Packaging Sciences and Techniques
Vol. 15, No. 2, Summer 2024, Serial No. 58
ISSN: 2228-6675 , E-ISSN: 2980-7824

Physical, Mechanical and Antibacterial Properties of Active Composite Film Containing Thyme of Shiraz Extract (*Zataria Multiflora* Boiss.) in Food Packaging

Dariush Khademi Shurmasti *, Fatemeh Nourkami, Kasra Momenian
*Assistant Professor, Department of Agriculture, Swadkoh Branch, Islamic Azad University, Swadkoh, Iran
(Received: 17/03/2024, Revised: 27/04/2024, Accepted: 21/08/2024, Published: 15/09/2024)
DOR: 20.1001.1.22286675.1403.15.58.3.4

ABSTRACT

The using biodegradable food packaging instead of its common synthetic types has been increased. Bio-polymers are used in the fabrication of new packages alone or as composite and active ones. The present study aims to investigate the physical, mechanical and antimicrobial properties of the active composite film with 5 treatments including polyvinyl alcohol: PVA (P) film alone, PVA and chitosan (PC), PVA/ chitosan and montmorillonite (PCM), PCM with 2 and 4% levels of thyme extract (PCMAv) was carried out in a completely randomized design. The results showed that the addition of chitosan, nanoclay and thyme extract to the composition of the PVA-base film could improve the physical, mechanical and antimicrobial properties of the composite film. PCM triple composite film containing 4% thyme extract with higher opacity than other films, has the highest tensile strength and Young's modulus (30.10 MPa and 0.14 MPa, respectively), the largest inhibitory zone diameter against Staphylococcus aureus and Escherichia coli (24.15 mm and 18.00 mm, respectively) and the lowest water vapor permeability (3.90 gmm/m2 h Pa). Therefore, this three-component active composite film, having desirable physical, mechanical and antimicrobial properties, can be used as a biodegradable packaging material in the food industry.

Keywords: Thyme (Zataria Multiflora Boiss), Polyvinyl Alcohol, Composite Film, Chitosan, Nano Clay

This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license.

Publisher: Imam Hussein University © Authors

* Corresponding Author Email: dkhademi@gmail.com

«علوم و فنون بسته‌بندی»
سال پانزدهم، شماره ۵۸، تابستان ۱۴۰۳؛ ص ۳۶-۲۹
شاپای چاپی: ۲۲۲۸-۶۶۷۵| شاپای الکترونیکی: ۲۹۸۰-۷۸۲۴

علمی – پژوهشی

خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و ضدباکتریایی فیلم چند سازه‌ای فعال حاوی عصاره آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss) جهت بسته‌بندی مواد غذایی

داریوش خادمی شورمستی[۱*]، فاطمه نورکامی[۲]، کسری مؤمنیان[۳]

۱- استادیار، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران ۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

DOR: 20.1001.1.22286675.1403.15.58.3.4

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۳۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۰۸ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵

چکیده

تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر مواد غذایی به جای انواع مصنوعی متداول آن افزایش یافته است. پلیمرهای زیستی به تنهایی یا به‌صورت کامپوزیت و فعال در ساخت بسته‌بندی‌های جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند. تحقیق حاضر با هدف بررسی خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم مرکب فعال با ۵ تیمار شامل فیلم پلی‌وینیل الکل (P) به تنهایی، فیلم دوسازه‌ای پلی‌وینیل الکل و کیتوزان (PC)، فیلم سه سازه‌ای پلی‌وینیل الکل و کیتوزان و مونت‌موریلونیت (PCM)، فیلم سه سازه‌ای همراه با سطوح ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی (PCM Av) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. نتایج نشان داد افزودن کیتوزان، نانورس و عصاره آویشن به ترکیب فیلم پایه پلی‌وینیل الکل توانست موجب بهبود خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم مرکب شود. فیلم مرکب PCM حاوی ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی با کدورت بالاتر نسبت به سایر فیلم‌ها، دارای بیشترین مقاومت کششی و مدول یانگ (به‌ترتیب ۳۰/۱۰ MPa و ۰/۱۴ مگاپاسکال)، بیشترین قطر هاله عدم رشد علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی (به ترتیب ۲۴/۱۵ mm و ۱۸/۰۰) و کمترین نفوذپذیری در برابر بخار آب (۳/۹۰ gmm/m^2 h Pa) بودند. بنابراین این فیلم کامپوزیت سه سازه‌ای فعال با دارا بودن ویژگی‌های مطلوب فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی، قابلیت بکارگیری به‌عنوان ماده بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر در صنایع غذایی را دارد.

کلیدواژه‌ها: آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss)**، پلی‌وینیل الکل، فیلم کامپوزیت، کیتوزان، نانو رس**

۱- مقدمه

ناظر به افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان در مورد حفاظت از محیط زیست و ایمنی مواد غذایی، پوشش‌ها و فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر به‌عنوان جایگزینی برای بسته‌بندی سنتی توجهات را به خود جلب کرده است. استفاده از پلیمرهای زیستی می‌تواند کیفیت محصول را با مسدود کردن انتخابی نفوذ گازها، بخار آب و مهاجرت املاح بهبود بخشد و در نتیجه خواص فیزیکی را حفظ کند. کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها عمدتاً به عنوان مواد خام برای بسته‌بندی‌های زیست تخریب‌پذیر استفاده شده و می‌توانند به تنهایی یا به صورت ترکیبی مورد استفاده قرار گیرند [۱]. در این بین، کیتوزان (CH) اغلب در ساخت پوشش‌های خوراکی استفاده می‌شود. این ماده فعالیت ضدباکتریایی ذاتی، توانایی عالی در تشکیل فیلم و خواص مانع اکسیژن را بروز داده است. البته عملکرد فیزیکی و مکانیکی فیلم کیتوزان تحت تأثیر سطح و وزن مولکولی و به‌خصوص نوع حلال اسیدی و نیز اثرات متقابل این عوامل قرار می‌گیرد [۲]. به‌علاوه خواص عملکردی فیلم‌های کیتین، کیتوزان و الیگوساکاریدهای آن‌ها از طریق ترکیب با سایر مواد پوشش‌دهنده و ایجاد کننده فیلم افزایش می‌یابد [۳]. پلی (وینیل الکل) (PVA) یک پلیمر زیست تخریب پذیر مصنوعی با مزایای بی‌رنگ بودن و خواص مکانیکی عالی است. با این حال، این عیب را دارد که همانند پلیمرهای زیستی بر پایه کربوهیدرات، در برابر آب مقاوم نیست. برای غلبه بر خواص مکانیکی ضعیف PVA معمولاً آن را با کیتوزان مخلوط می‌کنند تا از فعل و انفعالات بین این دو ماده استفاده شود. بکارگیری ترکیبی از مواد اولیه در بسته‌بندی مواد غذایی با هدف غلبه بر محدودیت‌های استفاده از پلیمرها به‌تنهایی و نیز افزایش

