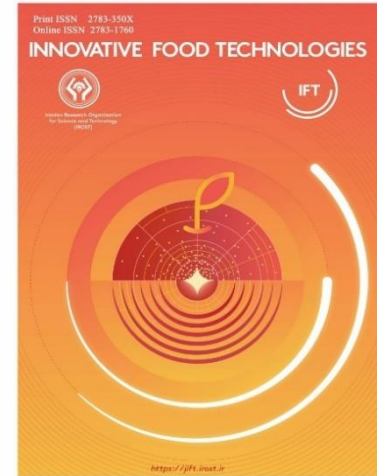


Evaluation of the effects of *Artemisia annua* L. essential oil on the physicochemical, structural, and antimicrobial properties of edible film based on fish gelatin

Maryam allahyari¹, Seyed Fakhreddin Hosseini^{2*}, Maria Carmen Gómez-Guillén³

1. M.Sc. Graduate, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2. Associate Professor, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
3. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN, CSIC), Calle José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, Spain



Received: 3 February 2025

Revised: 5 March 2025

Accepted: 18 March 2025

Please cite this article as Maryam allahyari, Seyed Fakhreddin Hosseini, Maria Carmen Gómez-Guillén., Evaluation of the effects of *Artemisia annua* L. essential oil on the physicochemical, structural, and antimicrobial properties of edible film based on fish gelatin., *Innovative Food Technologies* (2025).

Doi: <https://doi.org/10.22104/ift.2025.7390.2200>

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2025 The Author(s). Published by iroost.org.

* Corresponding author: hosseinisf@modares.ac.ir.

Evaluation of the effects of *Artemisia annua* L. essential oil on the physicochemical, structural, and antimicrobial properties of edible film based on fish gelatin

Maryam allahyari¹, Seyed Fakhreddin Hosseini^{2*}, Maria Carmen Gómez-Guillén³

1. M.Sc. Graduate, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

2. Associate Professor, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN, CSIC), Calle José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, Spain

Abstract

In the present study, a novel antimicrobial film based on fish gelatin (FG)/carboxymethylcellulose (CMC)/Persian gum (PG) containing *Artemisia annua* (AEO) essential oil at three different levels (0.5, 1 and 1.5%, w/v) was fabricated by casting method and the physicochemical, structural and antimicrobial properties of the resulting films were evaluated. The results showed that with increasing AEO content, the WVP of the films, which was in the range of 0.746-4.51 g mm/kPa h m², and the solubility (FS) of the films increased, while the water absorption rate (SR) decreased. The results of the mechanical properties showed that the incorporation of AEO significantly increased the flexibility (EAB) of the films ($P < 0.05$) and decreased the tensile strength (TS). FT-IR spectroscopy revealed the formation of intermolecular hydrogen bonds between the functional groups of the polymer components and AEO, which in turn led to improved thermal stability and mechanical properties of the ternary films. X-ray diffraction (XRD) analysis also showed miscibility between the film components. Scanning electron microscopy (SEM) imaging confirmed that the ternary films containing AEO had a continuous, smooth, and homogeneous microstructure, indicating compatibility between the components. In addition, the ternary films containing the highest concentration of AEO (1.5%) showed acceptable antibacterial activity against the gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* and the gram-negative bacteria *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli*. The findings of this study indicate that ternary FG/CMC/PG films containing AEO can be used as promising packaging materials for food products.

Keywords: Antimicrobial films; Fish gelatin; Carboxymethyl cellulose; Persian gum; *Artemisia annua* L. essential oil.

* Corresponding author: hosseinisf@modares.ac.ir.

مقاله پژوهشی

ارزیابی اثرات اسانس درمنه خزری (*Artemisia annua* L) بر خواص فیزیکومکانیکی، ساختاری و ضد میکروبی فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین ماهی

مریم اله یاری، سید فخرالدین حسینی^{۲*}، ماریا کارمن گومز گیلن^۲

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲. دانشیار، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۴- استاد، موسسه علوم و تکنولوژی مواد غذایی و تغذیه (ICTAN-CSIC)، مادرید، اسپانیا

(تاریخ ارسال: ۱۴۰۳/۱۱/۱۵، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۸)

چکیده

در مطالعه حاضر، فیلم ضد میکروبی جدید بر پایه ژلاتین ماهی (FG)/کربوکسی متیل سلولز (CMC)/صمغ فارسی (PG) حاوی اسانس درمنه خزری (AEO) در سه سطح مختلف (۰/۵، ۱ و ۱/۵٪، وزنی/حجمی) از طریق روش قالب گیری ساخته شد و ویژگی های فیزیکومکانیکی، ساختاری و ضد میکروبی فیلم های حاصله مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزایش محتوای AEO، WVP فیلم ها که در محدوده ۰/۷۴۶-۴/۵۱ g mm/kPa h m² بود و نیز حلالیت (FS) فیلم ها افزایش یافت، در حالی که میزان جذب آب (SR) کاهش یافت. نتایج سنجش ویژگی های مکانیکی نشان داد که ادغام AEO باعث افزایش معنی دار انعطاف پذیری (EAB) فیلم ها (P<۰/۰۵) و کاهش استحکام کششی (TS) شد. طیف سنجی FT-IR تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی را بین گروه های عاملی اجزای پلیمری و AEO نشان داد که به نوبه خود منجر به بهبود پایداری حرارتی و خواص مکانیکی فیلم های سه جزئی گردید. تجزیه و تحلیل پراش اشعه ایکس (XRD) نیز امتزاج پذیری بین اجزای تشکیل دهنده فیلم را نشان داد. تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مؤید آن بود که فیلم های سه جزئی حاوی AEO دارای ریزساختار پیوسته، صاف و همگن می باشند که نشان دهنده سازگاری بین اجزا می باشد. به علاوه، فیلم های سه جزئی حاوی بیشترین غلظت AEO (۱/۵٪) فعالیت ضد باکتریایی قابل قبولی را نسبت به باکتری های گرم مثبت / استافیلوکوکوس / اورئوس و لیستریا مونوسیتوزنز و باکتری های گرم منفی سالمونلا / انتریتیدیس و اشرشیاکلی نشان دادند. یافته های این مطالعه نشان می دهد فیلم های سه جزئی FG/CMC/PG حاوی AEO می توانند به عنوان مواد بسته بندی امیدوارکننده برای محصولات غذایی استفاده شوند.

واژه های کلیدی: فیلم های ضد میکروبی؛ ژلاتین ماهی؛ کربوکسی متیل سلولز، صمغ فارسی؛ اسانس درمنه خزری.

۱- مقدمه

اولین ارتباط مشتری با محصول از طریق بسته‌بندی است که تا حد زیادی وظیفه ارائه یک تصویر ذهنی مطلوب از کالا را بر عهده دارد [۱]. امروزه، فن‌آوری‌های جدید بسته‌بندی مواد غذایی در پاسخ به تقاضای مصرف‌کننده و گرایش‌های صنعت غذایی به سمت تولید محصولاتی تازه با افزایش ماندگاری و کیفیت کنترل‌شده در حال توسعه است [۲]. به‌علاوه، تغییرات مربوط به شیوه‌های خرده‌فروشی یا شیوه زندگی مصرف‌کنندگان، چالش‌های بزرگی را پیش روی صنعت بسته‌بندی مواد غذایی قرار داده و به‌عنوان یک نیروی محرک برای توسعه مفاهیم جدید و بهبود یافته بسته‌بندی به‌منظور افزایش زمان ماندگاری و کنترل کیفیت و سلامت مواد غذایی عمل می‌کند [۳]. بسته‌بندی فعال یکی از همان مفاهیم جدید بسته‌بندی مواد غذایی است که به‌عنوان پاسخی به تغییرات پیوسته در احتیاجات اخیر مصرف‌کنندگان و روندهای بازار مطرح شده است. بسته‌بندی فعال رویکردی نوآورانه به منظور حفظ یا افزایش ماندگاری محصولات غذایی و در عین حال تضمین کیفیت، ایمنی و یکپارچگی آنها است؛ همانطور که در مقررات اروپایی (EC) شماره ۲۰۰۹/۴۵۰ تعریف شده است، بسته‌بندی فعال شامل سیستم‌های بسته‌بندی است که با مواد غذایی به گونه‌ای تعامل می‌کنند که «عمداً اجزایی را ترکیب می‌کنند که موادی را به داخل یا از غذای بسته‌بندی شده یا محیط اطراف غذا آزاد یا جذب می‌کنند» [۴]. علاوه بر این، وجود گرایش "مصرف‌گرایانه سبز" باعث افزایش فشار مصرف‌کنندگان به صنایع جهت جایگزینی مواد ضد میکروب مصنوعی با انواع طبیعی آن (مانند عصاره‌های گیاهی و یا روغن‌های اساسی) به منظور اطمینان از ایمنی مواد غذایی شده است [۵].

روغن‌های ضروری^۱ (EOs) دسته‌ای از مواد ضد میکروب می‌باشند که "به طور کلی به عنوان ایمن شناخته شده" و توسط سازمان غذا و داروی آمریکا به رسمیت شناخته شده‌اند [۶]. گیاه درمنه از جنس *Artemisia*^۲ متعلق به خانواده *Asteraceae* بوده و دارای بیش از ۴۰۰ گونه در جهان است که ۳۴ گونه آن در ایران دارای پراکنش وسیعی است؛ این گیاه با نام‌های مختلفی شامل خارگوش، درمنه خزری (*Artemisia annua* L) و درمنه شیرین در ایران شناخته می‌شود و در نوار شمالی ایران به‌صورت گسترده‌ای رویش دارد [۷]. روغن‌های ضروری به دست آمده از اندام‌های این گیاه در صنایع غذایی، آرایشی، بهداشتی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای خواص ضد قارچی، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدتوموری می‌باشد [۸]. اهمیت عمده این گیاه ناشی از حضور ترکیب لاکتون سزکوییترین اندوپراکسید به نام آرتمیزینین^۳ است که یک ترکیب پایه برای ساخت مواد دارویی است [۸]. افزودنی‌های طبیعی مانند اسانس‌ها را می‌توان در بسته‌بندی فعال (به صورت فیلم و پوشش) جهت بهبود خواص فیزیکیومکانیکی و نیز ایجاد خاصیت ضد میکروبی استفاده کرد [۴]. برای مثال در مطالعه حسینی و همکاران [۵]، اسانس سینامالدهید جهت بهبود ویژگی‌های فیزیکی و القای خواص ضد میکروبی به فیلم خوراکی بر پایه کیتوزان اضافه گردید. نتایج مؤید آن بود که افزودن اسانس باعث کاهش میزان حلالیت و جذب آب فیلم‌ها به ترتیب در حدود ۴۷ و ۸۷٪ می‌گردد. به‌علاوه، فیلم خوراکی حاوی ۱/۱۶٪ (وزنی/حجمی) سینامالدهید به طور موثری از رشد میکروارگانیسم‌های ویژه فساد مواد غذایی جلوگیری نموده و هاله بازداری در حدود ۱۵/۴ تا ۱۹ میلی‌متر ایجاد کرد.

