

ویژگی‌های ساختاری، زیستی و ضدقارچی فیلم‌های زیست تخریب پذیر فعال بر پایه نشاسته بنه زعفران ترکیب شده با نانورس، کربوکسی متیل سلولز و پلی وینیل الکل

Structural, biological, and antifungal properties of active biodegradable films based on saffron corm starch, incorporated with nanoclay, carboxymethyl cellulose, and polyvinyl alcohol

پروین شرایعی^{۱*}، راضیه نیازمند^۲، سودابه عین افشار^۱

۱. دانشیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران، (نگارنده مسئول)
۲. استاد، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۵ - شناسانه برنمود رقی: 10.22092/mpt.2025.369575.1189

چکیده

شرایعی، پ.، نیازمند، ر.، عین افشار، س.، و. ویژگی‌های ساختاری، زیستی و ضدقارچی فیلم‌های زیست تخریب پذیر فعال بر پایه نشاسته بنه زعفران ترکیب شده با نانورس، کربوکسی متیل سلولز و پلی وینیل الکل

نشریه علمی فناوری و گیاهان دارویی ایران، دوره ۷- شماره ۱- پیاوند ۱۲- بهار و تابستان ۱۴۰۳ صفحه: ۲۶-۱۲

پژوهش حاضر با هدف استفاده بهینه از ضایعات بنه زعفران و بقایای ذرت و تولید فیلم زیست تخریب پذیر فعال انجام شد. بدین منظور ابتدا نشاسته و عصاره اتانولی از بنه زعفران و لیگنین، سلولز از بقایای ذرت (چوب ذرت) استخراج شدند. از سلولز استخراجی، کربوکسی متیل سلولز تهیه شد. میزان ترکیبات فنلی کل و ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH در عصاره بنه زعفران به ترتیب ۱۳۷/۹۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک و ۲۹/۳۱ درصد و در لیگنین به ترتیب ۱۵۶/۶۹ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک و ۵۸/۸۵ درصد اندازه گیری شد. سپس فیلم‌های مختلف از ترکیب نشاسته بنه زعفران با نانورس، کربوکسی متیل سلولز و پلی وینیل الکل حاوی ترکیبات فعال (عصاره بنه زعفران و لیگنین هر کدام به صورت جداگانه) تهیه و خواص آنتی اکسیدانی، فعالیت ضدقارچی، خواص ساختاری و میزان زیست تخریب پذیری آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد فیلم نشاسته-کربوکسی متیل سلولز حاوی لیگنین بیشترین فعالیت آنتیاکسیدانی (۳۶/۶۷ درصد) و فعالیت ضدقارچی (قطر هاله مهار رشد اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس پارازییتیکوس به ترتیب معادل ۱۱/۵ و ۷/۹۴ میلی متر) را داشت. فیلم‌های حاوی عصاره بنه زعفران سطح صاف تر و یکنواخت تری نسبت به لیگنین داشتند. زیست تخریب پذیری فیلم‌های مبتنی بر کربوکسی متیل سلولز بیش از ۹۰ درصد بود، در حالی که افزودن نانورس و پلی وینیل الکل، این مقدار را به حدود ۶۵ تا ۷۴ درصد کاهش داد. نتایج حاصل از این بررسی نشان دهنده پتانسیل مناسب این فیلم‌ها در کاربردهای زیست پایدار و بسته بندی فعال مواد غذایی است.

واژه های کلیدی: پلی وینیل الکل، فیلم زیست تخریب پذیر فعال، کربوکسی متیل سلولز، لیگنین، بنه زعفران، نانورس.

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: parvin_sharayei@yahoo.com

مقدمه

افزایش مصرف پلاستیک‌های سنتزی و نگرانی‌های ناشی از تجزیه‌ناپذیری آن‌ها، توجه پژوهشگران را به سمت تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر با منشأ طبیعی و تجدیدپذیر معطوف کرده است. با توجه به اینکه بیش از ۳۰ درصد پلاستیک‌های تولیدی جهان در صنعت بسته‌بندی به کار می‌رود و بخش قابل‌توجهی از آن‌ها قابلیت بازیافت ندارند (Plastic Facts, 2023)، توسعه بسته‌بندی‌های زیست‌پایه با قابلیت بارگذاری ترکیبات زیست‌فعال، به عنوان راهکاری مؤثر برای کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی و افزایش ماندگاری مواد غذایی پیشنهاد شده است (Sheikh et al., 2021). در این میان، بهره‌برداری از ضایعات کشاورزی نظیر بنه زعفران، که سرشار از نشاسته و ترکیبات فنلی است، رویکردی پایدار و هم‌راستا با اهداف اقتصاد چرخشی به شمار می‌آید (Esmaeilian et al., 2020).

افزون‌براین، بقایای ذرت به عنوان منبعی غنی از لیگنوسلولز، امکان استخراج لیگنین و سلولز را فراهم می‌آورند که در بهبود خواص عملکردی فیلم‌های زیستی بسیار مؤثر هستند (Roy & Rhim, 2023; Sun et al., 2023). استفاده از لیگنین، به‌ویژه در قالب نانوذرات یا در ترکیب با پلیمرهایی مانند کربوکسی‌متیل سلولز و پلی‌وینیل‌الکل، موجب تقویت ویژگی‌های مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی فیلم‌ها شده است (Abdollahi et al., 2012).

در این میان، نشاسته با توجه به فراوانی، زیست‌سازگاری و قیمت پایین، گزینه‌ای مطلوب

برای تولید فیلم‌های زیستی به شمار می‌رود، اما محدودیت‌هایی همچون استحکام مکانیکی پایین و جذب رطوبت بالا دارد (Papadopoulou et al., 2025; Wang et al., 2023; Frangopoulos et al., 2023). به منظور بهبود عملکرد، ترکیب آن با نانومواد و پلیمرهای کمکی از جمله نانورس، پلی‌وینیل‌الکل و کربوکسی‌متیل سلولز مورد توجه قرار گرفته است (Wang et al., 2023; Frangopoulos et al., 2023).

