



Physicochemical and antimicrobial properties of gelatin-carboxymethylcellulose-based edible film containing (*Foeniculum vulgare*) extract

Elham Ahmadi¹, Zahra kavyani² and Mohammadyar Hosseini^{*3}✉

¹ PhD in Food Science and Technology, Professor Department of Health and Food Industry, Faculty of Paraveterinary Medicine, Ilam University, Ilam, Iran

² Bachelor Student of food hygiene, Faculty of Paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran

³ Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Interdisciplinary Science and Technology, University of Bonab, Bonab, Iran

✉ Corresponding author: m.hosseini@ubonab.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 2025-02-07

Accepted: 2025-08-04

Published: 2025-08-05

Keywords:

Edible film, Carboxy methyl cellulose, Gelatin, Fennel

ABSTRACT

Background: In this study, the properties of a biodegradable active film based on gelatin and carboxymethyl cellulose (CMC) with different concentrations of fennel extract (*Foeniculum vulgare*) at 0%, 2%, 4%, and 6% (w/w) were investigated.

Aim: The aim was to develop edible films suitable for food packaging, offering a novel alternative to polymeric materials while enhancing the shelf life and quality of food products.

Methods: The physicochemical properties of the active films were evaluated in a completely randomized design with three replications (n=3). One-way analysis of variance (ANOVA) and mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at a significance level of $p < 0.05$, utilizing SPSS version 26.

Results: The lowest solubility and thickness were observed in the 6% and 4% treatments, respectively. The highest permeability and turbidity were recorded in the films containing 4% and 2% fennel extract, respectively. The highest tensile strength, elongation at break, and Young's modulus were found in the 4% treatment. All edible film treatments exhibited significant antioxidant activity based on the DPPH radical assay ($p < 0.05$). The lowest and highest antioxidant activities were observed in the control and 6% treatments, with values of 5% and 17%, respectively. Antimicrobial activity analysis showed that the largest inhibition zone at 6% concentration was against *Pseudomonas aeruginosa* with a mean diameter of 24.5 mm, followed by *Staphylococcus aureus* (13.83 mm) and *Escherichia coli* (12.33 mm).

Conclusion: Incorporating 6% fennel extract led to the production of films with desirable mechanical properties and improved antioxidant characteristics, while effectively inhibiting the growth and proliferation of bacteria.



Extended Abstract

Introduction: The use of edible films is rapidly expanding due to growing concerns about non-biodegradable packaging. Gelatin is a natural protein obtained from the hydrolysis of collagen and is widely used in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. In recent years, gelatin has been recognized as an effective material in the production of edible films. Unique properties such as degradability, stretchability, and biocompatibility lead to the use of gelatin in food coating and increase their shelf life. Using gelatin-based edible films not only helps maintain the freshness and quality of food but can also have antimicrobial and antioxidant properties. These properties make gelatin a suitable choice for packaging and preserving food products, especially in the field of creating protective coatings on fruits and vegetables. Carboxymethyl cellulose (CMC) is a cellulose derivative that has been widely used in various industries due to its unique properties such as water solubility, mechanical stability, and transparency. In the food industry, CMC is used as a base material for the production of edible films. These films can be used as protective coatings to maintain the freshness and shelf life of food products. The combination of carboxymethyl cellulose and gelatin has received widespread attention for the manufacture of edible films due to the complementary properties of these two materials. Such special properties make these films very effective for packaging and preserving food products, especially fruits and materials sensitive to moisture and oxidation. Fennel (*Foeniculum vulgare*) extract is known to be a rich source of bioactive compounds, including flavonoids, phenols, and essential oils. These compounds have significant antioxidant and antimicrobial properties that can be used in the food industry, especially in the production of edible films. The combination of gelatin-carboxymethyl cellulose and (*Foeniculum vulgare*) extract in the preparation of edible films is considered a new solution in the food industry. Due to the unique properties of each of these materials, this combination can produce edible films with useful and functional features.

Fennel is traditionally used for medicinal and culinary purposes. The entire plant is valuable in the medicinal industry; its enlarged base is used as a vegetable; its leaves are used for culinary purposes and its seeds as a spice and for essential oil extraction. The flowers and leaves are also used to make yellow and brown dyes. Fennel pollen is

the most potent form of fennel, but it is extremely expensive. In early Sanskrit writings, fennel was known as madhurika and its cultivation in India is thought to date back at least to 2000 BC. To the ancient Greeks, fennel represented success and was called 'marathon', after which the battle of Marathon (490 BC) was named when it was fought in a field of fennel. Fennel was also a symbol of success to the Romans and fennel leaves were used to crown victors in games. The English name fennel comes from Old English fennel, or finol, and fennel is one of the nine plants invoked in the pagan Anglo-Saxon Nine Herbs Charm recorded in a tenth-century manuscript. During the thirteenth century in England, fennel was considered a royal spice and was served to kings with fruit, bread, and dishes such as pickled fish seasoned with fennel seeds.

The chemical composition of fennel varies with morphotype, source, climate, and harvesting stage. Every 100 g edible portion of fennel seeds contains on average: 8.8 g water; 15.8 g protein; 14.9 g fat; 36.6 g carbohydrate; 15.7 g fibre; and 8.2 g ash (containing 1.2 g Ca, 19 mg Fe, 1.7 g K, 385 mg Mg, 88 mg Na, 487 mg P and 28 mg Zn). Every 100 g contains: vitamin A (135 IU); niacin (6 mg); thiamine (0.41 mg); and riboflavin (0.35 mg); with an energy value of about 1440 kJ. The seeds contain mucilage, sugars, starch, tannin, essential oil, and fixed oil (the main components of the fixed oil are petroselinic, oleic, linoleic, and palmitic acids). The variety and quantity of vitamins contained are variable: folates, 270 mg/kg; vitamin B3, 6.4 mg/kg; vitamin C, 8.7–340 mg/kg. Fennel contains potassium (4.24–5.85 g/kg), the most abundant mineral by far, with low amounts of phosphorus (500 mg/kg), calcium (5.6–363 mg/kg), magnesium (8.2–389 mg/kg) and sodium (7.7–512 mg/kg). The principal constituents of the essential oil extracted are anethole (50–60 %) and fenchone (15–20 %). The essential oil extracted is mainly composed of (E)-anethole, (Z)-anethole, and α -thujone compounds in fennel essential oil of which 18 constituted 96.04 % of the total essential oil, the major components being anethole (68 %), limonene (11 %), fenchone (3.7 %) and a few others. Approximately 45 constituents have been determined from fennel seed oil, the main constituents being trans-anethole (60–65 %, but up to 90 %), fenchone (2–20 %), estragole (methyl chavicol), limonene, camphene, α -pinene and other monoterpenes, ethyl alcohol and anisaldehyde. Small quantities of α -pinene, camphene, δ - α -phellandrene, dipentene, methyl chavicol, and p-

hydroxy phenyl acetone are also present. The main components of the fixed oil are petroselinic, oleic, linoleic and palmitic acids. Dried fennel seeds contain 0.6–6 % volatile oil.

The bulb, foliage, and seeds of the fennel plant are potential sources of different nutrients and thus all are widely used both raw and cooked in side dishes, salads, pastas, vegetable preparations, sausages, etc. Raw fennel bulb contains carbohydrates, dietary fibre, protein, vitamin B complex, vitamin C, and minerals. The fennel plant is aromatic and used as a pot herb. It is popularly used as a spice and as a vegetable, having many applications for flavoring and culinary purposes. The whole seed, powder, and oil are used as adjuncts for flavouring foods, as antioxidants and as a preservative in confectioneries and beverages. Fennel seeds are largely used to give flavour to a number of foods such as soups, sauces, pickles, breads and cakes. In industry, fennel is used for flavouring and aromatizing, and as an organoleptic flavour corrector, in non-alcoholic beverages, baked goods, condiments, ice creams and liqueurs such as Anisette, and as a seasoning for prepared meats such as hot pepperoni and sweet Italian sausages. The genus *Foeniculum* (fennel) belongs to the family Apiaceae and the order Apiales. Three main varieties have been described: *F. vulgare* Mill. var. *piperitum* (Ucria) Cout. (bitter fennel), *F. vulgare* Mill. var. *dulce* DC Batt. et Trab. (sweet fennel) and *F. vulgare* Mill. var. *azoricum* Thell. (Florence fennel, or finocchio). Bitter fennel is grown for its fruits and essential oil, whilst Florence fennel is cultivated for its fruits, essential oil, leaves (used for culinary purposes) and enlarged leaf base (eaten as a vegetable). Sweet fennel is cultivated for its enlarged leaf base, for its fruits and for the essential oil taken from its fruits.

