



## مقایسه‌ی ویژگی‌های ضد میکروبی و فیزیکی شیمیایی فیلم‌های امولسیون‌ی بر پایه‌ی کربوکسی- متیل سلولز حاوی ماکرو و نانوامولسیون اسانس روغنی دارچین

رضا فتاحی<sup>۱</sup>، بابک قنبرزاده\*<sup>۲</sup> و جلال دهقان‌نیا<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۲۵

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> به‌ترتیب استاد و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

\* مسئول مکاتبه: Email: Babakg1359@yahoo.com

### چکیده

**زمینه مطالعاتی:** افزودن محلول نانوامولسیون اسانس روغنی دارچین باعث بهبود برخی از ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و ضدکپکی فیلم‌های امولسیون‌ی گردد. **هدف:** هدف از این مطالعه تهیه ماکروامولسیون اسانس روغنی دارچین با استفاده از روش هموژنیزاسیون برش بالا و افزایش در مقدار انرژی ورودی به محلول امولسیون‌ی، از طریق هموژنیزاسیون ترکیبی برش بالا-فراصوت، برای کاهش اندازه قطرات امولسیون به کم‌تر از ۱۰۰ nm بود. روش کار: هر دو محلول امولسیون‌ی حاوی غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد اسانس روغنی دارچین به محلول تشکیل‌دهنده فیلم به طور جداگانه اضافه شدند و فیلم‌های نهایی به روش کاستینگ (تبخیر حلال) تهیه گردید. ویژگی‌های ریزساختاری فیلم‌ها با استفاده از تصاویر میکروسکوپ اتمی (AFM) مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون حرارتی، مکانیکی، پویا (DMTA) برای بررسی مقاومت حرارتی فیلم‌ها استفاده گردید. به منظور آنالیزهای ضد میکروبی فیلم‌ها از روش هاله‌ی عدم رشد استفاده شد. **نتایج:** تصاویر حاصل از میکروسکوپ نیروی اتمی نشان دهنده پایداری بیشتر محلول نانوامولسیون در مقایسه با ماکروامولسیون در بستر فیلم امولسیون‌ی بود، شاخص زبری فیلم نانوامولسیون‌ی در بالاترین غلظت از اسانس روغنی (Sa=۸۰nm, Sq=۸۶nm) تقریباً مشابه با فیلم کنترل بود ولی ناپایداری ماکروامولسیون اسانس روغنی دارچین در داخل بستر و در نتیجه مهاجرت به سطح فیلم در طی فرآیند خشک کردن، باعث ایجاد سطحی ناهموار گردید. ماهیت پلاستی-سایزری اسانس روغنی دارچین و همچنین کاهش اندازه‌ی قطرات باعث کاهش بیشتر برهمکنش‌های بین زنجیره‌ای در بیوپلیمر گردید که در نتیجه‌ی آن دمای انتقال شیشه‌ای (T<sub>g</sub>) و مدول ذخیره (E') براساس داده‌های آزمون حرارتی، مکانیکی، پویا کاهش بیشتری برای فیلم‌های حاوی نانوامولسیون در مقایسه با ماکروامولسیون نشان داد. کاهش در اندازه‌ی قطرات اسانس روغنی در محلول امولسیون‌ی باعث افزایش دسترسی زیستی ترکیبات فعال ضد میکروب اسانس-دارچین گردید به گونه‌ای که شاخص ضدکپکی برای فیلم‌های ماکروامولسیون‌ی حاوی ۱٪ اسانس روغنی دارچین در برابر آسپیرژیلوس نایجرز و موکور راسموس به ترتیب از ۱۴/۱۶ و ۲۰/۸۲ به ۱۸/۸۱ و ۲۵ در فیلم‌های نانوامولسیون‌ی افزایش یافت. **نتیجه‌گیری نهایی:** بهبود پایداری امولسیون در بستر فیلم امولسیون‌ی نقش مؤثری در بهبود ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و همچنین اثرگذاری ضد میکروبی داشت.

**واژگان کلیدی:** فیلم فعال، اسانس روغنی دارچین، دسترسی زیستی، ضدکپک

## مقدمه

استفاده از بسته‌بندی فعال، روش نوینی برای نگه‌داری مواد غذایی می‌باشد و در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای برای تولید و اقتصادی کردن آن‌ها انجام گرفته است. بسته‌بندی فعال بصورت مقابل تعریف می‌شود: نوعی از سیستم بسته‌بندی که علاوه بر داشتن خواص بازدارندگی بسته‌بندی‌های معمولی (مانند خواص بازدارندگی در برابر گازها، بخار آب و تنش‌های مکانیکی) با تغییر شرایط ماده‌ی بسته‌بندی باعث بهبود ایمنی، ماندگاری و ویژگی‌های حسی ماده‌ی غذایی می‌گردد و در عین حال کیفیت ماده‌ی غذایی را حفظ می‌کند (نوشیروانی و همکاران ۲۰۱۷).

بسیاری از ترکیبات ضد میکروب و آنتی‌اکسیدان به‌منظور کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها و افت کیفیت در مواد غذایی به صورت مستقیم به داخل مواد غذایی افزوده می‌شوند. این روش ممکن است منجر به غیرفعال شدن یا از بین رفتن عوامل فعال و یا مهاجرت سریع آنها به داخل توده‌ی ماده‌ی غذایی گردد. از این‌رو اثرگذاری ضد میکروبی از طریق کاهش به زیر غلظت-های مؤثر کاهش خواهد یافت و همچنین در این روش ممکن است عطر و طعم ماده‌ی غذایی تغییر کند. درون-پوشانی ترکیبات ضد میکروب در داخل بسته‌های بیوپلیمری به شکل بسته‌بندی فعال، می‌تواند به-طور بالقوه ایباعتکنترل‌رهایسازی عوامل فعال به شکل رهایش تدریجی شود و در نتیجه باعث ممانعت از افت کیفی و فساد میکروبی در طی نگه‌داری طولانی‌مدت مواد غذایی خواهد شد (صحرایی و همکاران ۲۰۱۷؛ نوشیروانی و همکاران ۲۰۱۸).

اسانس‌های روغنی متابولیت‌های ثانویه حاصل از گیاهان آروماتیک هستند که دارای ماهیت فرار با آرومای شدید می‌باشند. این ترکیبات به جهت ماهیت لیبیدی دارای بازدارندگی مناسبی در برابر بخار آب هستند ولی به دلیل عدم برخوردارگی از ماهیت پلیمری خواص مکانیکی ضعیفی دارند، از این‌رو استفاده از آن-

هابهتنهایی نمی‌تواند پوشش مناسبی برای مواد غذایی باشد. (برت ۲۰۰۴؛ سانچزگونزالز و همکاران ۲۰۱۱؛ نوشیروانی و همکاران ۲۰۱۷). سینامیک‌آلدئید اصلی‌ترین و عمده‌ترین ترکیب فعال ضد میکروب اسانس روغنی دارچین است، که به صورت آلدئید  $\beta - \alpha$ ، غیراشباع و آروماتیک بوده که بر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل: کپک، باکتری و مخمر اثر گذار می‌باشد (اجاق و همکاران ۲۰۱۰).