* رایانامه نویسنده مسئول: dkhademi@gmail.com

عملکرد و کارایی فیلم‌های مرکب مورد مطالعه قرار گرفته است. نشان داده شد که فیلم کامپوزیتی کیتوزان و PVA می‌تواند استحکام مکانیکی پایین پلیمر طبیعی را جبران کند [۴]. گزارش شده است که کیتوزان خواص مکانیکی PVA را با افزایش مدول یانگ بهبود بخشید. مطالعات متعددی بر روی فیلم‌های کامپوزیت ساخته شده از کیتوزان و PVA در کاربردهای غذایی انجام شده است [۵ و ۶]. از طرفی تشکیل نانوکامپوزیت‌ها با استفاده از سیلیکات‌های لایه‌ای به‌خصوص مونت‌موریلونیت (MMT) در لفاف‌های زیست‌پلیمری می‌تواند ضمن بهبود خواص این محصولات، کارایی مواد ضدباکتریایی طبیعی مانند عصاره‌های گیاهی در بسته‌بندی‌های نانومرکب را از طریق کاهش دسترسی به اکسیژن و رطوبت، افزایش دهند [۷]. نشان داده شد که حضور مونت‌موریلونیت در ماتریکس نانوکامپوزیت پلی‌لاکتیک اسید توانست علاوه بر بهبود خصوصیات فیزیکی فیلم‌های حاصله، فرآیند تخریب‌پذیری آنها را هم کاهش دهد [۸]. همچنین مردانی و خادمی شورمستی [۹] گزارش کردند استفاده از سطوح افزایشی نانورس با بهبود خصوصیات ممانعتی، موجب افزایش کارایی پوشش نانوکامپوزیت می‌شود.

عوامل ضدباکتری مصنوعی که عمدتاً برای طولانی‌تر کردن ماندگاری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، احتمالاً با عوارض جانبی همراه هستند، بنابراین تحقیقات روی استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین‌های طبیعی آن‌ها مورد توجه قرار گرفته است. ترکیب پلیمرهای زیستی با انواع مختلف ترکیبات زیست‌فعال طبیعی موجود در گیاهان می‌تواند خواص ضداکسیدانی و ضدباکتریایی فیلم را افزایش دهد [۱۰]. آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) یکی از شناخته شده‌ترین گیاهان دارویی از تیره نعناعیان با اثرات ضدمیکروبی و ضداکسیدانی و بومی مناطق گرم ایران، افغانستان و پاکستان است. ثابت شده است که ترکیبات اصلی فارماکولوژیک آن کارواکرول، تیمول، سیمن و ترپینن هستند. خصوصیات ضداکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره و اسانس آویشن در مدل‌های غذایی به‌تنهایی و نیز در ترکیب فیلم یا پوشش خوراکی فعال مورد بررسی قرار گرفت [۱۱ و ۱۲].

این تحقیق با هدف ساخت فیلم کامپوزیت سه سازه‌ای زیست تخریب‌پذیر فعال شامل پلیمر مصنوعی پلی وینیل‌الکل، زیست‌پلیمر کیتوزان و نانومونت‌موریلونیت به‌عنوان پرکننده معدنی غنی شده با عصاره اتانولی آویشن شیرازی در دو غلظت ۲ و ۴ درصد اجرا شد. با بررسی خصوصیات مکانیکی، فیزیکی و همچنین فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های تهیه شده در مهار رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشیریشیا کلی* امکان کاربردهای آینده‌نگر آن برای بسته‌بندی مواد غذایی فعال بررسی گردید.

۲- روش تحقیق

۲-۱- تهیه مواد

پودر کیتوزان (CH) با وزن مولکولی ۱۹۰- ۵۰ کیلودالتون و درجه استیل‌زدایی ۸۵ درصد از شرکت نانونوین پلیمر (ایران)، پلی‌وینیل‌الکل (PVA) کاملاً هیدرولیز شده و نانو مونت‌موریلونیت (MMT, K10) از شرکت سیگما آلدریچ (آلمان)، گلیسرول، اسید استیک گلاسیال ۹۹ درصد و سایر مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مورد نیاز با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت مرک (آلمان) خریداری شد. گیاه آویشن شیرازی از عطاری معتبر محلی خریداری و پس از تأیید علمی به آزمایشگاه انتقال یافت.

۲-۲- تهیه عصاره

ابتدا قسمت‌های مختلف گیاه خشک شده توسط آسیاب برقی خانگی (مولینکس، فرانسه) پودر و عصاره‌گیری به‌روش خیساندن با حلال اتانول انجام شد. مقدار ۳۰ گرم از گیاه پودر شده با ۶۰۰ میلی‌لیتر اتانول (۹۹/۸ درصد) ترکیب و به‌مدت ۷۲ ساعت توسط دستگاه شیکر (RF 602، فاطر الکتریک) در دمای محیط هم زده شد. محلول بدست آمده با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. تمام عصاره‌های به دست آمده با تکرار مراحل از استخراج تا فیلتراسیون سه بار با استفاده از اواپراتور چرخشی (IKA RV-10، آلمان) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ شدند [۵].

۲-۳- آماده‌سازی فیلم‌ها

فیلم‌ها با استفاده از روش ریخته‌گری تهیه شدند [۱۳]. محلول کیتوزان ۲ درصد (وزنی/حجمی) در اسید استیک ۱ درصد با هم‌زدن یک‌شبه در دمای اتاق تهیه شد. گلیسرول (۳۰ درصد وزن کیتوزان) به‌عنوان نرم‌کننده به محلول اضافه شد. محلول پلی (وینیل الکل) ۵ درصد (وزنی/حجمی) با هم‌زدن در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲ ساعت و محلول نانومونت‌موریلونیت ۴ درصد (وزنی/وزنی) آماده شد. هر محلول از CH، PVA و MMT در نسبت جرمی ۱:۱:۱ مخلوط شده و در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت هم زده شد. دو غلظت مختلف از عصاره آویشن شیرازی (۲ و ۴ درصد) حسب تیمارهای آزمایشی به محلول‌ها اضافه شد و به‌مدت ۱ ساعت در دمای اتاق همزده شد. در نهایت ۲۰ گرم از مخلوط‌ها در پتری ریخته شده و در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. فیلم‌های خشک شده با دقت جدا شده و تا زمان تجزیه و تحلیل در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند.