In this study, the properties of a biodegradable active film based on gelatin and carboxymethyl cellulose with different concentrations of fennel extract (*Foeniculum vulgare*) (0%, 2%, 4%, and 6%) were investigated.

The purpose of this study is to produce suitable films for use in food packaging.

Material and Methods: The tests performed in this research were physicochemical tests, mechanical tests, and measurement of antioxidant properties and antimicrobial activity of edible films. All experiments were performed in three replicates (n=3) with completely random sampling. One-way analysis of variance (ANOVA) and the comparison of average data based on Duncan's multiple range test were performed using SPSS₂₆ software at a confidence level of 5%.

Results and discussion: The lowest solubility and thickness were observed in the 6% and 4% treatments, respectively. The highest permeability and turbidity were observed in the film treatments containing 4% and 2% (*Foeniculum vulgare*) extract, respectively. The highest tensile strength, elongation at break and Young's modulus were in the 4% treatment. In all edible film treatments, antioxidant properties using DPPH radicals were significant (p<0.05). The lowest and highest antioxidant activity was related to the control and 6% treatments, with antioxidant activities of 5% and 17%, respectively. The results of the evaluation of the antimicrobial activity of the film using the diffusion disk method showed that the largest diameter of the inhibition zone at a concentration of 6% was reported for *Pseudomonas aeruginosa* with an average diameter of 24.5 mm, followed by *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* with 13.83 mm and 12.33 mm, respectively.

Conclusion: The results showed that adding fennel extract at a concentration of 6% produced films that, in addition to inhibiting the growth and proliferation of bacteria, had desirable mechanical properties, improved the antioxidant properties of the composite film, and could also be used as a suitable coating for protecting food.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره رازیانه (*Foeniculum vulgare*)

الهام احمدی^۱، زهرا کاویانی^۲، محمدیار حسینی^{۳*}

^۱دکتری علوم و صنایع غذایی، مدرس گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۲دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۳دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم و فناوری‌های بین رشته‌ای، دانشگاه بناب، بناب، ایران

✉ m.hosseini@ubonab.ac.ir ID مسئول مکاتبه:

چکیده

مشخصات مقاله

زمینه مطالعاتی: در این پژوهش به بررسی ویژگی‌های فیلم فعال زیست تخریب پذیر بر پایه ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز با غلظت‌های مختلف عصاره رازیانه (*Foeniculum vulgare*) (۰، ۲، ۴ و ۶ درصد وزنی) پرداخته شد. هدف: بررسی تهیه فیلم‌های خوراکی قابل استفاده در بسته بندی مواد غذایی و فراوری جدیدی برای جایگزینی مواد پلیمری و افزایش ماندگاری و کیفیت مواد غذایی است. روش کار: ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فیلم‌های فعال تولیدی در سه تکرار (n=3) با نمونه گیری کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS²⁶ در سطح احتمال (۰/۰۵) انجام گرفت. نتایج: کمترین میزان حلالیت و ضخامت به ترتیب در تیمارهای ۶٪ و ۴٪ مشاهده شد. بیشترین نفوذ پذیری و کدورت به ترتیب در تیمارهای فیلم‌های حاوی ۴٪ و ۲٪ عصاره رازیانه مشاهده شد. بالاترین میزان استحکام کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست و مدول یانگ در تیمار ۴٪ درصد بود. در تمامی تیمارهای فیلم خوراکی خاصیت آنتی اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های DPPH معنی دار بود ($p < 0/05$). کمترین و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به تیمار شاهد و ۶٪ به ترتیب با فعالیت آنتی اکسیدانی ۵٪ و ۱۷٪ بود. نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی فیلم نشان داد که بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت ۶٪ مربوط به *Pseudomonas aeruginosa* با متوسط قطر هاله ۲۴/۵ mm و سپس *Staphylococcus*، *Escherichia coli aureus* به ترتیب ۱۳/۸۳mm و ۱۲/۳۳mm گزارش شد. نتایج کلی: افزودن عصاره رازیانه در غلظت ۶٪ باعث تولید فیلم‌هایی گردید که علاوه بر مهار رشد و تکثیر باکتری‌ها دارای خواص مکانیکی مطلوب موجب بهبود خصوصیات آنتی اکسیدانی فیلم ترکیبی شد.

نوع مقاله:

علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۴/۵/۱۳

انتشار: ۱۴۰۴/۵/۱۵

کلید واژه:

فیلم خوراکی، کربوکسی متیل سلولز، ژلاتین، رازیانه

مقدمه

فیلم‌های خوراکی، پوشش‌های نازکی هستند که از مواد خوراکی قابل مصرف ساخته شده‌اند و برای حفظ، بسته‌بندی محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این نوع فیلم‌ها به عنوان یک راهکار پایدار و نوآورانه در صنعت غذایی مطرح شده‌اند و نه تنها به حفظ تازگی و کیفیت غذا کمک می‌کنند، بلکه از نظر محیط‌زیستی نیز مزایای قابل توجهی دارند (Kumar, et al, 2022). ویژگی‌های بارز فیلم‌های خوراکی شامل قابلیت تجزیه‌پذیری و خاصیت ضد میکروبی آنهاست که به کاهش آلودگی‌های پلاستیکی کمک می‌کند. این فیلم‌ها می‌توانند از مواد طبیعی مانند نشاسته، پروتئین‌ها و لیپیدها ساخته شوند که به آنها ماندگاری بیشتری می‌بخشد و در برابر میکروارگانیسم‌ها مقاوم‌تر می‌کند (Zhao, et al, 2021). با توجه به رشد نگرانی‌ها در مورد بسته‌بندی‌های غیرقابل تجزیه، استفاده از فیلم‌های خوراکی به سرعت در حال گسترش است. ژلاتین یک پروتئین طبیعی است که از هیدرولیز کلاژن به دست می‌آید و به طور گسترده در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در سال‌های اخیر، ژلاتین به عنوان یک ماده مؤثر در تولید فیلم‌های خوراکی شناخته شده است. ویژگی‌های منحصر به فردی مانند قابلیت تجزیه‌پذیری، قابلیت کشش و زیست‌سازگاری، منجر به استفاده از ژلاتین در پوشش‌دهی مواد غذایی و افزایش ماندگاری آنها می‌شود (Khan, et al, 2022).

ژلاتین به دلیل وجود اسیدهای آمینه خاص مانند گلیسین، پرولین و هیدروکسی پرولین که در ساختار کلاژن (ماده اولیه ژلاتین) یافت می‌شوند، می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کند. این ترکیبات قادرند رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و از بروز استرس اکسیداتیو در مواد غذایی جلوگیری کنند. همچنین، پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از هیدرولیز ژلاتین (با وزن مولکولی پایین) می‌توانند با اتصال به یون‌های فلزی کاتالیزور اکسیداسیون (مانند آهن و مس) و مهار پراکسیداسیون لیپیدها، نقش آنتی‌اکسیدانی ایفا نمایند (González-García, et al, 2023).

(et al, 2018). کربوکسی‌متیل سلولز (CMC^1) یک مشتق سلولز است که به خاطر ویژگی‌های منحصر به فرد خود مانند قابلیت حل‌پذیری در آب، پایداری مکانیکی و شفافیت، به طور گسترده در صنایع مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. در صنعت غذایی، CMC به عنوان یک ماده پایه برای تولید فیلم‌های خوراکی به کار می‌رود. این فیلم‌ها می‌توانند به عنوان پوشش‌های محافظ جهت حفظ تازگی و ماندگاری محصولات غذایی استفاده شوند (Mekonnen, et al, 2023). یکی از مهم‌ترین مزایای استفاده از کربوکسی‌متیل سلولز در فیلم‌های خوراکی، قابلیت کنترل اکسیژن است که به جلوگیری از اکسیداسیون و افزایش ماندگاری مواد غذایی کمک می‌کند. همچنین کربوکسی‌متیل سلولز می‌تواند به همراه دیگر مواد طبیعی ترکیب شود تا ویژگی‌های عملکردی مانند مقاومت در برابر رطوبت و خاصیت ضد میکروبی را بهبود بخشد، که این امر در نگهداری و حفظ کیفیت مواد غذایی بسیار مؤثر است (Zhang, et al, 2024). با وجود در دسترس بودن و هزینه پایین CMC، مشکل اصلی پوشش‌های CMC، مهار نسبتاً ضعیف آن در برابر بخار آب است (Yoo & Krochta, 2011).