نانوامولسیون‌ها یکی از انواع سیستم‌های امولسیونی با محدوده‌ی اندازه‌ی قطرات زیر ۱۰۰ نانومتر می‌باشند. استفاده از اسانس‌های روغنی به صورت نانوامولسیون در فیلم‌های بیوپلیمری در مقایسه با محلول‌های ماکروامولسیونی دارای مشخصه‌های ویژه‌ای مانند (۱) بهبود پایداری سینتیک و محافظت از تخریب و تبخیر محلول امولسیونی در طی فرآیند خشک‌کردن فیلم-امولسیونی (۲) بهبود ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم امولسیونی، است (اتونی و همکاران ۲۰۱۴؛ شادمان و همکاران ۲۰۱۶).

هاشمی گهروئی و همکاران (۲۰۱۷)، در بررسی تأثیر زمان فرآیند سونیکاسیون بر اندازه‌ی قطرات محلول امولسیونی اسانس روغنی آویشن شیرازی درون پوشانی شده در بستر صمغ دانه ریحان، نشان دادند که افزایش زمان سونیکاسیون باعث کاهش اندازه‌ی قطرات فاز روغنی از ۲۱۰ نانومتر به ۹۰ نانومتر در محلول امولسیونی گردید. کاهش اندازه‌ی قطرات درون پوشانی شده باعث بهبود اثر گذاری ضد میکروبی فیلم‌های حاصل شد. در مطالعه‌ی دیگری که توسط اتونی و همکاران (۲۰۱۴)، صورت گرفت گزارش نمودند که اندازه متوسط قطرات پیش امولسیون اسانس روغنی میخک و پونه‌کوهی حاصل از هموژنایزر برش بالا با استفاده از پروب التراسوند از مقیاس ماکرومتر به مقیاس نانومتر کاهش یافت. آن‌ها مشاهده کردند که درون پوشانی قطر اتان و امولسیون در مقایسه با ماکروامولسیون در بستر متیل سلولز اثر ضد کپکی این

۲۰ آب دوبار تقطیر و هموژنیزاسیون بوسیله‌ی هموژنایزر برش بالا (JANKE & KUNKEL، آلمان)، در ۲۰۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه انجام شد، سپس اسانس روغنی دارچین در مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۱ درصد وزنی-حجمی (W/V) امولسیون به هر محلول امولسیون‌ی اضافه شد و مجدداً هموژنیزاسیون به مدت ۲ دقیقه انجام گرفت. محلول ماکروامولسیون‌ی تهیه شده در فرکانس 20 kHz، توان 400 W و دامنه 70 S برای ۱۰ دقیقه به وسیله‌ی پروب التراسوند (FAPAN، ایران)، برای تهیه‌ی محلول نانوامولسیون (NE) تحت سونیکاسیون قرار گرفت. در طول فرآیند سونیکاسیون، برای اجتناب از بالا رفتن دمای محلول امولسیون‌ی از حمام آب-یخ استفاده شد.

**تعیین اندازه‌ی قطرات در محلول‌های امولسیون‌ی**

**حاوی اسانس روغنی دارچین**

برای تعیین اندازه‌ی متوسط قطرات (Dz) محلول‌های امولسیون‌ی، از دستگاه پارتیکل سایزر (DLS) (Malvern instruments انگلستان) استفاده شد.

**تولید و ویژگی‌های فیلم‌های امولسیون‌ی**

**تولید فیلم‌های امولسیون‌ی**

برای تهیه‌ی فیلم‌ها از روش داشی‌پور و همکاران (۲۰۱۵)، با برخی از اصلاحات استفاده شد. ابتدا ۸۰ ml از آب دو بار تقطیر در داخل حمام آب تا رسیدن به دمای ۸۵ °C گرم شد، سپس ۱/۵ گرم از CMC به آب گرم افزودند و به وسیله‌ی همزن مغناطیسی در ۸۰۰ rpm در دمای ۸۵ °C برای ۶۰ دقیقه هم زده شد، سپس گلیسرول به مقدار ۰/۷۵ % W/W بیوپلیمر به عنوان پلاستی-سایزر اضافه شد و عمل هم‌زدن به مدت ۱۰ دقیقه در این شرایط تداوم پیدا کرد، سپس دمای محلول بیوپلیمر تا ۶۰ °C برای جلوگیری از تخریب ترکیبات فعال اسانس-دارچین کاهش داده شد و با ۲۰ ml از محلول ماکرو و نانوامولسیون تهیه شده در مرحله‌ی قبل ترکیب شد، به منظور تهیه‌ی محلول همگن، محلول امولسیون‌ی در شرایط ۵۰۰ rpm در دمای ۶۰ °C به مدت ۳۰ دقیقه هم-

دو اسانس را بهبود داده است و همچنین قطرات نانوامولسیون در ساختار فیلم اثر پلاستی‌سایزری بیشتری در مقایسه با ماکروامولسیون نشان دادند.

هدف از این تحقیق، تولید محلول ماکروامولسیون‌ی و نانوامولسیون‌ی اسانس روغنی دارچین به ترتیب با روش هموژنیزاسیون برش بالا و روش ترکیبی هموژنیزاسیون برش بالا-فراصوت بود. سپس محلول‌های امولسیون‌ی در بستر CMC درون پوشانی شدند و تأثیر هر کدام از محلول‌های امولسیون‌ی بر ویژگی‌های مختلف فیزیکی، شامل: ریزساختار، ضخامت و حرارتی و همچنین کارایی ضد میکروبی هر کدام از فیلم‌های امولسیون‌ی به روش کشت آزمایشگاهی، بر روی دو سویه‌ی کپکی *آسپرژیلوس نایجرز* و *موکور راسموس* مورد مطالعه قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها**

**مواد**

کربوکسی متیل سلولز (CMC)، با وزن مولکولی متوسط ۴۱۰۰۰ g/mol (درجه‌ی کاربردی) از پخش-کننده‌ها کاراگامپارسیان (تهران، ایران) تهیه شد. گلیسرول با درجه‌ی آنالیتیکال از آزمایشگاه مواد شیمیایی دکتر مجلی (تهران، ایران) خریداری شد. پلی‌سوربات ۸۰ (تویین ۸۰) از شرکت مرک (دارمشتات، آلمان) تهیه شد و به عنوان سورفاکتانت در محلول‌های امولسیون‌ی استفاده شد. اسانس روغنی دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*) از شرکت دارویی اکسیر گل سرخ (مشهد، ایران) تهیه شد. از آب دوبار تقطیر در تمامی امولسیون‌ها و محلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی فیلم استفاده شد.