در سال‌های اخیر، تمرکز پژوهش‌ها بر ارتقای فعالیت‌های زیستی فیلم‌ها از طریق افزودن ترکیبات زیست‌فعال افزایش یافته است. نتایج مطالعات مختلف نشان داده‌اند که بارگذاری عصاره‌هایی مانند کارواکرول، گل بنفشه، سیاهدانه و پوست آناناس می‌تواند خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی فیلم‌های نشاسته‌ای را بهبود دهد و در عین حال ویژگی‌های فیزیکی مانند استحکام، انعطاف‌پذیری و ممانعت رطوبتی آن‌ها را ارتقا بخشد (Papadopoulou et al., 2025; Nikmanesh et al., 2023; Ekramian et al., 2020; Kumar et al., 2021; Sun et al., 2023).

با وجود همه این پیشرفت‌ها، تاکنون مطالعه‌ای جامع در زمینه استفاده از نشاسته استخراج‌شده از بنه زعفران همراه با ترکیبات زیست‌فعال مشتق‌شده از ضایعات ذرت نظیر لیگنین و کربوکسی‌متیل سلولز در قالب فیلم‌های پلیمری فعال ارائه نشده است. از این رو، پژوهش حاضر تلاشی نوین در راستای استفاده بهینه از منابع بومی و ضایعات کشاورزی در توسعه فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر با عملکرد ساختاری، زیستی

و ضدقارچی مطلوب اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و میکروارگانیسم‌ها

تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از جمله اتانول ۹۶ درصد، اسید کلریدریک، کلرید سدیم، نیترات منیزیم، رادیکال DPPH، معرف فولین-سیو کالچو، پلی‌وینیل‌الکل، نانورس، متانول، گلیسرول و سایر مواد آزمایشگاهی از شرکت‌های سیگما و مرک تهیه شدند. گونه‌های قارچی آسپرژیلوس فلاووس^۱ (PTCC 5004) و آسپرژیلوس پارازیتیکوس^۲ (PTCC5286) از سازمان پژوهش‌های صنعتی ایران تأمین شدند. محیط‌های کشت پوتیتودکستروزبراث^۳ و پوتیتودکستروز آگار^۴ هم چنین قرص رینگر از شرکت مرک تهیه شدند.

عصاره‌گیری از بنه زعفران

برای تهیه عصاره، ابتدا بنه‌های زعفران (*Crocus sativus* L.) در مرحله خواب از مزارع زاوه (خراسان رضوی، ۱۴۰۲) به صورت تصادفی جمع‌آوری و پس از پاک‌سازی، در دمای ۵۰ درجه سلسیوس با استفاده از دستگاه آون Memmert oven, model UL 40, schwabach, Germany خشک شدند. سپس نمونه‌ها آسیاب شده، از الک با مش ۳۵ (۵۰۰ میکرون) عبور داده شدند و جهت مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. فرآیند عصاره‌گیری با غوطه‌وری پودر بنه زعفران در اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. پس از صاف کردن، محلول

^۱ *Aspergillus flavus*

^۲ *A. parasiticus*

^۳ PDB

^۴ PDA

حاصل با تبخیرکننده دوار تحت خلا (مدل Laborota 4000 efficient, ساخت کشور آلمان) در دمای ۴۵ درجه سلسیوس تغلیظ گردید. سپس عصاره تغلیظ‌شده پس از پیش‌انجماد در دمای ۷۰- درجه سلسیوس به مدت ۱۹ ساعت، در خشک‌کن انجمادی (مدل Operon FDB-550، ساخت کشور کره) در دمای ۵۵- درجه سلسیوس و فشار ۰/۱۵ میلی‌متر جیوه به مدت ۲۰ ساعت خشک شد (Sharayei et al., 2025).

استخراج لیگنین و تهیه

کربوکسی‌متیل سلولز

از بقایای ذرت (چوب ذرت) لینیگن با روش فوکوشیما و سلولز از طریق تیمارهای قلیایی و کلریت سدیم از چوب ذرت استخراج شدند (Fukushima et al., 2001; Arapaglu et al., 2010). کربوکسی‌متیل سلولز نیز با واکنش سلولز استخراج‌شده با مونوکلرواستیک اسید و هیدروکسید سدیم تهیه شد (Mandal et al., 2015). درصد خلوص کربوکسی‌متیل سلولز ارزیابی شده توسط روش ذکر شده در انجمن مواد و آزمون آمریکا^۵، $73 \pm 2/42$ تعیین شد (Sharayei et al., 2025 a).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی

رشد قارچی^۶ و حداقل غلظت قارچ‌کشی^۷

توکیات ضد میکروبی (عصاره/لیگنین) به روش

ریزرق‌سازی^۸

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد قارچی نمونه‌ها از روش میکرودیلوژن American Society for Testing and Materials, ASTM

^۶ Minimum inhibitory concentration) MIC(

^۷ Minimum concentration fungicidal (MFC)

^۸ Microdilution method

در دمای ۹۰ درجه سلسیوس تهیه شده و سپس با نشاسته مخلوط گردید. در ادامه، مقادیر ۲۵۷/۰ درصد عصاره بنه زعفران و ۲۹۴/۰ درصد لیگنین به محلول اضافه شدند (Sharayei et al., 2025 a).