¹ Essential oils

² Generally Recognized as Safe

³ Artemisia

از سوی دیگر، امروزه افزایش آگاهی‌های زیست‌محیطی در خصوص اثرات مخرب مواد بسته‌بندی پلاستیکی و نیز تلاش‌ها جهت کاهش حجم ضایعات سبب افزایش استفاده از مواد بسته‌بندی برپایه زیست‌پلیمرهای مشتق‌شده از منابع تجدیدپذیر شده است. زیست‌پلیمرهای با درجه غذایی مانند پروتئین‌ها (برای مثال ژلاتین ماهی، FG) به دلیل ویژگی‌های عملکردی منحصر به فرد مانند انعطاف‌پذیری، شفافیت و خواص ممانعت‌کنندگی برتر در برابر اکسیژن و اشعه ماوراء بنفش با موفقیت در فیلم‌های بسته‌بندی گنجانده شده‌اند [۹]. ژلاتین ماهی به دلیل دارا بودن پرولین و هیدروکسی‌پرولین کمتر در ساختار خود، ممانعت‌کنندگی بهتری در برابر رطوبت نسبت به انواع دیگر ژلاتین از خود نشان می‌دهد؛ با این حال، خاصیت ممانعت‌کنندگی در برابر رطوبت فیلم‌های برپایه ژلاتین از سایر پلیمرها ضعیف‌تر است [۹]. در این راستا، یکی از شیوه‌های موثر به منظور غلبه بر این محدودیت‌ها، ترکیب ۲ یا چند پلیمر و تشکیل فیلم‌های کامپوزیت می‌باشد [۱۰]. کربوکسی‌متیل سلولز (CMC) از مشتقات سلولز بوده که از استخلاف گروه‌های کربوکسی‌متیل به جای برخی از گروه‌های هیدروکسیل بدست می‌آید. این زیست‌پلیمر دارای خواص تشکیل فیلم عالی، قیمت پایین، خواص ترموپلاستیکی و پایداری در برابر تخریب زیستی می‌باشد، از همین رو ترکیب آن با FG، زیست‌کامپوزیتی با خواص فیزیکی مطلوب‌تر ارائه خواهد داد [۱۱].

امروزه استفاده از صمغ‌ها به منظور تهیه فیلم‌های کامپوزیتی نیز مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است که بواسطه کاهش هزینه‌های اجرایی در مقیاس تجاری و نیز بهبود برخی از خواص زیست‌کامپوزیت‌ها می‌باشد. صمغ‌ها دسته‌ای از پلی‌ساکاریدها با وزن مولکولی بالا می‌باشند که توانایی تثبیت سیستم‌های امولسیون را دارا بوده و از تراوشات گیاهی و جلبک‌های دریایی به دست می‌آیند [۱۲]. صمغ‌ها به عنوان هیدروکلئید دارای توانایی تشکیل فیلم می‌باشند [۱۳]. صمغ فارسی (PG) (که با نام‌های صمغ زرد و صمغ انگوم نیز شناخته می‌شود) یک پلیمر کربوهیدراتی است که از پوست درختان بادام کوهی (*Amygdalus scoparia* Spach) تراوش می‌کند که منشأ آنها بیشتر در ایران است [۱۲]. به عنوان یک آرایینوگالاکتان، PG می‌تواند به عنوان جایگزین‌کننده چربی، تثبیت‌کننده، امولسیفایر، ژل‌کننده و عوامل تشکیل‌دهنده فیلم عمل کند [۱۴]. در این خصوص، فیلم زیست‌کامپوزیت بر مبنای گلوتن گندم حاوی PG و صمغ گوار (GG) توسط نجفیان و همکاران [۱۵] تهیه و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فیلم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج FTIR و SEM مؤید آن بود گلوتن گندم دارای امتزاج‌پذیری مطلوبی با PG و GG بود. همچنین، افزایش غلظت صمغ‌ها در محلول فیلم منجر به کاهش ضخامت و بهبود حلالیت و WVP فیلم‌ها شد. با توجه به مطالب مطرح شده، تا بحال مطالعه‌ای در خصوص تهیه فیلم زیست‌کامپوزیت سه‌جزئی بر پایه ژلاتین ماهی/کربوکسی‌متیل سلولز/صمغ فارسی (FG/CMC/PG) حاوی AEO صورت نپذیرفته است. لذا، هدف اصلی این مطالعه تهیه فیلم‌های زیست‌کامپوزیت FG/CMC/PG حاوی سطوح مختلف AEO (۰/۵، ۱ و ۱/۵) و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، ساختاری، حرارتی و ضد میکروبی فیلم‌های به دست آمده جهت کاربردهای بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

ژلاتین (FG) به‌دست آمده از پوست ماهیان آب‌های سرد (درجه بلوم ۲۴۰) و کربوکسی‌متیل سلولز (CMC) (وزن مولکولی ۲۵۰۰۰۰ گرم بر مول، ویسکوزیته بالا، CP ۱۵۰۰-۳۰۰۰) از شرکت سیگما-آلدریج (آمریکا) خریداری شدند. اسید استیک، گلیسرول، کاغذ صافی (واتمن ۴۲)، توئین ۸۰، محیط کشت تریپتون سوی براث (TSB) و پلیت کانت آگار (PCA) از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. باکتری‌های گرم‌مثبت/استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) و لیستریا مونوسیتوزنز (ATCC 13932) و باکتری‌های گرم‌منفی سالمونلا/نتریتیدیس (ATCC 18034) و اشرشیاکلی (ATCC 25922) از انستیتو پاستور آمل تهیه شد.

۲-۲- تهیه فیلم‌های بسته‌بندی سه‌جزئی ژلاتین ماهی/کربوکسی‌متیل سلولز/صمغ فارسی حاوی اسانس درمنه خزری

فیلم‌های سه‌جزئی ژلاتین ماهی/کربوکسی‌متیل سلولز/صمغ فارسی با نسبت (54FG/36CMC/10PG) به روش قالب‌گیری تهیه شدند. جهت تولید فیلم FG/CMC/PG، ابتدا محلول‌های ۳٪ (وزنی/حجمی) FG، ۱٪/۵ (وزنی/حجمی) CMC، و ۳٪ (وزنی/حجمی) صمغ فارسی تهیه شدند. پس از آماده‌سازی محلول‌ها، ابتدا محلول FG و CMC با یکدیگر مخلوط شده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شدند [۱۶]؛ پس از اختلاط، محلول فیلم PG (در سطح ۱۰٪) به تدریج به محلول FG/CMC اضافه و محلول حاصل در همان دما به مدت ۴۵ دقیقه دیگر بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد؛ سپس گلیسرول (۳/۰ گرم به ازای هر گرم ماده خشک) و توئین ۸۰ (با نسبت ۱ به ۵ توئین به اسانس درمنه خزری، AEO) به محلول اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در همان دما بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. در ادامه، AEO در سه سطح (۵/۰، ۱ و ۱/۵٪) به مخلوط اضافه و با همزن (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد. سپس، محلول تشکیل فیلم به مدت ۴۵ دقیقه داخل آون خلاء قرار داده شد تا عمل حباب‌زدایی انجام گردد. پس از حباب‌گیری، محلول به آرامی درون پلیت‌های پلاستیکی منتقل شده و جهت خشک‌شدن به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته تا خشک شوند.

۲-۳- سنجش خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های تولیدی

۲-۳-۱- ضخامت فیلم

برای اندازه‌گیری ضخامت نمونه‌ها از میکرومتر دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۰۱ میلی‌متر، Mitutoyo ساخت کشور ژاپن) استفاده شد. اندازه‌گیری‌ها به صورت تصادفی در ۹ نقطه از هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت این نقاط برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها استفاده گردید.

۲-۳-۲- سنجش میزان نفوذپذیری در برابر بخار آب (WVP)

آزمون WVP طبق روش مصوب ASTM E96/E96M-05 انجام شد [۱۷]. جهت انجام این آزمون، فیلم‌های تولیدی توسط گریس سیلیکون بر روی یک فنجان شیشه‌ای با قطر دهانه‌ی ۴۹ میلی‌متر حاوی ۶ میلی‌لیتر آب مقطر (رطوبت نسبی ۱۰۰٪، فشار بخار $2/337 \times 10^2$ پاسکال در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) چسبانده شدند. دور فنجان‌ها نیز به آرامی با پارافیلیم پوشش داده شد؛ سپس فنجان‌های توزین شده داخل دسیکاتور حاوی سیلیکاژل در دمای محیط قرار گرفتند؛ وزن فنجان‌ها در فواصل زمانی ۲ ساعت طی ۱۲ ساعت گزارش شد. در نهایت میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب طبق معادله (۱) محاسبه شد.

$$WVP = \frac{WVTR \times L}{\Delta P} \quad (1)$$

در این معادله، WVP نفوذپذیری نسبت به بخار آب بر حسب $g \text{ mm/KPa h m}^2$ ، WVTR نرخ انتقال بخار آب، L میانگین ضخامت فیلم (mm) و ΔP اختلاف فشار بین رطوبت نسبی درون و بیرون سلول‌ها می‌باشد.

۲-۳-۳- سنجش میزان حلالیت در آب

ابتدا نمونه‌های فیلم با اندازه (10×40) میلی‌متر جهت محاسبه وزن خشک اولیه، به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از توزین، نمونه‌ها به ظروف حاوی ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند؛ سپس، نمونه‌ها از کاغذ صافی که پیشتر توزین شده بود، عبور داده شده و به همراه صافی درون پلیت شیشه‌ای قرار داده شده و در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند؛ سپس نمونه‌های خشک شده بار دیگر توزین شده و میزان حلالیت فیلم‌ها از طریق رابطه (۲) محاسبه گردید [۵].

$$(2) \quad 100 \times (\text{وزن اولیه فیلم خشک} / \text{وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری} - \text{وزن اولیه فیلم خشک}) = \text{درصد حلالیت}$$

۲-۳-۴- سنجش میزان زاویه تماس فیلم‌ها

به منظور اندازه‌گیری زاویه تماس فیلم‌ها، از روش قطره چسبنده استفاده شد. بدین منظور، ۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر توسط دستگاه PG-X goniometer (ساخت سوئیس) بر روی نمونه‌ها قرار داده شد و زاویه تماس قطره با فیلم در زمان اولیه گزارش گردید [۵].