**تولید امولسیون اسانس روغنی دارچین**

**ماکرو و نانوامولسیون**

تولید محلول ماکروامولسیون (ME)، به وسیله‌ی افزودن مقادیر مختلف (۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم) از تویین ۸۰ معادل با ۵۰ % W/W سورفاکتانت به روغن (SOR) به ml

(64974) و موکور راسموس (IBRC-M number 30117) از محیط‌کشت عصاره‌ی سیب-زمینی (PDA) استفاده شد. شمارش اسپورهای کپکی در زیر میکروسکوپ با استفاده از لام نئوبار تا رسیدن به تعداد اسپور / CFU  $10^6$  ml صورت گرفت، محلول PDA تهیه شده به داخل پلیت‌هایی با قطر ۸۰ mm ریخته شد، بعد از سفت شدن محیط‌کشت، سویه‌های کپکی شمارش شده در سرم فیزیولوژی بر روی سطح محیط‌کشت پخش شدند، فیلم‌ها با استفاده از پانچ استریل در ابعاد ۸ mm بریده شدند و بر روی محیط کشت تلقیح شده قرار گرفتند، سپس پلیت‌ها در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور قرار گرفتند. قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف فیلم‌ها با استفاده از خط‌کش دیجیتالی اندازه‌گیری شد. شاخص ضدکپکی (A.I./)، با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:  $A.I. = D_i / D_p \times 100$

$D_i$ : قطر هاله‌ی عدم رشد (mm)،  $D_p$ : قطر پلیت (۸۰ mm)

#### آنالیز آماری

در این تحقیق از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) برای تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و همچنین از آزمون دانکن برای مقایسه حداقل اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها ( $P < 0.05$ ) استفاده شد. آزمون‌ها برای هر نمونه در سه تکرار انجام شد و داده‌ها به صورت (انحراف از معیار  $\pm$  میانگین) بیان شده است.

زده شد، محلول تشکیل دهنده فیلم با استفاده از پمپ خلأ (DV-3E 250، آمریکا)، در شرایط محیطی به مدت ۵ دقیقه هواگیری گردید، سپس ۱۰۰ ml از هر محلول تشکیل دهنده فیلم امولسیون، در سطح صاف پلیت‌های تفلونی (PTFE) در ابعاد  $15 \times 15 \text{ cm}^2$  قالب‌ریزی و در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور خشک شدند.

#### میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

به منظور بررسی توپوگرافی سطحی فیلم‌های امولسیونی، از میکروسکوپ AFM (Nanosurf، سوئیس) استفاده شد. عکس‌برداری از سطح فیلم‌ها در ابعاد  $8 \times 8 \mu\text{m}$  صورت گرفت و برای آنالیز تصاویر از نرم‌افزار Nanosurface Mobile S (مدل ۲،۲،۱)، برای تعیین شاخص‌های Sa (میانگین انحراف ارتفاع از میانگین سطح) و Sq (ریشه‌ی مربع میانگین انحراف ارتفاع از میانگین سطح) به عنوان پارامترهای زبری سطحی استفاده شدند.

#### آنالیز حرارتی، مکانیکی، پویا (DMTA)

به منظور آنالیز حرارتی، مکانیکی، پویا از دستگاه Triton DMTA (Technology، انگلستان) استفاده شد، برای انجام آزمون دستگاه در فرکانس ثابت ۱ Hz و کرنش کم‌تر از ۰/۱ در دامنه‌ی دمایی  $150^{\circ}\text{C}$  تا  $250^{\circ}\text{C}$  با سرعت گرمایش  $5^{\circ}\text{C} / \text{min}$  تنظیم شد، قبل از انجام آنالیز تمامی نمونه‌های فیلم در رطوبت نسبی ۵۳٪ با استفاده از محلول نمکی اشباع  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  به مدت ۲۴ ساعت مشروط شدند. مدول برشییا ذخیره ( $E'$ ) و تانژانت افت ( $\tan \delta$ ) فیلم‌های امولسیونی به صورت تابعی از دما بیان شدند.

#### ویژگی ضدکپکی

برای تعیین ویژگی ضدکپکی فیلم‌های امولسیونی از روش انتشار دیسک که به وسیله‌ی نوشیروانی و همکاران (۲۰۱۷)، تشریح شده است، با برخی اصلاحات جزئی استفاده شد. به منظور فعال‌سازی سوسپانسیون اولیه‌ی سویه‌های کپکی اسپرژیلوس نایجرز (ATCC

## نتایج و بحث

## تعیین اندازه‌ی قطرات در محلول‌های امولسیون‌ی حاوی اسانس روغنی دارچین

اندازه‌ی قطرات اسانس روغنی درون پوشانی شده در فیلم‌های امولسیون‌ی دارای تأثیرات قابل ملاحظه‌ای بر ویژگی‌های ریزساختار، فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی آن‌هاست (اتونی و همکاران ۲۰۱۴؛ آکئه‌وودوفانی و همکاران ۲۰۱۵؛ هاشمی گهروئی و همکاران ۲۰۱۷).

## جدول ۱- مقادیر قطر قطرات ماکرو و نانوامولسیون

## اسانس دارچین در غلظت‌های مختلف

Table 1- Droplet diameters (Z-average) values of macro (ME) and nano (NE) emulsions of CEO at different concentration

Emulsion types	Z-average (nm)
ME-CEO 0.25%	242.1 ± 1.01 <sup>c</sup>
ME-CEO 0.50%	263 ± 1 <sup>b</sup>
ME-CEO 1%	362.2 ± 1.07 <sup>a</sup>
NE-CEO 0.25%	59.2 ± 1.06 <sup>e</sup>
NE-CEO 0.50%	80.08 ± 1 <sup>d</sup>
NE-CEO 1%	80.02 ± 1 <sup>d</sup>

Values were given as mean ± standard deviations. Different superscripts in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ )

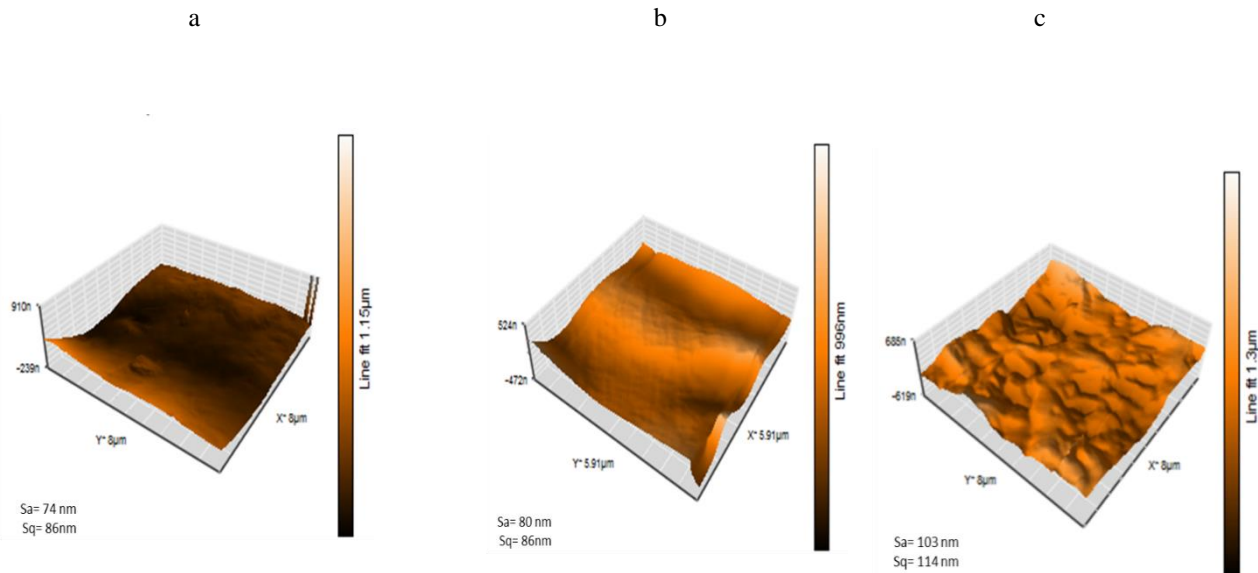
مقادیر متوسط اندازه‌ی قطرات براساس شدت توزیع ( $D_z$ ) برای هر دو محلول ماکرو و نانوامولسیون در جدول ۱ ارائه شده است. براساس تحقیقات صورت گرفته در مطالعات قبلی اندازه‌ی متوسط قطرات فاز پراکنده امولسیون بوسیله‌ی افزایش در توان انرژی ورودی به محلول امولسیون‌ی کاهش می‌یابد (پرز گاگو و همکاران ۲۰۰۱؛ اتونی و همکاران ۲۰۱۴). هموژنایزر برش‌بالاتر به عنوان یک روش مکانیکی نسبتاً کم‌انرژی برای تولید محلول ماکروامولسیون استفاده شد، دامنه‌ی اندازه‌ی قطرات در محلول ماکروامولسیون بین ۳۶۲-۲۴۲ nm بود. از روش التراسوند برای کاهش اندازه‌ی میانگین قطرات به محدوده‌ی  $D_z < 100$  nm استفاده شد و دامنه‌ی اندازه‌ی قطرات از ۵۹ تا ۸۰ نانومتر برای غلظت‌های ۰/۲۵٪ و ۱ اسانس روغنی به دست آمد. سونیکاسیون تأثیر قابل ملاحظه‌ای در کاهش شاخص

اندازه‌ی متوسط قطرات ( $D_z$ ) در امولسیون اسانس روغنی دارچین داشت ( $P < 0/05$ ). سونیکاسیون باعث ایجاد موج‌های بین‌سطحی و تشکیل میکروحباب‌ها می‌گردد که در نتیجه‌ی تخریب آن‌ها باعث کاهش اندازه‌ی قطرات فاز روغنی به محدوده‌ی کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر می‌شود (کنتیش و همکاران ۲۰۰۸). هاشمی گهروئی و همکاران (۲۰۱۷)، در نتایج تحقیق خود نشان دادند که با افزایش زمان اعمال سونیکاسیون به محلول امولسیون‌ی اسانس روغنی آویشن شیرازی درون پوشانی شده در بستر صمغ دانه‌ی ریحان، اندازه‌ی قطرات امولسیون کاهش یافت. افزایش در غلظت اسانس روغنی دارچین در هر دو محلول ماکرو و نانوامولسیون، منجر به افزایش اندازه‌ی قطرات گردید ( $P < 0/05$ ). این پدیده می‌تواند به دلیل انبوه شدن قطرات به دلیل ناکارآمدی سورفاکتانت برای پوشش کامل سطح بین قطرات در غلظت‌های بالا از فاز روغنی باشد. نتایج مشابهی بوسیله‌ی بونیا و همکاران (۲۰۱۲)، در بررسی تأثیر غلظت اسانس روغنی ریحان و پونه‌کوهی بر اندازه‌ی قطرات در محلول بیوپلیمری کیتوزان گزارش شد.

## میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

تصاویر سه‌بعدی حاصل از میکروسکوپ AFM برای بررسی بیشتر تفاوت‌های موجود در مورفولوژی سطحی فیلم‌های حاوی ماکرو و نانوامولسیون و بررسی میزان ناپایداری هر کدام از امولسیون‌ها در بستر فیلم در طی خشک کردن مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس شکل ۱ فیلم کنترل بدون اسانس روغنی دارای سطح صاف با شاخص‌های زبری  $S_a$  و  $S_q$  به ترتیب ۷۴ nm و ۸۶ بود، مقادیر تقریباً مشابهی برای فیلم حاوی نانوامولسیون به دست آمد. در مقابل، مقادیر  $S_a$  و  $S_q$  در فیلم حاوی ماکروامولسیون افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داد و به ترتیب به ۱۰۳ nm و ۱۱۴ رسید. این نتایج تأییدکننده این فرضیه بود که درون پوشانی اسانس روغنی به شکل محلول نانوامولسیون در بستر CMC از طریق کنترل مکانیسم‌های ناپایداری

به‌خصوص روش‌نشینی و مهاجرت به سطح فیلم امولسیون‌ی بهبود پیدا می‌کند.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی فیلم کنترل (a) و فیلم‌های درون‌پوشانی شده با نانوامولسیون و ماکروامولسیون اسانس دارچین در غلظت ۱ درصد

Figure 1- The AFM images of the CMC control film (a) and films loaded with NE (b) and ME (c) of CEO at selected concentration 1% of CEO

دمایی رخ می‌دهد. محدودیت جابه‌جایی در این ناحیه بیانگر ویسکوزیته‌ی ظاهری بالا ( $>10^{12}$  Pa.s) و مدول برشی ( $>10^9$  Pa) می‌باشد. در دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ )، مدول ذخیره ( $E'$ ) افسریعی با افزایش دما نشان می‌دهد، درحالی که مدول افت ( $E''$ ) و تانژانت ( $\tan\delta$ ) به صورت پیک ظاهر می‌شوند که آرمیدگی  $\alpha$  نامیده می‌شود (ویلپیسزویسکا و همکاران ۲۰۱۵؛ زینوویادو و همکاران ۲۰۱۶). ویژگی‌های ترمومکانیکی فیلم‌های خالص بر پایه‌ی CMC و حاوی ماکرو و نانوامولسیون در شکل ۲ a و b، نشان داده شده است. برای  $\tan\delta$  در تمامی فیلم‌ها، دو پیک بر حسب نتایج DMTA حاصل شد که پیک مربوط به دماهای بالا مربوط به آرمیدگی  $\alpha$  در دمای انتقال شیشه‌ای بود. این پدیده منعکس-کننده حرکت‌های محدود در نواحی آمورف مربوط به زنجیره‌های طویل پلیمر می‌باشد. فیلم‌های کنترل دارای

