌گانه نانوالیاف سلولزی / نانوفیبریل پروتئینی / کیتوسان (کد: CPCs) از ترکیب سوسپانسیون‌های نانو فیبریل‌های سلولزی، نانوفیبریل پروتئینی و کیتوسان با غلظت ۱/۴ درصد وزنی حاصل گردید (جدول ۱). به منظور تولید آبروژل‌های CP، ۹ نسبت ترکیب و در راستای تولید آبروژل‌های سه‌جزئی CPCs، ۱۵ نسبت ترکیب مختلف در نظر گرفته شد (جدول ۲). پس از آماده‌سازی سوسپانسیون با غلظت ۱/۴ درصد وزنی، ۵ گرم از ترکیب به صورت دقیق توزین گردید و در داخل حمام یخ با دمای ۴ درجه

تولید آبروژل دوجزئی و سه‌جزئی حاوی نانوفیبریل پروتئینی: اساساً، نانوفیبریل‌های پروتئینی، کلوئیدهای ناهمسان و نیمه‌منعطفی هستند که از خودآرایی تجمعات پروتئینی حاصل می‌شوند. ژل‌های حاصل از این فیبریل‌ها اغلب از نظر استحکام مکانیکی ضعیف هستند و مدول الاستیکی آن‌ها کم‌تر از ۵۰ پاسکال است (۲۴، ۲۵). اگرچه در حالت محلول به صورت یکپارچه و شبکه‌ای است؛ اما ساختار شبکه‌ای آن‌ها ضعیف است. در نتیجه تولید آبروژل نانوفیبریل پروتئین به صورت تک جزء امکان‌پذیر نمی‌باشد. در این پژوهش آبروژل کامپوزیتی دوجزئی نانوالیاف



را تثبیت می‌کند و باعث افزایش بازده کوانتوم فلورسانس می‌شود. به نظر می‌رسد که فیبریل‌های آمیلوئیدی دارای جایگاه اتصال به تیوفلاوین-تی هستند که از نظر فضایی رنگ متصل شده را در جایگاه خود قفل<sup>۵</sup> می‌کنند. شدت فلورسانس تیوفلاوین-تی وابسته به تعداد یا طول فیبریل‌ها است (۲۶). به منظور تأیید ایجاد ساختار نانوفیبریل در پروتئین و هم‌چنین اثبات حضور نانوفیبریل پروتئینی در ترکیب سوسپانسیون، از روش سنجش فلورسانسی تیوفلاوین-تی استفاده گردید. ابتدا الیکوت‌های ۱۰۰ میکرولیتری از استوک تیوفلاوین-تی (۳ میلی‌مولار در بافر تریس ۱۰ میلی‌مولار) تهیه و در تاریکی و در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری گردید. هر بار قبل از استفاده، ۲۰ میکرولیتر از این استوک به ۵ میلی‌لیتر از بافر تریس ۱۰ میلی‌مولار با  $\text{pH}=8$  اضافه‌شده، ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه به ۴۹۰ میکرولیتر از این محلول تیوفلاوین-تی افزوده و با استفاده از دستگاه فلوریمتری، در طول موج برانگیختگی ۴۴۰ نانومتر، نشر تیوفلاوین-تی از طول موج ۴۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر با پهنای اسلیت برانگیختگی و نشر به ترتیب ۵ و ۱۰ نانومتر، بررسی شد. افزایش شدت نشر تیوفلاوین-تی پس از افزودن نمونه پروتئینی به آن، دلیلی بر وجود فیبریل آمیلوئیدی در نمونه است.

**ارزیابی استحکام آبروژل‌های کامپوزیتی در حالت تر و بررسی ظرفیت جذب آب:** جهت بررسی میزان استحکام آبروژل‌های کامپوزیتی در حالت تر نمونه‌های استوانه‌ای با قطر و ارتفاع به ترتیب ۱۸ و ۱۴ میلی‌متر در داخل آب یون‌زدایی شده قرار گرفت و ظرف حاوی نمونه بر روی همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه هم زده شد. جهت اندازه‌گیری ظرفیت جذب آب آبروژل‌های سلولزی، نمونه آبروژل‌ها با وزن و ابعاد یکسان در داخل بشر

سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. این فرایند از شکل‌گیری ترک در نمونه در طی فرایند پیش انجماد با نیتروژن مایع جلوگیری می‌کند. سپس سوسپانسیون‌های سرد، به قالب پلی‌استایرنی استوانه‌ای با ارتفاع و قطر به ترتیب ۱۴ و ۱۸ میلی‌متر منتقل شدند. قالب‌ها بر روی پایه استوانه‌ای مسی با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر نصب گردید. در فرایند پیش انجماد، سوسپانسیون‌ها از طریق تماس با سطح قالب مسی با نیتروژن مایع تا سر حد دمای ۱۹۶- درجه سلسیوس در مدت‌زمان کم‌تر از ۵ دقیقه منجمد شدند. انتقال سریع سرما و توزیع یکنواخت کریستال‌های یخ در سرتاسر نمونه در طی فرایند پیش انجماد از مزایای استفاده از پایه مسی است. نمونه‌های حاصل به مدت ۴۸ ساعت در داخل خشک‌کن انجمادی خشک شدند و سپس به منظور برقراری پیوند عرضی میان اجزای کامپوزیت، به مدت ۳ ساعت تحت عملیات حرارتی در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

**اثبات حضور فیبریل پروتئینی توسط نشر فلورسانس تیوفلاوین-تی:**<sup>۱</sup> از سال ۱۹۵۹ که رنگزای فلورسانسی تیوفلاوین-تی معرفی شد، تبدیل به مهم‌ترین روش رنگ‌آمیزی انتخابی و شناسایی فیبریل‌های آمیلوئیدی به صورت درون تنی<sup>۲</sup> و برون‌تنی<sup>۳</sup> شده است. تیوفلاوین-تی را مانند یک "موتور مولکولی"<sup>۴</sup> تصور می‌کنند به طوری که با عبور از یک سد انرژی کوچک، حلقه‌های بنزیل آمین و بنزاتیول موجود در ساختار تیوفلاوین-تی می‌توانند آزادانه حول پیوند کربن-کربن اشتراکی خود بچرخند. این چرخش به سرعت حالت برانگیخته را خاموش می‌کند و بنابراین تیوفلاوین-تی به صورت آزاد، نشر فلورسانس کمی دارد. در مقابل، ثابت شدن چرخش مولکولی تیوفلاوین-تی، حالت برانگیخته این مولکول

- 1- Thioflavin-T
- 2- In vivo
- 3- In vitro
- 4- Molecular rotor

و در نهایت وزن نمونه با ترازو ارزیابی گردید. ظرفیت جذب آب از رابطه ۱ محاسبه گردید.

شیشه‌ای حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدایی شده قرار گرفت. پس از گذشت ۳۰ دقیقه نمونه با احتیاط از بشر خارج شده، آب اضافی آن توسط فیلتر کاغذی جذب

رابطه ۱- ارزیابی ظرفیت جذب آب

$$\text{Water content (g g}^{-1}\text{)} = \frac{m_w - m_d (g)}{m_d (g)}$$

چگالی و با اندازه‌گیری جرم و ابعاد هر نمونه با استفاده از ترازوی دقیق و کولیس دیجیتال محاسبه شد. درصد منافذ یا میزان تخلخل (P,%) آبروژل براساس رابطه ۲ محاسبه شد.

در این رابطه،  $m_w$  وزن نمونه پس از جذب آب و  $m_d$  وزن نمونه در حالت خشک است.

چگالی و درصد منافذ آبروژل‌ها: چگالی ظاهری آبروژل‌ها ( $\rho_{\text{aerogel}} \text{ mg cm}^{-3}$ ) بر اساس فرمول

رابطه ۲- محاسبه میزان تخلخل آبروژل

$$P (\%) = \left[ 1 - \frac{\rho_{\text{aerogel}}}{\rho_s} \right] \times 100$$

است که با توجه به رابطه ۳ محاسبه گردید.

در این معادله،  $\rho_{\text{aerogel}}$  چگالی ظاهری آبروژل و  $\rho_s$  چگالی توده کامپوزیت حاوی پیونددهنده عرضی

رابطه ۳- چگالی توده کامپوزیت

$$\rho_s = \frac{1}{\frac{W_{\text{cellulose}}}{\rho_{\text{cellulose}}} + \frac{W_{\text{Chitosan/AMF}}}{\rho_{\text{Chitosan/AMF}}} + \frac{W_{\text{PAE}}}{\rho_{\text{PAE}}}}$$

میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌های کاملاً خشک در ابتدا بر روی یک نوار کربنی هادی قرار گرفتند و سپس پوشش‌دهی طلا با استفاده از دستگاه بال-تک تحت خلأ و به مدت ۶۰ ثانیه بر روی آن‌ها انجام گردید. نمونه‌ها پس از آماده‌سازی در داخل دستگاه جایگذاری شدند و تصاویر سطحی آن‌ها با استفاده از دستگاه FE-SEM حاوی یک ولتاژ شتاب‌دهنده در حدود ۵ کیلوولت و یک فاصله کاری ۵ میلی‌متر ثبت گردید. میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) ابزاری برای مشاهده نمونه‌ها با

در این معادله،  $W_{\text{cellulose}}$  کسر وزنی سلولز،  $W_{\text{PAE}}$  کسر وزنی پیونددهنده و  $W_{\text{chitosan}}$  کسر وزنی کیتوسان و یا فیبریل پروتئینی است. چگالی ماده پیونددهنده عرضی ( $\rho_{\text{PAE}}$ )  $1/150 \text{ g cm}^{-3}$ ، چگالی سلولز ( $\rho_{\text{Cellulose}}$ )  $1/6 \text{ g cm}^{-3}$ ، چگالی کیتوسان  $1/4 \text{ g cm}^{-3}$  و چگالی نانوفیبریل پروتئین  $1/3 \text{ g cm}^{-3}$  در نظر گرفته شد (۱۸، ۲۷).