ارزیابی ویژگی فیلم‌ها

محتوای فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها با استخراج ۵۰۰ میلی گرم از فیلم در آب مقطر و انجام آزمون‌های فولین-سیوکالچو و DPPH طبق روش Sharayei و همکاران (۲۰۲۵) سنجیده شد. ریزساختار سطح فیلم‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱ در بزرگنمایی‌های مختلف تصویربرداری شد (Ghorbanpour et al., 2017). به منظور ارزیابی زیست‌تجزیه‌پذیری، فیلم‌ها در ابعاد ۴×۴ سانتی‌متر در محلول آلفا آمیلاز (۲۰۰ U/mL) به مدت ۳۲ ساعت در ۳۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و میزان هضم آنزیمی مورد ارزیابی قرار گرفت (Guhado et al., 2006). برای ارزیابی فعالیت ضدقارچی، فیلم‌های مختلف حاوی عصاره بنه زعفران یا لیگنین به صورت دیسک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر بر روی محیط کشت حاوی آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیٹیکوس (سوسپانسیون میکروبی با غلظت معادل ۱۰^۶ و ۱۰^۳ واحد تشکیل کلنی بر میلی لیتر) قرار گرفتند. دیسک‌های آغشته به کتوکونازول (۲۰۰ پی‌پی‌ام) به عنوان کنترل مثبت استفاده شدند (Mangana et al., 1999).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایشها در قالب طرح آزمایشی کاملاً

با استفاده از کدورت سنجی بوسیله دستگاه الایزایدر (ELX 808, Biotech USA) استفاده شد (Sharayei et al., 2025 b).

تهیه فیلم‌های زیست‌پایه حاوی ترکیبات

فعال

برای تهیه فیلم‌های زیست‌پایه، ابتدا ۴ درصد وزنی/حجمی نشاسته بنه زعفران در آب حل شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس تحت هم‌زدن ۵۰۰ دور بر دقیقه حرارت داده شد. سپس، گلیسرول به میزان ۳۰ درصد وزنی نسبت به نشاسته به عنوان نرم کننده افزوده گردید. محلول حاصل (۲۱/۵ میلی‌لیتر) در ظروف پلی‌استایرنی (با قطر ۸ سانتی متر) ریخته شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط خشک شد (Sharayei et al., 2025 a).

در فیلم نشاسته-نانورس، پس از ژلاتینه شدن نشاسته، نانورس به میزان ۱۵/۶ درصد وزنی/وزنی نسبت به نشاسته افزوده شد و پس از کاهش دما تا ۵۰ درجه سلسیوس، عصاره بنه زعفران یا لیگنین هر یک به میزان ۰/۳ درصد وزنی/وزنی نسبت به ماده خشک فیلم اضافه گردید (Niazmand et al., 2025). در فیلم نشاسته-کربوکسی‌متیل سلولز، محلول کربوکسی‌متیل سلولز با غلظت ۲۰ درصد وزنی/وزنی تهیه و با محلول نشاسته ترکیب شد و پس از کاهش دما تا ۵۰ درجه سلسیوس، ترکیبات فعال به میزان ۰/۳ درصد افزوده شدند (Sharayei et al., 2025 b). در تهیه فیلم نشاسته-پلی‌وینیل‌الکل نیز، ابتدا محلول پلی‌وینیل‌الکل با غلظت ۲۰ درصد وزنی/وزنی نسبت به نشاسته

جدول ۱- مقادیر ترکیبات فنلی و فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر فعال

نوع فیلم	میزان ترکیبات فنلی (میلیگرم در ۱۰۰ گرم)	مهارکنندگی رادیکال DPPH (درصد)
نشاسته- کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره بنه زعفران	۹۴/۹۲۸ ± ۳/۷۳۹ d	۳۵/۶۳۴ ± ۱/۴۵ b
نشاسته- کربوکسی متیل سلولز حاوی لیگنین	۱۰۶/۶۳۸ ± ۳/۹۴۲ c	۳۶/۶۷۳ ± ۱/۷۴۲ b
نشاسته- نانورس حاوی عصاره بنه زعفران	۷۶/۷۸۲ ± ۲/۸۵ e	۲۱/۸۷ ± ۰/۶۵ d
نشاسته- نانورس حاوی لیگنین	۴۷/۶۵۱ ± ۲/۷۵۶ f	۱۸/۷۱۹ ± ۱/۴۵۶ e
نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی عصاره بنه زعفران	۹۲/۵۶۷ ± ۲/۵۶۷ d	۳۵/۶۷۱ ± ۱/۶۷۲ b
نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی لیگنین	۹۲/۴۵۷ ± ۲/۵۸ d	۳۵/۶۳۲ ± ۲/۴۹ b
عصاره بنه زعفران	۱۳۷/۹۱ ± ۰/۸۸ b	۲۹/۳۱ ± ۱/۰۴ c
لیگنین	۱۵۶/۶۹ ± ۱/۵۹ a	۵۸/۸۵ ± ۰/۶۹ a

* داده‌ها میانگین سه تکرار هستند و به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف کوچک غیرمشترک در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می باشد (آزمون دانکن، ۰/۰۵ < p).

تصادفی در سه تکرار انجام شد. میانگین‌ها با نرم افزار MStatC و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ($p < 0.05$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی

اکسیدانی فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر فعال

مقادیر ترکیبات فنلی و درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در فیلم‌های پلیمری مختلف حاوی عصاره بنه زعفران و لیگنین در جدول ۱ نشان داده شده است. ترکیبات فنلی به عنوان عامل اصلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شوند و سنجش این فعالیت با استفاده از آزمون استاندارد DPPH انجام گرفته است. بر اساس نتایج، بیشترین میزان ترکیبات فنلی (حدود ۱۰۷ میلی گرم در صد گرم) و بالاترین درصد مهار DPPH (حدود ۳۷ درصد) در فیلم ترکیبی نشاسته کربوکسی متیل سلولز حاوی لیگنین مشاهده شد؛ که نشان از نقش مؤثر لیگنین در ارتقاء ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی دارد. همچنین، عصاره بنه زعفران نیز حاوی ترکیبات

فنلی قابل توجهی بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی نشان داد؛ که با یافته‌های عین‌افشار (۲۰۱۹) همخوانی دارد (Einafshar, 2019).

لیگنین، به واسطه ساختار آروماتیک و گروه‌های فنلی فراوان، از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مطلوبی برخوردار است، هرچند مقدار ترکیبات فنلی و مهار رادیکال آن نسبت به عصاره طبیعی کمتر بوده که احتمالاً به تفاوت در دسترسی‌پذیری گروه‌های فعال مرتبط است (Dizhbite et al., 2004).