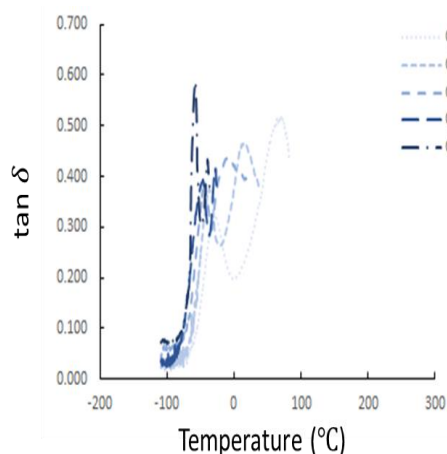
این نتایج با یافته‌های آگنه‌وودوفانی و همکاران (۲۰۱۵)، که براساس یافته‌های خود بیان کردند که در فیلم‌های خوراکی آلژینات حاوی اسانس روغنی آویشن، لیموسبز و مریم‌گلی، کاهش در اندازه‌ی قطرات امولسیون به جهت درون‌پوشانی بهتر در بستر فیلم و مهاجرت کم-تر قطرات روغنی به سطح، یکنواختی سطحی بهبود یافت. علاوه بر این آتارس و همکاران (۲۰۱۰)، با تشریح مکانیسم مشابه با تحقیق قبل، ساختار یکسانی برای فیلم‌های سدیم‌کازئیناتی حاوی اسانس روغنی دارچین گزارش کردند.

#### آنالیز حرارتی، مکانیکی، پویا (DMTA)

پلیمرها با ساختارهای آمورف و نیمه‌آمورف در طی پدیده انتقال از حالت جامد شیشه‌ای به حالت لاستیکی با ویسکوزیته‌ی بالا تبدیل می‌شوند. فرآیند انتقال شیشه‌ای در پلیمرها جزء پدیده‌های انتقال فاز مرتبه‌ی دوم می‌باشد و اغلب به‌جاییک دمای خاص در یک محدوده‌ی

محدود)، چرخشی و لرزشی گروه‌های انتهایی و زنجیره‌های کناری و یا به دلیل حضور نواحی غنی از گلیسرول در بستر پلیمر می‌باشد. بزرگی این انتقال-ها خیلی کوچک‌تر از آرمیدگی اصلی (آرمیدگی  $\alpha$ ) می‌باشد.

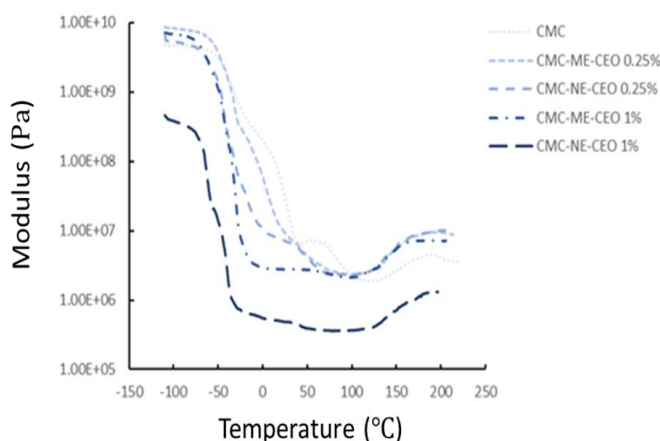
a



دو پیک مربوط به  $\tan \delta$  در دمای  $75^\circ\text{C}$  و  $45^\circ\text{C}$  به ترتیب برای آرمیدگی  $\alpha$  و  $\beta$  بودند.

آرمیدگی در دماهای کمتر (آرمیدگی  $\beta$  و  $\gamma$ ) مربوط به حرکات ناحیه‌ای زنجیره‌های اصلی (حرکات دامنه

b



شکل ۲- تصاویر آنالیز حرارتی، مکانیکی، پویا: (a) تانژانت افت و (b) مدول ذخیره برای فیلم‌های کربوکسی متیل سلولز حاوی ماکروامولسیون و نانوامولسیون در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۱ درصد اسانس دارچین

Figure. 2- DMTA plots: (a) loss factor ( $\tan \delta$ ) and (b) storage modulus (Pa) of CMC films with ME (CMC-ME-CEO) and NE (CMC-NE-CEO) at selected concentration of of CEO 0.25% and 1%

زیراکه زنجیره‌های پلیمر تحرک بیشتری دارند. از طرف دیگر در دماهای محیطی خیلی کم‌تر از دمای انتقال شیشه‌ای، بیوپلیمرها به صورت ترد و شکننده هستند که ویژگی نامناسبی در پوشش‌دهی محصولات غذایی می‌باشد، از این‌رو، در بهترین حالت بایستی دمای محیط تقریباً برابر با دمای انتقال شیشه‌ای باشد (قنبرزاده و ارومیه‌ای ۲۰۰۹؛ سالارباشی و همکاران ۲۰۱۳). اسانس‌های روغنی دارای اثر کاهش‌دهندگی بر مدول ذخیره فیلم‌های برپایه‌ی CMC هستند و کاهش اندازه‌ی قطرات منجر به تشدید این تأثیر بر شاخص مدول ذخیره‌ای فیلم‌ها می‌گردد. کاهش در مقادیر مدول ذخیره بر اساس شکل ۲ b، تا دمای حدود  $100^\circ\text{C}$  تا دوام داشت در دماهای بالاتر از این مقدار مجدداً مقادیر  $E'$  به دلیل تبخیر مولکول‌های آب که دارای تأثیر پلاستی-سایزری بر خواص فیلم هستند افزایش یافت. کاهش در