۲-۴- اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها

استحکام کششی[1] (TS) و ازدیاد طول در شکست[2] (EB) با استفاده از دستگاه بافت‌سنج مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور قطعات ۱×۷ سانتی‌متر مربعی از فیلم‌ها بریده شده و بین دو گیره‌ی دستگاه قرار داده شدند. فاصله‌ی اولیه‌ی دو گیره ۵۰ میلی‌متر و سرعت کشش ۵ میلی‌متر بر دقیقه بود. اندازه‌گیری‌ها در دمای اتاق انجام شد و میانگین حداقل پنج تکرار برای هر نمونه بود. مقاومت کششی و کشش‌پذیری با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه شد:

$$TS\ (N/m^2) = F / A \qquad (۱)$$

$$EB\ (\%) = (\Delta L / L) \times 100 \qquad (۲)$$

که در آن F بیشینه‌ی نیرو بر حسب نیوتن، A سطح مقطع درگیر (ضخامت × عرض)، L طول درگیر بین دو گیره‌ی دستگاه و ΔL تغییر طول پیش از پاره‌شدن فیلم‌ها است.

مطابق با دستورالعمل شماره D882-18 استاندارد ASTM [۱۴] استحکام کششی و ازدیاد طول در هنگام شکست، مستقیماً از منحنی‌های تنش- کرنش تعیین شدند. مدول یانگ[3] (YM) بر حسب مگاپاسکال به‌صورت شیب ناحیه الاستیک منحنی‌های تنش-کرنش محاسبه شد.

ضخامت فیلم با استفاده از یک ریزسنج با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. پنج نقطه برای هر فیلم اندازه‌گیری شد. میانگین از سه تکرار فیلم محاسبه شد. نفوذپذیری در برابر بخار آب[4] (WVP) با استفاده از روش فو و همکاران [۱۵] با اندکی تغییرات مورد آزمایش قرار گرفت. بطور خلاصه دهانه بطری شیشه‌ای، حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، با یک فیلم با استفاده از یک نوار لاستیکی مهر و موم شد و سپس در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۲±۵۰ درصد قرار داده شد. وزن بطری هر ساعت به‌مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. نفوذپذیری بخار آب فیلم با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد. این آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار شد.

$$WVTR = \frac{\Delta\omega}{A \times \Delta t} \qquad (۳)$$

$$WVP = WVTR \times \frac{d}{sp} \qquad (۴)$$

که در آن $\Delta\omega$ کاهش وزن (g)، A سطح مقطع فیلم (m^2)، Δt فاصله زمانی (h)، d میانگین ضخامت لایه (mm) و sp گرادیان فشار جزئی بخار آب در سطوح داخلی و خارجی فیلم (Pa) است. حلالیت در آب[5] (WS) با روش غوطه‌وری در آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد [۱۶]. حلالیت فیلم به‌صورت درصد کاهش وزن خشک فیلم پس از غوطه‌وری در مقایسه با وزن خشک اولیه فیلم بیان شد. آزمون در سه تکرار انجام شد. برای اندازه‌گیری جذب رطوبت[6] (WAC)، فیلم‌ها پس از خشک‌شدن ابتدایی در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل توزین شدند. در مرحله بعد، فیلم‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. فیلم‌ها تا زمان رسیدن به وزن ثابت به‌صورت دوره‌ای و در فواصل زمانی معینی توزین شدند. میزان جذب رطوبت مطابق با دستورالعمل شماره D570 استاندارد ASTM به‌صورت نسبت اختلاف وزن اولیه و نهایی فیلم به وزن اولیه فیلم بر حسب درصد محاسبه و تعیین شد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر خواص رنگی (L^*, a^*, b^*) فیلم‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (Konica minolta، ژاپن) در دمای اتاق ارزیابی شد. فراسنجه‌های رنگ L^* (صفر: سیاه تا ۱۰۰: سفید)، a^* (۶۰- : سبز تا ۶۰+ : قرمز) و b^* (۶۰- : آبی تا ۶۰+ : زرد) در مقیاس CIE ثبت شد و صفحه سفید نیز به‌عنوان استاندارد (L_0, a_0, b_0) استفاده شد. تفاوت رنگ کلی (ΔE) با رابطه (۵) [۱۷] و کدورت فیلم براساس دستورالعمل شماره D1746-97 استاندارد ASTM با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (Staffordshire، انگلستان) به‌صورت نسبت لگاریتم میزان درصد جذب در ۶۰۰ نانومتر بر ضخامت فیلم (میلی‌متر) محاسبه و گزارش شد.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \qquad (۵)$$

بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های حاوی عصاره‌های گیاهی با روش دیسک انتشاری انجام شد. فیلم‌ها با استفاده از یک قالب به دیسک‌هایی به قطر ۱۰ میلی‌متر تبدیل شدند. قبل از قرار دادن دیسک‌ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع محتوی تقریباً 10^8 کلنی در میلی‌لیتر از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشیریشیا کلی* انجام شد. دیسک‌ها در شرایط کاملاً استریل بر روی محیط کشت مولرهینتون آگار قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده پیرامون دیسک‌ها

[1] Tensile strength (TS)
[2] Elongation at break (EB)
[3] Young's Modulus (YM)
[4] Water Vapor Permeability (WVP)
[5] Water Solubility (WS)
[6] Water Absorption Capacity (WAC)

به‌عنوان شاخص فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها در نظر گرفته شد [۱۸].

