



ویژگی‌های فیزیکی، سدکنندگی و ضد میکروبی فیلم خوراکی بر پایه کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه

مینا سالارنیا^۱، علی گنجلو^{۲*}، زهرا امام جمعه^۳، ماندانا بی مکر^۲

۱. کارشناسی ارشد، فناوری مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۲. استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳. استاد، گروه علوم، صنایع و مهندسی غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: 96/9/3، تاریخ آخرین بازنگری: 96/10/17، تاریخ پذیرش: 96/11/24)

چکیده

بسپارهای خوراکی زیست تخریب پذیر بهترین گزینه جایگزین برای پلاستیک‌های سنتزی هستند. در این مطالعه، فیلم‌های خوراکی بر پایه کازئینات سدیم حاوی سطوح مختلف وزنی/وزنی از روغن شاهدانه (10، 20 و 30٪) تولید شد و ویژگی‌های فیزیکی، سدکنندگی و ضد میکروبی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. با افزودن روغن شاهدانه تا سطح 30٪ وزنی/وزنی مقادیر ضخامت، شفافیت و حلالیت فیلم‌ها کاهش و زاویه تماس افزایش یافت. هم‌چنین افزودن روغن باعث کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب از $76/4 \times 10^{-11}$ به $5/1 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ و افزایش نفوذپذیری نسبت به اکسیژن از 11 به $28/3 \text{ cm}^3 \mu\text{m cm}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ Kpa}^{-1}$ گردید. به منظور بررسی اثر ضد میکروبی فیلم کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه بر سه گونه باکتری بیماری‌زا از روش دیسک انتشاری استفاده شد. بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب برای استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا معادل 31/28، 19/05 و 15/40 mm بود. در نتیجه فیلم‌های حاوی روغن شاهدانه بیشترین تاثیر را بر روی باکتری گرم مثبت داشتند. نتایج نشان دادند که افزودن روغن شاهدانه سبب اصلاح و بهبود ویژگی‌های فیزیکی، سدکنندگی و ضد میکروبی فیلم‌ها و پوشش‌هایی بر پایه کازئینات سدیم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کازئینات سدیم، فیلم خوراکی، روغن شاهدانه، خواص فیزیکی، خواص سدکنندگی، خواص ضد میکروبی.

1- مقدمه

پروتئین اصلی به‌طور تقریبی 80٪ پروتئین‌های شیر را تشکیل می‌دهد که به‌دلیل قابلیت تشکیل پیوندهای وسیع هیدروژنی بین مولکولی، می‌تواند به راحتی تشکیل ژل دهد و می‌توان با استفاده از خشک کردن محلول آبی آن، تشکیل فیلم داد [8]. فیلم‌های کازئینی به‌طور کامل محلول در آب، واضح و شفاف هستند که با وجود بالا بودن ویژگی ممانعت‌کنندگی آن‌ها در برابر اکسیژن، نسبت به بخار آب نفوذپذیری بالایی دارند [9]. استفاده از لیپیدها به خاطر طبیعت آب‌گریزشان می‌تواند در بهبود ویژگی ممانعت‌کنندگی فیلم‌ها در برابر بخار آب موثر باشد، اما به این علت که به‌طور معمول غیر شفاف هستند، به‌صورت ترکیبی در تولید فیلم‌های مرکب به کار می‌روند [10]. به علاوه، روغن‌ها و روغن‌های اساسی طبیعی طیف وسیعی از مواد مجاز با فعالیت ضد میکروبی هستند که می‌توان از آن‌ها به‌منظور بهبود خصوصیات عملکردی فیلم‌های خوراکی استفاده نمود. انتخاب ماده ضد میکروب جهت ترکیب با بسپارهای زیستی بر پایه طیف فعالیت، ساز و کار فعالیت، ترکیب شیمیایی، سرعت رشد و حالت فیزیولوژیکی ریزسازواره(های) هدف انجام می‌شود. به‌علاوه، ماده ضد میکروبی که به بسپارهای زیستی متصل می‌شود، باید بتواند به‌صورت فعال باقی بماند که این امر به شیوه عمل آن بستگی دارد [11]. در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در زمینه تولید فیلم‌های کازئینی با فعالیت ضد میکروبی انجام پذیرفته است [12-15]، اما تاکنون هیچ مطالعه‌ای درباره امکان استفاده از روغن شاهدانه به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروب در فیلم حاصل از کازئینات سدیم گزارش نشده است.