درون‌پوشانی اسانس روغنی در بستر فیلم در هردو محلول ماکرو و نانوامولسیون در غلظت تعیین شده (۲۵٪ و ۱)، به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش دمای انتقال شیشه‌ای گردید که نشانگر تأثیر پلاستی‌سایزری اسانس روغنی بود. مقادیر  $T_g$  از  $20^\circ\text{C}$  و  $-25^\circ\text{C}$  در فیلم‌های حاوی ماکروامولسیون به  $10^\circ\text{C}$  و  $-40^\circ\text{C}$  در فیلم‌های حاوی نانوامولسیون به ترتیب برای مقادیر ۰/۲۵ و ۱ کاهش یافت. این پدیده نشان داد که تأثیر پلاستی-سایزری محلول نانوامولسیونی در بستر فیلم بیشتر از ماکروامولسیون می‌باشد. دمای انتقال شیشه‌ای، پارامتر مهمی در مطالعه‌ی خواص پلیمرها می‌باشد، زیرا که بر خواص کاربردی آن‌ها از قبیل نفوذپذیری، مهاجرت و تکنولوژی شکل‌دهی پلاستیک تأثیرگذار است. نفوذ گازها و مولکول‌های بخار از میان فیلم در دماهای محیطی بالاتر از دمای انتقال شیشه‌ای افزایش می‌یابد،

موکور *راسموس* در غلظت ۱٪ برای فیلم‌های حاوی نانوامولسیون بهبود یافت. کاهش در اندازه‌ی قطرات اسانس‌روغنی از سطح ماکروقطرات به نانوقطرات درون‌پوشانی شده دارای تأثیر مهمی در بهبود ویژگی‌های ضدکپکی در مقابل *آسپرژیلوس نایجرز* و موکور *راسموس* به ترتیب به‌عنوان عامل فساد در محصولات نانوائی و میوه‌های شیرین بود. مکانیسم‌های مختلفی برای بهبود ویژگی ضدکپکی فیلم‌های نانوامولسیونی در مقایسه با فیلم‌های ماکرومولسیونی بیان شده است که می‌توان به: (۱) کاهش در نفوذپذیری انتخابی غشای سلولی در برابر انتقال جرم از طریق تشدید در مکانیسم جذب غیرفعال در غشای سلولی (چن و همکاران ۲۰۱۶)، (۲) بهبود دسترسی زیستی و تسهیل در انتشار ترکیبات فعال به‌صورت نانوقطرات از غشای سلولی و در نتیجه تجمع بیشتر در پلاسمای سلولی (هانگ و همکاران ۲۰۱۰)، اشاره کرد.

مدول ذخیره بیوپلیمرها در حضور اسانس‌های روغنی قبلاً نیز به‌وسیله‌ی سایر محققین از جمله سالارباشی و همکاران (۲۰۱۳)، گزارش شده است.

### ویژگی ضدکپکی

فعالیت ضدکپکی فیلم‌های برپایه‌ی CMC حاوی ماکرو و نانوامولسیون اسانس‌دارچین در غلظت‌های مختلف بر علیه گونه‌های کپکی *آسپرژیلوس نایجرز* و موکور *راسموس* با استفاده از روش انتشار از دیسک مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج آزمون در جدول ۲ و شکل ۳، نشان داده شده است. طبق انتظار فیلم کنترل بدون اسانس‌روغنی توانایی ایجاد بازدارندگی در برابر رشد کپک‌ها را نداشت. با افزایش غلظت اسانس‌روغنی، شاخص ضدکپکی برای هر دو فیلم حاوی ماکرو و نانوامولسیون افزایش پیدا کرد. شاخص ضدکپکی فیلم‌های حاوی ماکرومولسیون از ۱۴/۱۶٪ و ۲۰/۸۲ به ۱۸/۸۱٪ و ۲۵ به ترتیب برای *آسپرژیلوس نایجرز* و

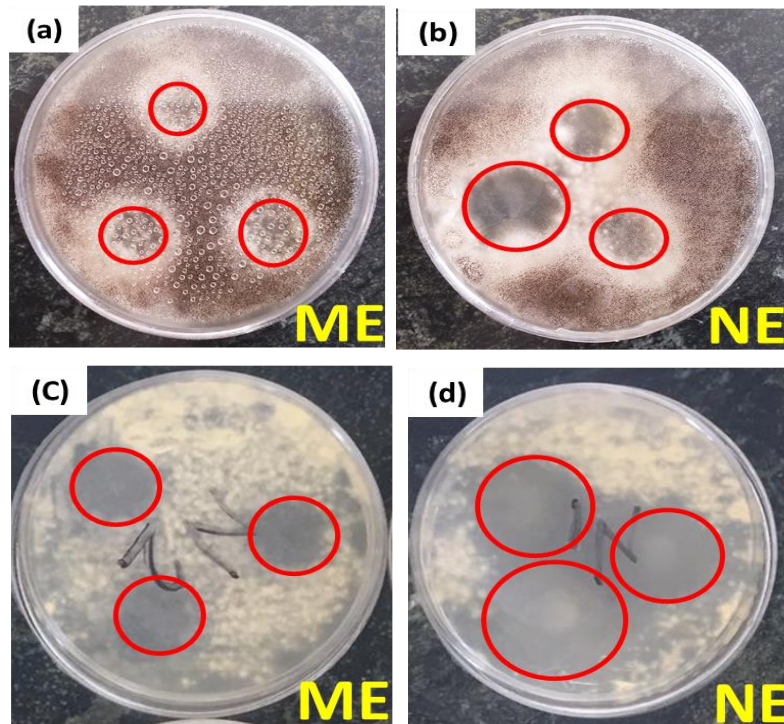
جدول ۲- قطر بازدارندگی و درصد شاخص ضدکپکی *آسپرژیلوس نایجرز* و موکور *راسموس* در فیلم کنترل و فیلم‌های حاوی ماکرومولسیون و نانوامولسیون در غلظت‌های مختلف بعد از ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد

Table 2- Inhibition diameter and Antifungal Index percentage (A.I%) of *A.niger* and *M.racemous* in control and films containing ME or NE of CEO in different concentration after 24 h at 25 °C

Film types	Inhibition diameter of <i>A.niger</i> (mm)	Inhibition diameter of <i>M.racemous</i> (mm)	A.I of <i>A.niger</i> (%)	A.I of <i>M. racemous</i> (%)
CMC	0 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>
CMC-ME-CEO 0.25%	9.5 ± 0.01 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	11.87 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
CMC-ME-CEO 0.50%	10.38 ± 0.09 <sup>c</sup>	13.33 ± 0.77 <sup>b</sup>	12.97 <sup>c</sup>	16.66 <sup>b</sup>
CMC-ME-CEO 1%	11.33 ± 0.01 <sup>bc</sup>	16.66 ± 2.88 <sup>ab</sup>	14.16 <sup>bc</sup>	20.82 <sup>ab</sup>
CMC-NE-CEO 0.25%	11.5 ± 0.01 <sup>bc</sup>	15 ± 0.01 <sup>ab</sup>	14.37 <sup>bc</sup>	18.75 <sup>ab</sup>
CMC-NE-CEO 0.50%	13.16 ± 1.89 <sup>b</sup>	16.66 ± 2.88 <sup>ab</sup>	16.45 <sup>b</sup>	20.82 <sup>ab</sup>
CMC-NE-CEO 1%	15.05 ± 2.08 <sup>a</sup>	20 ± 0.01 <sup>a</sup>	18.81 <sup>a</sup>	25 <sup>a</sup>