۲-۵- آنالیز آماری

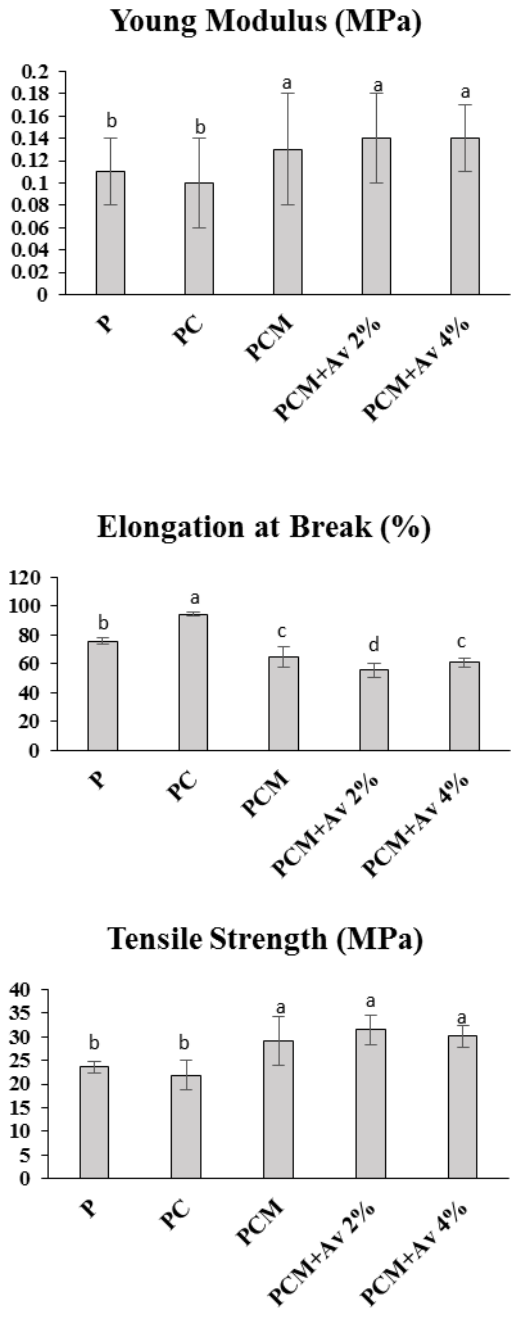
در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار شامل فیلم پلی وینیل‌الکل (P)، فیلم دوسازه‌ای پلی وینیل‌الکل / کیتوزان (PC)، فیلم سه سازه‌ای پلی وینیل‌الکل / کیتوزان / مونت‌موریلونیت (PCM) و فیلم‌های سه سازه‌ای فعال حاوی غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن (PCM Av) و ۳ تکرار در هر تیمار، داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ به روش آنالیز واریانس یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و به صورت انحراف استاندارد±میانگین ارائه شدند. میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد مقایسه شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خصوصیات مکانیکی

خصوصیات مکانیکی، فراسنجه‌های مهمی در بسته‌بندی مواد غذایی برای محافظت از آنها در برابر آسیب‌های خارجی است. عملکرد فیلم‌های خوراکی به‌شدت به خواص مکانیکی آنها مانند استحکام کششی (TS)، ازدیاد طول در هنگام شکست (EB) و مدول الاستیسیته (YM) بستگی دارد. برای کاربردهای بسته‌بندی و پوشش، خواص مکانیکی فیلم‌ها نقش بسزایی دارد. استحکام کششی به حداکثر مقاومتی اطلاق می‌شود که یک فیلم می‌تواند تحمل کند. ازدیاد طول در هنگام شکست معیاری از توانایی یک فیلم برای کشش است [۱۹]. بر اساس نتایج ارزیابی خواص مکانیکی فیلم کامپوزیتی بر پایه پلی‌وینیل الکل، کیتوزان و مونت‌موریلونیت که عصاره آویشن در غلظت‌های ۲و ۴ درصد به آن اضافه شده (شکل ۱) نشان داده شد مقادیر TS از ۲۱/۸۸ تا ۳۱/۵۰ مگاپاسکال متغیر بود. گنجاندن عصاره آویشن در فیلم کامپوزیتی سه‌گانه، مقدار TS را تغییر نداد. روند مشابهی را در مقادیر YM می‌توان مشاهده کرد که در آن نیز فیلم‌های کامپوزیتی فعال حاوی مونت‌موریلونیت و عصاره، بیشترین مقدار را نشان دادند. مقادیر EB برای فیلم کامپوزیتی سه‌گانه برابر ۶۴/۵۱ درصد بود که با گنجاندن ۲ درصد آویشن شیرازی به ۵۵/۵۲ درصد کاهش یافت ($p<0.05$).

عوامل خاصی از جمله وجود افزودنی‌ها، درجه اتصال متقابل یا بلورینگی و شرایط دما و رطوبت در طول آزمایش استحکام فیلم‌ها را تعدیل می‌کنند. نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که افزودن MMT و عصاره آویشن باعث افزایش استحکام کششی فیلم‌ها شده است. این به‌دلیل پیوند متقابل ایجاد شده ناشی از مواد زمینه‌ای و عصاره بوده که موجب تقویت فیلم می‌شود [۱۰]. باید توجه داشت که مقادیر TS برای فیلم‌های فعال حاوی MMT و عصاره با فیلم‌های پلاستیکی که به‌طور گسترده در بازار استفاده می‌شوند، مانند پلی‌اتیلن با چگالی بالا (۳۱-۲۲ مگاپاسکال) قابل مقایسه بود اما کمی از پلی‌پروپیلن (۳۸-۳۱ مگاپاسکال) و پلی‌استایرن (۸۳-۴۵ مگاپاسکال) کمتر بود.

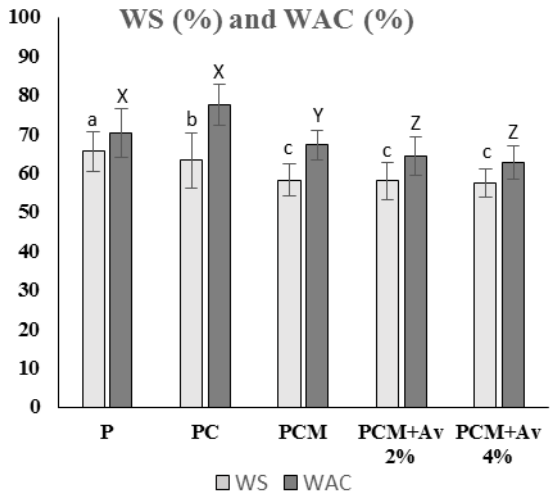


شکل (۱): استحکام کششی (MPa)، پارگی در نقطه شکست (٪) و مدول یانگ (MPa) فیلم‌ها

یکی دیگر از فراسنجه‌های مهم خواص مکانیکی، کرنش است که به ماده اجازه می‌دهد در برابر تغییر شکل و شکست تحت کشش مقاومت کند. درصد کرنش به انعطاف‌پذیری و دوام مواد بستگی دارد. روند کاهشی در EB و افزایش شکنندگی در فیلم کامپوزیت فعال را می‌توان با ادغام توده‌های عصاره در شبکه ماتریس پلیمری توضیح داد که موجب محدودیت حرکت زنجیره‌های پلیمری می‌شود [۲۰]. گزارش شده است که فیلم‌های ساخته شده با استفاده از کیتوزان/ پلی (وینیل الکل)/ ژلاتین حاوی عصاره توت‌فرنگی هندی دارای مقادیر TS (۱۷/۷۲ تا ۲۱/۵۹ مگاپاسکال) کمتر و EB (۱۰۶/۴۳- ۶۲/۲۴ درصد) بیشتر نسبت به مقادیر به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر هستند [۵]. به‌طور کلی، مواد با استحکام کششی بالا و مدول یانگ، اما درصد کرنش کم، بدون در نظر گرفتن ضخامت ماده، دارای پیوند متقاطع بالاتری هستند [۱۰]. نتایج نشان می‌دهد که مواد زمینه‌ای و افزودنی‌ها در فیلم‌های کامپوزیت و فعال تأثیر قابل‌توجهی بر خواص مکانیکی فیلم‌های خوراکی دارند.