در مقایسه ماتریس‌های پلیمری، سیستم نشاسته کربوکسی متیل سلولز عملکرد بهتری در حفظ ترکیبات فنلی و پایداری آنتی‌اکسیدانی نشان داد. این موضوع به ساختار آمورف کربوکسی متیل سلولز و توانایی آن در تشکیل پیوندهای هیدروژنی مؤثر نسبت داده می‌شود. Zhang و همکاران (۲۰۲۲) و همچنین Li و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که این پلیمر به دلیل ساختار شبکه‌ای منسجم و ممانعت از نفوذ اکسیژن، نقش مهمی در تثبیت و جلوگیری از

اکسیداسیون ترکیبات فنلی ایفا می‌کند (Zhang et al., 2022; Li et al., 2023).

ارزیابی خواص ضد میکروبی فیلم‌های

زیست تخریب پذیر فعال

کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها از جمله راهکارهای کلیدی در افزایش ماندگاری و ارتقاء ایمنی مواد غذایی محسوب می‌شود. در این راستا، استفاده از افزودنی‌های ضد میکروبی، به‌ویژه ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی، در فرآیندهای تولید به‌منظور جلوگیری از فساد میکروبی و حفظ کیفیت محصولات غذایی، رو به گسترش است. در سال‌های اخیر، بهره‌گیری از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی فعال که حاوی ترکیبات زیست فعال از جمله عوامل ضد میکروبی هستند، به‌عنوان روشی نوین و مؤثر در جلوگیری از رشد عوامل بیماری‌زا و فاسدکننده مطرح شده است؛ چراکه این سیستم‌ها قادرند مواد فعال را در سطح ماده غذایی در غلظت‌های مؤثر حفظ کرده و به‌صورت کنترل‌شده آزاد نمایند (Khwalidia et al., 2010).

نتایج حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت قارچ کشی عصاره بنه زعفران و لیگنین بر کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در جدول ۲ نشان داده شده است.

همانطور که از جدول مشاهده می‌شود، هر دو ترکیب فعال دارای فعالیت ضدقارچی بودند. اثر ضدقارچی عصاره بنه زعفران و لیگنین احتمالاً به دلیل ترکیبات فنلی موجود در آن است. ترکیبات فنلی نقش مهمی در جلوگیری از رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها دارند و میزان تاثیر

این ترکیبات بسته به نوع ترکیبات فنلی، غلظت ترکیبات فنلی، روش عصاره‌گیری و حلال مورد استفاده برای عصاره‌گیری و غیره متفاوت است (Das et al., 2010). حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت قارچ کشی لیگنین پایین‌تر از عصاره بنه زعفران بود. با توجه به بالا بودن میزان ترکیبات فنلی لیگنین نسبت به عصاره بنه زعفران، این پدیده دور از انتظار نبود. عملکرد ضدقارچی فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی لیگنین و عصاره بنه زعفران بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به جدول ۲، ترکیب هر دو عامل طبیعی سبب تقویت فعالیت ضدقارچی فیلم‌های زیست‌پایه شد. در میان نمونه‌ها، فیلم نشاسته- پلی‌وینیل‌الکل حاوی عصاره بنه زعفران بیشترین اثر بازدارندگی را از خود نشان داد؛ به‌گونه‌ای که قطر هاله عدم رشد ایجادشده توسط این فیلم در مواردی از داروی ضدقارچ استاندارد کتوکونازول نیز بیشتر بود. همچنین، فیلم‌های حاوی لیگنین به‌تنهایی نیز اثر بازدارندگی قابل‌ملاحظه‌ای به‌ویژه بر گونه آسپرژیلوس پارازیتیکوس داشتند، که این امر به خاصیت ضدقارچی ذاتی لیگنین نسبت داده می‌شود. فعالیت ضد میکروبی مشاهده‌شده در این ترکیبات عمدتاً ناشی از حضور پلی‌فنل‌ها از جمله اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌هاست که توانایی برهم‌کنش با دیواره سلولی و غشای میکروارگانیسم‌ها را دارند. این ترکیبات از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی با گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار دیواره سلولی،

جدول ۲- مقایسه قدرت ضد میکروبی عصاره بنه زعفران و لیگنین براساس حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت قارچ کشی (میلی گرم بر لیتر)

نوع ترکیب فعال ضد قارچ	نوع میکروارگانیسم	
	آسپرژیلوس فلاووس	آسپرژیلوس پارازیتیکوس
عصاره بنه زعفران	حداقل غلظت ممانعت کنندگی ۰/۲۵	۰/۳۱۲۵
لیگنین	حداقل غلظت ممانعت کنندگی ۰/۰۰۰۱۹	حداقل غلظت قارچ کشی ۰/۵

جدول ۳- اثر ضد میکروبی (قطر هاله عدم رشد، میلی متر) فیلم های زیست تخریب پذیر فعال

نوع فیلم	نوع میکروارگانیسم	
	آسپرژیلوس فلاووس	آسپرژیلوس پارازیتیکوس
نشاسته-کربوکسی متیل سلولز حاوی لیگنین	۱۱/۵۰±۰/۲۸c	۷/۹۴± ۱/۰۵cd
نشاسته-کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره بنه زعفران	۹/۴۵±۰/۷۲de	۶/۳۰±۱/۳۵d
نشاسته- نانورس حاوی لیگنین	۱۰/۲۰±۰/۷۴d	۴/۲۰± ۰/۱۵e
نشاسته- نانورس حاوی عصاره بنه زعفران	۷/۱۲±۱/۰۸ef	۴/۷۵±۰/۹۴e
نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی لیگنین	۹/۴۳± ۱/۵۳de	۸/۵۳± ۰/۸۷c
نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی عصاره بنه زعفران	۶/۳۹± ۱/۱۸f	۶/۸۶± ۱/۹۰cd
کتونازول (۲۰۰ پی پی ام)	۱۸/۵۰±۰/۵a	۱۲/۰۰±۱/۰۰a
عصاره بنه زعفران	۱۳/۷۵± ۲/۰۵bc	۱۰/۰۰± ۱/۴۱ab
لیگنین	۱۶/۰۰± ۱/۶۳b	۹/۵۰± ۰/۵۷b

داده ها میانگین سه تکرار هستند و به صورت میانگین ± انحراف معیار (میلی متر) بیان شده اند.
حروف غیرمشترک در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می باشد (آزمون دانکن، p<۰/۰۵).