شاهدانه با نام علمی *Cannabis sativa* از خانواده *Connabinaceae* گیاهی یک ساله با برگ‌های قطره‌ای شکل است که بلندی این گیاه به 2m می‌رسد [16]. دانه شاهدانه به‌طور متوسط دارای 20-25٪ پروتئین، 30-35٪ روغن، 10-15٪ فیبر نامحلول و 25٪ کربوهیدرات می‌باشد [17]. روغن موجود در شاهدانه یک منبع طبیعی متوازن از اسیدهای چرب ضروری و حاوی بیش از 90٪ چربی غیراشباع به‌خصوص با چند پیوند دوگانه است که بیش‌تر آن را لینولئیک اسید و آلفالینولیک اسید تشکیل می‌دهد و تنها حاوی 9 تا 11٪ از اسیدهای چرب اشباع می‌باشد. [18]. بنابراین هدف از انجام این تحقیق،

از اواخر قرن نوزدهم استفاده از پلاستیک‌ها در صنعت بسته‌بندی گسترش یافته است. اخیراً 41٪ مصرف پلاستیک‌ها در صنعت بسته‌بندی می‌باشد که از این میان 47٪ آن به بسته‌بندی مواد غذایی مربوط می‌شود [1]. مزایای پلیمرها بر پایه مواد نفتی، از جمله قیمت پایین، سرعت تولید و کارایی مکانیکی بالا، ویژگی‌های سدکنندگی و قابلیت دوخت حرارتی مناسب سبب افزایش کاربرد آن‌ها در صنایع مختلف شده است. از طرفی استفاده از آن‌ها معایبی نظیر کاهش منابع نفت و گاز، افزایش قیمت آن‌ها، نگرانی‌های زیست محیطی ناشی از تجزیه و تخریب آن‌ها، گرم شدن کره زمین و هم‌چنین امکان بروز مسمومیت در مصرف‌کننده به‌علت مهاجرت مونومرها یا الیگومرهای به مواد خوراکی به‌همراه دارد [2]. استفاده از بسپارهای زیست تخریب‌پذیر دوستدار محیط زیست به‌عنوان مواد بسته‌بندی جدید و جایگزین برای بسیاری از بسته‌بندی‌های پلاستیکی مرسوم، یکی از روش‌های موثر برای غلبه بر معایب اشاره شده محسوب می‌شود [3]. لذا به‌تازگی بسیاری از محققین به مطالعه ویژگی‌های فیلم‌های خوراکی زیست تخریب‌پذیر به‌منظور امکان‌سنجی استفاده از آن‌ها به‌عنوان جایگزین بسیاری از بسته‌بندی‌های پلاستیکی و فیلم‌های بسیاری سنتزی پرداخته‌اند [4]. به‌طور کلی انتقال رطوبت، نفوذ اکسیژن، از دست دادن یا جذب رایحه از جمله مشکلاتی هستند که مواد غذایی ممکن است حین نگهداری و یا بسته‌بندی با آن‌ها مواجه شوند [5]. به علاوه، رشد و نمو ریزسازواره‌ها روی سطح مواد غذایی یکی از مهم‌ترین عوامل فساد و کاهش کیفیت مواد غذایی به‌شمار می‌آید که با استفاده از ترکیبات ضد میکروب مجاز در فیلم‌های خوراکی می‌توان تا حدی این مشکل را مرتفع نمود و موجب افزایش زمان ماندگاری، بهبود عطر و طعم و بافت و بهبود ایمنی مواد غذایی از طریق کاهش سرعت رشد ریزسازواره‌ها در مواد غذایی گردید [6]. طیف وسیعی از مواد طبیعی نظیر پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، لیپیدها و پلی‌استرها به تنهایی یا در ترکیب با هم در ساختار بسپارهای زیست تخریب‌پذیر به‌کار می‌روند [7]. یکی از انواع فیلم‌های خوراکی زیست تخریب‌پذیر، فیلم‌های پروتئینی بر پایه کازئینات سدیم می‌باشد. کازئین به‌عنوان