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM): ویژگی‌های سطحی و ساختار آبروژل‌ها با استفاده از

غلظت‌های مشخص آماده و جذب غلظت‌های مختلف هم‌زمان با استفاده از دستگاه پلیت ریدر ثبت گردید. پس از دریافت عدد جذب برای هر غلظت CR، نمودار کالیبراسیون میزان جذب در برابر غلظت‌های مختلف CR با محاسبه معادله‌ای (طبق قانون بیر-لامبرت و با ضریب تبیین<sup>۱</sup> بیش از ۰/۹۹) رسم گردید. غلظت‌هایی با عدد جذب بالاتر از ۱ رقیق‌سازی شدند. به‌منظور ارزیابی جذب رنگ، آبروژل حاوی نسبت‌های مشخص از اجزا و البته با وزن یکسان (۷۰ mg) در داخل فالكون حاوی ۴۵ ml میلی‌لیتر CR با غلظت تعیین‌شده قرار داده شد و به‌مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت بر روی دستگاه همزن برقی قرار گرفت. جذب رنگ کنترل به‌عنوان جذب اولیه ثبت و سپس جذب هر رنگ توسط جاذب بعد از زمان مشخص، به‌عنوان جذب نهایی (یا جذب در زمان t) ثبت شده است. سپس میزان ظرفیت جذب طبق رابطه ۴ حاصل گردید.

ابعاد نانومتری و بررسی توپوگرافی سطح آن‌ها است. در میکروسکوپ‌های نیروی اتمی از نیروهای ضعیف مانند نیروهای واندروالس و موینگی بین نوک پروب و سطح نمونه برای تشکیل تصویر توپوگرافی از سطح نمونه استفاده می‌شود. بدین‌منظور فیبریل‌های پروتئین در غلظت‌های بسیار رقیق روی سطوح هموار میکا اسپین کوت شده و پس از خشک‌شدن تصویربرداری شدند.

**بررسی کارایی آبروژل CPCs در حذف رنگزای کنگو رد (CR):** از مهم‌ترین کارایی‌های آبروژل‌ها استفاده از آن‌ها در رفع آلاینده‌های آب است در این پژوهش، علاوه بر تولید آبروژل‌های کامپوزیتی جدید، کارایی آن‌ها در حذف یک مدل رنگزای آنیونیکی مورد مطالعه قرار گرفت. به‌منظور ارزیابی کارایی مؤثر آبروژل‌ها در حذف CR از روش طیف‌سنجی استفاده شد. بدین‌منظور CR به‌عنوان رنگ نمونه انتخاب و در گام نخست نمودار استاندارد کالیبراسیون میزان جذب در برابر غلظت رسم گردید. محلول CR در

#### رابطه ۴- ظرفیت جذب آبروژل کامپوزیتی در حذف رنگ CR

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{M}$$

مانع از هم‌پاشیدگی و حفظ ساختار آبروژل سلولزی می‌گردد. محلول حاوی نانوفیبریل‌های پروتئینی (PNF) با غلظت ۴/۶ درصد بلافاصله پس از تولید و پس از گذشت ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس توسط نشر فلورسانس تیوفلاوین-تی بررسی شدند. نتایج بیانگر عدم‌تغییر ماهیت و یا عدم رسوب PNF پس از ۷ روز است (شکل ۲- الف). نحوه استفاده از نانوفیبریل‌های پروتئینی در ترکیب با نانوالیاف سلولزی (CNF) و کیتوسان (Cs) بسیار دارای اهمیت است، چراکه در صورت ناهمگن بودن ترکیب سه‌جزئی، نمی‌توان از خاصیت ویژه آن بهره

در رابطه ۴،  $q_e$  مقدار آلاینده جذب‌شده در زمان تعادل، در واحد جرم جاذب، برحسب میلی‌گرم بر گرم،  $C_0$  و  $C_e$  به ترتیب غلظت اولیه و نهایی آلاینده در محلول برحسب میلی‌گرم بر لیتر،  $V$  حجم محلول برحسب لیتر و  $M$  جرم جاذب برحسب گرم است.

#### نتایج و بحث

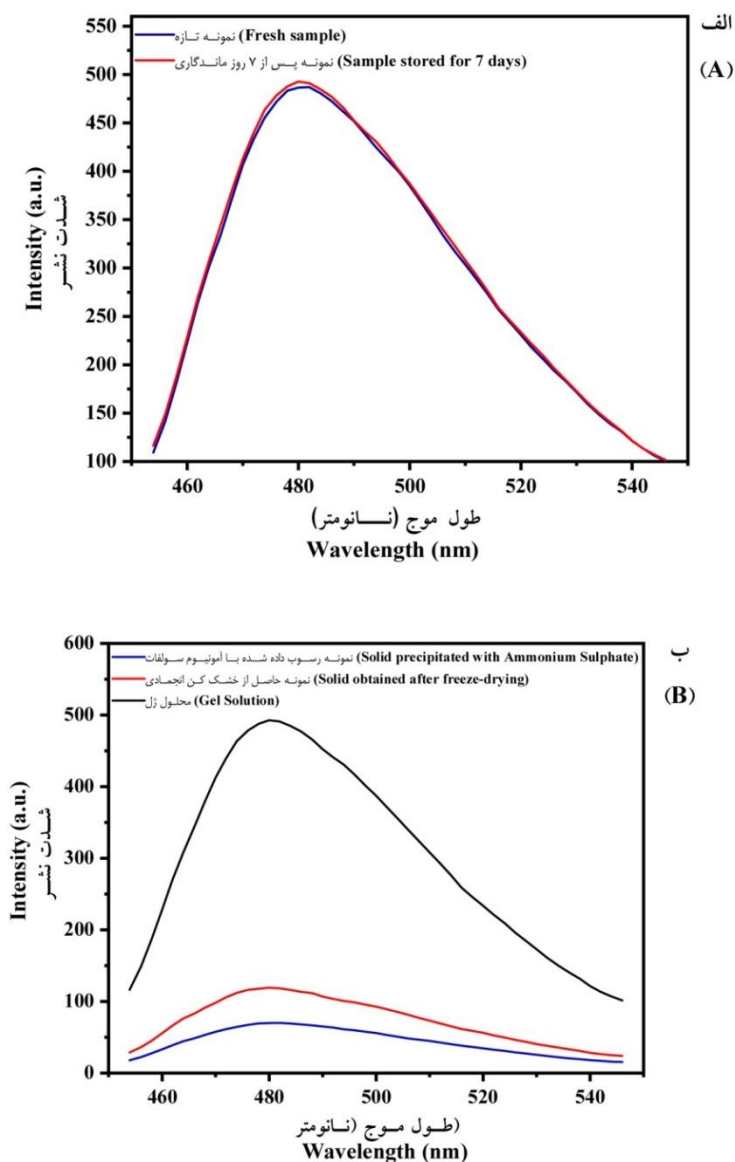
ساختار شبکه‌ای آبروژل‌های کامپوزیتی با استفاده از پیونددهنده پلی‌آمید اپی کلرو هایدربن رزین<sup>۲</sup> مستحکم گردید. این ماده با برقراری پیوند بین عرضی

1- Coefficient of determination (R2)

2- Polyamide epichlorohydrin resin

توجه به نتایج نشر فلورسانس در مقایسه با محلول فیبریل از شدت بسیار کم‌تری برخوردار است. از این رو بر اساس ارزیابی‌های صورت‌گرفته نمونه پروتئین در حالت محلول با درصد وزنی در محدوده ۳-۴ درصد وزنی برای ترکیب با سایر اجزا بسیار مطلوب است.