هم راستا با مطالعات پیشین، مؤید ظرفیت بالای ترکیبات طبیعی مانند لیگنین و عصاره بنه زعفران در توسعه فیلم های زیست فعال با عملکرد ضد میکروبی هستند.

ریز ساختار

خصوصیات ساختاری فیلم های مورد بررسی، شامل تصویر واضحی از سطح و برش عرضی آنها، یکنواختی، صاف بودن، چروکیدگی یا زبری سطح، در شکل ۱ به نمایش گذاشته شده است. با توجه به شکل ۱، فیلم نشاسته-کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره بنه زعفران در غلظت های بهینه دارای

موجب اختلال در نفوذپذیری غشاء، نشت محتویات سلولی و در نهایت توقف رشد قارچ ها می شوند. این مکانیزم در مطالعات پیشین نیز مورد تأیید قرار گرفته است؛ به طوری که Rubio-Moraga و همکاران (۲۰۱۳) نیز اثرات ضد قارچی عصاره بنه زعفران را بر طیف وسیعی از قارچ های بیماری زا نشان داده اند (Rubio-Moraga et al., 2013). افزون بر این، لیگنین نیز به عنوان یک ترکیب آروماتیک طبیعی با ساختار پیچیده، خواص ضد باکتریایی مؤثری را علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی از خود نشان داده است (Kaur et al., 2017; Rocca et al., 2018). یافته های این پژوهش

آن، مهم‌ترین عوامل مؤثر بر شکل سطح فیلم هستند و علاوه بر آن، میزان آب موجود در تعامل با نشاسته نقش کلیدی در ایجاد حفرات و ترک‌های سطحی دارد (Al-Hassan et al., 2012).

لیگنین به دلیل ساختار شیمیایی خاص خود که شامل حلقه‌های معطر آبنگریز و گروه‌های هیدروکسیل آبدوست است، رفتار خودآرایی از خود نشان می‌دهد که این امر می‌تواند دلیل ایجاد ناهمواری‌ها و ترک‌های سطحی در فیلم‌های حاوی لیگنین باشد (Bartzoka et al., 2016). اصلاح شیمیایی لیگنین و استفاده از ترکیبات سازگارکننده، موجب بهبود پراکندگی و افزایش سازگاری لیگنین با پلیمرهای زیستی می‌شود (Kun & Pukánszky, 2017).

ارزیابی زیست تخریب پذیری فیلم‌ها

نتایج مربوط به زیست تخریب‌پذیری فیلم‌های مختلف حاوی عصاره بنه زعفران و لیگنین پس از ۳۲ ساعت گرمخانه گذاری در محلول آنزیمی آلفا-آمیلاز در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در جدول ۳ ارائه شده است. همانطور که از جدول ۳ مشاهده می‌شود فیلم‌های بر پایه کربوکسی‌متیل سلولز، صرف نظر از نوع ماده فعال زیستی افزوده شده، بالاترین میزان زیست تخریب‌پذیری را از خود نشان داده‌اند؛ به گونه‌ای که در پایان دوره گرمخانه گذاری، میزان تخریب این فیلم‌ها به حدود ۹۰ درصد رسید. این موضوع بیانگر واکنش‌پذیری بالای ساختار پلیمری کربوکسی‌متیل سلولز در برابر آنزیم آلفا-آمیلاز و توان بالای آن در تجزیه بیولوژیکی در مدت زمان کوتاه

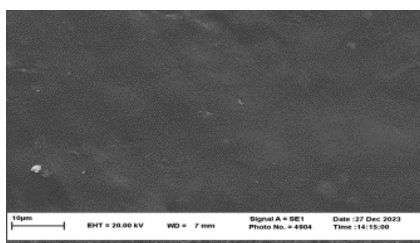
سطحی صاف، متراکم، یکدست و عاری از ترک یا منفذ بوده است. یکنواختی سطح فیلم نشان‌دهنده توزیع یکنواخت و ترکیب مناسب اجزای تشکیل‌دهنده فیلم است. در مقابل، فیلم نشاسته-کربوکسی‌متیل سلولز حاوی لیگنین در شرایط مشابه، سطحی ناهموار با وجود منافذ مشاهده شده است که حاکی از سازگاری کمتر اجزای سازنده فیلم با یکدیگر است.

مطابق شکل ۱، فیلم نشاسته-نانورس حاوی عصاره بنه زعفران نیز نسبت به نمونه حاوی لیگنین، سطحی صاف‌تر، متراکم‌تر و یکنواخت‌تر داشته است که این موضوع بیانگر توزیع بهتر و سازگاری بالاتر اجزای فیلم حاوی عصاره بنه زعفران است. در حالی که فیلم نشاسته-نانورس حاوی لیگنین در غلظت بهینه، با ناهمواری‌هایی در سطح خود مواجه بوده که نشان از عدم سازگاری کامل بین اجزای فیلم دارد.