۲-۳-۵- اندازه‌گیری خواص مکانیکی

میزان مقاومت کششی (TS)^۳ و درصد افزایش طول تا نقطه پارگی (EAB)^۴ فیلم‌ها با استفاده از دستگاه آزمون یونیورسال مدل TVT-300Xp (ساخت سوئد) با استفاده از روش آزمایش استاندارد ASTM D882-02 اندازه‌گیری شد [۱۸]. ابتدا نمونه‌های فیلم به شکل

¹ Sessile drop

² Deionized water

³ Tensile strength

⁴ Elongation at break

مستطیل به ابعاد 10×60 میلی‌متر بریده شده و در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل جهت رسیدن به تعادل رطوبتی در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب 30 میلی‌متر و 50 میلی‌متر/دقیقه تنظیم شد.

۲-۳-۶- اندازه‌گیری رنگ سطحی فیلم‌ها

برای تعیین رنگ فیلم‌ها از دستگاه رنگ‌سنج مدل BYK Gardner (ساخت آمریکا) استفاده شد. ابتدا نمونه‌های فیلم بر روی صفحه استاندارد سفید قرار داده شدند. سپس مقادیر L^* ، a^* و b^* که به ترتیب بیانگر روشنایی^۱، سبز-قرمز^۲ (a) و آبی-زرد^۳ (b) هستند، برای هر نمونه با 3 تکرار و با در نظر گرفتن 3 نقطه به صورت تصادفی در هر تکرار به وسیله دستگاه رنگ‌سنج قرائت شد. ΔE (اختلاف رنگ کل)، ابتدا پس از کسر اختلاف بین شاخص‌های L^* ، a^* و b^* از صفحه استاندارد سفید ($L^*=94/63$ ، $a^*=-0/88$ ، $b^*=0/65$)، طبق معادله (۳) محاسبه شد.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (3)$$

۲-۴-۲- سنجش خواص ساختاری فیلم‌های تولیدی

۲-۴-۲-۱- طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)^۴

طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه در حالت عبور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر FTIR (Perkin-Elmer, Shelton, CT, USA) انجام شد. قبل از انجام آزمون، نمونه‌های فیلم در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل به مدت 2 هفته خشک شدند. سپس تکه‌هایی از فیلم با قطر 2 سانتی‌متر بین دو صفحه KBr قرار داده شدند. طیف‌ها در گستره $4000-400$ cm^{-1} و در تفکیک‌پذیری 4 cm^{-1} تعیین گردید.

۲-۴-۲-۲- آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

ساختار کریستالین فیلم‌های تهیه شده با ضخامت 0.2 میلی‌متر با استفاده از دستگاه پراش پرتو ایکس (XRD) (Siemens D5000) در دامنه 2θ از 50 درجه با زاویه 0.2 درجه بر دقیقه بررسی گردید.

۲-۴-۲-۳- آزمون گرماسنجی روبشی افتراقی (DSC)^۵

¹ Luminosity

² Greenness-redness

³ Blueness-yellowness

⁴ Fourier transform infrared spectroscopy

⁵ Differential scanning calorimetry

به منظور بررسی رفتار حرارتی فیلم‌های تهیه شده، از دستگاه گرماسنج روبشی تفاضلی مدل DSC-200 F3 (NETZSCH, Germany) استفاده شد. مقدار تقریباً ۱۰ میلی‌گرم از نمونه‌هایی که به مدت ۲ هفته در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفته بودند، داخل سلول‌های آلومینیومی قرار داده شد. نمونه‌ها با سرعت تقریبی $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ مورد اسکن قرار گرفتند. سیکل حرارتی مورد استفاده برای هر نمونه در گستره دمایی ۲۵ تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد و تحت جریان ثابت اتمسفر نیتروژن بود. از روی منحنی‌های دمایی، دمای انتقال شیشه (T_g)، نقطه ذوب (T_m , $^{\circ}\text{C}$) و آنتالپی (ΔP , J/g) برای فرآیندهای ذوب اندازه‌گیری شد.

۲-۵- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۱

به منظور بررسی ریز ساختارها و مشاهده ریخت‌شناسی سطح و مقطع عرضی فیلم‌های تولیدی از میکروسکوپ SEM (XL30 ESEM, Philips, Netherlands) در ولتاژ ۲۰ کیلو ولت استفاده گردید برای سطح مقطع، فیلم‌ها در نیتروژن مایع غوطه‌ور شدند و به صورت دستی شکسته شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از نوار دو طرفه بر روی قطعه آلومینیومی ثابت شدند و قبل از تصویربرداری با لایه نازکی از طلا پوشانده شدند.

۲-۶- ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم‌های تولیدی

جهت سنجش خواص ضد میکروبی فیلم‌های ساخته شده از روش تماس مستقیم استفاده شد [۱۹]. بدین منظور، ابتدا نمونه‌های فیلم با قطر ۱/۵ سانتی‌متر تحت شرایط استریل تهیه و بر روی محیط کشت تریپتون سوی آگار حاوی 10^6 باکتری قرار داده شد. پس از آن، کلیه پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در این مرحله، میزان رشد باکتری‌ها با محاسبه قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) مورد ارزیابی قرار گرفته و جهت اطمینان از رشد یکنواخت باکتری‌ها بر روی سطوح پلیت، برای هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش یک پلیت کشت داده شده فاقد فیلم در نظر گرفته شد. همچنین از یک پلیت فاقد باکتری برای اطمینان از عدم آلودگی محیط‌های کشت استفاده گردید.

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شده و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون انجام شد. برای تعیین اختلاف بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه^۳ استفاده شد. در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار بود، برای مقایسه میانگین‌ها آزمون دانکن به کار رفت. خطای مجاز برای رد H_0 ، در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل ۵٪ در نظر گرفته شد.

¹ Scanning electron microscopy

² Leven

³ One-way ANOVA

۳-۱- نفوذپذیری در برابر بخار آب (WVP)

یکی از کاربردهای مهم بسته‌بندی مواد غذایی کاهش انتقال رطوبت بین محیط مجاور و مواد غذایی است که این امر باعث حفظ کیفیت مواد غذایی بسته‌بندی شده می‌شود. از آنجائی که نفوذپذیری بالای فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر در برابر بخار آب جهت کاربردهای بسته‌بندی مطلوب نمی‌باشد، لذا مواد اولیه انتخاب شده جهت تولید فیلم‌ها، باید حداقل WVP را داشته باشد [۲۰]. همان‌طور که در جدول (۱) نشان داده شده است، مقدار WVP فیلم شاهد (FG/CMC/PG) 0.18 ± 0.0746 g mm/kPa h m² بود و افزودن اسانس درمنه خزری (AEO) در سطوح ۰/۵ تا ۱/۵٪ به بستر پلیمری موجب افزایش معنی‌دار WVP فیلم‌ها گردید (در دامنه $0.02 \pm 2/71$ تا $0.05 \pm 4/51$ gmm/kPa h m). روند مشابهی در فیلم‌های ژلاتین ماهی حاوی اسانس ترنج [۲۱] و فیلم‌های مبتنی بر کیتوزان همراه با اسانس ریحان [۲۲] مشاهده شده است. بر طبق بونیلا و همکاران [۲۲]، این نتیجه می‌تواند به ناپیوستگی‌های ایجاد شده در شبکه پلیمری توسط قطرات روغن نسبت داده شود، که باعث از دست رفتن انسجام فیلم و در نتیجه افزایش پدیده‌های انتقال بخار آب از طریق فیلم می‌شود. علاوه بر این، نسبت آب دوست-آب گریزی اجزای فیلم به طور مستقیم بر فرآیند انتقال بخار آب در فیلم تأثیر می‌گذارد. افزایش WVP همچنین می‌تواند مرتبط با افزایش ضخامت فیلم‌ها باشد که در تطابق با مطالعه کائو و سونگ [۲۳] می‌باشد؛ این محققان نشان دادند که WVP فیلم‌های نشاسته بذر ازگیل ژاپنی یا لوکوات حاوی اسانس پونه کوهی با افزایش ضخامت لایه افزایش می‌یابد. با این حال، تحقیقات دیگر در مورد افزودن اسانس‌ها به بستر زیست‌پلیمرها، کاهش WVP را گزارش نمودند [۲۴، ۲۵]. بنابراین، نمی‌توان به آسانی تصور نمود که WVP فیلم‌های خوراکی به راحتی با ترکیب یک جزء آبریز در بستر فیلم کاهش می‌یابد، اگرچه اثر ترکیب لیپید بر روی ساختار فیلم امولسیون شده یک شاخص تعیین‌کننده در توانایی سدکنندگی در برابر بخار آب است [۲۶].

جدول (۱) مقادیر ضخامت، نفوذپذیری در برابر بخار آب (WVP)، حلالیت (FS)، جذب آب (SR)، مقاومت کششی (TS) و درصد افزایش طول در لحظه پارگی

(%EAB) فیلم‌های سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO

Table 1 Thickness, water vapor permeability (WVP), film solubility (FS), swelling ratio (SR), tensile strength (TS) and elongation-at-break (%EAB) values of FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

۳-۲- میزان حلالیت فیلم‌ها

نامحلول بودن یا مقاومت در برابر آب یکی از ویژگی‌های مهم فیلم‌های خوراکی جهت کاربردهای بسته‌بندی و حفاظت از مواد غذایی است، به ویژه در مواردی که فعالیت آبی زیاد است [۵]. همان‌طور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود، حلالیت فیلم شاهد FG/CMC/PG در آب حدود ۳۷٪ بود که پایین‌تر از مقادیر گزارش شده توسط فرناندز و همکاران [۲۷] برای فیلم‌های کامپوزیت بر مبنای کربوکسی‌متیل سلولز و ژلاتین (در حدود ۴۸٪) بود. حلالیت کمتر فیلم‌های زیست‌کامپوزیت در مطالعه حاضر ممکن است ناشی از برهمکنش‌های پروتئین-پلی‌ساکارید (عمدتاً از طریق پیوند هیدروژنی) باشد که نقش مهمی در تشکیل فیلم ایفا می‌کند [۲۸]. البته، اختلاف بین مطالعات می‌تواند

به دلیل تفاوت در غلظت پلیمر و روش‌های متفاوت تولید فیلم نیز باشد که خواص نهایی فیلم را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲۶]. با افزودن AEO به فیلم، حلالیت به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۱) ($P < 0.05$) که ممکن است به برهمکنش‌های پروتئین-پلی‌ساکاریدی با اسانس نسبت داده شود که باعث تضعیف برهمکنش‌هایی که ساختار شبکه پروتئین-پلی‌ساکارید را تثبیت کرده بود، می‌گردد [۲۶]. وجود اسانس همچنین ممکن است برهمکنش گلیسرول با ماتریس پروتئین را محدود و از تشکیل یک شبکه پیوسته فیلم جلوگیری کند [۲۹]. در مطالعه گومز-استاکا و همکاران [۲۸] نیز افزودن اسانس میخک در ماتریس فیلم ژلاتین-کیتوزان باعث افزایش حلالیت فیلم در آب شد.