گرفت (۲۷، ۲۸). بنابراین در آزمونی دیگر، پروتئین به حالت پودری، حاصل از فرایندهای خشک‌کن انجمادی و رسوب‌دهی با آمونیوم سولفات، با نمونه به حالت محلول پروتئین از نظر بررسی مقدار فیبریل محتوی توسط نشر فلورسانس تیوفلاوین-تی ارزیابی گردید (شکل ۲-ب). در طی فرایند خشک‌کردن، نانوفیبریل‌های پروتئینی تجمع می‌یابند و در نتیجه با

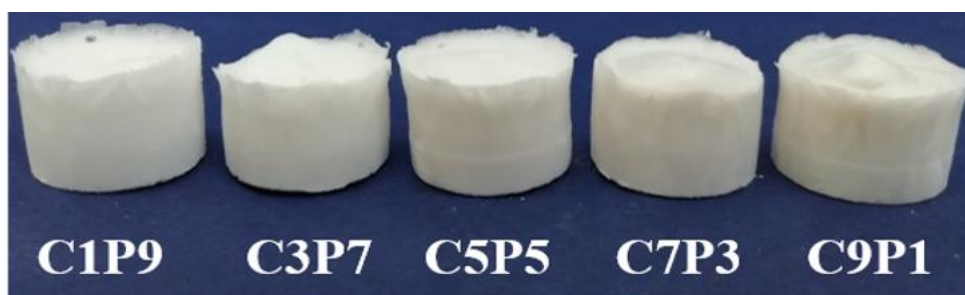


شکل ۲- اثبات فیبریل شدن و پایداری فیبریل پروتئین توسط نشر فلورسانس تیوفلاوین-تی: بررسی اثر زمان بر روی مقدار فیبریل‌های پروتئین (الف)، بررسی میزان فیبریل شدن در نمونه‌های حاصل از روش‌های مختلف، (ب).

Figure 2. Confirming the presence of protein fibrils with Thioflavin-T: Comparing the effect of ageing on the fibril content of the protein (A), The intensity of protein fibrils sample obtained from various methods (B).

آبروژل حالتی شکننده می‌یابد. برای بررسی کیفیت ساختار و ثبات ابعادی این نمونه‌ها، هر یک در داخل ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور می‌شوند. بررسی عملکرد آبروژل‌ها در داخل آب بیانگر دو نکته دارای اهمیت است. نکته اول مدت‌زمانی غوطه‌ور شدن نمونه در داخل آب است (جدول ۱) و نکته دوم پایداری و ثبات ابعادی نمونه در حالت غوطه‌ور شدن است. با افزایش درصد جزء پروتئین در نمونه تا ۵۰ درصد استحکام نمونه در آب کاهش می‌یابد به گونه‌ای که نمونه‌های حاوی ۶۰-۹۰ درصد کاملاً در داخل آب متلاشی می‌شوند. باتوجه به ارزیابی دقیق نتایج می‌توان دریافت آبروژل دوجزئی CP از استحکام مطلوبی برای جذب برخورداری نمی‌باشد و حتی استفاده از آن در درصدهای کمتر از ۵۰ درصد نیز مطلوب نمی‌باشد.

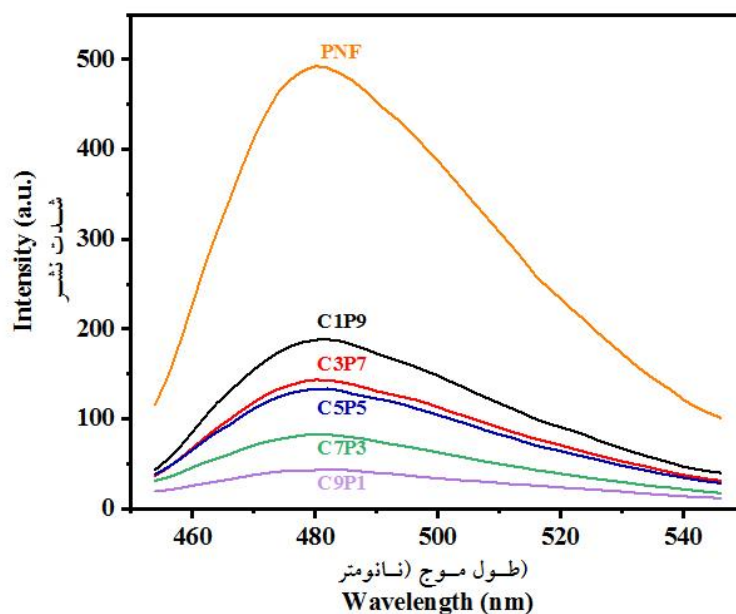
جزئیات نسبت ترکیب به‌کاررفته در آبروژل دوجزئی CP در جدول ۱ آورده شده است. به‌منظور اثبات حضور PNF در ساختار آبروژل، قبل از انجام فرایند، نشر فلورسانس تیوفلاون-تی بررسی گردید. نتایج نشان می‌دهد (شکل ۳) با افزایش جزء پروتئین در ترکیب سوسپانسیون، شدت نشر فلورسانس نیز افزایش می‌یابد. همچنین مقدار این فیبریل در بهینه‌ترین حالت (C<sub>5</sub>P<sub>5</sub>) در حدود ۱۳۲ واحد است. ارزیابی دقیق چگالی و تخلخل آبروژل‌های دوجزئی CP نشان می‌دهد، هرچه درصد پروتئین در آبروژل افزایش یابد، چگالی نمونه کاهش و تخلخل آن از ۹۸/۷ به ۹۹/۷ درصد افزایش می‌یابد (شکل‌های ۳ و ۴). درواقع فیبریل‌های پروتئینی با پوشش‌دهی سطح نانوفیبریل‌های سلولزی تا حد زیادی مانع از برقراری پیوندهای هیدروژنی میان زنجیره‌های سلولزی می‌شوند. به همین دلیل است که با افزایش پروتئین



نانوفیبریل سلولزی/نانوفیبریل پروتئینی (Cellulose nanofiber/Protein nanofiber (CP))

شکل ۳- آبروژل‌های دوجزئی CP در نسبت‌های مختلف نانوفیبریل سلولزی و نانوفیبریل پروتئینی.

Figure 3. CP hybrid aerogels in various mixture of CNF to PNF ratio.



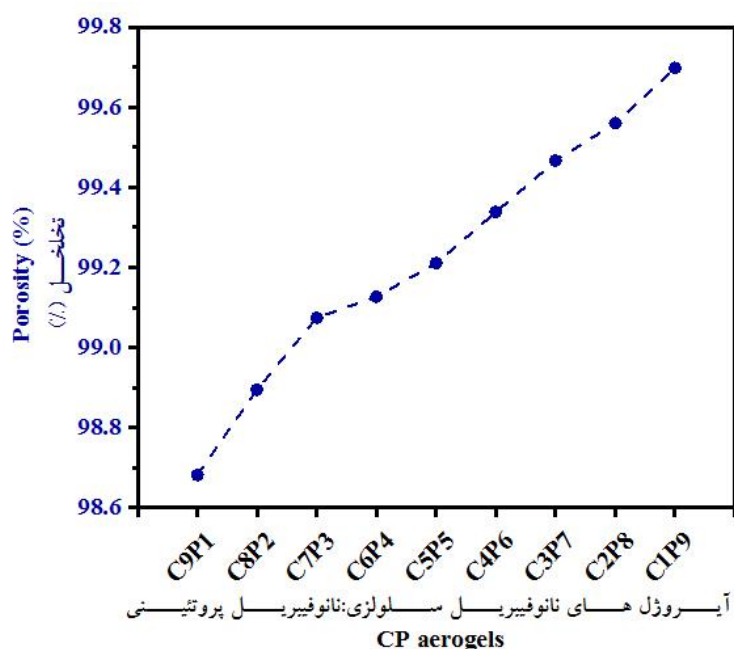
شکل ۴- ارزیابی حضور نانوفیبریل پروتئینی در سوسپانسیون ترکیبی CP با استفاده از سنجش فلورسانس تیوفلاوین-تی.

Figure 4. Confirming the presence of PNF in the suspension of CP with Thioflavin-T.

جدول ۱- اجزا و ویژگی‌های فیزیکی آبروژل‌های کامپوزیتی دوجزئی CP.

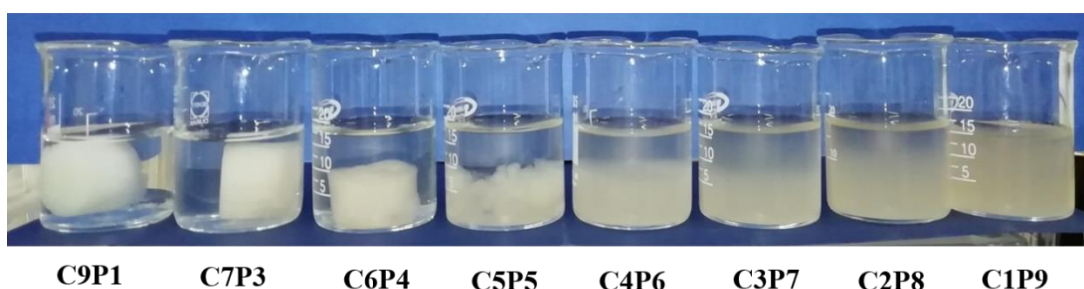
Table 1. The contents and physical properties of binary CP composite aerogels.

مدت زمان غوطه‌وری Sinking duration (s)	تخلخل Porosity (%)	چگالی Density (mg cm <sup>-3</sup> )	درصد وزنی CNF (%Wt)	درصد وزنی PNF (%Wt)	کد نمونه Sample C <sub>n</sub> P <sub>n</sub>
4	98.7	18.93	1.4	-	CNF
7	98.9	18.78	1.26	0.14	C <sub>9</sub> P <sub>1</sub>
13	98.07	18.67	1.12	0.28	C <sub>8</sub> P <sub>2</sub>
21	99.12	18.06	0.98	0.42	C <sub>7</sub> P <sub>3</sub>
110	99.21	18.47	0.84	0.56	C <sub>6</sub> P <sub>4</sub>
103	99.21	18.94	0.7	0.7	C <sub>5</sub> P <sub>5</sub>
100	99.33	18.41	0.56	0.84	C <sub>4</sub> P <sub>6</sub>
60	99.46	18.55	0.42	0.98	C <sub>3</sub> P <sub>7</sub>
55	99.55	18.34	0.28	1.12	C <sub>2</sub> P <sub>8</sub>
48	99.7	17.35	0.14	1.26	C <sub>1</sub> P <sub>9</sub>



شکل ۵- میزان تخلخل در آبروژل‌های نانوفیبریل سلولزی/نانوفیبریل پروتئینی در نسبت‌های ترکیب مختلف (محاسبه میزان تخلخل با استفاده از رابطه ۲).