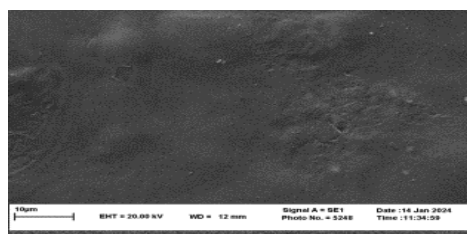
بررسی ریزساختاری فیلم‌های نشاسته-پلی‌وینیل الکل نشان داد که فیلم حاوی عصاره بنه زعفران دارای سطحی ناصاف و چروکیده است، در حالی که نمونه حاوی لیگنین علاوه بر چروکیدگی و ناهمواری‌های سطحی، ترک‌های قابل مشاهده‌ای نیز داشت که این ساختارها نشان‌دهنده ناسازگاری اجزای تشکیل‌دهنده فیلم با یکدیگر می‌باشد. وجود حفرات در سطح فیلم‌ها معمولاً ناشی از خروج بخار آب در مرحله خشک شدن است که منجر به افزایش نفوذپذیری آن‌ها می‌شود (Einafshar, 2024). مطالعات Al-Hassan و همکاران (۲۰۱۲) نشان داده‌اند که منبع نشاسته و ساختار گرانول‌های

جدول ۴- زیست تخریب پذیری فیلم های زیست تخریب پذیر فعال

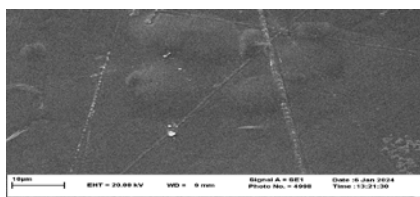
فیلم	میزان زیست تخریب پذیری (درصد)
نشاسته- کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره بنه زعفران	$94/45 \pm 4/56a$
نشاسته- کربوکسی متیل سلولز حاوی لیگنین	$92/28 \pm 3/27 a$
نشاسته- نانورس حاوی عصاره بنه زعفران	$73/77 \pm 5/14 b$
نشاسته- نانورس حاوی لیگنین	$67/18 \pm 3/81 b$
نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی عصاره بنه زعفران	$72/09 \pm 4/39 b$
نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی لیگنین	$65/81 \pm 6/8b$



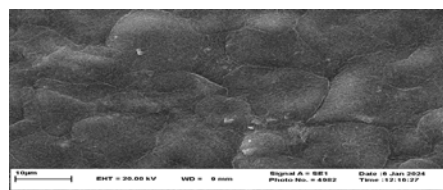
ب



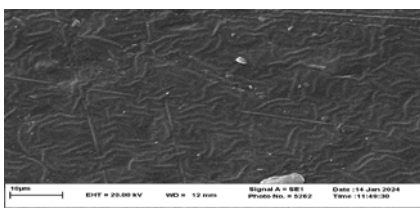
الف



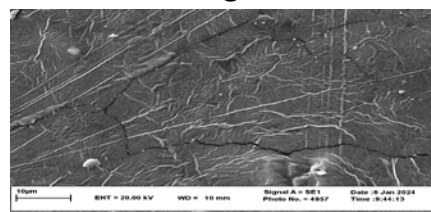
د



ج



و



ه

شکل ۱- الف مشاهدات میکروسکوپ الکترونی روبشی با بزرگنمایی ۵۰۰۰ از سطح و برش عرضی فیلم های زیست تخریب پذیر فعال

الف) نشاسته-کربوکسی متیل سلولز حاوی لیگنین ب) نشاسته-کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره بنه زعفران

ج) نشاسته-نانورس حاوی لیگنین د) نشاسته-نانورس حاوی عصاره بنه زعفران

ه) نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی لیگنین و) نشاسته- پلی وینیل الکل حاوی عصاره بنه زعفران

می‌کند.

ارقام دارای حروف مشترک در هر ستون (میانگین $\pm$ انحراف معیار) از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند ($P/0.05$).

همچنین، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که افزودن ترکیبات زیست‌فعال مانند لیگنین و عصاره‌های گیاهی، اگرچه موجب بهبود برخی ویژگی‌های مکانیکی و عملکردی فیلم‌های پلیمری می‌شود، اما ممکن است موجب کاهش نرخ زیست‌تخریب‌پذیری آن‌ها گردد. در مجموع، این یافته‌ها تأیید می‌کنند که نوع پلیمر پایه و حضور عوامل تقویت‌کننده مانند نانورس و پلی‌وینیل‌الکل، نقش تعیین‌کننده‌ای در کنترل سرعت تخریب آنزیمی فیلم‌ها دارند. از سوی دیگر، فیلم‌های مبتنی بر کربوکسی‌متیل سلولز به دلیل ساختار شیمیایی بازتر و برهم‌کنش مؤثرتر با آنزیم‌ها، همچنان گزینه‌ای مطلوب برای طراحی سیستم‌های زیست‌تجزیه‌پذیر فعال به شمار می‌روند.

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر با هدف استفاده بهینه از ضایعات بنه زعفران و بقایای ذرت (چوب ذرت) در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر فعال انجام شد که نتایج آن نشان‌دهنده پتانسیل بالای این ضایعات کشاورزی به عنوان منابع غنی ترکیبات فنلی و زیست‌فعال بود. عصاره بنه زعفران و لیگنین استخراج‌شده، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی را در فیلم‌های تولید شده ایجاد کردند. فیلم‌های ساخته شده با پایه نشاسته بنه زعفران و ترکیبات

است. وجود گروه‌های آنیونی در ساختار کربوکسی‌متیل سلولز و سازمان‌یافتگی نسبتاً متخلخل آن، شرایط را برای نفوذ آنزیم و تجزیه زنجیره‌های پلیمری تسهیل می‌کند؛ یافته‌ای که با گزارش Zhang و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت دارد (Zhang et al., 2018).

در مقابل، افزودن نانورس و پلی‌وینیل‌الکل به ترکیب فیلم‌های نشاسته‌ای منجر به کاهش قابل توجه نرخ زیست‌تخریب‌پذیری گردید. این کاهش می‌تواند به دلیل ایجاد ساختاری متراکم‌تر، کاهش نفوذپذیری فیلم و افزایش مقاومت در برابر حمله آنزیمی باشد. وجود نانورس و پلی‌وینیل‌الکل با تقویت پیوندهای هیدروژنی و ارتقاء ساختار کریستالی، موجب محدود شدن دسترسی آنزیم‌ها به نواحی قابل تجزیه فیلم می‌شود. یافته‌های حاضر در این زمینه همسو با نتایج مطالعات Ostadi و همکاران (۲۰۲۰) است که بیان داشته‌اند افزودن نانورس منجر به بهبود خواص مکانیکی و کاهش نرخ تجزیه آنزیمی فیلم‌های زیستی می‌شود (Ostadi et al., 2020).