۳-۳- جذب آب (SR)

دانش تورم همچنین برای طراحی مواد بسته‌بندی و پیش‌بینی تغییرات پایداری و کیفیت که ممکن است در طول نگهداری رخ دهد، مهم است [۵]. همان‌طور که در جدول (۱) نشان داده شده است، فیلم شاهد FG/CMC/PG بالاترین SR ($12/29 \pm 2/19/30$) را نشان می‌دهد که ممکن است به ماهیت آب‌دوست پلیمرها و به ویژه ظرفیت بالای جذب آب ژلاتین (به دلیل وجود پپتیدهای قطبی) نسبت داده شود [۳۰]. همان‌طور که در جدول (۱) نشان داده شده است، افزودن سطوح مختلف (۰/۵ تا ۱/۵) AEO با ماهیت آگریز به طور معنی‌داری SR فیلم را کاهش داد (در محدوده $6/36 \pm 20/33$ تا $6/51 \pm 15/22$) ($P < 0.05$)، که می‌تواند به وجود گروه‌های فنولیک در ترکیب فیلم نسبت داده شود [۳۱]. به علاوه، حضور AEO حفره‌های داخلی بین زنجیره‌های پلیمری را پر نموده و از این طریق نیز باعث کاهش جذب آب فیلم‌ها می‌گردد [۵]. علاوه بر این، مولکول‌های اسانس ممکن است با مولکول‌های FG/CMC/PG پیوند هیدروژنی برقرار نموده و بنابراین گروه‌های هیدروکسیل آزاد در این پلیمرها را مسدود کرده و باعث کاهش جذب آب فیلم شوند [۳۲]. شهبازی [۳۳] گزارش نمود افزودن عصاره دانه انگور میزان جذب آب فیلم ژلاتین را از $34/43\%$ به $23/82\%$ کاهش می‌دهد.

۳-۴- خواص مکانیکی فیلم‌ها

ویژگی‌های مکانیکی از فاکتورهای مهم در انتخاب نوع بسته‌بندی برای کاربردهای غذایی است و دانستن اطلاعات کمی در مورد شاخص‌های مکانیکی (مقاومت کشسانی (TS) و درصد افزایش طول در لحظه پارگی (EAB)) فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر جهت طراحی مواد بسته‌بندی و پیش‌بینی توانایی آن‌ها در حفظ یکپارچگی خود طی استفاده به عنوان ماده بسته‌بندی بسیار مهم است [۳۴]. نتایج TS و EAB فیلم‌های تهیه شده در جدول (۱) نشان داده شده است. میزان TS فیلم کامپوزیت شاهد (FG/CMC/PG)، در حدود $16/3$ مگاپاسکال بوده که مشابه مقادیر گزارش شده توسط هی و همکاران [۳۵] در مورد فیلم کامپوزیت کربوکسی‌متیل سلولز/ژلاتین ($16/6$ مگاپاسکال) است. با افزودن AEO از $0/5$ تا $1/5$ ، میزان TS فیلم از $3/97 \pm 16/33$ مگاپاسکال به $1/64 \pm 5/41$ مگاپاسکال (در غلظت $1/5$ اسانس) به طور معنی‌داری کاهش یافت که احتمالاً به دلیل تأثیر ناپیوستگی‌های ساختاری ناشی از ادغام اسانس بر رفتار مکانیکی فیلم است (سانچز-گونزالس و همکاران، ۲۰۰۹). سانچز-گونزالس و همکاران [۳۶] نیز گزارش کردند که افزودن اسانس درخت چای ($5-0/3$) باعث کاهش

قابل توجهی در مقادیر TS فیلم‌های هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) شد. با افزودن AEO، میزان EAB فیلم‌های زیست‌کامپوزیت از ۳۹/۱۰٪ (فیلم شاهد) تا ۹۳/۲۵٪ برای فیلم‌های حاوی ۱/۵٪ اسانس افزایش یافت ($P < 0.05$) که در تطابق با نتایج گزارش شده توسط سایر نویسندگان هنگام ترکیب اسانس‌های گیاهی در ماتریس فیلم‌های خوراکی می‌باشد [۲۴، ۳۷]. افزایش انعطاف‌پذیری ممکن است به نقش نرم‌کننده‌گی اسانس‌های موجود در ماتریس پلیمری نسبت داده شود که منجر به افزایش خواص شکل‌پذیری می‌شود [۳۸]. به علاوه، گنجاندن لیپیدها یا روغن‌ها در فیلم‌های مبتنی بر پروتئین یا پلی‌ساکارید می‌تواند با فعل و انفعالات زنجیره به زنجیره^۲ پلیمر تداخل داشته باشد و حوزه‌های انعطاف‌پذیری را در داخل فیلم ایجاد کند [۲۵].

۳-۵- رنگ سطحی

رنگ فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر اهمیت زیادی در کاربرد آن‌ها در صنعت بسته‌بندی دارد و یکی از عوامل تعیین‌کننده کیفیت فیلم تهیه شده به شمار می‌آید [۵]. به طور کلی، هرچه فیلم پلیمری شفاف‌تر و به پلاستیک‌های سنتزی شبیه‌تر باشد، میزان پذیرش و کاربرد آن افزایش خواهد یافت زیرا ویژگی‌های ظاهری محصول مورد بسته‌بندی در آن به طور کامل قابل مشاهده خواهد بود. مقادیر L^* ، a^* ، b^* ، ΔE ، WI و تیرگی فیلم‌های FG/CMC/PG حاوی سطوح مختلف AEO در جدول (۲) نشان داده شده است. رنگ ظاهری نمونه‌های فیلم که به وسیله‌ی مقادیر رنگ هانتر تعیین شده است نشان می‌دهد که مقادیر ΔE فیلم شاهد پس از افزودن AEO کمی کاهش یافته است، که عمدتاً به دلیل افزایش مقادیر L^* و کاهش مقادیر a^* و b^* می‌باشد. همان‌طور که ذکر شد قرمزی (a^*) فیلم‌های تهیه شده به طور معنی‌داری از 4.74 ± 0.17 (فیلم شاهد) به 4.04 ± 0.17 (فیلم حاوی ۱/۵٪ AEO) کاهش یافت؛ این ویژگی می‌تواند به جلوگیری از تخریب اکسیداتیو نوری غذاهای بسته‌بندی شده کمک نماید [۳۹]. میزان شاخص WI نیز در فیلم‌های کامپوزیت با افزایش درصد اسانس افزایش یافت (جدول ۲). در خصوص کدورت، مقدار به دست آمده برای فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG برابر با $1/40 \pm 0.09$ بود (جدول ۲). همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، افزودن AEO باعث افزایش کدورت فیلم‌های حاصله شد و به مقدار $7/14 \pm 0.15$ AU/mm در نسبت ۱/۵٪ اسانس رسید. افزایش کدورت فیلم‌های حاوی AEO می‌تواند به پراکندگی نور قطرات روغن (با ضریب شکست متفاوت) در شبکه پلیمری فیلم نسبت داده شود که در انتقال نور تداخل ایجاد می‌کند [۴۰]. نتایج مشابهی توسط احمد و همکاران [۳۹] در خصوص اثر عصاره پوست انار بر فیلم کامپوزیت کربوکسی متیل سلولز-ژلاتین گزارش شده است.

جدول ۲. شاخص‌های رنگی فیلم‌های سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.

Table 2 Colour parameters of of FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

¹ Plasticizing effect

² Polymer chain-to-chain interactions

۳-۶- طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)

طیف‌سنجی مادون قرمز به منظور بررسی گروه‌های عاملی، نوع پیوندها و برهم‌کنش‌های صورت گرفته در آمیزه‌های پلیمری انجام می‌شود [۵]. نتایج آزمون طیف‌سنجی FTIR فیلم‌های مختلف تولید شده در شکل (۱) نشان داده شده است. در طیف فیلم شاهد (FG/CMC/PG)، پیک قوی در محدوده 3364 cm^{-1} نشان داده شده است که به ارتعاشات کششی گروه‌های O-H و N-H مربوط می‌شود [۴۱]. این نتیجه احتمالاً به برهم‌کنش بین مولکولی بین گروه هیدروکسیل CMC و گروه کربوکسیل FG نسبت داده می‌شود [۴۲]. دو پیک قوی در 2888 و 1641 نیز به ترتیب مرتبط با حالت‌های کششی نامتقارن C-H و گروه CH_2 (Amide III) می‌باشد [۴۳]. همچنین، پیک‌های مشاهده شده در 1553 ، 1411 و 1154 cm^{-1} می‌توانند به ترتیب به گروه کربوکسیلات جامد C=O و -COO، خمش C-H و احتمالاً خمش‌های CN- یا NH- مرتبط باشند [۴۲]. پیک‌های 1095 و 899 cm^{-1} نیز به ارتعاشات کششی C-O نسبت داده می‌شوند [۴۴]. هنگامی که AEO (سطوح ۰/۵ و ۱/۵) به فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG اضافه شد، تغییرات محسوسی در عدد طول موج پیک‌ها مشاهده شد (شکل ۱). به عنوان مثال، پیک O-H از طول موج 3364 cm^{-1} در فیلم شاهد به طول موج‌های 3349 و 3350 cm^{-1} در فیلم‌های حاوی ۰/۵ و ۱/۵ AEO تغییر پیدا کرد که نشان‌دهنده تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین اسانس و ماتریس فیلم FG/CMC/PG است [۴۵]. همچنین، پس از افزودن AEO، پیک 1641 cm^{-1} فیلم شاهد به عدد موج‌های پایین‌تر ($1636/1637 \text{ cm}^{-1}$) منتقل شد که نشان‌دهنده تغییراتی در سازمان‌دهی مولکولی ماتریس فیلم به‌ویژه تعامل آن با زنجیره پلی‌پیتیدی ژلاتین نسبت داده شود [۳۹]. به علاوه، پیک Amide II از 1553 cm^{-1} به $1545/1546 \text{ cm}^{-1}$ تغییر مکان داد که نشان‌دهنده وجود پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های آگریز بین AEO و ماتریس فیلم FG/CMC/PG است [۴۵]. بطور کلی نتایج FTIR نشان می‌دهد ترکیب AEO ممکن است ساختار مولکولی را در فیلم سه‌جزئی تغییر داده باشد.