Figure 5. Porosity value in CP aerogels with various blend ratio (calculated from equation (2)).



شکل ۶- بررسی پایداری آبروژل‌های دوجزئی حاوی نانوالیاف سلولزی و پروتئین بعد از غوطه‌ورسازی در آب خالص (افزایش درصد پروتئین در نمونه از چپ به راست).

Figure 6. Evaluating the wet strength of CP hybrid aerogels in water (following from left to right the ratio of PNF increased).

بوده و درصد جزء دوم (کیتوسان) نیز به‌طور مشابه (درصد وزنی-وزنی در بازه ۰/۰۷ الی ۱/۱۳) متناسب با این درصد محاسبه شده است (جدول ۲). باتوجه‌به اهمیت نقش سلولز در حفظ ساختار و بدنه آبروژل، درصد نانوالیاف سلولزی به‌عنوان جزء غالب و متناسب با دو جزء دیگر تغییر می‌کند. نتایج نشر تیوفلاوین-تی از طول‌موج ۴۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر برای

همانند آبروژل‌های کامپوزیتی CP، تولید آبروژل‌های سه‌جزئی CPCs در نسبت‌های ترکیب مختلف به‌خوبی محقق گردید (شکل ۷- الف). جهت تولید آبروژل سه‌جزئی، PNF در درصدهای وزنی مشخص به‌ترکیب سوسپانسیون نانوالیاف سلولزی/ کیتوسان افزوده شد. درصد وزنی جزء اول (نانوفیبریل پروتئین) در ترکیب از ۰/۰۷ الی ۱/۱۳ درصد متغیر

حرارتی دانسیته و تخلخل نمونه‌ها ارزیابی گردید (جدول ۲). به‌طورکلی آبروزل‌های سه‌جزئی حاوی کیتوسان/نانوفیبریل سلولزی/پروتئین‌های نانوفیبریل دارای چگالی ( $17/23 \text{ mg.cm}^{-3}$ ) و تخلخل (۹۸/۶۷ درصد) بسیار مناسبی هستند که این امر بیان‌کننده سبکی و تخلخل زیاد این نمونه‌ها است.

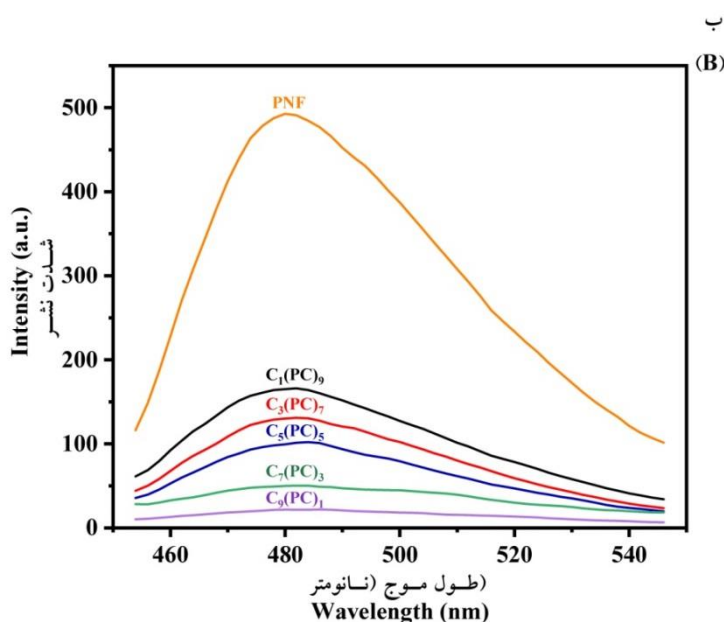
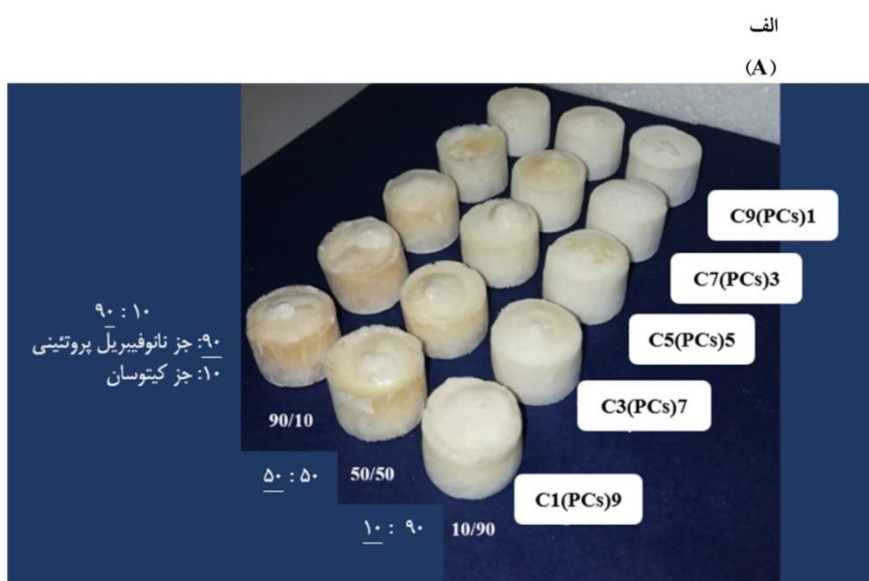
همه نمونه‌ها در نسبت‌های مختلف (شکل ۷-ب)، نشان‌دهنده حضور فیبریل‌های پروتئینی در ترکیب است. همان‌طور که در نتایج ترکیب دوجزئی نانوفیبریل سلولز و پروتئین نشان داده شد، با افزایش جزء پروتئین (از پایین به بالا) میزان فیبریل‌های موجود در ترکیب افزایش می‌یابد. پس از خشک‌شدن در دستگاه فریز درایر و انجام یک مرحله عملیات

جدول ۲- مشخصات و خواص فیزیکی آبروزل‌های کامپوزیتی CPCs.

Table 2. The details and physical properties of CPCs composite aerogels.

تخلخل Porosity (%)	چگالی Density ( $\text{mg cm}^{-3}$ )	درصد وزنی (%Wt)			نسبت ترکیب جزء نانوفیبریل پروتئینی به کیتوسان Blend ratio of PNF to Cs fractions	کد نمونه Sample code $C_n(\text{PCs})_n$ n= Value of fractions
		سلولز CNF	پروتئین PNF	کیتوسان Cs		
98.79	16.92	1.26	0.13	0.014	90:10	
98.65	18.74	1.26	0.07	0.07	50:50	$C_9(\text{PCs})_1$
98.63	18.97	1.26	0.014	0.13	10:90	
98.76	17.7	0.98	0.38	0.042	90:10	
98.62	16.62	0.98	0.21	0.21	50:50	$C_7(\text{PCs})_3$
98.72	18.66	0.98	0.043	0.38	10:90	
98.55	16.46	0.7	0.63	0.07	90:10	
98.63	19.88	0.7	0.35	0.35	50:50	$C_5(\text{PCs})_5$
98.59	19.08	0.7	0.07	0.63	10:90	
98.68	17.23	0.42	0.88	0.098	90:10	
98.0	17.16	0.42	0.49	0.49	50:50	$C_3(\text{PCs})_7$
98.69	19.14	0.42	0.098	0.88	10:90	
98.66	16.18	0.14	1.13	0.126	90:10	
98.65	16.8	0.14	0.63	0.63	50:50	$C_1(\text{PCs})_9$
98.91	15.08	0.14	0.126	1.13	10:90	





شکل ۷- آبروژل‌های نانوکامپوزیتی حاوی نانوفیبریل‌های سلولزی/نانوفیبریل پروتئینی/کیتوسان در نسبت‌های مختلف مطابق جدول ۲ (الف)، تأیید حضور PNF در سوسپانسیون ترکیبی CNF/PNF/Cs با استفاده از سنجش فلورسانس تیوفلاوین-تی (ب).