ترکیب کربوکسی‌متیل سلولز (CMC) و ژلاتین برای ساخت فیلم‌های خوراکی به دلیل خصوصیات مکمل این دو ماده، به طور گسترده مورد توجه قرار گرفته است. کربوکسی‌متیل سلولز به دلیل خواص مکانیکی مطلوب و قابلیت حل‌پذیری در آب و ژلاتین به علت خاصیت تشکیل ژل و قابلیت کشش، در کنار هم ترکیبی ایده‌آل برای ایجاد فیلم‌های خوراکی با کیفیت را فراهم می‌کنند (Wang, et al, 2023). این فیلم‌های ترکیبی نه تنها از خواص حفاظتی و ماندگاری بهتری برخوردار هستند، بلکه می‌توانند خصوصیات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی تقویت‌شده‌ای داشته باشند. چنین خصوصیات ویژه‌ای باعث می‌شود که این فیلم‌ها برای بسته‌بندی و حفظ محصولات غذایی، به خصوص میوه‌ها و مواد حساس به رطوبت و اکسیداسیون، بسیار مؤثر باشند (Liu, et al, 2024).

¹ Carboxymethyl Cellulose

عصاره رازیانه (*Foeniculum vulgare*) به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی، از جمله فلاونوئیدها، فنول‌ها و روغن‌های ضروری شناخته شده است. این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجهی هستند که می‌توانند در صنعت غذایی به ویژه در تولید فیلم‌های خوراکی به کار گرفته شوند (Mansouri, et al, 2023). ترکیبات اصلی عصاره رازیانه را شامل ترانس-آنثول، فنکون و متیل کایکول می‌باشد. این اثر آنتی‌اکسیدانی عمدتاً ناشی از توانایی ترکیبات موجود در عصاره در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و مهار واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون است (Rather, et al, 2016).

استفاده از عصاره رازیانه در فیلم‌های خوراکی به دلیل توانایی آن در افزایش ماندگاری و بهبود ویژگی‌های عملکردی این فیلم‌ها مورد توجه قرار گرفته است. فیلم‌های خوراکی حاوی عصاره رازیانه به دلیل خاصیت ضد میکروبی می‌توانند در کاهش آلودگی‌های باکتریایی و حفظ تازگی و کیفیت مواد غذایی مؤثر باشند (Khan, et al, 2024). همچنین، خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره رازیانه نه تنها به افزایش عمر مفید مواد غذایی کمک می‌کند، بلکه سبب ایجاد طعم و عطر طبیعی می‌شود. بادگوچار (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای نشان داد که عصاره رازیانه حاوی ترکیبات فعال اصلی شامل آنثول (۸۰-۹۰٪)، فنکون، استراگول و لیمونن است. در ارزیابی اثرات ضدقارچی، عصاره رازیانه فعالیت قابل توجهی علیه قارچ‌های *Aspergillus flavus* و *Penicillium expansum* با حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) در محدوده ۰/۵ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد این اثرات عمدتاً به دلیل اختلال در ساختار غشای سلولی قارچ‌ها توسط ترکیبات فنلی مانند آنثول است. تومینو و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضدکپکی عصاره رازیانه را علیه ۵ گونه کپک غذای پرداختند. نتایج نشان داد که عصاره در غلظت ۱۰٪ بیشترین اثر را علیه *Botrytis cinerea* با ایجاد منطقه مهار رشد به قطر ۲۲ میلی‌متر دارد. همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با مقدار $IC_{50}=38\mu g/ml$ در آزمون DPPH تأیید شد.

میگل و همکاران (۲۰۱۰) ترکیبات فلاونوئیدی عصاره رازیانه از جمله کوئرستین و کامپفرول را شناسایی کردند. نتایج نشان داد که عصاره می‌تواند تشکیل مالون دی آلدئید را در مدل گوشت چرخ کرده تا ۶۰٪ کاهش دهد. مکانیسم این اثر آنتی‌اکسیدانی، خنثی‌سازی رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل گزارش شد. ترکیبات فعال رازیانه مانند آنثول، فنکون و فلاونوئیدها مسئول اصلی اثرات ضدکپکی (از طریق اختلال در غشای سلولی و متابولیسم قارچ‌ها) و آنتی‌اکسیدانی (از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد) هستند. این مطالعات کاربردهای بالقوه عصاره رازیانه را در صنایع غذایی به عنوان یک ماده طبیعی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان تأیید می‌کنند. ترکیب ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز و عصاره رازیانه در تهیه فیلم‌های خوراکی به عنوان یک راهکار نوین در صنایع غذایی مطرح است. این ترکیب به دلیل خواص منحصر به فرد هر یک از این مواد، می‌تواند فیلم‌های خوراکی با ویژگی‌های مفید و کاربردی تولید کند. از جمله ویژگی‌های این فیلم‌های ترکیبی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: خواص مکانیکی مناسب، حفاظت از مواد غذایی، امکان افزودن طعم و عطر محصولات طبیعی و سازگار با محیط زیست، قابلیت خوردن (Zhang, et al, 2021, Ajibola & Dash & Swain, 2020, Sulaimon, 2022). امروزه استفاده از ترکیب ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز در صنایع مختلف مورد توجه قرار گرفته و در موارد مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد اما با توجه به اینکه ترکیب ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز همراه با عصاره رازیانه کمتر مورد پژوهش قرار گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر عصاره رازیانه بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی فیلم خوراکی ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

ژلاتین، کربوکسی متیل سلولز و مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت سیگما آلدریج (آمریکا) می‌باشند.

عصاره رازیانه (*Foeniculum vulgare*) هم از پژوهشکده گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام تهیه شد.

استخراج عصاره آبی:

روش استخراج عصاره رازیانه به روش خیساندن (Maceration):

ابتدا ۵۰ گرم از پودر دانه‌های رازیانه را با ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال آب مقطر (یا اتانول ۷۰٪ برای استخراج کارآمدتر) در یک فلاسک شیشه‌ای درب‌دار مخلوط کرده و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و دور از نور قرار داده و هر ۶ ساعت یکبار همزدن ملایم انجام می‌شود. پس از اتمام زمان استخراج، مخلوط را از کاغذ صافی واتمن یک نرمال عبور داده و با فشار دادن باقیمانده، عصاره حاصل را جدا می‌کنیم. سپس عصاره فیلترشده را به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰rpm قرار داده تا ذرات معلق کاملاً جدا شوند. در نهایت، عصاره شفاف حاصل را با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور در دمای کنترل‌شده ۴۰ درجه سانتی‌گراد تحت خلأ تغلیظ نموده و میزان حجم نهایی را به یک دهم حجم اولیه می‌رسانیم. عصاره تغلیظ‌شده در ظروف شیشه‌ای تیره و در شرایط دور از نور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود تا از تخریب ترکیبات موثره جلوگیری شود. این روش به دلیل حفظ ترکیبات حساس به حرارت و سهولت اجرا، یکی از متداول‌ترین روش‌های استخراج در مطالعات گیاه‌شناسی محسوب می‌شود.

تهیه فیلم ترکیبی

برای تهیه محلول ژلاتین، پودر ژلاتین (۳ درصد وزنی/حجمی) و گلیسرول (۳۰ درصد وزنی/وزنی پودر ژلاتین) به آب دیونیزه اضافه و با یک هم‌زن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۲۴۰۰ RPM هم‌زده شد (NurHanani, et al, 2012). برای تهیه سوسپانسیون آبی کربوکسی‌متیل سلولز، ۲ درصد (وزنی/حجمی) پودر کربوکسی‌متیل سلولز و گلیسرول (۳۰ درصد وزنی/وزنی پودر کربوکسی‌متیل سلولز) با آب دیونیزه مخلوط شد. این سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۹۰ درجه سلسیوس نگهداری و هم‌زده شد (Oluwaseun, et

al, 2013). پوشش ژلاتین-کربوکسی‌متیل سلولز با مخلوط کردن ۴۰ گرم ژلاتین، ۱۰ گرم کربوکسی‌متیل سلولز و ۰/۱٪ توئین ۸۰ (۳۰ درصد وزنی/وزنی مواد پلیمری) در یک لیتر آب تهیه شد و به مدت ۴ دقیقه هم‌زده شد. سپس مخلوط در دمای ۲۵-۳۵ درجه سلسیوس خنک شد. عصاره با غلظت‌های (۲، ۴ و ۶ درصد وزنی) به مخلوط اضافه و به مدت ۲ دقیقه هم‌زده شد. در مرحله بعد، ۱۰ میلی‌لیتر از این مخلوط به پتری‌دیش پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتی‌متر اضافه و به مدت ۱ ساعت زیر هود تحت خلأ قرار داده شد. سپس به یک آون فن‌دار منتقل و به مدت ۲۰ ساعت نگهداری شد. در مرحله پایانی، فیلم‌های خشک در دسیکاتور در دمای محیط جهت انجام آزمایش قرار گرفتند.