۳-۲- خصوصیات فیزیکی

نتایج حلالیت و جذب رطوبت فیلم‌ها در شکل (۲) نشان داد؛ فیلم‌های کامپوزیت سه‌گانه PCM همراه با عصاره کمترین (۵۸- ۵۷/۵ درصد) محلولیت در آب را در مقایسه با فیلم کامپوزیت PC (حدود ۶۳ درصد) و فیلم PVA (حدود ۶۵ درصد) داشتند ($p<0.05$). حلالیت فیلم‌ها با افزودن MMT به ترکیب فیلم مرکب، کاهش یافت ($p<0.05$). در حالی‌که کاهش جزیی حلالیت فیلم‌ها با افزودن عصاره، معنی‌داری نبود و می‌تواند ناشی از اثر آبگریزی عصاره باشد. حلالیت یک فیلم می‌تواند تحت تأثیر عواملی مانند نوع و غلظت پلیمرها و همچنین وجود سایر مواد افزودنی و شرایط فرآیند ساخت باشد [۲۱]. ظرفیت جذب رطوبت فیلم‌ها با گنجاندن MMT به ترکیب فیلم کاهش معنی‌داری یافت ($p<0.05$). ضمن اینکه افزودن سطوح ۲ و ۴ درصد عصاره به ترکیب فیلم کامپوزیت سه سازه‌ای نیز موجب کاهش معنی‌دار ظرفیت جذب رطوبت شد (شکل ۲). کمترین مقدار جذب رطوبت در فیلم‌های کامپوزیت سه سازه‌ای فعال حاوی عصاره (۶۴/۳۵- ۶۲/۸ درصد) و بیشترین مقدار (۷۷/۵۱ درصد) در فیلم کامپوزیت دو سازه‌ای (PC) دیده شد. حلالیت فیلم در آب و نیز ظرفیت جذب رطوبت آنها از جمله فراسنجه‌های فیزیکی قابل توجه فیلم‌ها محسوب می‌شود که بسته به هدف کاربرد متفاوت است. برای مثال، برای غذاهای نیازمند ذخیره‌سازی طولانی مدت‌تر فیلم‌های با حلالیت کمتر گزینه‌های مطلوبت‌تری هستند [۱۰]. یافته‌های این مطالعه بیانگر این بود که فیلم مرکب PC در مقایسه با PVA به‌تنهایی، حلالیت کمتری داشتند ($p<0.05$). با وجود اینکه کیتوزان یک پلیمر آبدوست است، آبدوستی شدید پلی‌وینیل الکل نسبت به کیتوزان باعث شده است که در رقابت برای جذب، پلی‌وینیل الکل مولکول‌های آب بیشتری را به خود جذب کند.

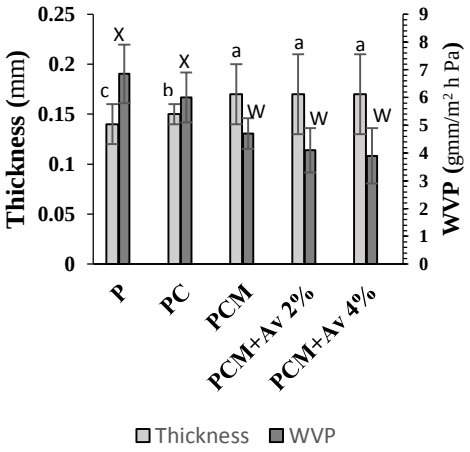


شکل (۲): میانگین حلالیت در آب (درصد) و ظرفیت جذب آب (درصد) فیلم‌ها

محدوده بهینه ضخامت فیلم به اهداف کاربرد بستگی دارد. برای مثال، در صنایع بسته‌بندی به‌دلیل استفاده کمتر از ویژگی‌های ممانعتی نسبت به اکسیژن یا رطوبت، فیلم‌های نازک‌تر ترجیح داده می‌شوند، در حالی که جهت حفظ یکپارچگی ساختاری محصولات تازه، فیلم‌های ضخیم‌تر مزایای بیشتری را برای کاربردهای پوشش‌دهی فراهم می‌کنند [۲۲]. نتایج شکل (۳) نشان می‌دهد که فیلم‌های مرکب سه سازه‌ای فعال حاوی عصاره آویشن کمی ضخیم‌تر (۰/۱۷ میلی‌متر) از فیلم‌های دیگر بودند ($p<0.05$). در حالی‌که غلظت عصاره آویشن به‌تنهایی نقش زیادی در افزایش ضخامت فیلم بازی نکرد. در عین حال کمترین ضخامت (۰/۱۴ میلی‌متر) مربوط به فیلم‌های پلی‌وینیل الکل بود که با اضافه شدن کیتوزان و به‌خصوص مونت‌موریلونیت به فرمولاسیون فیلم‌های کامپوزیت، ضخامت فیلم‌ها بطور معنی‌داری بیشتر شد ($p<0.05$).

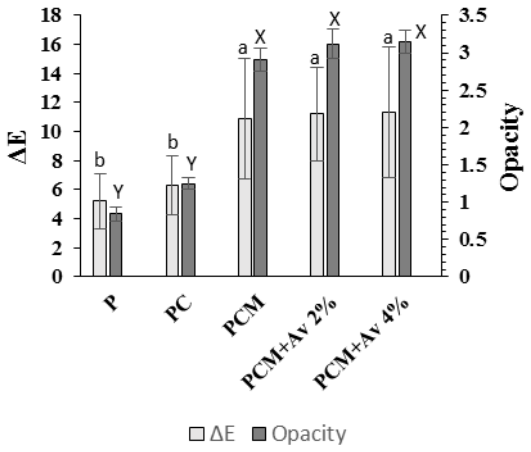
نفوذپذیری بخار آب (WVP) عامل مهمی در انتخاب بسته-بندی مواد غذایی است. WVP پایین در افزایش ماندگاری غذاها مؤثرتر است [۵]. در واقع کارایی فیلم‌های بسته‌بندی به توانایی آن‌ها در جلوگیری یا حداقل کاهش انتقال رطوبت بین غذا و محیط اطراف مربوط می‌شود [۲۳]. همان‌طور که در شکل (۳) نشان داده شده است، مقادیر WVP از ۳/۹۰ تا ۶/۸۵ گرم میلی‌متر در مترمربع ساعت پاسکال متغیر بود. WVP فیلم‌ها با افزودن MMT و عصاره تحت تأثیر قرار گرفته و کمی کاهش