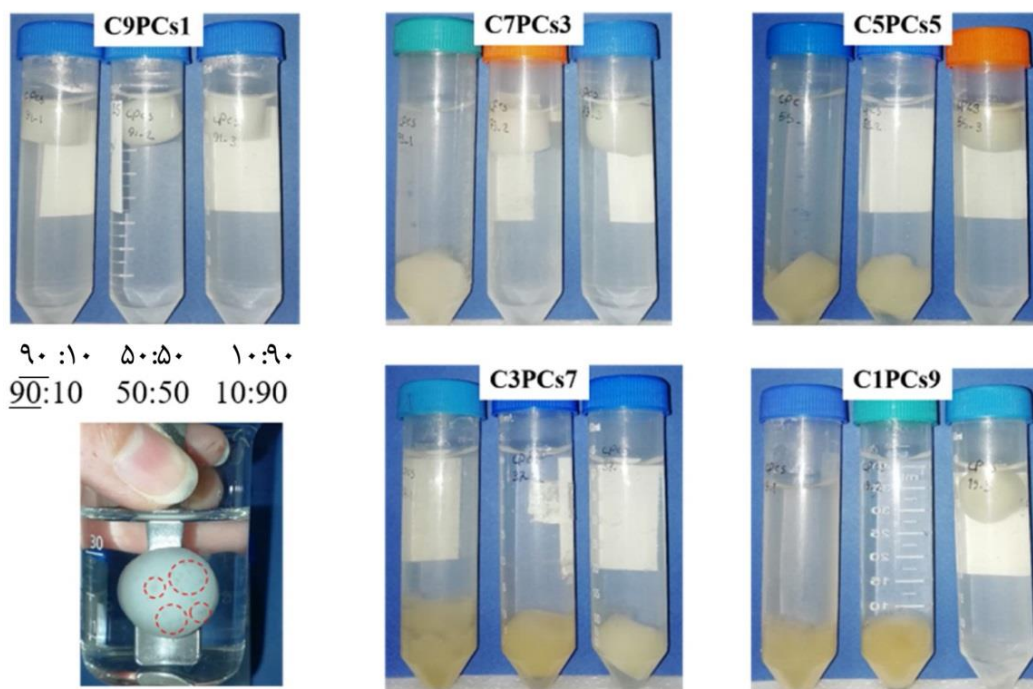
**Figure 7. CPCs nanocomposite aerogels in various blend ratio (A), Confirming the presence of PNF in the suspension of CNF/PNF/Cs with Thioflavin-T (B).**

آب و هم‌چنین مقدار زمان لازم برای غوطه‌ور شدن در داخل آب ارزیابی گردید. نتایج این آزمون در شکل ۸ نشان داده شده است. همه آبروژل‌های CPCs که دارای درصد وزنی ۱/۴ هستند، با نانوالیاف سلولزی ترکیب شده‌اند. به‌طورکلی با کاهش جزء سلولزی و افزایش

در زمینه استفاده از آبروژل به‌عنوان جاذب، اولین ویژگی دارای اهمیت حفظ ثبات ابعادی و پایداری آن در آب است. بدین‌منظور همه نمونه‌های آبروژلی با وزن حدودی ۷۰ mg در داخل فالكون‌های حاوی ۴۵ mg آب مقطر غوطه‌ور شد و نحوه پایداری در

درصد ۱۰:۹۰ (مطابق شکل ۸) نیز همانند نمونه‌های حاوی مقادیر برابر کیتوسان و پروتئین، از استحکام مطلوبی در آب برخوردارند. نکته مهم حاصل از ارزیابی نمونه‌ها در آب معلق ماندن بیش‌تر نمونه‌ها بر روی سطح آب است که این امر به دلیل تخلخل بسیار زیاد آیروزل‌ها و حبس هوا در داخل کانال‌های این منافذ است. به‌گونه‌ای که به‌محض غوطه‌وری، حباب‌های اکسیژن از داخل نمونه خارج می‌گردد. این مورد به‌طور گویا با مشخص کردن محدوده دایره‌ای قرمز رنگ در شکل ۸ نشان داده شده است.

جزء پروتئین تا ۹۰ درصد استحکام در حالت تر کاهش می‌یابد و امکان متلاشی شدن نمونه وجود دارد (همه نمونه‌ها با نسبت ۱۰:۹۰ موجود در فالكون). لازم به ذکر است آیروزل‌های حاوی درصد برابر کیتوسان و پروتئین مقاومت بسیار خوبی در آب دارند (همه نمونه‌ها در شکل ۸ با نسبت ۵۰:۵۰ موجود در فالكون). این گروه از آیروزل‌ها در کم‌تر از ۷ ثانیه در آب غوطه‌ور می‌شوند. جالب‌توجه آن‌که، با افزایش جزء کیتوسان در ترکیب تا حدود ۹۰ درصد استحکام نمونه تا حدود مطلوبی حفظ گردید و آیروزل‌ها با

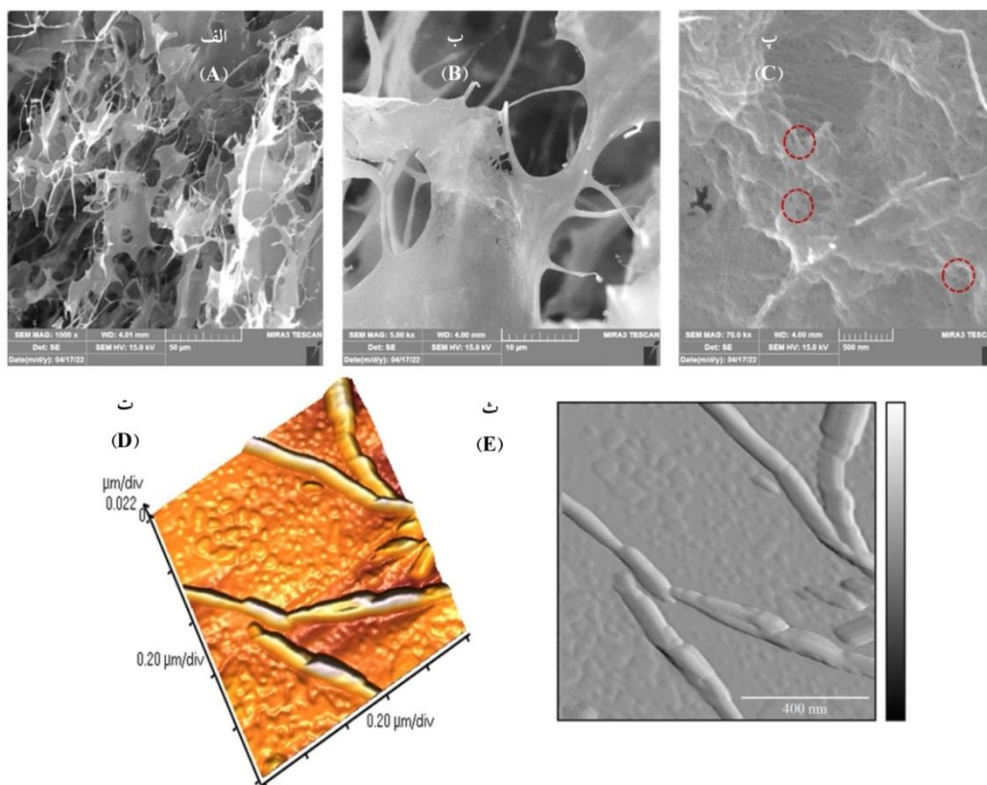


شکل ۸- ارزیابی پایداری نمونه آیروزل‌های CPCs حاوی نانو فیبریل پروتئینی: کیتوسان در درصدهای مختلف (۱۰:۹۰، ۵۰:۵۰، ۹۰:۱۰) در آب (خروج حباب اکسیژن در تصویر حاشیه سمت چپ - پایین نشان داده شده است).

**Figure 8. Evaluating the stability of CPCs aerogels composing of various protein nanofibrils to chitosan content (90:10, 50:50, 10:90) in water, (releasing of oxygen from the aerogel sample is presented in the left corner image).**

استحکام بسیار زیادی برخوردار است. در واقع، در آبروژل و  $C_1(PCS)$  سهم نانوفیبریل‌های سلولزی از این ترکیب تنها ۱۰ درصد بوده و در مقابل سهم عمده ترکیب متعلق به دو نسبت برابر کیتوسان و نانوفیبریل پروتئین (با سهم هرکدام ۴۵ درصد) می‌باشد. دو آبروژل کیتوسان و نانوفیبریل پروتئین به‌طور جداگانه بسیار ترد و شکننده بوده و ساختار یکپارچه‌ای از آبروژل آن‌ها حاصل نمی‌شود (۲۷، ۳۰، ۳۱)؛ اما با افزودن مقدار جزئی نانوفیبریل‌های سلولزی به ترکیب علاوه بر رفع این مشکل، ساختاری سه‌بعدی، یکپارچه و بسیار متخلخل حاصل می‌شود. به‌عبارت دیگر نانوفیبریل‌های سلولزی همانند داربستی صفحات ترکیبی کیتوسان، نانوفیبریل پروتئین و حتی خود فیبریل‌های سلولزی را به‌صورت یکپارچه و بهم‌پیوسته حفظ می‌نمایند. با توجه به شکل (۹-الف)، حفرات و منافذ موجود در ساختار این آبروژل کامپوزیتی کاملاً نمایان است. جهت ارزیابی دقیق‌تر، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه در بزرگنمایی بیش‌تر تهیه گردید و نتایج در شکل (۹-ب) آورده شد. در این بزرگنمایی به دلیل یکپارچگی ساختار امکان تشخیص و تفکیک اجزا از یکدیگر به‌طور دقیق امکان‌پذیر نیست و برای ارزیابی دقیق‌تر، نانوفیبریل‌های پروتئینی با میکروسکوپی نیروی اتمی ارزیابی شدند. با توجه به تصاویر (شکل ۹-ت و ث) متوسط قطر نانوفیبریل‌های پروتئینی  $9/8 \pm 61/24$  است. همان‌طور که مشخص است (شکل ۹-ب و پ)، سه جز به خوبی و با سازگاری با یکدیگر ترکیب شده‌اند. علاوه بر این با توجه به این شکل (شکل ۹-پ) (نقاط مشخص شده) وجود حفرات مزو در صفحات متشکل از نانوفیبریل‌ها تأییدی بر تخلخل بسیار زیاد آبروژل‌های کامپوزیتی تولید شده است.