شکل (۱) طیف‌نگاره‌های FTIR فیلم شاهد و فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.

Fig. 1 FTIR spectroscopy of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

۳-۷- پراش اشعه ایکس (XRD)

تجزیه و تحلیل XRD به منظور بررسی و ارزیابی تغییر احتمالی در میزان بلورینگی فیلم‌های سه‌جزئی به واسطه افزودن AEO انجام شد (شکل ۲). همان‌طور که در شکل (۲) مشخص می‌باشد فیلم سه‌جزئی شاهد (FG/CMC/PG) دو پیک مشخص را در $2\theta = 9/92$ درجه (مربوط به ساختار مارپیچ سه‌گانه کریستالی ژلاتین) و $2\theta = 23/58$ درجه (مشخصه یک فاز غیر متبلور و بی‌نظم) به نمایش گذاشت که دلالت بر ماهیت نیمه‌کریستالی پلیمرها دارد [۴۶]. با افزودن ۰/۵ و ۱/۵ AEO به فیلم‌های سه‌جزئی، تنها یک پیک مشخص به ترتیب در $2\theta = 23/65$ و $2\theta = 23/53$ درجه مشاهده شد که نشان می‌دهد برهم‌کنش بین AEO و ماتریس فیلم باعث بازآرایی مولکولی شده و در نتیجه ساختار مولکول‌های پلیمری را تغییر می‌دهد [۴۵]. همچنین، وجود یک پیک پراش منفرد و خالص در منحنی فیلم سه‌جزئی

حاوی AEO نشان‌دهنده سازگاری خوب بین اجزای فیلم است؛ این سازگاری احتمالاً به دلیل پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین اجزا است که باعث کاهش تبلور مجدد می‌شود [۴۷]. نتایج مشابهی توسط نگین و همکاران [۴۲] با افزودن عصاره موسیر به فیلم ژلاتین/اصمغ گوار مشاهده شد.

شکل (۲) الگوهای XRD فیلم شاهد و فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.

Fig. 2 XRD patterns of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

۳-۸- گرماسنج روبشی افتراقی (DSC)

امتزاج‌پذیری پلیمرها از عوامل مهم در بهبود کارایی مواد نوین حاصل از ترکیب پلیمرها می‌باشد و بر خواص نهایی آن‌ها تأثیر می‌گذارد [۴۸]. آزمون DSC به منظور بررسی خواص حرارتی، شناخت بیشتر ساختار و تعامل بین محلول‌های پلیمری تهیه شده بر پایه FG، CMC و PG انجام شد. دمای ذوب (T_m) و دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) با بلورینگی نمونه‌های فیلم در ارتباط است؛ به طوری که در دمای انتقال شیشه‌ای پایین، فیلم‌ها سخت و شکننده هستند اما در دمای انتقال شیشه‌ای بالا فیلم‌ها از انعطاف‌پذیری بیشتری برخوردار هستند [۳۴]. همچنین، دمای ذوب وابسته به حرکت مولکولی زنجیره‌های پلیمر و تخریب ساختار مولکولی منظم یا تجمع یافته می‌باشد که بر خواص مواد و کاربرد آن‌ها تأثیرگذار است [۴۹]. نتایج شاخص‌های حرارتی حاصل از گرمانگاشت DSC فیلم‌های سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی نسبت‌های مختلف AEO (۰/۵ و ۱/۵٪) از محدوده دمایی ۲۵ تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد در شکل (۳) مشاهده می‌شود. دو پیک آندوترمیک برای تمام فیلم‌ها مشاهده شد؛ اولین پیک آندوترمیک در محدوده دمایی ۱۸۴/۷-۸۳/۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که ممکن است با پدیده‌های مختلف مانند تبخیر رطوبت از نمونه، تخریب نرم‌کننده (گلیسرول) و امولسیفایر و انتقال مارپیچ-کوئل ژلاتین^۱ مرتبط باشد [۵۰]؛ همچنین ممکن است به دلیل انتقال ذوب آندوترمی شدید در دمای ۱۸۴/۷ درجه سانتی‌گراد با آنتالپی ۱۳۳ J/g باشد [۵۱]. در حالی که، پیک دوم در محدوده دمایی ۲۳۷/۳-۲۵۵/۶ درجه سانتی‌گراد، نشان‌دهنده‌ی تجزیه حرارتی (T_d) به علت تخریب گروه کربونیل زنجیره‌های جانبی CMC، تجزیه حرارتی پیوندهای پپتیدی در زنجیره اصلی ژلاتین، تجزیه پیرولیتیک ستون فقرات پلی‌ساکارید و نیز تخریب شیمیایی AEO می‌باشد [۵۲، ۵۳]. همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود، افزودن AEO منجر به افزایش دمای ذوب (T_m) فیلم سه‌جزئی از ۲۴۵/۷ درجه سانتی‌گراد به ۲۵۵/۶ درجه سانتی‌گراد گردید. همان‌طور که می‌دانیم، پدیده ذوب ناشی از افزایش انرژی جنبشی حرکت حرارتی مولکول‌ها در هنگام افزایش دما می‌باشد [۳۵]؛ در اینجا با افزودن AEO، دمای بالاتری جهت حرکت حرارتی مولکول‌ها مورد نیاز است. نتایج به دست آمده در تطابق با یافته‌های گزارش شده توسط هی و همکاران [۳۵] در خصوص افزودن عصاره آنتی‌اکسیدانی برگ‌های بامبو به بستر فیلم کربوکسی‌متیل سلولز/ژلاتین ماهی می‌باشد.

شکل (۳) دمانگاشت DSC فیلم شاهد و فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.

Fig. 3 DSC thermograms of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

¹ Helix-coil transition of gelatin

۳-۹- تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

مطالعه ریزساختار ماتریس فیلم به درک بهتر مکانیسم انتقال بخار آب، ویژگی‌های مکانیکی و نوری آن کمک می‌کند. در شکل (۴) تصاویر SEM سطح و مقطع عرضی فیلم سه‌جزئی (شاهد) و فیلم‌های سه‌جزئی حاوی غلظت‌های مختلف AEO قابل مشاهده است. همان‌طور که در شکل (۴) قابل مشاهده است، فیلم سه‌جزئی شاهد (FG/CMC/PG) دارای ریزساختار پیوسته، صاف، همگن و بدون حفره و ترک می‌باشد که نشان‌دهنده سازگاری سه پلیمر می‌باشد. افزودن AEO تا سطح ۰/۵٪ تاثیری بر مورفولوژی سطح فیلم سه‌جزئی نداشت که نشان می‌دهد AEO به طور یکنواخت و به خوبی در ماتریس فیلم پراکنده شده است. با این‌حال، با افزودن ۱/۵٪ AEO به بستر فیلم، برخی ساختارهای دایره‌ای شکل در سطح فیلم مشاهده شد که ممکن است در اثر حرکت قطرات AEO اضافی به سطح فیلم طی فرآیند خشک‌شدن فیلم ایجاد شده باشد [۵۰]. این پدیده همچنین ممکن است ناشی از انبوهش قطرات آب‌گریز روغن در فرآیند تشکیل فیلم‌ها باشد [۲۶]. به علاوه، تصاویر مقطع عرضی فیلم سه‌جزئی شاهد و فیلم‌های حاوی AEO مورفولوژی پیوسته و فشرده بدون بی‌نظمی مانند حباب‌های هوا و منافذ و بدون هیچ گونه شواهدی از جدایش فازی را نشان دادند، آن‌گونه که برای یک ماده همگن انتظار می‌رود [۴۵].

شکل (۴) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) فیلم شاهد و فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.

Fig. 4 SEM images of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

۳-۱۰- کارایی ضدباکتریایی فیلم سه‌جزئی حاوی AEO

یکی از مهمترین ملزومات مواد بسته‌بندی پیشرفته، ممانعت و یا جلوگیری از رشد باکتریایی و کلونیزه‌شدن بر سطوح مواد غذایی می‌باشد [۵]. اسانس‌های گیاهی یکی از مولکول‌های جالب جهت توسعه مواد بسته‌بندی ضد میکروبی غذایی به‌شمار می‌آیند زیرا عملکرد مناسبی در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی مضر از خود نشان داده‌اند [۵۴]. بنابراین در مرحله پایانی تحقیق حاضر، فعالیت ضد میکروبی فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی سه سطح مختلف اسانس درمنه خزری (AEO) بر علیه باکتری‌های گرم‌مثبت / استافیلوکوکوس / اورئوس و لیستریا مونوسیتوزنز و باکتری‌های گرم‌منفی سالمونلا / انتریتیدیس و / شرشیاکلی مورد ارزیابی قرار گرفت. همان‌طور که در جدول (۳) نشان داده شده است، فیلم سه‌جزئی شاهد هیچ فعالیت ضدباکتریایی در برابر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه نشان نداد. عدم وجود منطقه بازدارنده را می‌توان به ناتوانی اجزای پلیمری در مهار رشد باکتری توضیح داد؛ حقیقی و همکاران [۴۰] نیز گزارش نمودند فیلم کامپوزیت ژلاتین/کیتوزان فاقد فعالیت ضد میکروبی بر علیه چهار پاتوژن باکتریایی اصلی غذایی شامل کمپیلوباکتر ژرونی، / شریشیا کلی، لیستریا مونوسیتوزنز و سالمونلا تیغی موریوم می‌باشد. این محققان عدم وجود خاصیت بازدارندگی را به محدودیت انتشار کیتوزان در محیط کشت آگار یا ناتوانی ژلاتین در مهار رشد باکتری نسبت دادند. همان‌طور که در جدول (۳) نشان داده شده است افزودن AEO به فیلم‌های سه‌جزئی منجر به ایجاد مناطق بازدارنده رشد (متاثر از غلظت اسانس) در برابر چهار سویه باکتریایی گردید ($P < 0/05$). بطوریکه فیلم سه‌جزئی حاوی بالاترین غلظت AEO (یعنی ۱/۵٪) به طور موثری از رشد میکروارگانیسم‌های آزمایش شده جلوگیری کرد و هاله‌های بازدارندگی بین ۷/۷ تا ۹/۵ میلی‌متر تولید کرد ($P < 0/05$). گزارش شده است که مونوترپن‌های اکسیژن‌دار مانند ۱،۸-سینئول، کافور و

ترپین-۴-اول^۱ که اجزای معرف AEO هستند، فعالیت ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند [۵۵]. هاشمی و خدائی [۵۶] گزارش نمودند فیلم‌های خوراکی صمغ دانه ریحان حاوی اسانس درمنه دشتی^۲ فعالیت ضدباکتریایی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسیژنز*، و *سودوموناس آئروژینوزا* نشان دادند. این محققان فعالیت ضد میکروبی اسانس درمنه را به اثرات هم‌افزایی بین کافور، ایزوبورنول، ۱،۸-سینئول، اکسید کاربوفیلین، β -اودسمول و ترپین-۴-اول به عنوان اجزای اصلی روغن نسبت داده‌اند. همان‌طور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود، قطر هاله مهاری در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت کمی بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد، احتمالاً به دلیل وجود غشای بیرونی اطراف دیواره سلولی در باکتری‌های گرم‌منفی، که انتشار مواد آگریز را از طریق پوشش لیپوپلی‌ساکارید آن محدود می‌کند [۵۴]. این نتایج نشان می‌دهد که فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی AEO می‌تواند به عنوان بسته‌بندی ضد میکروبی برای مقابله با بیماری‌های مرتبط با مواد غذایی امیدوارکننده باشند.