Values were given as mean ± standard deviations. Different superscripts in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ )





شکل ۳- هاله عدم رشد در اطراف فیلم‌های حاوی ماکرو و نانوامولسیون در غلظت انتخاب شده ۱٪ اسانس دارچین (a, b) *A. niger* و (c, d) *M. racemous* راسموس

Figure 3. Inhibition haloes around ME or NE films at selected concentration (CEO 1%) against (a, b) *A. niger* and (c, d) *M. racemous*

نتیجه‌گیری  
مقایسه صورت گرفته در ویژگی‌های مختلف فیزیکی- شیمیایی و ضدکپکی فیلم‌های بر پایه‌ی CMC حاوی ماکرو و نانوامولسیون تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای در برخی از ویژگی‌ها نشان داد. کاهش در اندازه‌ی قطرات محلول امولسیون‌ی از طریق هموژنیزاسیون ترکیبی برش بالا-فراصوت، باعث نشر بهتر نانوقطرات اسانس- دارچین از غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها گردید، از این‌رو کارایی ضدکپکی فیلم‌ها بهبود یافت. تصاویر

میکروسکوپی نشان‌گر سطحی صاف مشابه با فیلم کنترل، برای فیلم‌های نانوامولسیون‌ی بود که این امر مربوط به پایداری بهتر نانوقطرات در بستر فیلم است. کاهش بیشتر در ارتباطات بین‌زنجیره‌ای در بستر بیوپلیمر بوسیله‌ی نانوقطرات، باعث ایجاد فیلم‌های نانوامولسیون‌ی انعطاف‌پذیرتر از طریق کاهش بیشتر در دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) و مدول نخیره ( $E'$ ) بر اساس داده‌های آزمون مکانیکی و حرارتی گردید.

#### منابع مورد استفاده

نوشیروانی ن، قنبرزاده ب، رضایی مکرّم ر و هاشمی م، ۱۳۹۶. تهیه فیلم‌های فعال بر پایه کربوکسی متیل سلولز-کیتوزان-اسید اولئیک حاوی اسانس زنجبیل و تعیین ویژگی‌های فیزیکی، ضدکپکی و ضداکسایشی، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، (۲) ۲۷، ۱۳۵-۱۴۸.

Atarés L, Bonilla J and Chiralt A, 2010. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. Journal of Food Engineering 100: 678-687.

- Acevedo-Fani A, Salvia-Trujillo L, Rojas-Graü M A and Martín-Bellos Olga, 2015. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Journal of Food Hydrocolloids* 47: 168-177.
- Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods e a review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3): 223-253.
- Bonilla J, Atarés L, Vargas M and Chiralt A, 2012. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Journal of Food Hydrocolloids* 26: 9-16.
- Chen H, Hu X, Chen E, Wu S, McClements D J, Liu S, Li B and Li Y, 2016. Preparation, characterization, and properties of chitosan films with cinnamaldehyde nanoemulsions. *Journal of Food Hydrocolloids* 61: 662-671.
- Dashipour A, Razavilar V, Hosseinie H, Shojaee-Aliabadie S, Bruce German J, Ghanati K, Khakpourf M and Khaksar R, 2015. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules* 72: 606-613.
- Huang Q, Yu H and Ru Q, 2010. Bioavailability and delivery on nutraceuticals using nanotechnology. *Journal of Food Science* 75: 50-57.
- Ghanbarzadeh B and Oromiehi AR, 2009. Thermal and mechanical behavior of laminated protein films. *Journal of Food Engineering* 90: 517-524.
- Kentish S, Wooster T J, Ashokkumar M, Balachandran S, Mawson R and Simons L, 2008. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9: 170-175.
- Noshirvani N, Hong W, Ghanbarzadeh, B, Fasihi H and Montazami R, 2018. Study of cellulose nanocrystal doped starch-polyvinyl alcohol bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules* 107 B: 2065-2074.
- Ojagh S M, Rezaei M, Razavi S H and Hosseini S M H, 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Journal of Food Chemistry* 120: 193-198.
- Hashemi Gahruei H, Ziaee E, Eskandari M H and Hosseini S M, 2017. Characterization of basil seed gum-based edible films incorporated with *Zataria multiflora* essential oil nanoemulsion. *Journal of Carbohydrate Polymers* 166: 93-103.
- Otoni C G, Pontes S F O, Medeiros E A A and Soares N F F, 2014. Edible films from methylcellulose and nanoemulsions of clove bud (*Syzygium aromaticum*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils as shelf life extenders for sliced bread. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 62: 5214-5219.
- Otoni C G, Moura M R, Aouada F A, Camilloto G P, Cruz R S, Lorevice M V, Soares N F F and Mattoso L H C, 2014. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Journal of Food Hydrocolloids* 41: 188-194.
- Perez-Gago M B and Krochta J M, 2001. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 49: 996-1002.
- Perdones A, Chiralt A, Cháfer M and González-Martínez C, 2011. Effect of homogenization conditions on physicochemical properties of chitosan-based film-forming dispersions and films. *Journal of Food Hydrocolloids* 25: 1158-1164.
- Sanchez-Gonzalez L, Chiralt A, Gonzalez-Martínez C and Chafer M, 2011. Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering* 105(2): 246-253.
- Salarbashi D, Tajik S, Ghasemlou M, Shojaee-Aliabadi S, Shahidi-Noghabi M and Khaksar R, 2013. Characterization of soluble soybean polysaccharide film incorporated essential oil intended for food packaging. *Journal of Carbohydrate Polymers* 98: 1127-1136.
- Shadman S, Hosseini S E, Ershad-Langroudi H and Shabani S, 2017. Evaluation of the effect of a sunflower oil-based nanoemulsion with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the physicochemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during cold storage. *Journal of LWT - Food Science and Technology* 79: 511-517.

- Sahraee S, M Milani J, Ghanbarzadeh B and Hamishehkar H, 2017. Physicochemical and antifungal properties of bio-nanocomposite film based on gelatin-chitin nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 97: 373-381.
- Wilpiszewska K, Antosik A and Spychaj T, 2015. Novel hydrophilic carboxymethyl starch/montmorillonitenanocomposite films. *Journal of Carbohydrate Polymers* 128: 82-89.
- Zinoviadou K G, Koutsoumanis K P and Biliaderis C G, 2016. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Journal of Meat Science* 82: 338-345.