ساختار بسیار متخلخل آبروژل و  $C_1(PCS)$  (شکل ۹-الف) متشکل از صفحات فیبریل‌های سلولزی، کیتوسان و نانوفیبریل‌های پروتئینی است که پس از فرایند خشک‌شدن در دستگاه خشک‌کن انجمادی با برقراری پیوندهای یونی و هیدروژنی میان اجزا حاصل شده است. در حقیقت رشد بلورهای یخ در حین فرایند پیش-انجماد تأثیر به‌سزایی در خودآرایی فیبریل‌ها دارد. بلورهای یخ هم‌زمان با رشد خود فیبریل‌های منفرد را با فشار در فضای بین بلورها محبوس می‌سازند. با انجام فرایند تصعید در خشک‌کن انجمادی حفره‌ها جایگزین بلورهای یخ می‌شود و تجمعات فیبریل‌ها در حد فواصل این حفره‌ها بر جای می‌ماند. به همین دلیل است که تجمعات فیبریل‌های سلولزی دارای ساختار ورقه‌ای شکل هستند. از ویژگی بارز این آبروژل، وجود منافذ اصلی و فرعی در ساختار آن است. منافذ اصلی عمدتاً به دلیل انجام عملیات پیش-انجماد حاصل می‌شود. با خروج بلورهای یخ در طی فرایند تصعید، فضای میان‌تهی در میان صفحات حاصل می‌شود که اغلب به‌صورت منافذ بهم‌پیوسته بوده و دارای ابعادی در محدوده ماکرو است (۳، ۱۸، ۲۹)؛ اما منافذ فرعی اغلب در میان نانوفیبریل‌ها و بر روی صفحات حاوی فیبریل‌ها است و ابعادی در محدوده مزو دارد. منافذ اصلی و فرعی نقش به‌سزایی در افزایش کارایی آبروژل به‌عنوان جاذب دارند. نکته دارای اهمیت در آبروژل  $CPCs$  بهم‌پیوستگی ساختار آن است. آبروژل‌های  $CPCs$  علاوه بر مزیت تخلخل و منافذ بسیار زیاد، ساختار سه‌بعدی بهم‌پیوسته و درهم‌تنیده‌ای دارند. با توجه به نتایج تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی می‌توان به نقش بارز نانوفیبریل‌های سلولزی در ساختار پی‌برد. نانوفیبریل‌های طویل سلولزی، ساختار سه‌بعدی و درهم‌تنیده‌ای را ایجاد می‌کنند که از

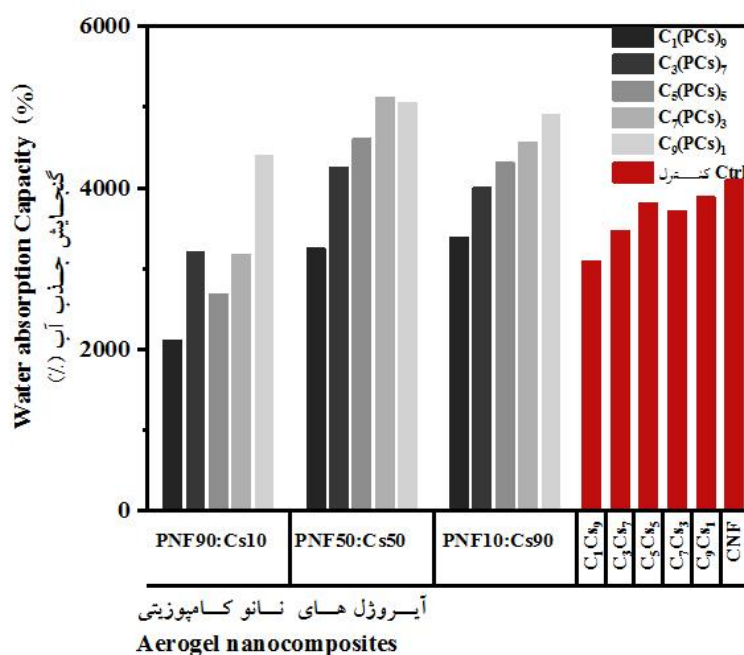


شکل ۹- تصاویر FESEM از نمونه‌های و (PCs) C1 در دو بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰X (الف)، ۵۰۰۰X (ب)، ۷۰ Kx (پ) و تصاویر AFM از نانوفیبریل‌های پروتئینی (ت) و (ث).

Figure 9. FESEM images of CPCs aerogels in various magnification of 1000X (A), 5000X (B), and 70 kX (C), and AFM images of PNF (E, F).

جذب آب یا ترشوندگی آبروژل‌های کامپوزیتی از پارامترهای بسیار مهم و اساسی آن به‌عنوان جاذب است. بدین‌منظور همه نمونه‌های تولیدشده در نسبت‌های ترکیب مختلف بیش از ۱۲ ساعت در داخل آب غوطه‌ور شده و وزن نهایی آن بر روی ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری گردید. با در نظر داشتن وزن خشک آبروژل، مقدار آب جذب‌شده و محبوس در داخل آبروژل محاسبه شد. با توجه به نمودار آبروژل‌های حاوی مقادیر برابر جزء سلولز و ترکیب کیتوسان/پروتئین در مقایسه با دو گروه دیگر، از جذب آب بسیار بالایی برخوردارند. بیش‌ترین

جذب آب (۵۱۲۳ درصد) و کم‌ترین (۲۱۱۲ درصد) مقدار جذب آب به‌ترتیب به آبروژل‌های  $C_7(PCs)_3$  50:50، حاوی درصد اجزای سلولز ۰/۹۸ درصد، پروتئین ۰/۲۱ درصد و کیتوسان ۰/۲۱ درصد و نمونه  $C_1(PCs)$  90:10 حاوی درصد اجزای سلولز ۰/۱۴ درصد، پروتئین ۱/۱۳ درصد و کیتوسان ۰/۱۲۶ درصد مربوط می‌شود. در نتیجه با ارزیابی نتایج پایداری و جذب آب آبروژل‌های کامپوزیتی، می‌توان آبروژل‌های حاوی ۵۰ درصد سلولز و نسبت‌های برابر کیتوسان/ نانوفیبریل‌های پروتئینی را به‌عنوان نمونه‌های مطلوب در نظر گرفت (شکل ۱۰).



شکل ۱۰- تعیین گنجایش جذب آب (ترشدگی) آبروژل‌های نانوکامپوزیتی بر اساس در صد هر جزء با غوطه‌ورسازی کامپوزیت‌ها به مدت ۱۲ ساعت در آب مقطر (حاصل از رابطه ۱).

Figure 10. The absorption capacity of aerogel composites after soaking in distilled water for 12 hours: results were calculated through equation (1).