بررسی تأثیر افزودن روغن شاهدانه به عنوان بخش آب‌گریز بر

ویژگی‌های فیزیکی، سدکنندگی و ضد میکروبی فیلم خوراکی کازئینات سدیم می‌باشد. نتایج این مطالعه برای ارزیابی کاربری‌های این فیلم خوراکی به عنوان ماده بسته‌بندی آب‌گریز با خاصیت ضد میکروبی در آینده حائز اهمیت می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

1-1- مواد

دانه شاهدانه از موسسه بذر و نهال استان البرز، کازئینات سدیم با خلوص 98٪ و درجه غذایی از شرکت آل ترویکا ترکیه، گلیسرول با خلوص 100٪ از شرکت آکروز انگلستان و سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

2-2- استخراج روغن شاهدانه

به منظور استخراج روغن از شاهدانه از روش بهینه شده کرمی و همکاران استفاده شد [19]. بدین منظور از حلال هگزان و تیمار فراصوت با فرکانس 35 kHz توسط حمام فراصوت شرکت الما ساخت کشور آلمان، نسبت حلال به ماده جامد 13 mgg^{-1} ، زمان 90 min و دمای 60°C استفاده گردید. پس از اتمام فرایند استخراج، تفاله به جا مانده توسط کاغذ صافی جدا گردید و حلال از روغن توسط دستگاه تبخیر کننده چرخشی تحت خلاء شرکت ایکاورک ساخت کشور آلمان در دمای 30°C جدا شد.

2-3- تهیه فیلم کازئینات سدیم (فیلم شاهد)

فیلم شاهد بر اساس روش برومند و همکاران تهیه گردید [20]. جهت تهیه فیلم شاهد ابتدا هشت گرم پودر کازئینات سدیم توسط یک ترازوی دیجیتال شرکت سارتوریوس ساخت کشور آلمان با دقت 0/01 g توزین و سپس به 100 g آب مقطر حاوی 1/5 g گلیسرول به عنوان نرم‌کننده در دمای 60°C اضافه شد و با سرعت 550 rpm توسط همزن مغناطیسی شرکت ایکاورک ساخت کشور آلمان به هم زده شد. پس از این که کازئینات سدیم به طور کامل حل شد، دما تا 80°C افزایش یافت. مخلوط به مدت یک ساعت در این دما نگهداری و پس از هواگیری به وسیله پمپ خلأ، مقدار مشخصی از مخلوط تشکیل دهنده فیلم در قالب‌های تفلونی ریخته و در دمای

2-4- تهیه فیلم آب‌گریز ضد میکروبی

برای تهیه فیلم ضد میکروبی ابتدا محلول تهیه فیلم مطابق با روش تهیه فیلم شاهد تهیه گردید. سپس روغن شاهدانه در مقادیر 10، 20 و 30٪ وزنی محلول تهیه فیلم توزین شد. در نهایت به میزان 30٪ وزنی، امولسیون کننده توئین 80 به روغن اضافه شد. محلول پایه فیلم در دمای 50°C به مخلوط امولسیون کننده و روغن اضافه شد و جهت بهبود عمل اختلاط فازها هم‌زنی اولیه توسط همزن مغناطیسی با سرعت 550 rpm به مدت پنج دقیقه انجام گردید. سپس مخلوط تهیه شده پس از سه دقیقه هم‌زنی با سرعت 13000 rpm، هواگیری و در قالب‌های تفلونی ریخته و در دمای 40°C به مدت 13/5 h خشک شد.

2-5- آزمون‌ها

2-5-1- تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن شاهدانه

تعیین پروفایل اسیدهای چرب بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره 4091، تجزیه متیل استرهای اسیدهای چرب با دستگاه کروماتوگرافی گازی شرکت یونگ لین ساخت کشور کره جنوبی مجهز به ستون مویینی سیلیکایی 70 با طول 60m و قطر $0/25 \mu\text{m}$ با ضخامت فیلم $0/25 \mu\text{m}$ انجام پذیرفت [21].

2-5-2- اندازه گیری ضخامت فیلم

برای تعیین ضخامت فیلم‌ها از کولیس دیجیتال شرکت میتوبو ساخت کشور ژاپن با دقت 0/001 mm استفاده شد. اندازه‌گیری به طور تصادفی در پنج نقطه مختلف از فیلم‌ها انجام و میانگین ضخامت این نقاط برای هر فیلم گزارش شد.