جدول (۳) فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.
Table 3 Antimicrobial activity of FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

۴- نتیجه‌گیری

در شرایط کمبود منابع جهانی، آلودگی شدید زیست‌محیطی و ضایعات جدی مواد غذایی، تسریع در توسعه و استفاده از مواد بسته‌بندی ضد میکروبی سازگار با محیط زیست با ویژگی‌های نگهدارنده‌گی و خواص غیرسمی برای ارتقای توسعه پایدار اجتناب ناپذیر است. این مطالعه با هدف ارزیابی اثر اسانس درمنه خزری بر خصوصیات فیزیکومکانیکی، ریزساختاری و ضد میکروبی فیلم‌های سه‌جزئی FG/CMC/PG انجام شد. نتایج نشان داد ریزساختار فیلم، پارامترهای انتقال حرارتی شامل دمای ذوب (T_m) و دمای تخریب (T_d)، استحکام کششی، ازدیاد طول تا نقطه پاره‌گی، نفوذپذیری در برابر بخار آب، حلالیت در آب، جذب آب، رنگ و کدورت، و همچنین ویژگی ضدباکتریایی فیلم‌های سه‌جزئی تحت تأثیر اختلاط اسانس درمنه خزری قرار گرفت. به طور کلی، سنجش ویژگی‌های فیلم نشان داد که اسانس درمنه خزری در برخی شاخص‌ها قادر به بهبود ویژگی‌های عملکردی مواد مبتنی بر زیست‌پلیمرها است و خواص مورد نظر را برای کاربرد بالقوه آنها به عنوان مواد بسته‌بندی غذایی سازگار با محیط زیست افزایش می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، فیلم‌های ضد میکروبی توسعه داده شده در مطالعه حاضر می‌تواند در طراحی مواد بسته‌بندی چندلایه (به عنوان لایه داخلی در تماس با غذا) به منظور افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی بسته‌بندی شده مورد استفاده قرار گیرد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

¹ terpinen-4-ol

² *Artemisia sieberi*

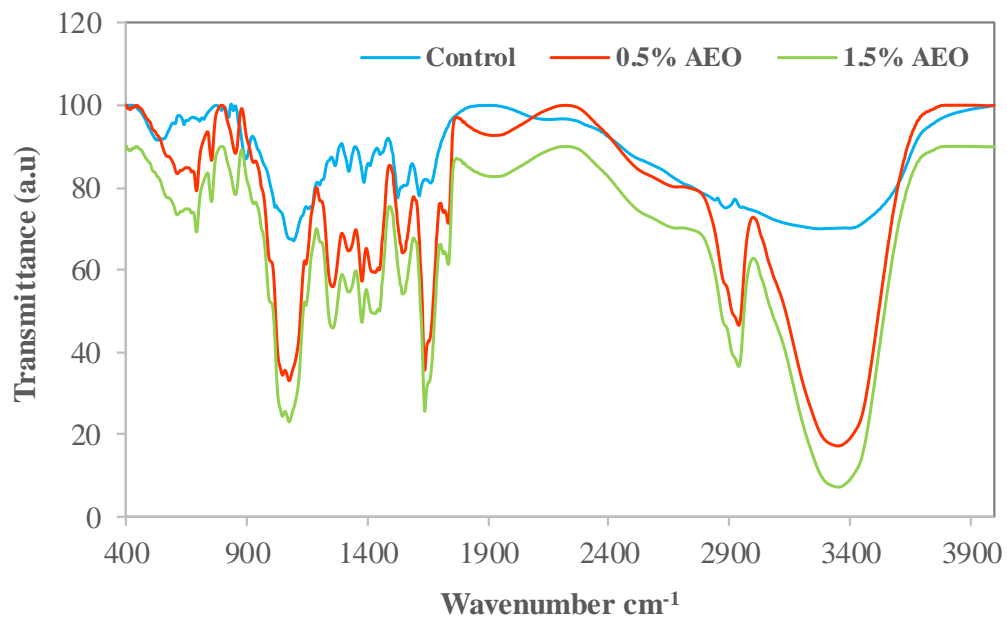
این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

مراجع

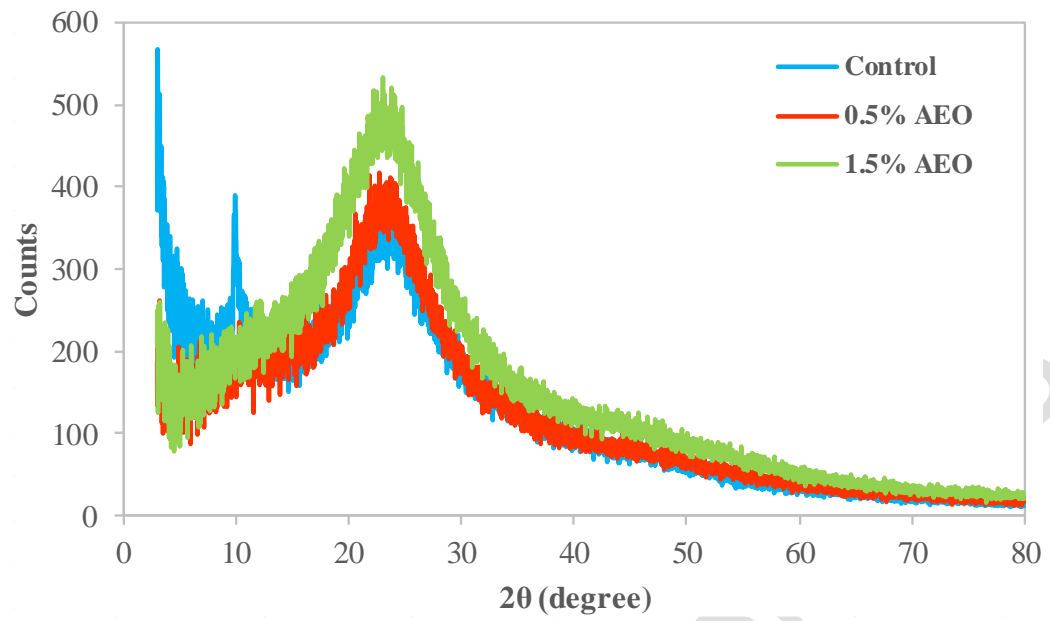
- [1] Marsh, K., & Bugusu, B. (2007). Food packaging—roles, materials, and environmental issues. *J. Food Sci.* 72(3), 39-55.
- [2] Clodoveo, M. L., Muraglia, M., Fino, V., Curci, F., Fracchiolla, G., & Corbo, F. F. R. (2021). Overview on innovative packaging methods aimed to increase the shelf-life of cook-chill foods. *Foods*, 10(9), 2086.
- [3] Yan, M. R., Hsieh, S., & Ricacho, N. (2022). Innovative food packaging, food quality and safety, and consumer perspectives. *Processes*, 10(4), 747.
- [4] European Commission. (2009). EU Guidance to the Commission Regulation (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into the contact with food (version 1.0). Available from: https://food.ec.europa.eu/food-safety/chemical-safety/food-contact-materials_en. Accessed 2017 October 24.
- [5] Hosseini, S. F., Ghaderi, J., & Gómez-Guillén, M. C. (2021). trans-Cinnamaldehyde-doped quadripartite biopolymeric films: Rheological behavior of film-forming solutions and biofunctional performance of films. *Food Hydrocoll.* 112, 106339.
- [6] Wen, P., Zhu, D. H., Wu, H., Zong, M. H., Jing, Y. R., & Han, S. Y. (2016). Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. *Food Control*, 59, 366-376.
- [7] Rabie, M., Sefidkon, F., & Jalili, A. (2002). The essential oil composition of *Artemisia annua* in five locations of Gilan province. *Pajouhesh-va-Sazandegi*. In Natural Resources, 55, 20-23.
- [8] Isacchi, B., Bergonzi, M. C., Grazioso, M., Righeschi, C., Pietretti, A., Severini, C., & Bilia, A. R. (2012). Artemisinin and artemisinin plus curcumin liposomal formulations: enhanced antimalarial efficacy against Plasmodium berghei-infected mice. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 80(3), 528-534.
- [9] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Ghavi, F. F. (2013). Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chem.* 136(3-4), 1490-1495.
- [10] Rhim, J. W., Hong, S. I., Park, H. M. & Ng, P. K. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.* 54(16), 5814-5822.
- [11] Imran, M., El-Fahmy, S., Revol-Junelles, A. M., & Desobry, S. (2010). Cellulose derivative based active coatings: Effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Carbohydr. Polym.* 81(2), 219-225.
- [12] Abbasi, S. (2017). Challenges towards characterization and applications of a novel hydrocolloid: Persian gum. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 28, 37-45.
- [13] Saha, A., Tyagi, S., Gupta, R. K., & Tyagi, Y. K. (2017). Natural gums of plant origin as edible coatings for food industry applications. *Crit. Rev. Biotechnol.* 37(8), 959-973.
- [14] Kadkhodae, R., & Mahfouzi, M. (2022). Chemistry and Food Applications of Persian Gum. In *Gums, Resins and Latexes of Plant Origin: Chemistry, Biological Activities and Uses* (pp. 1-26). Cham: Springer International Publishing.
- [15] Najafian, N., Aarabi, A., & Nezamzadeh-Ejhieh, A. (2022). Evaluation of physicochemical properties of gluten-based film incorporated with Persian gum and Guar gum. *Int. J. Biol. Macromol.* 223, 1257-1267.
- [16] Ruan, C., Zhang, Y., Wang, J., Sun, Y., Gao, X., Xiong, G., & Liang, J. (2019). Preparation and antioxidant activity of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible films with epigallocatechin gallate. *Int. J. Biol. Macromol.* 134, 1038-1044.
- [17] ASTM. (2005). Standard test method for water vapor transmission of materials (E96-05). In Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing Materials, Philadelphia, PA.
- [18] ASTM (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual Book of ASTM Standards. Designation D882-02. Philadelphia: American Society for Testing Materials.
- [19] Javidi, Z., Hosseini, S.F. and Rezaei, M., 2016. Development of flexible bactericidal films based on poly (lactic acid) and essential oil and its effectiveness to reduce microbial growth of refrigerated rainbow trout. *LWT*, 72, 251-260.
- [20] Zhou, J. J., Wang, S. Y., & Gunasekaran, S. (2009). Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO₂ nanoparticles. *J. Food Sci.* 74(7), 50-56.
- [21] Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., & Agustini, T. W. (2012). Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocoll.* 28(1), 189-199.