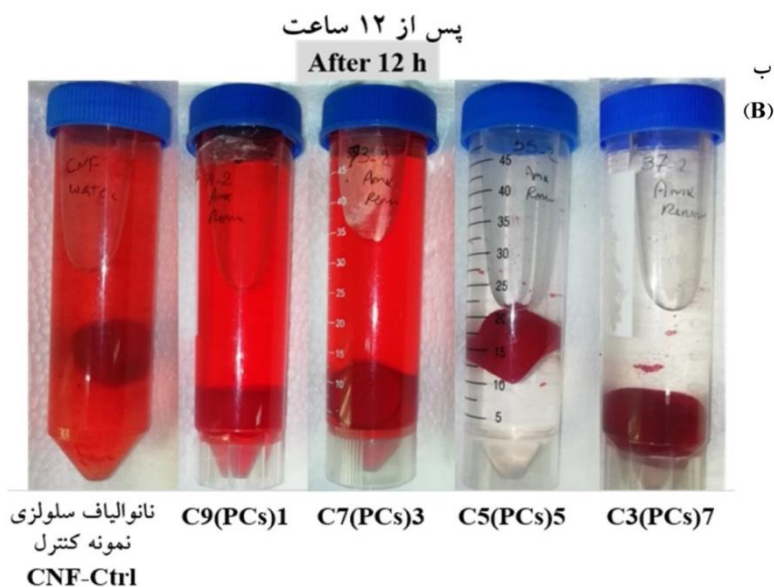
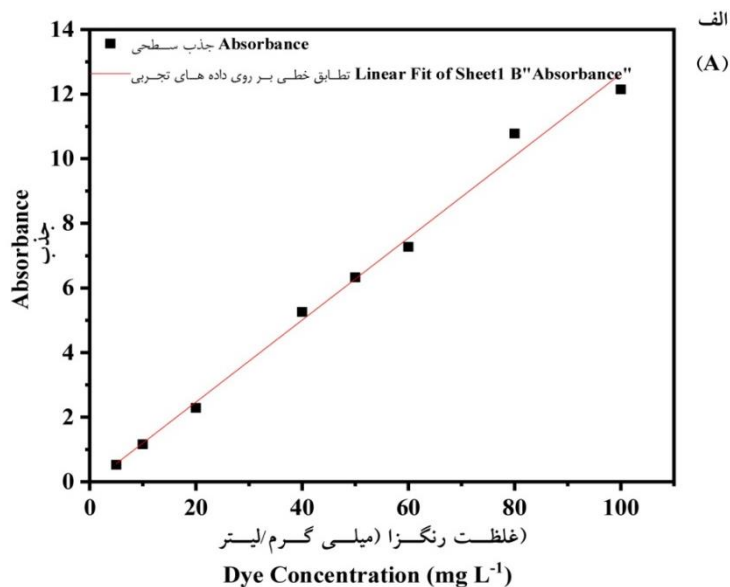
می‌توان دریافت، با کاهش درصد نانوالیاف سلولزی و افزایش دو جزء PNF و کیتوسان به‌طور هم‌زمان و با درصد یکسان در ترکیب، جذب رنگ سریع‌تر صورت می‌گیرد (شکل ۱۱-ب). در مقایسه با سایر آبروژل‌های کامپوزیتی، نمونه  $C_5(PCS)_5$  و  $C_3(PCS)_7$  حاوی درصد‌های یکسان کیتوسان و PNF به‌سرعت، CR را در طی ۱۲ ساعت اولیه جذب می‌نمایند (شکل ۱۱-ب). نتایج ارزیابی نمونه‌های مختلف در جذب CR نشان می‌دهد، همه آبروژل‌های سه‌جزئی حاوی PNF با گنجایش جذب حداکثر  $70 \text{ mg g}^{-1}$  و بازدهی ۱۰۰ درصد رنگزای کنگو رد را جذب نموده‌اند و مقدار CR جذب‌شده بر این جاذب‌ها از مقادیر جذب تعادلی برای نمونه‌های کنترل آبروژل سلولزی ( $53 \text{ mg g}^{-1}$ ) و آبروژل سلولز/کیتوسان ( $58 \text{ mg g}^{-1}$ ) بیش‌تر است. در مقایسه با آبروژل سلولزی، آبروژل کامپوزیتی دوجزئی سلولز/کیتوسان از قابلیت بسیار

جهت بررسی عملکرد آبروژل‌ها در حذف رنگزای CR، ابتدا منحنی استاندارد CR از طریق اندازه‌گیری جذب غلظت‌های مختلف CR ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (۵-۱۰۰) با استفاده از دستگاه خوانش صفحه‌ای اندازه‌گیری شد. با رسم مقدار جذب حاصل از دستگاه بر اساس غلظت و انطباق خط بر روی داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار<sup>۱</sup>، معادله‌ای خطی با دقت بالا حاصل گردید (شکل ۱۱-الف). به‌منظور بررسی جذب CR، نمونه آبروژل‌ها حاوی نسبت‌های مختلف نانوالیاف سلولزی/کیتوسان/نانوفیبریل‌های پروتئینی با وزن تقریبی  $2/5 \pm 63 \text{ mg}$  در  $45 \text{ ml}$  رنگزای کنگورد با غلظت  $100 \text{ mg L}^{-1}$  بر روی همزن برقی قرار داده شد. پس از مدت‌زمان مشخص میزان جذب در طول موج ماکزیمم جذب ( $497 \text{ nm}$ ) با در دستگاه الیزا ارزیابی گردید. با مشاهده بصری نتایج

1- Origin

برقراری پیوند شیمیایی بستر مناسبی را برای جذب CR فراهم می‌کنند (۲۳، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵).

خوبی در جذب CR آنیونیک برخوردار هستند. این امر به دلیل فراوانی گروه‌های عاملی در ساختار آیروزل دوجزئی است. گروه‌های آمین و هیدروکسیل با



شکل ۱۱- منحنی استاندارد جذب/غلظت CR (الف)، بررسی میزان جذب رنگزای کنگورد با غلظت  $100 \text{ mg L}^{-1}$  توسط آیروزل‌های کامپوزیتی حاوی نانوالیاف سلولزی در درصدهای مختلف پس از ۱۲ ساعت (ب): میزان جذب رنگزا از چپ به راست تا حذف کامل افزایش یافت (نسبت درصد ترکیب کیتوسان و PNF در آیروزل‌های این تصویر با یکدیگر برابر است).

Figure 11. Calibration curve of Congo red dye (A), Adsorption of  $100 \text{ mg L}^{-1}$  CR dye on composite aerogels containing cellulose nanofibers with various ratio after 12 hours (B): from left to right the dye adsorption increased and accomplished completely (The ratio of Cs and PNF in all aerogel composites are equal).

لیتر حاصل می‌شود (شکل ۱۲- الف). نمای داخلی آبروژل‌های سه‌جزئی پس از جذب CR با غلظت  $400 \text{ mg L}^{-1}$  در شکل ۱۲- ب آورده شده است. همان‌طور که مشخص است، در غلظت‌های زیاد، CR به عمق داخلی آبروژل کامپوزیتی نفوذ می‌کند و تمام سطوح داخلی و حفرات را برای جذب هرچه بیشتر اشغال می‌کند؛ اما نمای داخلی نمونه  $\text{C}_1(\text{PCs})_9$  با نسبت برابر کیتوسان و PNF نشان می‌دهد، آبروژل‌های کامپوزیتی CPCs می‌توانند هم‌چنان از ظرفیت جذب بیشتری برای حذف CR در غلظت‌های بیش از  $400 \text{ mg L}^{-1}$  برخوردار باشند.

به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر عملکرد آبروژل‌های کامپوزیتی در جذب CR، غلظت CR تا مقدار ۴ برابر افزایش ( $400 \text{ mg L}^{-1}$ ) یافت. نمونه‌ها با دستورالعملی مشابه قبل، به عبارتی با وزن تقریبی یکسان به ۴۵ میلی‌لیتر CR (غلظت  $400 \text{ mg L}^{-1}$ ) افزوده و ۷۲ ساعت بر روی همزن برقی (۲۰۰ دور در دقیقه) قرار داده شدند. همان‌طور که در تصاویر شکل ۱۲ گویا است، چنان‌چه درصد جزء نانوفیبریل سلولزی در ترکیب آبروژل کاهش یابد و درصد دو جزء نانوفیبریل پروتئین و کیتوسان به‌طور یکسان افزایش یابد، بیش‌ترین ظرفیت جذب و حداکثر مقدار بازدهی برای CR کنگو رد با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر



شکل ۱۲- جذب CR با غلظت (۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) توسط آبروژل: پایداری آبروژل‌های سه‌جزئی و تفاوت جذب رنگ (الف)، ارزیابی نمای داخلی آبروژل سه‌جزئی CPCs پس از جذب CR (ب).

Figure 12. Adsorption of CR with  $400 \text{ mg L}^{-1}$  on CPCs aerogels: Stability of CPCs aerogels and the differences in dye adsorption (A), The inner view of samples after CR dye adsorption reveal (B).

نانوسلولز/نانوفیبریلپروتئینی ساخته‌شده، با وجود ساختار به‌هم‌پیوسته در محیط آبی، به‌سرعت گسسته شده و ناپایدار است؛ اما حضور کیتوسان به نحو قابل‌توجهی باعث پایدارسازی کامپوزیت شده است.

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد می‌توان در شرایط مناسبی نمونه‌های استخراجی پروتئین را به شکل نانوفیبریلی آن تبدیل کرد. آبروژل دوجزئی

می‌نمایند. همه آبروژل‌های سه‌جزئی حاوی PNF با گنجایش جذب حداکثر ۷۰ mg/g و بازدهی ۱۰۰ درصد رنگزای کنگو رد را جذب نموده‌اند.

### تقدیر و تشکر

طرح حاضر با حمایت مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی وزارت علوم تحقیقات و فناوری (ICRP برنامه همکاری مشترک ایران و ۲۹ کشور جهان)، به شماره طرح ۹۱۸، در طی همکاری مشترک اعضا از پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری با جناب آقای دکتر دنیل اتزن از مرکز بین‌رشته‌ای علوم نانو، دانشگاه آرهوس از دانمارک (Daniel Otzen, Interdisciplinary Nanoscience Center, Aarhus University, Aarhus, Denmark) انجام پذیرفت.