یافت ($p<0.05$). در عین حال مشاهده شد که افزودن سطوح ۲ و ۴ درصد عصاره در فیلم کامپوزیت سه‌گانه تأثیر قابل توجهی در WVP فیلم‌های خوراکی نداشت. تأیید شده است که وجود لایه‌های نانوذرات پراکنده منظم با نسبت‌های نسبتاً بزرگ در فیلم‌های نانوکامپوزیت منجر به کاهش قابل‌توجه WVP می‌شود [۲۴]. در این مطالعه، کاهش WVP فیلم‌های حاوی MMT را می‌توان به وجود ساختارهای لایه‌ای نانورس نسبت داد که مسیر پرپیچ وخمی برای انتشار ایجاد می‌کند و بنابراین، انتقال رطوبت از طریق ماتریس را محدود کرده و ویژگی ممانعتی فیلم‌های نانوکامپوزیت را بهبود می‌بخشد [۲۳]. از طرف دیگر می‌توان کاهش نفوذپذیری به بخار آب را به ایجاد برهم‌کنش قوی بین نانوذرات خاک رس و زیست‌پلیمرها نسبت داد. در واقع، این برهم‌کنش‌ها فراسنجه انتشارپذیری را که در تعیین مقدار نفوذپذیری بسیار مؤثرند، تحت تأثیر قرار می‌دهد. زیرا با قرارگیری لایه‌های نانوذرات خاک رس در بین زنجیره‌ها و کاهش فضای آزاد مقدار انتشارپذیری مولکول‌های آب کنترل می‌شود [۲۵]. تفاوت آماری معنی‌داری در مقدار WVP فیلم‌های کامپوزیت کیتوزان/پلی‌وینیل الکل/ژلاتین حاوی سطوح مختلف عصاره دیده نشد [۵]. گزارش شده است که WVP یک فیلم به چندین متغیر به‌ویژه ضخامت بستگی دارد [۲۶]. در این تحقیق نیز رابطه همبستگی منفی نسبتاً شدیدی (۰/۷۰۵-) بین ضخامت فیلم‌ها و WVP دیده شد. در تحقیق حاضر نیز با گنجاندن MMT و عصاره Av به ترکیب کامپوزیت PC که منجر به افزایش ضخامت فیلم شد، WVP نیز بطور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0.05$).



شکل (۳): میانگین ضخامت (میلی‌متر) و نفوذپذیری در برابر بخار آب (گرم میلی‌متر در مترمربع ساعت پاسکال) فیلم‌ها

شاخص رنگ فراسنجه‌ی مهمی است که بر ظاهر بسته‌بندی، مقبولیت یک محصول، پذیرش مصرف‌کننده و کیفیت مواد غذایی محتوی تأثیر می‌گذارد. بنابراین ارزیابی رنگ و در نظر گرفتن تأثیر آن در نوع بسته بندی مواد غذایی که فیلم ها در آن نقش دارند، مهم است. مطابق آنچه در شکل (۴) نشان داده شده؛ تفاوت‌های نسبتاً چشمگیری در اختلاف کل رنگ (ΔE) بین فیلم‌ها به خصوص پس از گنجاندن MMT به فرمولاسیون فیلم کامپوزیت مشاهده شد.



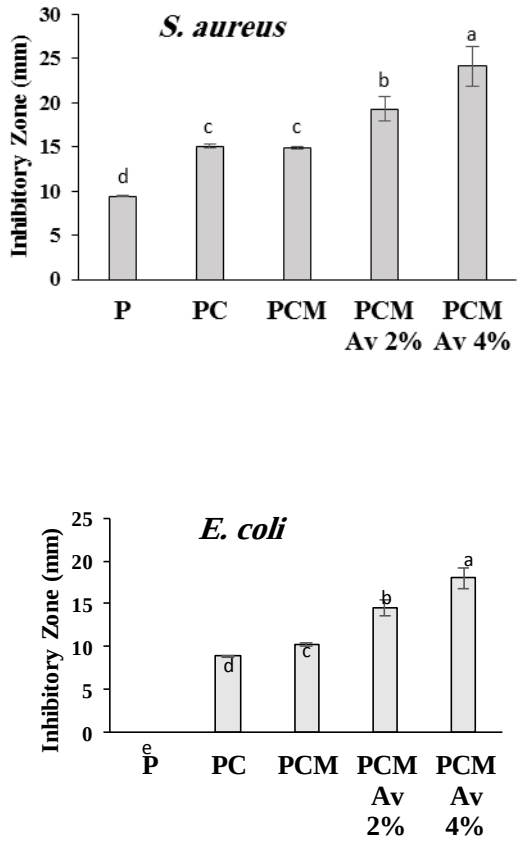
شکل (۴): میانگین اختلاف رنگی کل (ΔE) و کدورت فیلم‌ها

شرایط کاملاً مشابهی در مورد کدورت نیز دیده شد ($p<0.05$). دلیل اصلی آن به تجمع نانوذرات رس و در نتیجه جلوگیری از عبور نور بیان شده است [۲۷]. در عین حال افزوده شدن سطوح ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن تأثیر قابل توجهی بر این فراسنجه‌ها نداشت. بدیهی است که این خصوصیات مربوط به خصوصیات نوری مواد است و بنابراین باید در زمان کاربرد و ارزیابی آن در بسته‌بندی مواد غذایی در نظر گرفته شود.

۳-۳- خصوصیات ضدمیکروبی

ارزیابی ضد باکتریایی فیلم‌های کامپوزیتی در برابر باکتری‌های منتخب گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *اشریشیا کلی* در شکل (۵) ارائه شده است. بهبود خصوصیات ضدمیکروبی فیلم مرکب با افزوده شدن عصاره آویشن مشهود بود. در عین حال تأثیر ضدمیکروبی فیلم مرکب فعال وابسته به غلظت عصاره بود؛ طوری‌که قطر هاله عدم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۴/۱۵ میلی‌متر) و *اشریشیا کلی* (۱۸/۰۰ میلی‌متر) در فیلم مرکب فعال حاوی ۴ درصد عصاره آویشن بطور معنی‌داری نسبت

به فیلم حاوی ۲ درصد عصاره بیشتر بود ($p<0.05$). همچنین در هر دو باکتری مورد بررسی، فیلم‌های مرکب PC نسبت به فیلم PVA کارایی ضد میکروبی بالاتری نشان دادند. در یک نگاه کلی- تر قطر هاله عدم رشد فیلم‌ها علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* (گرم مثبت) نسبت به *اشریشیا کلی* (گرم منفی) بزرگتر بود.