آزمون‌ها

اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

تعیین ضخامت فیلم‌ها برای آزمایشات مکانیکی، نفوذ پذیری به بخار آب و خواص نوری امری ضروری می‌باشد. ضخامت فیلم‌های تولیدی توسط میکرومتر (Mitutoyo ژاپن) با دقت نزدیک به ۰/۰۰۰۱ میلی‌متر و در ۱۰ نقطه مختلف از هر نمونه اندازه‌گیری شد و در نهایت مقدار میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین قدرت کششی، نفوذ پذیری به بخار آب و کدورت استفاده گردید (Khanzadi 2015).

حلالیت

برای تعیین حلالیت، ابتدا تکه‌های فیلم به ابعاد (۲cm×۲cm) برش داده شد و در ۵۰ سی‌سی آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت با هم‌زن مغناطیسی هم‌زده شد. سپس فیلم‌ها با استفاده از کاغذ صافی که قبلاً در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به وزن ثابت رسیده بود، صاف شده و توزین شد (Hosseini, et al, 2023) A. کاغذ صافی همراه با نمونه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از رسیدن به وزن ثابت مجدداً توزین شد B. در نهایت، میزان حلالیت فیلم‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\frac{(A - B)}{A} \times 100$$

اندازه‌گیری ویژگی‌های نوری

برای تعیین ویژگی‌های نوری فیلم‌ها از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu ژاپن) با طیف کامل استفاده شد. نمونه‌های فیلم به ابعاد 9×40 میلی‌متر بریده شده و داخل سلول اسپکتروفوتومتر قرار گرفتند. یک سلول خالی نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان عبور نور در طول موج‌های مختلف و همچنین جذب نور در طول موج 500 نانومتر بررسی شد (Hosseini, et al, 2023). برای اندازه‌گیری کدورت فیلم از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{کدورت} = \frac{\text{میزان جذب}}{\text{ضخامت}}$$

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (تراوش پذیری)

نفوذپذیری نسبت به بخار آب به روش وزن سنجی انجام شد (ASTM-E96-95, 1995). در یک ظرف 14 میلی لیتری، 10 میلی لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم‌های مورد بررسی با مساحت $1/5$ سانتی متر مربع درب بندی شد. بطری دربندی شده ابتدا توزین گردید و در محفظه دارای سیلیکاژل با میزان رطوبت نسبی و دمای مشخص قرار گرفت. هر 12 ساعت و به مدت 3 روز توزین ظرف انجام شد. سپس نمودار تغییرات وزن ظرف در برابر زمان رسم شد. شیب آن محاسبه و میزان نفوذپذیری نسبت به رطوبت با فرمول زیر محاسبه شد (Hosseini, et al, 2023).

$$WVP2(gm^{-1}pa^{-1}s^{-1}) = \frac{W \times X}{A \times t \times \Delta p}$$

ویژگی‌های مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم‌ها شامل قدرت کششی (مگاپاسکال)، افزایش طول تا نقطه شکست (درصد) و مدول یانگ (مگاپاسکال) می‌باشد. این ویژگی‌ها بر اساس استاندارد ASTM D882-00 (ASTM, 2000) و با استفاده از دستگاه بافت سنج محاسبه شد. ابتدا فیلم‌ها به Stable Micro TA-Plus TA.XT.PLUS (System) انگلستان ابعاد $25/4$ میلی متر عرض 75 میلی متر طول بریده شد. سپس بین دو فک

دستگاه بافت سنج با فاصله اولیه $50mm$ و سرعت حرکت فک $0/8$ میلی متر بر ثانیه قرار داده شدند و ویژگی‌های مکانیکی شامل قدرت کششی، درصد افزایش طول تا نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در 100) و هم چنین مدول یانگ از روی منحنی نیرو بر حسب تغییر شکل محاسبه گردید (Fallah, et al, 2021).

خواص آنتی اکسیدانی

این روش یکی از روش‌های مرسوم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می باشد. این روش مبتنی بر به دام اندازی میزان رادیکال‌های آزاد ماده‌ای به نام دی فنیل اِپیکریل هیدرازیل (DPPH) با استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که سبب کاهش میزان جذب در طول موج 517 نانومتر می‌شود. موقعی که محلول با ماده‌ای که می‌تواند دهنده اتم هیدروژن باشد مخلوط می‌شود فرم احیای رادیکال تشکیل می‌شود که همراه با کاهش رنگ می‌باشد. این واکنش سبب از بین رفتن رنگ بنفش می‌شود که شاخص آن تشکیل بانده جذب در 517 نانومتر می‌باشد. فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های ژلاتین توسط تغییر رنگ رادیکال DPPH از بنفش به هیدرازین‌های زرد رنگ اندازه‌گیری شد. برای این منظور 30 میلی گرم از هر فیلم در نسبت‌های برابر آب مقطر و متانول (نسبت 3 به 3) حل شد. پس از حل شدن تمام فیلم‌ها، به مدت 15 دقیقه با 4000 rpm سانتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به مدت 12 ساعت در دمای 4 درجه سلسیوس نگه‌داشته شد (۱ شب استراحت) و دوباره به مدت 15 دقیقه با دور 4000 سانتریفوژ شد. سپس 1 میلی لیتر از قسمت رویی محلول سانتریفوژ شده هر فیلم با 4 میلی لیتر محلول $0/1$ میلی مولار متانولی DPPH مخلوط شد و به مدت 30 دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب هر یک در 517 نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (As) به عنوان شاهد، 1 میلی لیتر از محلول آب و متانول (3 میلی لیتر آب مقطر + 3 میلی لیتر متانول) با 4 میلی لیتر محلول $0/1$ میلی مولار متانولی به مدت 30 دقیقه در انکوباتور (Mmmetr آلمان)

Table 1. Edible films treatments

Treatment	Fennel (%)
1	0
2	2
3	4
4	6

نتایج و بحث

خواص فیزیکی فیلم‌ها (حلالیت، کدورت، نفوذپذیری، ضخامت)

نتایج حاصل از حلالیت، نفوذپذیری به بخار آب، کدورت و ضخامت در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان حلالیت در تمام غلظت‌های عصاره مورد استفاده (رازینانه) معنی‌دار بود ($p < 0.05$). بیشترین میزان حلالیت مربوط به تیمار شاهد (۰٪) درصد با ۶۵/۹۳٪ حلالیت می‌باشد و با افزایش غلظت عصاره رازینانه در تیمار ۴٪ و ۶٪ حلالیت به ترتیب به ۵۵/۹۱٪ و ۴۴/۱۹٪ کاهش یافت. حلالیت فیلم‌ها با گروه‌های هیدروکسیل (OH) موجود در پلیمر مرتبط است که می‌تواند پیوندهای هیدروژنی بین اجزا برقرار کند. به دلیل ماهیت آبدوست ژلاتین و فراوانی گروه‌های (OH) در مولکول‌های ژلاتین میل ترکیبی زیادی با مولکول‌های آب دارد. ولی ترکیب ژلاتین با کربوکسی متیل سلولز کاهش حلالیت آب را نشان داد که می‌تواند به دلیل برهمکنش‌های هیدروژن بین مولکولی بین گروه‌های آبدوست موجود در کربوکسی متیل سلولز-ژلاتین باشد (Bakhshandeh, et al, 2017). همچنین عصاره رازینانه با پروتئین‌های موجود در ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز تعامل ایجاد کند، که این موضوع می‌تواند منجر به ایجاد شبکه‌های قوی‌تر در فیلم و در نتیجه کاهش حلالیت شود. این نوع تعاملات شامل پیوندهای هیدروژنی می‌باشد که می‌تواند ساختار فیلم را تقویت کند. عصاره رازینانه، معمولاً حاوی روغن‌های ضروری است که خاصیت آب‌گریزی دارند. وجود این ترکیبات می‌تواند نفوذپذیری آب را در فیلم کاهش دهد و به همین دلیل حلالیت فیلم را تحت تأثیر قرار دهد (González, et al, 2023). افزایش غلظت عصاره رازینانه می‌تواند منجر به افزایش ویسکوزیته و کاهش حلالیت فیلم

در دمای اتاق نیز نگهداری شد. جذب آن در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) اندازه‌گیری شد (Ekrami, et al, 2019).

(Ab) در نهایت فعالیت مهار رادیکال مطابق معادله زیر محاسبه شد.