افزودن مواد پرکننده طبیعی مانند نانوالیاف سلولزی، تأثیر به‌سزایی در تقویت خواص مکانیکی آبروژل کیتوسان/نانوفیبریل پروتئینی دارد. ساختار بسیار متخلخل آبروژل سه‌جزئی متشکل از صفحات فیبریل‌های سلولزی، کیتوسان و نانوفیبریل‌های پروتئینی است که پس از فرایند خشک‌شدن در دستگاه خشک‌کن انجمادی با برقراری پیوندهای یونی و هیدروژنی میان اجزا حاصل شده است. با ارزیابی نتایج پایداری و جذب آب آبروژل‌های کامپوزیتی به جزئی می‌توان آبروژل‌های حاوی ۵۰ درصد سلولز و نسبت‌های برابر کیتوسان/نانوفیبریل‌های پروتئینی را به‌عنوان نمونه‌های مطلوب و پایدار در نظر گرفت. آبروژل‌های نانو کامپوزیتی، نمونه  $C_5(PCs)_5$  و  $C_3(PCs)_7$  حاوی درصد‌های یکسان کیتوسان و PNF به‌سرعت CR را در طی ۱۲ ساعت اولیه جذب

### منابع

- Ganesamoorthy, R., Vadivel, V.K., Kumar, R., Kushwaha, O.S., and Mamane, H. 2021. Aerogels for water treatment: A review. *J. of Cleaner Production*. 329: 129713.
- Kistler, S.S., Fischer, E.A., and Freeman, I.R. 1943. Sorption and surface area in silica aerogel. *J. of American Chemical Society*. 65: 10. 1909-1919.
- Sehaqui, H., Zhou, Q., and Berglund, L.A. 2011. High-porosity aerogels of high specific surface area prepared from nanofibrillated cellulose (NFC). *Composites Science and Technology*. 71: 13. 1593-1599.
- Sehaqui, H. 2013. Lightweight foams and aerogels of biobased nanofibers. *Handb of Green Materials*. pp. 121-137.
- Jiang, F., and Hsieh, Y.L. 2014. Amphiphilic superabsorbent cellulose nanofibril aerogels. *J. of Materials Chemistry A*. 2: 18. 6337-6342.
- Peydayesh, M., and Mezzenga, R. 2021. Protein nanofibrils for next generation sustainable water purification. *Nature Communications*. 12: 1. 3248.
- Ablouh, E.H., Kassab, Z., Semlali Aouragh Hassani, F., El Achaby, M., and Sehaqui, H. 2022. Phosphorylated cellulose paper as highly efficient adsorbent for cadmium heavy metal ion removal in aqueous solutions. *RSC Advances*. 12: 2. 1084-1094.
- Choudhury, R.R., Sahoo, S.K., and Gohil, J.M. 2020. Potential of bioinspired cellulose nanomaterials and nanocomposite membranes thereof for water treatment and fuel cell applications. *Cellulose*. 27: 12. 6719-6746.
- Abdel-Halim, E.S. 2014. Chemical modification of cellulose extracted from sugarcane bagasse: Preparation of hydroxyethyl cellulose. *Arabian J. of Chemistry*. 7: 3. 362-371.
- Abd El-Hack, M.E., El-Saadony, M.T., Shafi, M.E., Zabermaawi, N.M., Arif, M., Batiha, G.E., Khafaga, A.F., Abd El-Hakim, Y.M., and Al-Sagheer, A.A. 2020. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International J. of Biological Macromolecules*. 164: 2726-2744.



11. Arcari, M., Axelrod, R., Adamcik, J., Handschin, S., Sánchez-Ferrer, A., Mezzenga, R., and Nyström, G. 2020. Structure-property relationships of cellulose nanofibril hydro-and aerogels and their building blocks. *Nanoscale*. 12: 21. 11638-11646.
12. Jung, J., Savin, G., Pouzot, M., and Schmitt, C. 2008. Structure of heat-induced - lactoglobulin aggregates and their complexes with sodium-dodecyl sulfate. *Biomacromolecules*. 9: 9. 2477-2486.
13. Ke, P.C., Zhou, R., Serpell, L.C., Riek, R., Knowles, T.P.J., Lashuel, H.A., Gazit, E., Hamley, I.W., Davis, T.P., Fändrich, M., Otzen, D.E., Chapman, M.R., Dobson, C.M., Eisenberg, D.S., and Mezzenga, R. 2020. Half a century of amyloids: Past, present and future. *Chemical Society Reviews*. 49: 15. 5473-5509.
14. Knowles, T.P.J., and Mezzenga, R. 2016. Amyloid fibrils as building blocks for natural and artificial functional materials. *Advanced Materials*. 28: 31. 6546-6561.
15. Fischer, F., Rigacci, A., Pirard, R., Berthon-Fabry, S., and Achard, P. 2006. Cellulose-based aerogels. *Polymer*. 47: 22. 7636-7645.
16. Korhonen, J.T., Kettunen, M., Ras, R.H.A., and Ikkala, O. 2011. Hydrophobic nanocellulose aerogels as floating, sustainable, reusable, and recyclable oil absorbents. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 3: 6. 1813-1816.
17. Nguyen, S.T., Feng, J., Le, N.T., Le, A.T.T., Hoang, N., Tan, V.B.C., and Duong, H.M. 2013. Cellulose aerogel from paper waste for crude oil spill cleaning. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 52: 51. 18386-18391.
18. Feng, J., Nguyen, S.T., Fan, Z., and Duong, H.M. 2015. Advanced fabrication and oil absorption properties of super-hydrophobic recycled cellulose aerogels. *Chemical Engineering J*. 15: 270. 168-175.
19. Li, Z., Shao, L., Ruan, Z., Hu, W., Lu, L., and Chen, Y. 2018. Converting untreated waste office paper and chitosan into aerogel adsorbent for the removal of heavy metal ions. *Carbohydrate Polymers*. 193: 221-227.
20. Li, Z., Shao, L., Hu, W., Zheng, T., Lu, L., Cao, Y., and Chen, Y. 2018. Excellent reusable chitosan/cellulose aerogel as an oil and organic solvent absorbent. *Carbohydrate Polymers*. 191: 183-190.
21. Tu, H., Yu, Y., Chen, J., Shi, X., Zhou, J., Deng, H., and Du, Y. 2017. Highly cost-effective and high-strength hydrogels as dye adsorbents from natural polymers: chitosan and cellulose. *Polymer Chemistry*. 8: 19. 2913-2921.
22. Leung, W.H., So, P.K., Wong, W.T., Lo, W.H., and Chan, P.H. 2016. Ethylenediamine-modified amyloid fibrils of hen lysozyme with stronger adsorption capacity as rapid nano-biosorbents for removal of chromium (vi) ions. *RSC Advances*. 6: 108. 106837-106846.
23. Morshedi, D., Mohammadi, Z., Boojar, M.M.A., and Aliakbari, F. 2013. Using protein nanofibrils to remove azo dyes from aqueous solution by the coagulation process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 112. 245-254.
24. Peydayesh, M., Suter, M.K., Bolisetty, S., Boulos, S., Handschin, S., Nyström, L., and Mezzenga, R. 2020. Amyloid fibrils aerogel for sustainable removal of organic contaminants from water. *Advanced Materials*. 32: 12. 1-6.
25. Nystrom, G., Fong, W.K., and Mezzenga, R. 2017. Ice-templated and cross-linked amyloid fibril aerogel scaffolds for cell growth. *Biomacromolecules*. 18: 9. 2858-2865.
26. Biancalana, M., and Koide, S. 2010. Molecular mechanism of thioflavin-T binding to amyloid fibrils. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. 1804: 7. 1405-1412.
27. Nyström, G., Fong, W., and Mezzenga, R. 2017. Ice-templated and cross-linked amyloid fibril aerogel scaffolds for cell growth. *Biomacromolecules*. 18: 9. 2858-2865.
28. Uselli, M., Germerdonk, T., Cao, Y., Peydayesh, M., Bagnani, M., Handschin,

- S., Nyström, G., and Mezzenga, R. 2021. Polysaccharide-reinforced amyloid fibril hydrogels and aerogels. *Nanoscale*. 13: 29. 12534-12545.
29. Dilamian, M., and Noroozi, B. 2021. Rice straw agri-waste for water pollutant adsorption: Relevant mesoporous super hydrophobic cellulose aerogel. *Carbohydrate Polymers*. 251: 117016.
30. Peydayesh, M., Chen, X., Vogt, J., Donat, F., Müller, C.R., and Mezzenga, R. 2022. Amyloid fibril-UiO-66-NH<sub>2</sub> aerogels for environmental remediation. *Chemical Communications*. 58: 5104-5107.
31. Rong, N., Chen, C., Ouyang, K., Zhang, K., Wang, X., and Xu, Z. 2021. Adsorption characteristics of directional cellulose nanofiber/ chitosan/ montmorillonite aerogel as adsorbent for wastewater treatment. *Separation and Purification Technology*. 274: 119120.
32. Rahimi Aqdam, S., Otzen, D.E., Mahmoodi, N.M., and Morshedi, D. 2021. Adsorption of azo dyes by a novel bio-nanocomposite based on whey protein nanofibrils and nano-clay: equilibrium isotherm and kinetic modeling. *J. of Colloid and Interface Science*. 602: 490-503.
33. Mohammadreza Miraboutalebi, S., Peydayesh, M., Bagheri, M., and Mohammadi, T. 2020. Polyacrylonitrile/ $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hybrid photocatalytic composite adsorbents for enhanced dye removal. *Chemical Engineering Technology*. 43: 6. 1214-1223.
34. Jia, X., Peydayesh, M., Huang, Q., and Mezzenga, R. 2022. Amyloid fibril templated MOF aerogels for water purification. *Small*. 18: 4. 2105502.
35. Yang, G.H., Bao, D.D., Zhang, D.Q., Wang, C., Qu, L.L., and Li, H.T. 2018. Removal of antibiotics from water with an all-carbon 3D nanofiltration membrane. *Nanoscale Research Letters*. 13: 1. 1-8.