شکل (۵): میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* در فیلم‌ها

بالاتر بودن کارایی ضدمیکروبی فیلم‌های مرکب PC نسبت به فیلم PVA ممکن است به‌دلیل فعالیت ضد میکروبی ذاتی کیتوزان باشد که قبلاً گزارش شده است [۳]. یکی از خواص ضد میکروبی کیتوزان در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* این است که کیتوزان روی سطح سلول یک غشای پلیمری تشکیل می‌دهد که می‌تواند مانع از ورود مواد مغذی به سلول شود [۲۸]. مشابه با نتایج تحقیق حاضر یک ارتباط مثبت بین مقدار مواد ضدمیکروبی اضافه شده به فیلم و فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها گزارش شده است [۲۹]. همچنین این نتایج نشان می‌دهد که غلظت بهینه مواد ضد میکروبی برای رها شدن از ماتریس فیلم و نشان دادن فعالیت ضدمیکروبی ضروری است [۵]. در عین حال اثرات بازدارندگی فیلم‌های کامپوزیت فعال حاوی سطوح ۲ و ۴ درصد عصاره به‌طور قابل توجهی بیشتر از سایر فیلم‌ها بود. این ممکن است به‌دلیل وجود محتوای فنلی بالای عصاره آویشن شیرازی باشد که موجب نمایش فعالیت ضد باکتریایی بالاتر در مقایسه با سایر فیلم‌ها شدند. اثربخشی ضد میکروبی ترکیبات استحصالی گیاهی به ترکیب شیمیایی و نسبت اجزای فعال آن بستگی دارد. ترکیبات اصلی فارماکولوژیک آویشن یعنی کارواکرول، تیمول، سیمن و ترپینن احتمالاً مسئول پتانسیل ضدمیکروبی خوب آن است. علاوه بر این، حضور ترکیبات مؤثره می‌تواند یک ارتباط هم‌افزایی با ترکیبات اصلی داشته باشد و پتانسیل ضد میکروبی آن را افزایش دهد. مکانیسم اثر احتمالی برای ترکیبات فنلی شامل اختلال در بافت سیتوپلاسمی، توزیع نیروی دینامیکی پروتون و جریان الکترونیکی، انعقاد محتوای سلولی شناسایی و گزارش شد [۳۰]. در مورد هر دو باکتری، تهیه فیلم‌های مرکب دو سازه‌ای PC سه سازه‌ای PCM صرفنظر از وجود عصاره، توانست کارایی ضدمیکروبی فیلم‌ها را افزایش دهد. این نتیجه ممکن است به‌دلیل تجمع بیش از حد مواد ضدمیکروبی ناشی از تشکیل لایه‌های متعدد باشد که ممکن است از انتشار ماده ضدمیکروبی جلوگیری کند. این نتایج نشان می‌دهد که اثرات ضدمیکروبی پوشش خوراکی را می‌توان بر اساس نوع و مقدار عوامل ضدمیکروبی و پلیمرهای مورد استفاده و همچنین سایر عوامل محیطی تعیین کرد [۵].

۴- نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، فیلم‌های خوراکی مرکب سه سازه‌ای (پلی‌وینیل الکل/کیتوزان/مونت‌موریلونیت) فعال حاوی عصاره آویشن شیرازی با موفقیت ساخته شد. فیلم مرکب فعال حاوی ۴ درصد عصاره آویشن با بهترین نتایج همراه بود زیرا فیلم‌های حاصل WVP پایینی داشته (۳/۹۰ گرم میلی‌متر در مترمربع ساعت پاسکال) که می‌تواند از تبادل رطوبت مواد غذایی جلوگیری کند و فرآیند فساد محصولات را کاهش دهد؛ استحکام مقاومتی بالای آن (۳۰/۱۰ مگاپاسکال) نیز نشان می‌دهد که این فیلم خوراکی قادر به حفظ یکپارچگی محصول بسته‌بندی شده است و با فیلم‌های پلاستیکی مانند پلی‌اتیلن که به‌طور گسترده در بازار استفاده می‌شوند، قابل مقایسه بود. ضمن اینکه وجود ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی موجب افزایش اثربخشی ضدمیکروبی آن علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی (به ترتیب *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی*) شد. به همین دلیل، ترکیب زیست‌پلیمرهای پلی‌وینیل الکل/ کیتوزان/ نانو رس غنی شده با عصاره آویشن شیرازی یک گزینه بالقوه برای بسته‌بندی‌های زیست تخریب‌پذیر جهت ذخیره‌سازی طولانی‌مدت‌تر در صنایع غذایی است.

۵- مراجع

[1] V. K. Pandey, R. U. Islam, R. Shams, & A. H. Dar, "A comprehensive review on the application of essential oils as bioactive compounds in Nano-emulsion based edible coatings of fruits and vegetables," Appl. Food Res., vol. 2, p. 100042, 2022. DOI:10.1016/j.afres.2022.100042

[2] P. Riazy Kermani, D. Khademi Shurmasti, & A. Alizadeh Karsalari, "Investigation of physical, mechanical and morphological properties of chitosan film prepared with different levels, molecular weights and solvents," Journal of Packaging Science and Technology, vol. 14, No. 2, pp. 9-19, 2023. (In Persian)

[3] M. Fallah Delavar, & N. Sedaghat, "A review of functional and antimicrobial properties of chitosan in food preservation," Scientific Journal of Packaging Science and Technology, vol. 11(41), pp. 16-25, 2021. (In Persian)

[4] Y. Liu, S. Wang, & W. Lan, "Fabrication of antibacterial chitosan-PVA blended film using electrospray technique for food packaging applications," Int. J. Biol. Macromol., vol. 107, pp. 848-854, 2018. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2017.09.044

[5] H. J. Choi, S. W. Choi, N. Lee, & H. J. Chang, "Antimicrobial activity of chitosan/ gelatin/ Poly(vinyl alcohol) ternary blend film incorporated with *Duchesnea indica* extract in strawberry applications," Foods, vol. 11, p. 3963, 2022. DOI: 10.3390/foods11243963

[6] D. Khademi Shurmasti, P. Rezaei Kermani, M. Sarvarian, & CH. Godswill Awuchi, "Egg shelf life can be extended using varied proportions of polyvinyl alcohol/chitosan composite coatings," Food Sci. Nutr., vol. 11, pp. 5041-5049, 2023. DOI:10.1002/fsn3.3394.