DPPH scavenging activity(%)

$$= \frac{(A_b - A_s)}{A_b} \times 10$$

فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های ترکیبی (ژلاتین/کربوکسی متیل سلولز/ عصاره رازینانه)

برای تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها از روش انتشار دیسک آگار بر روی باکتری‌های مدل شامل /شرشیاکلا، /استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس استفاده شد. سویه‌های استاندارد /شرشیاکلا (ATCC 25922)، /استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) و سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853) از بانک‌های میکروبی تهیه شده و در محیط کشت مولر هیتون براث در دمای ۳۷ °C کشت داده شدند. سپس سوسپانسیون باکتریایی با غلظت ۰/۵ مک فارلند (تقریباً ۱۰^۸ CFU/mL) تهیه و برای آزمون انتشار دیسک استفاده شد. برای این منظور، ۱۰۰ μl ۱۰^{-۶}cfu/g از هر یک از سوسپانسیون‌های باکتریایی به صفحات محیط کشت مولر هیتون آگار تلقیح شد. سپس دیسک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر از هر فیلم برش داده و بر روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. صفحات به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت، قطر مناطق مهار رشد (میلی‌متر) برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اندازه‌گیری شد (Momeni, et al, 2024).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار (n=۳) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی مطابق جدول ۱ انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS26 در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

شود. به عبارت دیگر، در غلظت‌های بالا، نسبت ترکیبات هیپوفیلی ممکن است افزایش یافته و شبکه‌های قوی‌تری تشکیل دهد که حلالیت را کاهش می‌دهد (Bakhshandeh, et al, 2017). فتح الله زاده و همکاران (۱۳۹۸) طی تحقیقی نشان دادند که افزودن عصاره کرفس در فیلم‌های خوراکی بر پایه ژلاتین - کربوکسی متیل سلولز منجر به افزایش حلالیت فیلم‌ها شده است، که این امر می‌تواند ناشی از کاهش پیوندهای بین مولکولی در ساختار فیلم باشد، که با نتیجه بدست آمده از این مطالعه مغایرت دارد.

کدورت به معیاری از شفافیت اشاره دارد که به واسطه حضور ذرات معلق یا حل نشده در مایع ایجاد می‌شود. در فیلم‌های خوراکی و پوشش‌های زیست تخریب پذیر، کدورت نقش مهمی در ظاهر و پذیرش حسی محصولات غذایی ایفا می‌کند. مقایسه میزان کدورت فیلم‌های تولیدی در جدول ۲ نشان داد که اختلاف معنی داری در تمام غلظت‌ها وجود دارد ($p < 0.05$). در فیلم ترکیبی با افزایش غلظت ۲٪ از ۰/۳۳ درصد به ۰/۷۳ افزایش یافت که بیشترین کدورت مربوط به این غلظت بود، برهمکنش بهتر عصاره و ساختار پلیمر سبب کاهش پراکندگی و افزایش کدورت فیلم شد. رنگ فیلم‌های شاهد، بی‌رنگ و شفاف است و با افزودن مقدار عصاره، رنگ آن تغییر می‌کند. این تغییر رنگ و افزایش کدورت به تجمع ترکیبات فنولی موجود در عصاره نسبت داده می‌شود که در نهایت به یک رنگ سبز روشن تغییر رنگ داد (Smith, & Brown, 2020). در مطالعه روزبهرانی و همکاران (۱۴۰۲)، افزودن عصاره چای سبز به فیلم‌های خوراکی به طور قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش کدورت فیلم‌ها شد. این افزایش کدورت به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی و سایر مواد محلول در عصاره چای است که به ساختار فیلم اضافه می‌شوند و باعث ایجاد ذرات معلق بیشتری در ماتریس فیلم می‌شوند. طبق جدول ۲ در غلظت ۴٪ کدورت کاهش یافت. این کاهش می‌تواند در نتیجه جذب نور توسط ترکیبات فنولی موجود در عصاره رازیانه باشد.

ضخامت فیلم یکی از عوامل کلیدی در تعیین عملکرد و ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌ها محسوب می‌شود. ضخامت به غلظت مواد، مقدار محلول اولیه در واحد سطح و سرعت

ریختن روی سطح و همچنین تحت تاثیر افزودن ترکیبات مختلف نظیر امولسیفایرها، پلاستیسایزرها و نیز افزودنی‌هایی مثل اسانس‌ها است. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شد ضخامت در تمام تیمارها معنی‌دار بود ($p < 0.05$). با افزایش درصد غلظت عصاره تا ۲٪ ضخامت فیلم‌ها از ۰/۸۱ میلی لیتر به ۰/۸۷ میلی لیتر کاهش یافت. کاهش ضخامت معمولاً ناشی از تأثیرات هیدروژلی که عصاره رازیانه ایجاد می‌کند و همچنین خاصیت رقیق‌کنندگی آن است. ترکیبات فعال موجود در عصاره رازیانه می‌توانند با ساختار پلیمری کربوکسی متیل سلولز تعامل داشته باشند و منجر به تشکیل شبکه‌ای همگن و متراکم‌تر شده و در نتیجه ضخامت کلی فیلم را کاهش دهند. در تطابق نتیجه به دست آمده، تحقیق انجام شده توسط ژانگ و همکاران (۲۰۲۲) حاکی از آن است که افزودن عصاره گیاهی موجب کاهش ضخامت فیلم‌های خوراکی به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر عصاره می‌شود (Zhang, et al, 2022). طبق نتیجه به دست آمده از مطالعات سوتیسلاوا و همکاران (۲۰۱۹)، افزودن عصاره زردچوبه به فیلم‌های خوراکی بر پایه ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز تأثیر قابل توجهی بر ضخامت فیلم‌ها داشت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره زردچوبه، ضخامت فیلم‌ها به طور معناداری افزایش یافت. که این نتیجه برخلاف نتیجه به دست آمده از این پژوهش بود (Sothiselvam, et al, 2019). اندازه‌گیری نفوذپذیری آب در فیلم‌های خوراکی از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که این ویژگی تأثیر مستقیم بر عملکرد، خصوصیات نگهداری و کیفیت نهایی محصولات غذایی دارد. نفوذپذیری آب به عنوان معیاری برای جلوگیری از ورود رطوبت به فیلم یا خروج رطوبت از آن شناخته می‌شود. این ویژگی می‌تواند به حفظ تازگی، جلوگیری از فساد و افزایش عمر انبارداری مواد غذایی کمک کند (Banik, et al, 2018). نتایج نفوذپذیری در جدول ۱ در تمامی غلظت‌ها نفوذپذیری افزایش معناداری داشت ($p < 0.05$). بیشترین نفوذپذیری در تیمار ۴٪ با ۴/۳ بود. این افزایش نفوذپذیری در فیلم‌های خوراکی بر پایه ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز با افزودن عصاره رازیانه ممکن است ناشی از ترکیبات شیمیایی آن باشد که می‌تواند ساختار پلیمر را تغییر دهد و فاصله بین

زنجیره‌های پلیمر را افزایش دهد. همچنین، سست شدن ساختار فیلم به واسطه افزودن عصاره و ایجاد حفره‌های میکروسکوپی موجب افزایش نفوذپذیری بخار آب می‌شود. در مطالعه فتحي و همکاران (۱۴۰۰)، افزودن عصاره رزماری به فیلم‌های خوراکی بر پایه ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز به طور معناداری باعث کاهش نفوذپذیری بخار آب این فیلم‌ها شد. که این

موضوع در مغایرت با نتیجه به دست آمده از این پژوهش بود (Fathi, et al, 2024). مشابه نتیجه به دست آمده در مطالعه‌ای که توسط شهباز و همکاران (۱۴۰۰) انجام شد، افزودن عصاره چای سبز به فیلم‌های خوراکی بر پایه ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز منجر به افزایش نفوذپذیری بخار آب شد (Shahbaz, et al, 2021)

Table 2. Physical properties of edible films

Treatment	Solubility(%)	Permeability($\text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$)	Turbidity(%)	Thickness(mm)
0%	65.39±1.06a	1.6±0.2d	0.33±0.015d	0.81±0.015a
2%	61.67±0.68b	2.5±0.2c	0.73±0.02a	0.087±0.004d
4%	55.91±0.73c	4.3±0.2a	0.43±0.01c	0.12±0.15c
6%	44.19±1.76d	3.56±0.21b	0.57±0.01b	0.15±0.01b

The results in the table have reported as mean $\pm$ standard deviation of triplicate analysis. Different words in the same row represent significant difference at 5 % ($p < 0.05$).