2-5-3- اندازه‌گیری شفافیت فیلم

شفافیت فیلم‌ها با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری - ماورا بنفش شرکت سسیل ساخت کشور انگلستان مطابق با روش استاندارد ASTM D-1746 اندازه‌گیری شد. بر این اساس نمونه‌های فیلم مستطیل شکل به ابعاد $4 \times 2 \text{ cm}^2$ از قبل در داخل دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم با رطوبت نسبی 53٪ در

تغییرات رسم و شیب هر خط رسم شده به وسیله رگرسیون خطی محاسبه و میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب براساس رابطه (1) محاسبه گردید:

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

در این رابطه WVP نفوذپذیری نسبت به بخار آب بر حسب $g \cdot m^{-1} \cdot s^{-1} \cdot Pa^{-1} \times 10^{-11}$ WVTR نرخ انتقال بخار آب (از تقسیم شیب خط کشیده شده $(g \cdot s^{-1})$ بر سطح فیلم (m^2) به دست می‌آید)، T ضخامت فیلم (m) و ΔP اختلاف فشار بین رطوبت نسبی درون و بیرون سلول‌ها معادل $1753/55 Pa$ می‌باشد [24].

2-5-6- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری نسبت به اکسیژن

اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به اکسیژن بر اساس روش فشار یکسان مصوب ASTM D3985 و با دستگاه نفوذ سنج گازها در $25^\circ C$ صورت گرفت. نمونه‌ها قبل از اندازه‌گیری به مدت 3 روز در دسیکاتور حاوی منیزیم نیترات اشباع نگه‌داری شدند. در این روش نمونه آزمایش در اتاقک آزمون طوری قرار داده شد که فضای آن را به دو قسمت تقسیم کند. یک طرف در معرض گاز اکسیژن و طرف دیگر در معرض گاز نیتروژن قرار گرفت. اگرچه فشار دو طرف یکسان است، ولی اختلاف فشار جزئی اکسیژن بین دو طرف باعث انتقال اکسیژن به طرف دیگر می‌شود و گاز نیتروژن حامل آن را به حسگر تحویل می‌دهد. آهنگ انتقال اکسیژن براساس مقادیر اکسیژن تعیین شده توسط حسگر دستگاه معین گردید. آزمایش زمانی کامل می‌شود که غلظت گاز اکسیژن در طرف حاوی گاز نیتروژن به اندازه‌ای ثابت برسد. حداقل سه تکرار برای آزمون انجام پذیرفت. نفوذپذیری نسبت به اکسیژن از طریق رابطه (2) محاسبه شد:

$$O_2P = (Q / (t \times A)) \times (X / \Delta P) \quad (2)$$

در این رابطه P نفوذپذیری نسبت به اکسیژن بر حسب $Kpa^{-1} \cdot cm^3 \cdot \mu m \cdot cm^{-2} \cdot day^{-1}$ Q مقادیر اکسیژن در بخش حاوی گاز نیتروژن، X ضخامت فیلم، A سطح نفوذ، t زمان نفوذ و ΔP اختلاف فشار جزئی گاز نفوذ کننده در عرض فیلم است [25].

دمای محیط قرار داده شدند. دستگاه طیف سنج نوری-ماورا بنفش با استفاده از یک سل خالی در طول موج $560 nm$ کالیبره شد. سپس نمونه‌های فیلم روی سل چسبانده و داخل دستگاه قرار داده شد و در نهایت عدد جذب قرائت گردید [22]. حداقل پنج تکرار برای این آزمون از هر فیلم در نظر گرفته شد و میانگین داده‌های به دست آمده گزارش گردید.

2-5-4- اندازه‌گیری میزان حلالیت فیلم در آب

جهت اندازه‌گیری حلالیت فیلم در آب، ابتدا قطعاتی از فیلم به ابعاد $3 \times 3 cm^2$ در آون با دمای $105^\circ C$ به مدت 5 h برای رسیدن به یک وزن ثابت خشک و سپس وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال سارتوریوس آجی ساخت آلمان، با دقت $0/0001 g$ اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خشک شده در $50 mL$ آب مقطر با دمای $25^\circ C$ به مدت 24 h توسط دستگاه شیکر هم‌زده شدند. سپس قطعات فیلم به وسیله کاغذ صافی از آب جدا و پس از خشک شدن آون $105^\circ C$ به مدت 5 h دوباره توزین شدند. میزان حلالیت در آب فیلم‌ها از تغییرات وزن فیلم بعد از غوطه‌وری در آب نسبت به وزن اولیه فیلم محاسبه شد. حداقل 5 تکرار از هر فیلم برای این آزمون در نظر گرفته و میانگین داده‌های به دست آمده به عنوان درصد حلالیت فیلم‌ها در آب گزارش شد [23].