مقایسه بین دو نوع ماده فعال مورد استفاده در فیلم‌ها (عصاره بنه زعفران و لیگنین) نیز نشان داد که نمونه‌های حاوی لیگنین، گرچه تفاوت آماری معناداری با نمونه‌های حاوی عصاره بنه زعفران نداشتند، اما زیست‌تخریب‌پذیری کمتری از خود نشان دادند. این پدیده می‌تواند به ساختار آروماتیک پیچیده‌تر لیگنین و حضور گروه‌های فنلی در آن مربوط باشد که با محدود کردن نفوذپذیری و کاهش واکنش‌پذیری در برابر آنزیم، مانعی برای تخریب سریع ایجاد

کربوکسی متیل سلولز، پلی وینیل الکل و نانورس، خصوصیات فیزیکی، زیست تخریب پذیری و فعالیت زیستی متفاوتی از خود نشان دادند که در این میان، فیلم های حاوی عصاره بنه زعفران و کربوکسی متیل سلولز، ساختار یکنواخت تر و زیست تخریب پذیری بالاتری داشتند. افزودن نانورس و پلی وینیل الکل سبب کاهش زیست تخریب پذیری شد اما خواص مکانیکی را بهبود بخشید. همچنین، فیلم ها در مهار رشد قارچ های آسپرژیلوس عملکرد قابل قبولی داشتند که می تواند کاربرد این فیلم ها را در بسته بندی های فعال مواد غذایی تضمین کند. این مطالعه، راهکاری پایدار و زیست دوست برای تولید بسته بندی های زیست تخریب پذیر فعال و کاهش ضایعات کشاورزی ارائه داده است که می تواند به حفظ محیط زیست و افزایش ماندگاری مواد غذایی کمک کند.

References

- Abdollahi, M., Rezaei, M., and Farzi, G. 2012. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 111(2), 343-350.
- Al-Hassan, A. A., and Norziah, M. H. 2012. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food hydrocolloids*, 26(1), 108-117.
- Alves-Silva, G. F., Santos, L. G., Martins, V. G., and Cortez-Vega, W. R. 2022. Cassava starch films incorporated with clove essential oil and nanoclay as a strategy to increase the shelf life of strawberries. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(10), 6690-6698.
- Bartzoka, E. D., Lange, H., Thiel, K., and Crestini, C. 2016. Coordination complexes and one-step assembly of lignin for versatile nanocapsule engineering. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(10), 5194-5203.
- Das, K., Tiwari, R. K. S., and Shrivastava, D. K. 2010. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4(2), 104-111.
- Dizhbite, T., Telysheva, G., Jurkane, V., and Viesturs, U. 2004. Characterization of the radical scavenging activity of lignins—natural antioxidants. *Bioresource technology*, 95(3), 309-317.
- Einafshar, S. 2019. Investigation of the effect of extraction method (solvent, solvent-ultrasound) on the antioxidant and antimicrobial activity of saffron corm extract. *Agricultural Engineering Research Institute, Technical Publication No. 56037*.
- Einafshar, S. 2024. Production of a biodegradable film from saffron corm waste and determination of its physicochemical properties. *Iranian Journal of Medicinal Plants and Technology*, 6(1), 55–68.
- Ekramian, S., Abbaspour, H., Roudi, B., Amjad, L., and Nafchi, A. M. 2021. Influence of *Nigella sativa* L. extract on physico–mechanical and antimicrobial properties of sago starch film. *Journal of Polymers and the Environment*, 29, 201-208.
- Esmaelian, M., Jahani, M., Einafshar, S., and Feizy, J. 2020. Optimization of experimental parameters in subcritical water extraction of bioactive constituents from the saffron (*Crocus sativus* L.) corm based on response surface methodology. *Journal of Food Measurement*

- and Characterization, 14(4), 1822-1832
- Frangopoulos, T., Marinopoulou, A., Goulas, A., Likotrafti, E., Rhoades, J., Petridis, D., and Karageorgiou, V. 2023. Optimizing the functional properties of starch-based biodegradable films. *Foods*, 12(14), 2812.
- Fukushima, R. S., and Hatfield, R. D. 2001. Extraction and isolation of lignin for utilization as a standard to determine lignin concentration using the acetyl bromide spectrophotometric method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(7), 3133–3139.
- Ghorbanpour, M., Moghimi, M., and Lotfiman, S. 2017. Silica-supported copper oxide nanoleaf with antimicrobial activity against *Escherichia coli*. *Journal of Water and Environmental Nanotechnology*, 2(2), 112-117.
- Haghighi, H., Biard, S., Bigi, F., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., and Pulvirenti, A. 2019. Comprehensive characterization of active chitosan-gelatin blend films enriched with different essential oils. *Food Hydrocolloids*, 95, 33-42.
- Kaur, R., Uppal, S. K., and Sharma, P. 2017. Antioxidant and antibacterial activities of sugarcane bagasse lignin and chemically modified lignins. *Sugar tech*, 19, 675-680.
- Khwaldia, K., Arab-Tehrany, E., and Desobry, S. 2010. Biopolymer coatings on paper packaging materials. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(1), 82-91.
- Kumar, S., Kumar, P., and Rai, A. 2021. Edible film from starch-PVA with natural antioxidant and antimicrobial agents for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100706.
- Kun, D., and Pukánszky, B. 2017. Polymer/lignin blends: Interactions, properties, applications. *European Polymer Journal*, 93, 618-641.
- Li, Y., Wang, L., Zhang, X., and Liu, H. 2023. Eco-friendly carboxymethyl cellulose films incorporated with rosemary essential oil and phenolic compounds: Antioxidant and antimicrobial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 229, 123456.
- Mangana, M., Moreno, F., and Jiménez, M. 1999. Antifungal activity of bioactive films against *Aspergillus* species. *Mycopathologia*, 147(1), 43–48.
- Niazmand, R., Sharayei, P., Heydari-Majd, M., and Sayahi, M. 2025. Optimization of a novel antimicrobial nanocomposite films based on starch saffron corm incorporating nanoclay/ lignin/extract using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 307, 141733.