آزمون مکانیکی

خصوصیات مکانیکی پلیمرهای مرکب تأثیر تعاملات بین ترکیبات آنها می باشد. برقراری تعاملات موثر میان اجزا می‌تواند به طور قابل توجهی ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها را بهبود بخشد. همچنین، تأثیر عصاره‌ها بر ویژگی‌های مکانیکی این فیلم‌ها به ویژگی‌های عصاره و توانایی آن در تشکیل پیوند با بیوپلیمرها بستگی دارد. این تعاملات می‌توانند موجب تقویت ساختار و بهبود خواص مکانیکی فیلم‌ها شوند. تست‌های کششی یکی از مهم‌ترین روش‌های ارزیابی خواص مکانیکی فیلم‌های خوراکی هستند. این تست‌ها به سنجش مقاومت فیلم در برابر نیروهای کششی، مدول کشسانی، و میزان انعطاف‌پذیری آن کمک می‌کنند. در این آزمایش، فیلم تحت نیروی کشش تا زمان پارگی قرار می‌گیرد و پارامترهایی چون مقاومت کشش (Tensile Strength)، مدول یانگ (Young's Modulus) و میزان افزایش طول تا نقطه شکست (Elongation at Break) اندازه گیری شد. با افزایش برهمکنش‌های میان مولکولی، همچون پیوندهای هیدروژنی و مقاومت مکانیکی فیلم‌ها بهبود می‌یابد (Brindle & Krochta, 2008). نتایج حاصل از آزمون‌های مکانیکی ترکیب

فیلم ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز با غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در جدول ۳ آمده است. نتایج آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری از آزمون‌های افزایش طول در نقطه شکست، مقاومت کششی و مدول یانگ را نشان داده است ($p < 0.05$). میزان افزایش طول تا نقطه شکست (کشش‌پذیری) در عدم حضور غلظت عصاره رازیانه حداقل مقدار را دارا می باشد (۲۷٪) و با افزایش غلظت عصاره رازیانه تا ۴٪ در محیط این پاسخ به بیشترین مقدار خود (۳۷٪) می‌رسد، که می‌تواند به علت اثرات ترکیبات فعال مانند فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها باشد. این ترکیبات می‌توانند به تقویت پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره‌های پلیمری کمک کرده و موجب افزایش نرمش‌پذیری فیلم شوند. همچنین، افزایش رطوبت ناشی از عصاره، باعث بهبود انعطاف‌پذیری و کاهش استرس مکانیکی در فیلم می‌شود (Shen, et al, 2020). درصد کشش پذیری نیز با افزایش غلظت عصاره تا ۴٪ افزایش معنی‌داری مشاهده شد. در غلظت ۶٪ عصاره، توزیع ذرات همگن‌تر و ساختار محکم‌تر و فشرده‌تر شده و ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی بجای پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی میزان درصد افزایش طول کاهش می‌یابد (۲۸٪). بیشترین مقاومت به کشش مربوط

به غلظت ۴٪ با (۷/۴۷) مگاپاسگال مشاهده شد. در همه نمونه‌ها پلاستی سایزر روغنی باعث افزایش حجم آزاد در نمونه می‌گردد و باعث افزایش مقاومت می‌شود ولی با افزایش بیشتر عصاره در غلظت ۶٪ به (۶/۶۶) مگاپاسگال کاهش یافت. این کاهش می‌تواند به تجمع ترکیبات فعال و بارگذاری بیش از حد در فیلم‌ها باشد. این امر می‌تواند منجر به ایجاد عدم توازن در ساختار فیلم، کاهش پیوندهای مؤثر بین زنجیره‌های پلیمری و در نتیجه کاهش خواص کشسانی شود. همچنین، آب‌دوستی بالای عصاره در غلظت‌های بالا ممکن است منجر به جذب زیاد آب و شکل‌گیری یک ساختار شکننده‌تر گردد (Santos, et al, 2017). در همین راستا، نتایج پژوهش میرزایی و همکاران (۱۴۰۳) نشان داد که افزودن عصاره زعفران در غلظت‌های پایین می‌تواند موجب بهبود خواص کشش‌پذیری و مقاومت در برابر رطوبت فیلم‌ها شود؛ اما با افزایش مقدار

عصاره، کشش‌پذیری به دلیل افزایش غلظت ترکیبات لیگنینی و دیگر ترکیبات فعال کاهش یافت. این امر به دلیل اثرات منفی تجمع مواد فعال بر پیوندهای پلیمری می‌باشد (Mirzaei, et al, 2023). افزایش مدول یانگ می‌تواند تحت تاثیر تجمع مواد افزودنی در غلظت‌های بالا منجر به ایجاد شبکه‌های سفت‌تری شود. همچنین، افزودن مواد فعال که قابلیت ایجاد پیوندهای قوی‌تری بین زنجیره‌های پلیمری دارند، می‌تواند سختی فیلم را افزایش دهد. علاوه بر این، کاهش محتوای رطوبتی فیلم، بهبود خواص کششی و افزایش مدول یانگ را به دنبال دارد. نهایتاً، تغییرات در ساختار میکروسکوپی و ایجاد زنجیره‌های متراکم‌تر و منظم‌تر نیز می‌تواند به افزایش مدول یانگ کمک کند. ماهیت روغنی گلیسرول و نسبت سطح به حجم بالای آن در غلظت ۴٪ باعث افزایش حجم فضای خالی بین زنجیره‌ها می‌شود و مدول یانگ افزایش می‌یابد.

Table 3. mechanical properties of edible films

Treatment	Tensile strength(Mpa)	%Elongation at break	Young modulus(Mpa)
0%	3.2±0.61c	27.35±1.02c	64.76±0.2c
%2	5.4±0.36b	31.54±0.76b	88.71±1.22a
%4	7.47±0.37a	37.1±2.24a	93.43±2.6a
%6	6.66±0.28a	28.76±0.65c	73.63±4.2b

Theresults in the table have reported as mean ±standard deviation of triplicate analysis. Different words in the same row represent significant difference at 5 % ($p < 0.05$).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

شکل ۱ نمودار حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها در غلظت‌های مختلف عصاره رازیانه را نشان می‌دهد که در تمامی غلظت‌ها به صورت معنی‌دار بوده و با افزایش درصد عصاره، قدرت مهار رادیکال تیمارها نسبت به فیلم شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). بیشترین ترکیب آنتی‌اکسیدانی در عصاره رازیانه (*Foeniculum vulgare*) آنتول (*Anethole*) است. آنتول دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است که می‌تواند به محافظت از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو کمک کند. علاوه بر آنتول، ترکیبات دیگری مانند

فلاونوئیدها (مانند لوتئولین و کائرسالین) و تربین‌ها (مانند فیل پروپیلاست) نیز در عصاره رازیانه موجود هستند و می‌توانند به اثرات آنتی‌اکسیدانی آن کمک کند (Kaur & Arora, 2020). کمترین و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در فیلم شاهد (۵٪) و فیلم ترکیبی در غلظت ۶٪ رازیانه (۱۷٪) به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رازیانه می‌باشد. فیلم خوراکی ژلاتینی نسبت به کربوکسی متیل سلولز در کنترل اکسیداسیون دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری می‌باشد. ژلاتین به دلیل وجود اسیدهای آمینه خاص مانند گلیسین و پرولین می‌تواند خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشد، چراکه این ترکیبات قادر

فعالیت ضد میکروبی

توانایی مهار یا جلوگیری از فساد یا رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا روی مواد غذایی یکی دیگر از ویژگی‌های مهم مواد بسته بندی فعال است. فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها در تمام تیمارهای دارای عصاره رازیانه در برابر هر سه گونه مورد آزمایش باکتری /شریشیاکلائی، /استافیلوکوکوس /اورئوس و سودوموناس در شکل ۲ نشان داده شده است. اثر غلظت‌های مختلف عصاره رازیانه جهت کاهش یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های /شریشیاکلائی، /استافیلوکوکوس /اورئوس و سودوموناس به روش انتشار آگار مورد بررسی قرار گرفت. فیلم ژلاتین -کربوکسی متیل سلولز بدون عصاره (شاهد) اثر بازدارنده ضعیفی را در برابر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نشان دادند. با افزودن عصاره رازیانه به فیلم بر پایه ژلاتین -کربوکسی متیل سلولز، باعث فعالیت آنتی باکتریال قابل توجه فیلم شد. افزایش غلظت عصاره اثر معنی‌داری بر افزایش قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان مهار رشد در هر سه گونه باکتریای سودوموناس آئروژنز و /شریشیاکلائی و /استافیلوکوکوس /اورئوس به ترتیب برابر ۲۴/۵ mm، ۱۳/۸۳ mm و ۱۲/۳۳ mm در تیمار (۶٪) بود. اسانس‌های گیاهی به‌عنوان منابع طبیعی غنی از ترکیبات ضد میکروبی شناخته می‌شوند. اثرات اسانس‌های گیاهی تحت تأثیر عوامل مختلفی همچون غلظت اسانس، نوع میکروارگانیسم و شرایط محیطی قرار دارد. در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت، باکتری‌های گرم منفی به دلیل ساختار دیواره سلولی خاص خود، معمولاً مقاومت بیشتری در برابر اسانس‌ها دارند. این مقاومت بیشتر به واسطه وجود لایه لیپوپلی ساکراید در غشاء بیرونی این باکتری‌ها است که جذب اسانس‌ها را کاهش می‌دهد و در نتیجه اثرات ضد میکروبی آن‌ها را محدود می‌کند (Khan, et al, 2019)