- [22] Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., & Chiralt, A. (2012). Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Food Hydrocoll.* 26(1), 9-16.
- [23] Cao, T. L., & Song, K. B. (2019). Effects of gum karaya addition on the characteristics of loquat seed starch films containing oregano essential oil. *Food Hydrocoll.* 97, 105198.
- [24] Benavides, S., Villalobos-Carvajal, R., & Reyes, J. E. (2012). Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *J. Food Eng.* 110(2), 232-239.
- [25] Tongnuanchan, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2012). Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. *Food Chem.* 134(3), 1571-1579.
- [26] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Farahmandghavi, F. (2015). Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Ind Crops Prod.*, 67, 403-413.
- [27] Fernandes, G. D. J. C., Campelo, P. H., de Abreu Figueiredo, J., Barbosa de Souza, H. J., Peixoto Joele, M. R. S., Yoshida, M. I., & Henriques Lourenço, L. D. F. (2022). Effect of polyvinyl alcohol and carboxymethylcellulose on the technological properties of fish gelatin films. *Sci. Rep.* 12(1), 10497.
- [28] Gómez-Estaca, J., De Lacey, A. L., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. D. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiol.* 27(7), 889-896.
- [29] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M. L., & Marques, A. (2013). Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll.* 30(1), 224-231.
- [30] Kavooosi, G., Dadfar, S. M. M., & Purfard, A. M. (2013). Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing. *J. Food Sci.* 78, 244-250.
- [31] Walid, Y., Malgorzata, N., Katarzyna, R., Piotr, B., Ewa, O. L., Izabela, B., ... & Moufida, S. T. (2022). Effect of rosemary essential oil and ethanol extract on physicochemical and antibacterial properties of optimized gelatin-chitosan film using mixture design. *J. Food Process. Preserv.* 46(1), e16059.
- [32] Narasagoudr, S. S., Hegde, V. G., Vanjeri, V. N., Chougale, R. B., & Masti, S. P. (2020). Ethyl vanillin incorporated chitosan/poly (vinyl alcohol) active films for food packaging applications. *Carbohydr. Polym.* 236, 116049.
- [33] Shahbazi, Y. (2017). The properties of chitosan and gelatin films incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil as biodegradable materials for active food packaging. *Int. J. Biol. Macromol.* 99, 746-753.
- [34] Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A. (2011). Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefirin. *Carbohydr. Polym.* 84(1), 477-483.
- [35] He, B., Wang, W., Song, Y., Ou, Y., & Zhu, J. (2020). Structural and physical properties of carboxymethyl cellulose/gelatin films functionalized with antioxidant of bamboo leaves. *Int. J. Biol. Macromol.*, 164, 1649-1656.
- [36] Sanchez-Gonzalez, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2009). Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocoll.* 23(8), 2102-2109.
- [37] Kavooosi, G., Rahmatollahi, A., Dadfar, S. M. M., & Purfard, A. M. (2014). Effects of essential oil on the water binding capacity, physico-mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films. *LWT*, 57(2), 556-561.
- [38] Ramos, M., Jiménez, A., Peltzer, M., & Garrigós, M. C. (2012). Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging. *J. Food Eng.* 109(3), 513-519.
- [39] Ahmad, H. N., Yong, Y., Wang, S., Munawar, N., & Zhu, J. (2024). Development of novel carboxymethyl cellulose/gelatin-based edible films with pomegranate peel extract as antibacterial/antioxidant agents for beef preservation. *Food Chem.* 443, 138511.
- [40] Haghghi, H., Biard, S., Bigi, F., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., ... & Pulvirenti, A. (2019). Comprehensive characterization of active chitosan-gelatin blend films enriched with different essential oils. *Food Hydrocoll.* 95, 33-42.
- [41] Arora, A., & Padua, G. W. (2010). Nanocomposites in food packaging. *J. Food Sci.* 75(1), 43-49.
- [42] Nguyen, Q. D., Tran, T. T. V., Nguyen, N. N., Nguyen, T. P., & Lien, T. N. (2023). Preparation of gelatin/carboxymethyl cellulose/guar gum edible films enriched with methanolic extracts from shallot wastes and its application in the microbiological control of raw beef. *Food Packag. Shelf Life.* 37, 101091.
- [43] Pan, R., Xuan, W., Chen, J., Dong, S., Jin, H., Wang, X., ... & Luo, J. (2018). Fully biodegradable triboelectric nanogenerators based on electrospun polylactic acid and nanostructured gelatin films. *Nano Energy*, 45, 193-202.
- [44] Ma, Q., Du, L., Yang, Y., & Wang, L. (2017). Rheology of film-forming solutions and physical properties of tara gum film reinforced with polyvinyl alcohol (PVA). *Food Hydrocoll.* 63, 677-684.
- [45] Sun, C., Wang, Y. S., Luan, Q. Y., & Chen, H. H. (2024). Preparation and properties of edible active films of gelatin/carboxymethyl cellulose loaded with resveratrol. *Int. J. Biol. Macromol.* 283, 137897.

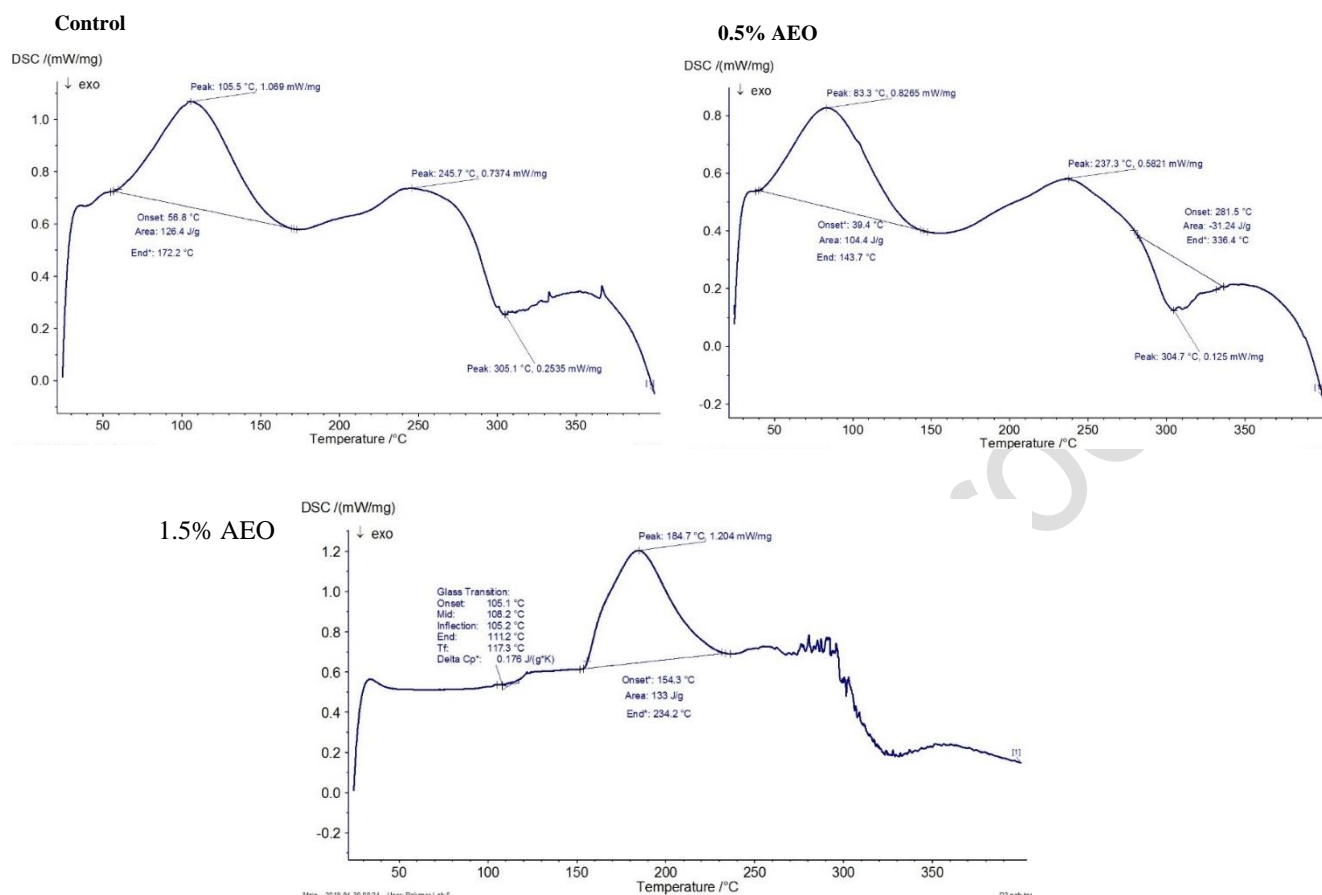
- [46] Pérez-Córdoba, L. J., Norton, I. T., Batchelor, H. K., Gkatzionis, K., Spyropoulos, F., & Sobral, P. J. (2018). Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. *Food Hydrocoll.* 79, 544-559.
- [47] Kan, J., Liu, J., Yong, H., Liu, Y., Qin, Y., & Liu, J. (2019). Development of active packaging based on chitosan-gelatin blend films functionalized with Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruit extract. *Int. J. Biol. Macromol.* 140, 384-392.
- [48] Kanimozhi, K., Basha, S. K., & Kumari, V. S. (2016). Processing and characterization of chitosan/PVA and methylcellulose porous scaffolds for tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C.* 61, 484-491.
- [49] Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Pisuchpen, S., & Osako, K. (2016). Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants. *Food Hydrocoll.* 56, 93-107.
- [50] Kang, J. H., & Song, K. B. (2019). Characterization of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L.) starch films incorporated with clove bud essential oil and their antioxidant effects on pork belly during storage. *LWT*, 111, 711-718.
- [51] Ibrahim, M. M., Koschella, A., Kadry, G., & Heinze, T. (2013). Evaluation of cellulose and carboxymethyl cellulose/poly (vinyl alcohol) membranes. *Carbohydr. Polym.* 95(1), 414-420.
- [52] Martucci, J. F., & Ruseckaite, R. A. (2015). Biodegradation behavior of three-layer sheets based on gelatin and poly (lactic acid) buried under indoor soil conditions. *Polym. Degrad. Stab.* 116, 36-44.
- [53] Balaguer, M. P., Gómez-Estaca, J., Gavara, R., & Hernandez-Munoz, P. (2011). Functional properties of bioplastics made from wheat gliadins modified with cinnamaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* 59, 6689-6695.
- [54] Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94(3), 223-253.
- [55] Ćavar, S., Maksimović, M., Vidic, D., & Parić, A. (2012). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Ind. Crop. Prod.* 37(1), 479-485.
- [56] Hashemi, S. M. B., & Khodaei, D. (2021). Basil seed gum edible films incorporated with *Artemisia sieberi* and *Achillea santolina* essential oils: Physical, antibacterial, and antioxidant properties. *J. Food Process. Preserv.* 45(7), e15645.