Journal of Food Researches/vol.29 No.4/ 2020/pp 45-57  
<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>

## The comparing study of antimicrobial and physicochemical properties of emulsified films based on carboxymethyl cellulose containing macro and nanoemulsion of cinnamon essential oil

R Fattahi<sup>1</sup>, B Ghanbarzadeh<sup>2\*</sup> and J Dheghannya<sup>2</sup>

Received: March 25, 2018 Accepted: May 16, 2018

<sup>1</sup>MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Professor and Associate Professor, respectively, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: E mail: Babakg1359@yahoo.com

**Introduction:** In recent years, the tendency to use biodegradable polymers in food packaging has been increased due to enhanced awareness on the ecological and environmental problems and the contaminations of natural resources caused by non-degradable petrochemical-based polymers. In this regard, two types of biodegradable polymers have been investigated: edible and non-edible biopolymers. Carbohydrates and proteins or their combination with lipids usually are used for producing edible biopolymers (Noshirvani et al., 2018). Cinnamon essential oil (CEO) is a mixture of aldehyde, phenol and terpene active compounds, exhibiting antioxidant and wide spectrum antimicrobial properties against fungal spoilage. CEO is granted by the world health organization (WHO) expert committee as a non-toxic additive and flavoring agent, meanwhile CEO is widely applied in many food formulations thus it fits desirable taste (Ojagh et al., 2010). Mostly, synthetic antimicrobial and antioxidant compounds are directly added into the food products to control the microbial growth. This method may lead to the inactivation or evaporation of active agents and rapid migration into the bulk of the foods. Hence, the antimicrobial activity may be quickly lost by dilution below active concentration and also the flavor of the food may be changed. The incorporation of an antimicrobial compound in a polymer matrix and the production of active packaging potentially cause to gradual release of active agents, which may be promising approach to inhibit the microbial growth. Carboxymethyl cellulose (CMC) is a biodegradable semi-synthetic biopolymer. It is a linear anionic charge polysaccharide due to having many hydrophilic carboxyl groups. CMC produces high viscosity solution and transparent films with favorable properties from consumer point of view. The CMC-based films show good barrier properties against gases and lipophilic compounds, while showing poor inhibition against water vapor permeation, similar to other polysaccharide and protein-based films. In order to fix these defects and improve packaging properties, a number of approaches have been studied such as combination with other compatible biopolymers, using hydrophobic compounds (such as lipid and essential oil), cross linking agents and nanofillers. To our knowledge, there is no study on comparing the effects of nano and macro emulsion of cinnamon essential oil (CEO) on the physicochemical and antifungal properties of the active biopolymer based films. Therefore, the objectives of this work were (i) to produce the emulsified CMC-based films from CEO macroemulsions (ME) and nanoemulsions (NE) prepared by using Ultra-Turrax and Ultrasonication (ii) to compare the effects of these two types of the emulsified films on some physical features of the resulted films (iii) and to study the *in-vitro* efficiency of these films against *Aspergillus niger* and *mucor racemosus*.

**Material and methods:** Macroemulsions (ME) were formed by adding different amounts (0.125, 0.25 or 0.5 gr) of Tween 80 equation with 50% W/W surfactant oil ratio (SOR) to 20 ml of double distilled water and followed by homogenization by Ultra-Turrax (JANKE & KUNKEL, Germany), at 20000 rpm for 1 min. Then, CEO was added at (0.25, 0.50 or 1 gr) equation with 0.25, 0.50 and 1% W/V (CEO/Emulsion) to each solution and mixed again for 2 min. Prepared ME were sonicated at the condition of 20 kHz frequency, 400 W input power and 70S amplitude for 10min by Ultrasonicator (FAPAN, Iran) to obtain nanoemulsions. In order to prevent the increase of emulsions temperature during sonication, the solutions were keeping in ice-water bath. Films were prepared as described by Dashipour et al. (2015), with slight modifications. First, 80 ml of double distilled water was heated in a water bath until temperature increased to about 85°C, then, 1.5 g of CMC powder was added to hot water and mixed by magnetic stirrer(800 rpm) at 85°C for 60 min. After that, glycerol was added at 0.75 w/w of CMC as a plasticizer and mixing continued for 10 min. Then, the solution temperature reduced to 60°C in order to prevent the destruction of CEO active compounds. Having done that, the solution was mixed with 20 ml of macro and nano emulsions solution prepared in the previous section and agitated with magnetic stirrer (500 rpm) at 60°C for 30 min to obtain homogeneous solutions. The film forming solutions were degassed with vacuum pump(DV-3E 250, JB,USA), at ambient condition for 5 min, then, 100 ml of the emulsified film forming solutions were poured into an even surface Teflon plates (PTFE) in the dimension of 15×15 cm and dried at 40 °C for 18 h in cold incubator to cast the films.

**Results and discussion:** The emulsified films based on carboxymethyl cellulose (CMC) containing macroemulsion (ME) and nanoemulsion (NE) of cinnamon essential oil (CEO) were prepared. The atomic force microscopy (AFM) images showed different morphology in the ME and NE films and more compact and uniform microstructure in the NE films than the ME one. Adding CEO led to more flexible films with lower glass transition temperature ( $T_g$ ) and storage modulus ( $E'$ ). Low droplet size in NE than ME led to brighter and yellowish films. Antifungal index against *A. niger* and *M.racemous* were 14.16% and 20.82 % in the ME films and 18.81% and 25 % in the NE ones. The antifungal activities of cinnamon essential oil (CEO) is related to their major phenolic or aldehyde such as eugenol and cinnamaldehyde constituents, respectively. Eugenol caused to killed microbial cells probably by two important mechanisms; leached out cell content by increasing the permeability of cellular membranes and released proton of hydroxyl groups causing to reduce proton gradient that resulted depletion energy polls in microbial cells. Another effective mechanism of cinnamaldehyde in microbial growth is its reaction with nucleophilic compound in microorganism's structure by higher electrophilic compounds such as carbonyl groups in cinnamaldehyde structure. The disruption of cytoplasmic membranes, the cytoplasm depletion, the deformation of hyphal tips, the formation of short branches and the collapse of entire hyphae were the major effect of essential oil on fungus, observed by transmission electron microscopy.

**Conclusion:** Comparing different physicochemical and antifungal properties of CMC films containing ME and NE of CEO showed significant differences. The decrease of droplet size by sonicator caused to better diffusion of CEO NE from cell membrane of microorganisms, resulting in improved antifungal efficiency. Microscopic images showed smooth and homogenous appearance with lower  $S_a$  and  $S_q$  of NE films. More interruption among biopolymer chains by nano droplets caused to the production of the films more extensible than ME films. Thermomechanical analysis confirmed more decrease in glass transition temperature ( $T_g$ ) and storage modulus ( $E'$ ). This study introduced a new nano active packaging film with some improved functional characteristics.

**Keywords:** Active film, Cinnamon essential oil, Bioavailability, Antifungal