فعالیت ضد میکروبی محلول ژلاتینی بیشتر به علت ویژگی‌های بیوفیزیکی مانند وجود زنجیره الیگوپپتیدی به دست‌آمده از هیدرولیز ژلاتین می‌باشد. با افزایش غلظت پوشش در محلول پوشش دهی خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت که احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت فیلم تشکیل شده روی سطح عصاره

به خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو هستند. همچنین، پپتیدهای حاصل از هیدرولیز ژلاتین ممکن است به عنوان عوامل کاهنده در سیستم‌های بیولوژیکی عمل کنند. این اثرگذاری بیشتر پوشش‌های پروتئینی نسبت به کربوهیدراتی به دلیل توانایی آن‌ها در ایجاد لایه‌های محکم‌تر و مقاوم‌تر در برابر نفوذ رطوبت و اکسیژن است. حضور کربوکسی متیل سلولز بعنوان یک عامل پیوند عرضی باعث ایجاد انسجام بیش‌تر در ساختار و متعاقباً عملکرد بهتر پوشش شد (Liu, et al, 2012). مشابه با نتایج به دست آمده در این تحقیق، در مطالعه جعفر زاده و همکاران (۱۳۹۹) که به بررسی اثر افزودن عصاره چای سبز به فیلم‌های پایه ژلاتین پرداخته است، نتایج نشان می‌دهد که عصاره چای سبز به دلیل وجود ترکیبات فنولی و کاتچین‌ها، به طور قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها را افزایش می‌دهد (Jafarzadeh, et al, 2020). همچنین در مطالعه دهنجای و کومار (۲۰۲۱) به بررسی تأثیر افزودن عصاره زردچوبه و هل بر روی خواص فیلم‌های ژلاتینی پرداخته است. عصاره زردچوبه به دلیل داشتن *Kurkuminoids* به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی، از اکسید شدن چربی‌ها و مواد غذایی محافظت می‌کند. همچنین، عصاره هل نیز خواص آنتی‌اکسیدانی و طعمی به فیلم‌ها اضافه می‌کند (Dhananjay & Kumar, 2021).

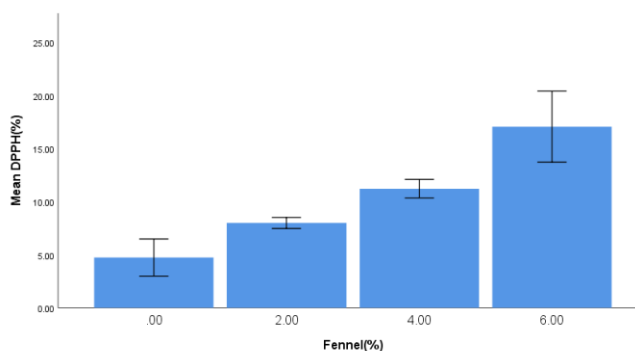


Fig1: Antioxidant properties of gelatin (GEL) and Carboxymethyl cellulose (CMC) films with different concentrations of fennel extract

اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با سایر باکتریها بود که با نتایج ما مطابقت داشت (Elansary, et al, 2020). با توجه به نتایج به دست آمده اسانس‌ها را به عنوان ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی و افزودنی‌های طبیعی می‌توان در مواد بسته‌بندی به کار برد تا از آلودگی میکروبی محصول جلوگیری کند و در نتیجه ماندگاری آن را افزایش دهد.

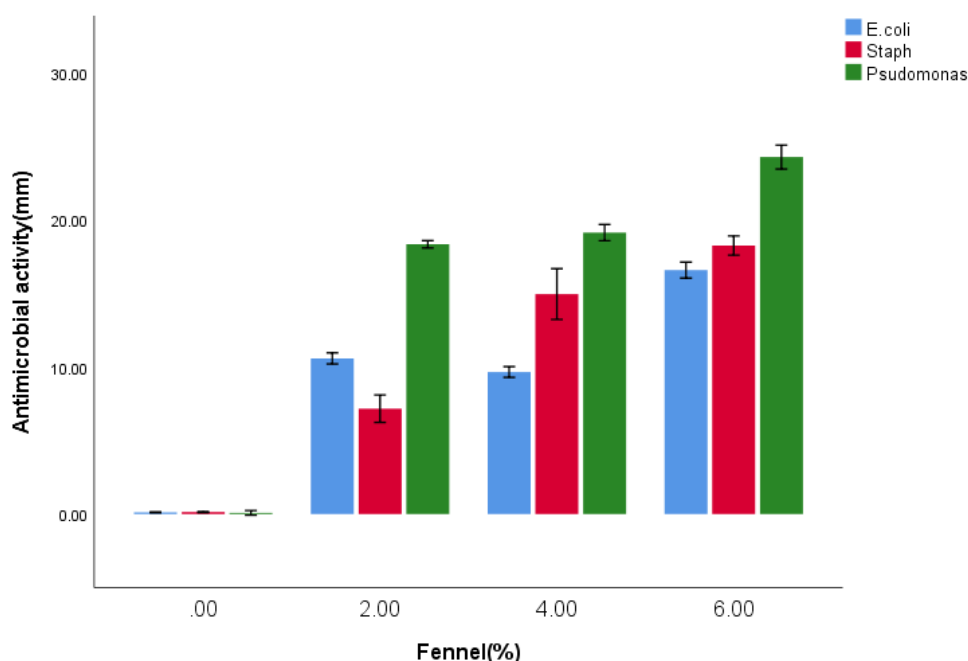


Fig2: Antimicrobial activity of gelatin GEL and of gelatin (GEL) and Carboxymethyl cellulose (CMC) films with different concentrations of fennel extract

میکروبی در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی مربوط به غلظت ۶٪ بود. بیشترین تاثیر در فعالیت ضد میکروبی در اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس در غلظت ۶٪ مشاهده شد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت فیلم‌های فعال ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز در حضور غلظت ۴٪ و ۶٪ عصاره رازیانه، بالاترین کارایی و ویژگیهای مطلوب را دارد و می‌تواند با تأخیر در اکسیداسیون لیپیدها، خواص مکانیکی و فیزیکوشیمیایی مطلوب، به عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

رازیانه و اثر ممانعتی قوی‌تر آن به نفوذ اکسیژن می‌باشد. عصاره رازیانه نیز دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشد (De Porto, et al, 2019).

الانساری و همکاران (۲۰۲۰) اثر ضد میکروبی شش گیاه از گونه Ferocactus را روی پنج باکتری باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی، لیستریا مونوسیتوژنز، مارینیلوتای کوکوس فلاووس و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند که نشان دهنده اثر ضد میکروبی قابل توجه عصاره این گونه‌ها بر دو باکتری

نتیجه‌گیری نتیجه آزمایش‌های انجام شده بر روی فیلم خوراکی ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز نشان داد در تمامی غلظت‌ها حلالیت و نفوذ پذیری ضخامت و نفوذ پذیری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). میزان حلالیت با افزایش میزان عصاره رازیانه کاهش یافت، نفوذ پذیری به رطوبت افزایش یافت. همچنین کدورت با افزایش غلظت افزایش ولی ضخامت در تمام تیمارها به جز تیمار ۲٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. کمترین و بیشترین افزایش طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ در بترتیب مربوط به تیمار شاهد و تیمار ۴٪ بود. فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد