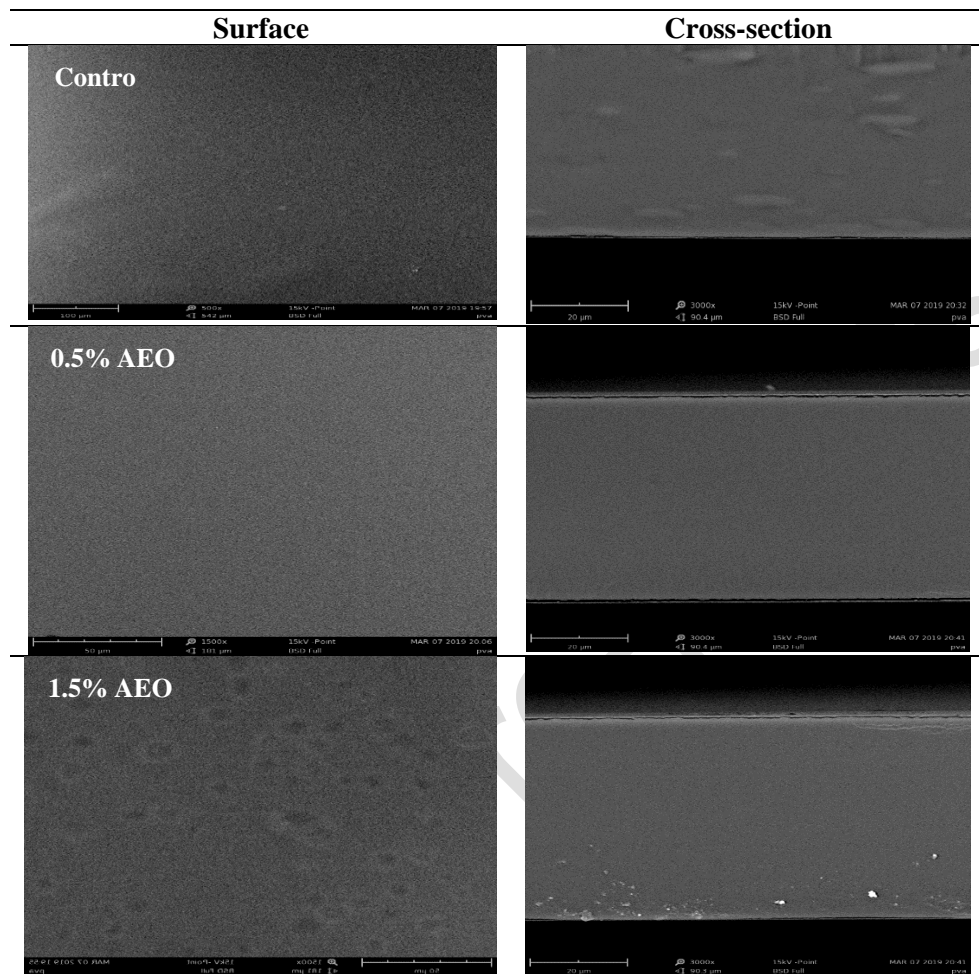
شکل (1) طیف‌نگاره‌های FTIR فیلم شاهد و فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.
Fig. 1 FTIR spectroscopy of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.



شکل (۲) الگوهای XRD فیلم شاهد و فیلم سه جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.
Fig. 2 XRD patterns of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.



شکل (۳) دمانگاشت DSC فیلم شاهد و فیلم سه جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.
Fig. 3 DSC thermograms of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.



شکل (۴) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) فیلم شاهد و فیلم سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO. **Fig. 4** SEM images of control and FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

جدول (۱) مقادیر ضخامت، نفوذپذیری در برابر بخار آب (WVP)، حلالیت (FS)، جذب آب (SR)، مقاومت کششی (TS) و درصد افزایش طول در لحظه پارگی (%EAB) فیلم‌های سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.

Table 1 Thickness, water vapor permeability (WVP), film solubility (FS), swelling ratio (SR), tensile strength (TS) and elongation-at-break (%EAB) values of FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

افزایش طول در لحظه پارگی (%) EAB	مقاومت کششی (MPa) TS	جذب آب (%) SR	حلالیت فیلم (%) FS	نفوذپذیری در برابر بخار آب (g) (mm/kPa h m ²) WVP	ضخامت (mm) Thickness	نمونه Sample
۳۹/۱۰ ± ۳/۶ ^c	۱۶/۳۳ ± ۳/۹۷ ^a	۲۱۹/۳۰ ± ۱۲/۲۹ ^a	۳۷/۰۴ ± ۱/۰۴ ^c	۰/۷۵ ± ۰/۰۳ ^c	۰/۰۶ ± ۰/۰۰ ^a	Control
۷۹/۵۸ ± ۳/۱۸ ^b	۱۱/۳۸ ± ۲/۹۲ ^b	۲۰۷/۳۳ ± ۶/۳۶ ^b	۴۰/۲۳ ± ۲/۹۷ ^b	۲/۷۱ ± ۰/۰۳ ^b	۰/۰۸ ± ۰/۰۰ ^a	0.5% AEO
۹۰/۴۶ ± ۴/۵۲ ^a	۹/۳۲ ± ۲/۵۵ ^b	۱۸۲/۹۹ ± ۱۰/۲۱ ^c	۴۰/۷۷ ± ۳/۴۶ ^b	۴/۲۰ ± ۰/۲۹ ^a	۰/۱۱ ± ۰/۰۱ ^a	1% AEO
۹۳/۲۵ ± ۳/۷۳ ^a	۵/۴۱ ± ۱/۶۴ ^c	۱۵۸/۲۲ ± ۶/۵۱ ^d	۵۳/۴۸ ± ۰/۹۱ ^a	۴/۵۱ ± ۰/۰۵ ^a	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ ^a	1.5% AEO

میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی کوچک متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم هستند ($P < 0.05$). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

جدول (۲) شاخص‌های رنگی فیلم‌های سه‌جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.
Table 2 Colour parameters of FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

تیرگی Opacity	شاخص‌های رنگی Colour parameters					فیلم Film
	WI	ΔE	b*	α*	L*	
۱/۴۰ ± ۰/۰۹ ^c	۲۳/۵۶ ± ۰/۶۹ ^b	۷۱/۰۹ ± ۰/۶۸ ^a	۱۰/۴۰ ± ۰/۳۲ ^a	۴/۷۴ ± ۰/۱۷ ^a	۲۴/۴۳ ± ۰/۷۳ ^b	Control
۲/۸۳ ± ۰/۰۵ ^c	۲۷/۵۵ ± ۰/۳۶ ^a	۶۷/۱۰ ± ۰/۳۵ ^b	۸/۶۳ ± ۰/۲۹ ^b	۴/۳۴ ± ۰/۱۴ ^b	۲۸/۲۰ ± ۰/۳۹ ^a	0.5% AEO
۴/۰۱ ± ۰/۱۸ ^b	۲۷/۸۲ ± ۱/۱۸ ^a	۶۶/۸۲ ± ۱/۱۸ ^b	۸/۷۶ ± ۰/۵۹ ^b	۴/۱۷ ± ۰/۲۳ ^b	۲۸/۴۸ ± ۱/۲۱ ^a	1% AEO
۷/۱۴ ± ۰/۱۵ ^a	۲۹/۰۹ ± ۰/۸۳ ^a	۶۵/۵۶ ± ۰/۸۳ ^b	۸/۲۵ ± ۰/۱۷ ^b	۴/۰۴ ± ۰/۱۷ ^b	۲۹/۷۰ ± ۰/۸۲ ^a	1.5% AEO

میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی کوچک متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم هستند ($P < 0.05$). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

جدول (۳) فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های سه جزئی FG/CMC/PG حاوی غلظت‌های مختلف AEO.
Table 3 Antimicrobial activity of FG/CMC/PG ternary films containing different amounts of AEO.

منطقه بازداري (میلی‌متر) Inhibition zone (mm)				فیلم
<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	Film
۰/۰۰ ^d	۰/۰۰ ^d	۰/۰۰ ^d	۰/۰۰ ^d	Control
۳/۶۷ ± ۰/۳۱ ^c	۳/۹۸ ± ۰/۴۷ ^c	۴/۸۰ ± ۰/۴۵ ^c	۴/۳۲ ± ۰/۲۱ ^c	0.5% AEO
۵/۲۰ ± ۰/۲۸ ^b	۵/۴۲ ± ۰/۴۱ ^b	۶/۱۷ ± ۰/۵۵ ^b	۵/۹۷ ± ۰/۳۸ ^b	1% AEO
۷/۷۱ ± ۰/۴۰ ^a	۸/۰۱ ± ۰/۸۵ ^a	۹/۵۰ ± ۰/۶۳ ^a	۸/۵۲ ± ۰/۴۶ ^a	1.5% AEO