[7] H. Dehghan, & L. Roomiani, "Antimicrobial activity of nanoclay films enriched with citrus aurantium essential oil against indicator food borne pathogens in fishery products," Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, vol. 14(4), pp. 103-111, 2020. (In Persian)

[8] A. Golkar, & J. Mohammadzadeh Milani, "Performance of nanocomposites food packaging based on poly(lactic acid)/ clay during natural weathering: mechanisms and characteristics," Journal of Packaging Science and Technology, vol. 7(28), pp. 82-93, 2017. (In Persian)

[9] M. Mardani Kiasari, & D. Khademi Shurmasti, "Effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus*) extract and nanoclay in nanocomposite coating on the physicochemical and microbial properties of chicken fillets during refrigerated storage," Journal of Food Science and Technology, vol. 106(17), pp.13-21, 2020. (In Persian)

[10] N. Kaur, C. Somasundram, Z. Razali, A. H. I. Mourad, F. Hamed, & Z. F. R. Ahmed, "Aloe vera/chitosan-based edible film with enhanced antioxidant, antimicrobial, thermal, and barrier properties for sustainable food preservation," Polymers, vol. 16, p. 242, 2024. DOI:10.3390/polym16020242

[11] F. Zafarmand Kashani, & D. Khademi Shurmasti, "Antioxidant and antimicrobial effects of *Zataria multiflora* Boiss. and *Cuminum cyminum* L. alcoholic extracts in bioactive coatings on chicken meat shelf life," Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, vol. 73(3), pp. 424-433, 2021. (In Persian)

[12] Sh. Sharma, S. Barkauskaite, B. Duffy, A. K. Jaiswal, & S. Jaiswal, "Characterization and antimicrobial activity of biodegradable active packaging enriched with clove and thyme essential oil for food packaging application," Foods, vol. 9, p. 1117, 2020. DOI: 10.3390/foods9081117

[13] H. Haghighi, R. De Leo, E. Bedin, F. Pfeifer, H. W. Siesler, & A. Pulvirenti, "Comparative analysis of blend and bilayer films based on chitosan and gelatin enriched with LAE (lauroyl arginate ethyl) with antimicrobial activity for food packaging applications," Food Packag. Shelf Life, vol. 19, pp. 31-39, 2019. DOI:10.1016/j.fpsl.2018.11.015

[14] ASTM International, ASTM D882-18, "Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting," ASTM International, West Conshohocken, PA, USA., 2018.

[15] B. Fu, S. Mei, X. Su, H. Chen, J. Zhu, Z. Zheng, H. Lin, C. Dai, R. Luque, & D. P. Yang, "Integrating waste fish scale-derived gelatin and chitosan into edible nanocomposite film for perishable fruits," Int. J. Biol. Macromol., vol. 191, pp. 1164-1174, 2021. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.09.171

[16] X. Wang, H. Yong, L. Gao, L. Li, M. Jin, & J. Liu, "Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on chitosan and black soybean seed coat extract," Food Hydrocoll., vol. 89, pp. 56-66, 2019. DOI:10.1016/J.FOODHYD.2018.10.019

[17] P. B. Pathare, U. L. Opara, & F. A. J. Al-Said, "Color measurement and analysis in fresh and processed foods: a review," Food Bioproc Tech., vol. 6, pp. 36-60, 2013. DOI: 10.1007/s11947-012-0867-9

[18] E. Ansarifar, & F. Moradinezhad, "Encapsulation of thyme essential oil using electrospun zein fiber for strawberry preservation," Chemical and Biological Technologies in Agriculture, vol. 9, pp. 1-11, 2022. DOI: 10.1186/s40538-021-00267-y

[19] I. Kong, P. Degraeve, & L. P. Pui, "Polysaccharide-based edible films incorporated with essential oil nanoemulsions: physico-chemical, mechanical properties and its application in food preservation, a review," Foods, vol. 11, p. 555, 2022. DOI: 10.3390/foods11040555

[20] D. Yun, H. Cai, Y. Liu, L. Xiao, J. Song, & J. Liu, "Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry (*Myrica rubra*) anthocyanins," RSC Adv., vol. 9, pp. 30905-30916, 2019. DOI: 10.1039/c9ra06628d

[21] S. Bhatia, A. Al-Harrasi, M. Jawad, Y. A. Shah, M. S. Al-Azri, S. Ullah, M. K. Anwer, M. F. Aldawsari, E. Koca, & L. Y. Aydemir, "Comparative study of the properties of gelatin (porcine and bovine)-based edible films loaded with spearmint essential oil,"Biomimetics, vol. 8, p. 172, 2023. DOI:10.3390/biomimetics8020172

[22] L. Kumar, D. Ramakanth, K. Akhila, & K. K. Gaikwad, "Edible films and coatings for food packaging applications: A review," Environ. Chem. Lett., vol. 20, pp. 875-900, 2022. DOI: 10.1007/s10311-021-01339-z

[23] M. Koosha, & S. Hamedi, "Intelligent chitosan/PVA nanocomposite films containing black carrot anthocyanin and bentonite nanoclays with improved mechanical, thermal and antibacterial properties," Progress in Organic Coatings, vol. 127, pp. 338-347, 2019. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2018.11.028

[24] M. Abdollahi, M. Rezaei, & G. Farzi, "A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan," J. Food Eng., vol. 111(2). pp. 343-350, 2012. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2012.02.012

[25] S. Zahed Karkaj, & S. J. Peighambardoust, "Physical, mechanical and antibacterial properties of nanobiocomposite films based on carboxymethyl cellulose/nanoclay," Iran. J. Polym. Sci. Technol., vol. 30(6), pp. 557-572, 2018. DOI:10.22063/JIPST.2018.1536 (In Persian)

[26] T. R. Martiny, V. Raghavan, C. C. D. Moraes, G. S. D. Rosa, & G. L. Dotto, "Bio-based active packaging: carrageenan film with olive leaf extract for lamb meat preservation," Foods, vol. 9, p. 1759, 2020. DOI: 10.3390/foods9121759

[27] R. Sothornvit, S. I. Hong, D. J. An, J. W. Rhim, "Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films," LWT-Food Science and Technology, vol. 43(2), pp. 279-284, 2010. DOI:10.1016/j.lwt.2009.08.010

[28] P. K. Dutta, S. Tripathi, G. K. Mehrotra, & J. Dutta, "Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications," Food Chem., vol. 114, pp. 1173-1182, 2009. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.11.047

[29] C. Amankwaah, J. Li, J. Lee, & M. A. Pascall, "Development of antiviral and bacteriostatic chitosan-based food packaging material with grape seed extract for murine norovirus, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* control," Food Sci. Nutr., vol. 8, pp. 6174-6181, 2020. DOI: 10.1002/fsn3.1910

[30] S. A. Hashemi, S. Azadeh, B. Movahed Nouri, & R. Alizade Navai, "Review of pharmacological effects of *Zataria multiflora* Boiss. (Thyme of Shiraz)," International Journal of Medical Research & Health Sciences, vol. 6(8), pp. 78-84, 2017. (In Persian)