References

- Ajibola CF and Sulaimon O. 2022. Enhancement of functional properties of edible films with the addition of bioactive extracts: A review. *Journal of Food Packaging and Shelf Life* 30:100854.
- Bakhshandeh E, Khosravi MN and Jafari SM. 2017. Use of essential oils in biodegradable films and coatings: A review. *Food Hydrocolloids* 69:1-17.
- Badgujar SB, Patel VV and Bandivdekar AH. 2014. *Foeniculum vulgare* Mill: A review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology* 151(1):66-78.
- Banik S, Ghoshal G and Ranjan SK. 2018. Edible Films and Coatings: A review on different types, properties and applications in food packaging. *Food Packaging and Shelf Life* 15:100-108.
- Brindle LP and Krochta JM. 2008. Physical properties of whey protein hydroxy propylmethylcellulose blend edible films. *Journal of Food Science* 73(9).
- Dash SK and Swain SK. 2020. Physicochemical properties of edible films from gelatin and carboxymethyl cellulose: Influences of fennel extract. *Journal of Food Science* 85(5):2603-2610.
- De Porto S, Pezzolla D and Rucareanu G. 2019. Antimicrobial properties of gelatin-based films: A review. *Food Packaging and Shelf Life* 21:100319.
- Dhananjay H and Kumar P. 2021. Antioxidant and functional properties of gelatin films incorporated with turmeric and cardamom extracts. *International Journal of Biological Macromolecules* 167:378-386.
- Elansary HO, Szopa A, Klimek-Szczykutowicz M, Ekiert H, Barakat AA and Al-Mana FA. 2020. Antiproliferative, antimicrobial, and antifungal activities of polyphenol extracts from *Ferocactus* species. *Processes* 8(2):138.
- Ekrami M, Emam-Djomeh Z, Ghoreishy SA, Najari Z and Shakoury N. 2019. Characterization of a high-performance edible film based on Salep mucilage functionalized with pennyroyal (*Mentha pulegium*). *International Journal of Biological Macromolecules* 133:529-537.
- Fallah M, Rouhi M, Sadeghi E, Sarlak Z, Moghadam A and Mohammadi R. 2021. Effects of Olibanum essential oil on physicochemical, structural, antioxidant and microbial characteristics of Gelatin edible films. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology* 15(4):93-102.
- Fathi M, Vashae F and Zahrani A. 2021. Effects of natural extracts on the physicochemical properties of gelatin-based edible films: A review. *Food Hydrocolloids* 113:106482.
- Fathollahzadeh A, Vahdat M and Dabbaghi S. 2020. Effect of plant extracts on the properties of edible films based on gelatin and CMC. *Food Hydrocolloids* 104:105731.
- González A, Pizarro E and Martínez MM. 2023. Innovation in gelatin-based edible films for food preservation: A review. *Journal of Food Science* 88(5):2134-2150.
- González-García V, Ares G, Bañón S and Seseña S. 2018. Effect of essential oils on the properties of edible films: A review. *Food Hydrocolloids* 89:187-204.
- Hosseini M, Rahimi Z and Saifi T. 2023. Production of edible film based on gelatin containing thyme essential oil: investigation of its physicochemical, mechanical, antioxidant and microbial properties. *Iranian Food Science and Technology* 20(135):129-139. (in Persian)
- Jafarzadeh A, Shakeri M and Mirmoghdam R. 2020. Preparation and characterization of gelatin-based films enriched with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 106:105914.
- Kaur G and Arora S. 2020. Antioxidant activity and total phenolic content of *Foeniculum vulgare* seed extract. *Journal of Pharmacy Research* 14(4):569-574.
- Kchaou H, Jridi M, Benbettaieb N, Debeaufort F and Nasri M. 2020. Bioactive films based on cuttlefish (*Sepia officinalis*) skin gelatin incorporated with cuttlefish protein hydrolysates: Physicochemical characterization and antioxidant properties. *Food Packaging and Shelf Life* 24:100477.
- Khan MI, Arshad MU and Ali H. 2024. Enhancement of functional properties of edible films using fennel extract: A sustainable approach in food packaging. *Journal of Cleaner Production* 389:135854.
- Khan MI, Mazhar MU and Ali Shah SZ. 2022. Recent developments in gelatin-based edible films and coatings: A review. *Food Hydrocolloids* 132:107878.

- Khan MI, Ullah NF, Iqbal S and Khan MN. 2019. Antimicrobial activity of essential oils from medicinal plants against gram-positive and gram-negative bacteria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 22(2):186-197.
- Kumar V, Raghavendra RS and Wani AA. 2020. Recent advances in edible films and coatings for food preservation. *Food Packaging and Shelf Life* 24:100487.
- Liu Q, Zhang T and Chen Y. 2024. Innovative approaches in the development of carboxymethyl cellulose-gelatin composite films for food preservation. *Journal of Applied Polymer Science* 141:50-67.
- Liu Z, Ge X, Dong S, Zhao Y and Zeng M. 2012. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. *Food Hydrocolloids* 26:311-317.
- Mansouri A, Khoshtinat G and Farhadi H. 2023. Application of fennel extract as a natural antioxidant in edible films: Effects on mechanical, thermal and barrier properties. *Food Science and Technology International* 29(1):45-55.
- Mekonnen T, Mussone P and Bressler D. 2023. Advancements in carboxymethyl cellulose-based films for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers* 297:12066.
- Mirzaei S, Fathi M and Khalili S. 2023. Evaluation of mechanical, thermal, and barrier properties of gelatin-based edible films incorporated with saffron (*Crocus sativus*) oil. *Food Science and Nutrition* 11(4):1808-1820.
- NurHanani ZA, Roos YH and Kerry JP. 2012. Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. *Food Hydrocolloids* 29:144-151.
- Momeni R, Hosseini MY, Saifi T and Hassanzadeh H. 2024. Production of antimicrobial active edible film based on gelatin containing *Salvia officinalis* essential oil: physical, mechanical, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Research Journal* 33(4):29-43. (in Persian)
- Oluwaseun AC, Kayode A, Bolajok FO, Bunmi AJ and Olagbaju AR. 2013. Effect of edible coatings of carboxymethyl cellulose and corn starch on cucumber stored at ambient temperature. *Asian Journal of Agriculture & Biological* 1(3):133-140.
- Rather MA, Dar BA, Sofi SN, Bhat BA and Qurishi MA. 2016. *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Industrial Crops and Products* 83:468-480.
- Roozbehani M, Amiri M and Barghi M. 2023. Effect of Green Tea Extract on Edible Film Properties: Turbidity, Mechanical Properties, and Antimicrobial Activity. *Journal of Food Industry* 15(2):123-134.
- Santos JA, da Silva SL and de Oliveira JB. 2017. Edible films based on gelatin and green tea: Mechanical and physical characterization. *Journal of Food Science* 82(4):860-868.
- Shahbaz HM, Khan MI and Ullah N. 2021. Development of edible films based on gelatin and carboxymethyl cellulose integrated with green tea extract. *International Journal of Biological Macromolecules* 183:297-307.
- Shen Y, Li W and Chen Y. 2020. Physicochemical and functional properties of edible films based on gelatin and CMC incorporated with fennel essential oil. *International Journal of Food Science & Technology* 55(8):3054-3062.
- Smith J and Brown R. 2020. The role of turbidity in food quality perception. *Food Quality and Preference* 45:83-90.
- Sothiselvam S, Perera CO and Thirukkumaran R. 2019. Development and characterization of edible films based on gelatin and carboxymethyl cellulose incorporated with plant extracts. *Food Packaging and Shelf Life* 22:100401.
- Sohraabi M, Mohammadi M and Golmohammadi F. 2022. Effect of Aloe Vera Extract on Physicochemical Properties of Edible Films: Turbidity and Transparency Improvement. *Food Science and Technology Research* 28(3):345-356.
- Tikhonov I, Shikha K and Zamorinskii V. 2018. Influence of coating materials on the quality and shelf life of food products. *Food Science and Technology International* 24(8):675-683.
- Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti V, Venuti V, Sulfaro V, De Pasquale A and Saija A. 2010. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry* 115(4):1303-1309.

- Wang R, Sun X and Fang L. 2023. Synergistic effects of gelatin and carboxymethyl cellulose in edible film formulations for enhanced food packaging applications. *Food Hydrocolloids* 134:108117.
- Zhang Y, Li J and Wang Q. 2022. Effect of Plant Extracts on the Physicochemical Properties of Carboxymethyl Cellulose Edible Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 70(12):3557-3566.
- Zhang X and Zhang M. 2021. Preparation and characterization of edible films based on gelatin and carboxymethyl cellulose incorporated with fennel extract. *Food Hydrocolloids* 113:106530.
- Zhang Y, Liu P and Feng X. 2024. Characterization and enhancement of carboxymethyl cellulose edible films: A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules* 234:127582.
- Zhao X, Zhang S and Zhang J. 2021. Recent developments in edible films and coatings: Preparing techniques and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62(17):4591-4606.
- Yoo S and Krochta JM. 2011. Whey protein-polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91(14):2628-2636.