2-5-5- اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب

میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب بر اساس روش مصوب ASTM E95-96 اندازه‌گیری گردید. بدین منظور ابتدا درون ظروف شیشه‌ای با مساحت دهانه $0/0019625 m^2$ کلرید کلسیم بدون آب ریخته و سطح ظروف توسط فیلم‌های بدون چروکیدگی و سوراخ پوشانده شد. سپس با استفاده از پارافیلیم و به کمک پارافین مذاب درب بندی انجام شد. از کلسیم کلرید بدون آب با رطوبت نسبی صفر درصد در داخل ظروف شیشه‌ای و محلول اشباع سدیم کلرید با رطوبت نسبی 75٪ در داخل دسیکاتور برای حفظ گرادیان رطوبت نسبی 75٪ عبوری از فیلم‌ها استفاده شد. این اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای $25^\circ C$ ، فشار بخاری معادل $1753/55 Pa$ ایجاد می‌کند. بدین ترتیب تغییرات وزن ظرف‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت $0/0001 g$ اندازه‌گیری شد، منحنی

2-5-7- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی به روش آزمون رقت در محیط مایع

1 میلی‌لیتر از مایع تلقیح استاندارد حاوی 1×10^6 CFU/mL به ده لوله آزمایشی در بدار حاوی حجم برابر از رقت‌های تهیه شده معادل 12/5، 6/25، 25، 50، 100، 250، 500، 1000، 2500 و 5000 gmL^{-1} از روغن شاهدانه اضافه گردید. یک لوله آزمایش فاقد ماده ضد میکروبی نیز به عنوان کنترل رشد میکروبی تهیه شد. پس از یک شب گرمخانه‌گذاری در دمای 37°C از هر یک از لوله‌های آزمایش کشت سطحی بر روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار انجام شد و سپس پلیت‌ها جهت مشاهده رشد یا عدم رشد ریزسازواره‌ها یک شب گرمخانه‌گذاری شدند [26]. بر این اساس اولین لوله‌ای که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و اولین لوله‌ای که در آن رشدی بر روی محیط جامد ایجاد نکرد به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) معرفی شد.

2-5-8- بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها به روش دیسک‌های انتشاری

برای بررسی خصوصیات ضد میکروبی فیلم‌ها از روش دیسک‌های انتشاری استفاده شد. ابتدا اتاق کشت به وسیله الکل اتانول 70٪ و لامپ ماوراء بنفش به خوبی استریل گردید. سوآپ استریل به هر یک از سوسپانسیون‌های میکروبی با غلظت 0/5 مک فارلند آغشته و بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت یکنواخت و جداگانه کشت داده شد. سپس دیسک‌های فیلم ضد میکروبی تهیه شده توسط یک پانچ استریل با پنس استریل برداشته شده در جای مشخص آن روی محیط کشت قرار داده شد (با توجه به قطر 8 cm پلیت، در هر پلیت 2 دیسک قرار داده شد). سپس همه پلیت‌ها در انکوباتور 37°C قرار داده شدند و بعد از 24 h با استفاده از کولیس قطر هاله تشکیل شده در اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و از قطر اولیه هر دیسک کسر گردید. در مواردی که هاله‌ای تشکیل نشده بود یعنی فعالیت ضد میکروبی وجود نداشت، اختلاف مساحت برابر صفر در نظر گرفته شد. همچنین از یک پلیت فاقد باکتری (کنترل) برای اطمینان از عدم آلودگی محیط‌های کشت

استفاده گردید. تمامی مراحل آزمون برای هر باکتری و هر سطح از روغن شاهدانه 3 بار تکرار و کلیه آزمایشات در مقایسه با یک نمونه کنترل (فیلم شاهد) انجام شد [27].