- Nikmanesh, A., Baghaei, H., and Mohammadi Nafchi, A. 2023. Development and characterization of antioxidant and antibacterial films based on potato starch incorporating *Viola odorata* extract to improve the oxidative and microbiological quality of chicken fillets during refrigerated storage. *Foods*, 12(15), 2955.
- Ostadi, H., Hakimabadi, S. G., Nabavi, F., Vossoughi, M., and Alemzadeh, I. 2020. Enzymatic and soil burial degradation of corn starch/glycerol/sodium montmorillonite nanocomposites. *Polymers from Renewable Resources*, 11(1-2), 15-29.
- Papadopoulou, A., Kotsianis, I., and Mandala, I. 2025. Films from starch inclusion complexes with bioactive compounds as food packaging material. *Food and Bioprocess Technology*, 18(3), 456–468.
- Plastic Facts. 2023. Global plastic production and usage in packaging. Plastic Waste Data Reports. Retrieved from <https://www.plasticfacts.org/statistics>
- Rocca, D. M., Vanegas, J. P., Fournier, K., Becerra, M. C., Scaiano, J. C., and Lanterna, A. E. 2018. Biocompatibility and photo-induced antibacterial activity of lignin-stabilized noble metal nanoparticles. *RSC advances*, 8(70), 40454-40463.
- Roy, S., and Rhim, J. W. 2023. Carboxymethyl cellulose-based antioxidant and antimicrobial active packaging film incorporated with curcumin and zinc oxide. *Scientific Reports*, 13, 11233912.
- Rubio-Moraga, Á., Gómez-Gómez, L., Trapero, A., Castro-Díaz, N., and Ahrazem, O. 2013. Saffron corm as a natural source of fungicides: The role of saponins in the underground. *Industrial Crops and Products*, 49, 915-921.
- Sharayei, P., Niazmand, R., and Sabeghi, Y. 2025a. Development of Biodegradable Films Based on Natural Extract From the Waste: Corn-Husk Derived Materials and Saffron Corm Starch. *Starch-Stärke*, e202400211.
- Sharayei, P., Niazmand, R., Jamab, M. S., Sabeghi, Y., Einafshar, S., Azarpazhooh, E., and Sharif, F. 2025b. Bioactive films from saffron corm and corn husk: A transformative solution for antioxidant and antimicrobial pistachio packaging. *LWT*, 118097.
- Sheikh, J., Rani, M., and Kumar, N. 2021. Recent advances in biodegradable packaging materials for food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 115, 636–649.
- Sun, J., Li, Y., and Yang, M. 2023. Influence of bio-based fillers on the mechanical and barrier properties of starch-based films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 12–

21.

- Wang, Y., Li, Y., and Zhang, L. 2023. Biodegradable starch-polyvinyl alcohol composite films by the solution casting method: Characterization and properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 140(1), e51234
- Zhang, L., Chen, X., and Wang, Y. 2022. Antioxidant pH-sensitive films incorporating CMC/SA/starch with phenolic compounds for intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*, 123, 107234.
- Zhang, L., Xie, W., and Shi, W. 2018. Biodegradation behavior of carboxymethyl cellulose-based films in enzyme-rich media. *Carbohydrate Polymers*, 185, 197–205.

Structural, biological, and antifungal properties of active biodegradable films based on saffron corm starch, incorporated with nanoclay, carboxymethyl cellulose, and polyvinyl alcohol

Parvin Sharayei^{1*}, Raziieh Niazmand², Soodabeh Einafshar¹

1. Associate professor, Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi . (Corresponding author)
2. Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO Mashhad, Iran
3. Professor, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST) Mashhad, Iran.

Received: May 2025 Accepted: July 2025 - DOI: 10.22092/mpt.2025.369575.1189

Abstract

Sharayei, P., Niazmand, R., Einafshar, S., , Structural, biological, and antifungal properties of active biodegradable films based on saffron corm starch, incorporated with nanoclay, carboxymethyl cellulose, and polyvinyl alcohol

Iranian Medicinal Plants and Technology, Vol 7, No. 1, 2024 02-03: 12-26(in Persian)

Abstract

The present study aimed to utilize saffron corm waste and corn residues for the development of active, biodegradable films. For this purpose, starch and ethanolic extract were obtained from saffron corms, while lignin and cellulose were extracted from corn stalks. Carboxymethyl cellulose (CMC) was then synthesized from the extracted cellulose. The total phenolic content and DPPH radical scavenging capacity of the saffron corm extract were measured at 137.91 mg/100 g dry weight and 29.31%, respectively, while those of lignin were 156.69 mg/100 g and 58.85%. Various films were formulated using saffron corm starch in combination with nanoclay, CMC, and polyvinyl alcohol, incorporating either saffron corm extract or lignin as active agents. The films were evaluated for antioxidant properties, antifungal activity, structural characteristics, and biodegradability. Results indicated that the starch–CMC film containing lignin exhibited the highest antioxidant activity (36.67% DPPH inhibition) and antifungal efficacy (inhibition zones of

Email address of the corresponding author: parvin_sharayei@yahoo.com

11.5 mm and 7.94 mm against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, respectively). Films containing saffron corm extract displayed smoother and more uniform surfaces compared to those with lignin. Biodegradability of CMC-based films exceeded 90%, while the addition of nanoclay and polyvinyl alcohol reduced this rate to approximately 65–74%. Overall, the findings demonstrate the promising potential of these films for sustainable and active food packaging applications.

Keywords: Biodegradable active film, carboxymethyl cellulose, saffron corm starch, lignin, nanoclay, polyvinyl alcohol.