2-6- تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. اختلاف بین تیمارها با استفاده از تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) تعیین و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5٪ با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 21 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL نسخه 2013 انجام شد.

3- نتایج و بحث

3-1- پروفایل اسیدهای چرب روغن شاهدانه

روغن شاهدانه از جمله محصولات تجاری در بیش از 30 کشور جهان از جمله کانادا، ژاپن و اتحادیه اروپا می‌باشد. روغن شاهدانه به علت ارزش غذایی بالا در محصولات غذایی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. از روغن شاهدانه به عنوان روغن سالاد، در فرمولاسیون مارگارین و کره نیز استفاده می‌شود [28]. ترکیب اسیدهای چرب بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و تغذیه‌ای چربی‌ها تأثیرگذار است. اسیدهای چرب ضروری مانند لینولئیک اسید و آلفالینولنیک اسید، برای سلامت افراد ضروری می‌باشند و چون در بدن ساخته نمی‌شوند، باید آن‌ها را از منابع دیگری تأمین کرد و چون روغن شاهدانه سرشار از این نوع اسیدهای چرب است، از نظر تغذیه‌ای بسیار حائز اهمیت می‌باشد [29]. پروفایل اسیدهای چرب روغن شاهدانه استخراجی در جدول (1) آورده شده است. ساختار اسیدهای چرب روغن شاهدانه استحصالی در این تحقیق مشابه نتایج سایر محققان بود [29، 30]. اسید چرب غالب روغن شاهدانه لینولئیک اسید (بیش از 50٪) بود. میزان لینولئیک اسید روغن شاهدانه مشابه با میزان آن در روغن سویا و گردو (56 تا 59٪) می‌باشد [31]. در روغن شاهدانه نسبت لینولئیک اسید به آلفا لینولنیک اسید تقریباً برابر با سه به یک بوده که این نسبت از نظر تغذیه‌ای برای سلامت بدن بسیار مهم می‌باشد [32].

جدول (۱) پروفایل اسیدهای چرب روغن شاهدانه به دست آمده در تحقیق حاضر و مقایسه آن با نتایج سایر محققان

Table 1 Fatty acids profile of hemp seed oil in current research and its comparison with the results of other researchers

اسید چرب Fatty acid											روش استخراج Extraction method	
C22:0	C20:1	C20:0	C18:4 ω3	C18:3 ω3	C18:3 ω3	C18:3 ω6	C18:2 ω6	C18:2 6t	C18:0	C16:1	C16:0	
0.22	-	0.18	-	19.56	3.76	55.39	0.85	12.58	2.49	0.80	6.70	غرقابی (تحقیق حاضر) Maceration (current research)
-	-	-	-	19.10	3.60	54.30	-	10.10	2.70	-	6.60	غرقابی Maceration ¹
0.28	-	0.76	0.56	17.40	1.80	55.70	-	13.40	3.02	0.15	6.72	سوکسله Soxhlet ²

¹Oomah et al., 2002

²Galasso et al., 2016

3-2- ویژگی‌های فیزیکی

ویژگی‌های فیزیکی فیلم کازئینات سدیم (شاهد) و فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه از جمله ضخامت، شفافیت، حلالیت و زاویه تماس مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده در جدول (۲) آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزودن روغن شاهدانه ضخامت، حلالیت و شفافیت فیلم‌های آب‌گریز نسبت به نمونه شاهد به صورت معنی‌داری ($p < 0/05$) کاهش یافت در حالی که زاویه تماس فیلم‌های آب‌گریز افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) پیدا نمود.

توانایی مکانیکی بسپارها و خواص ممانعت‌کنندگی آن‌ها بستگی زیادی به ضخامت آن‌ها دارد [33]. با توجه به ماهیت آب‌دوستی بسپارهای کازئینات سدیم و طبیعت آب‌گریزی روغن‌ها، اسیدهای چرب می‌توانند باعث کاهش مقدار رطوبت موجود در فیلم، کاهش تورم بسپار و ضخامت آن شود. به همین دلیل با افزودن روغن شاهدانه به محلول فیلم ضخامت فیلم آب‌گریز کازئینات سدیم کاهش یافته است. هم‌چنین بر خلاف گلیسرول و سایر نرم‌کننده‌های آب‌دوست، روغن‌ها توانایی تشکیل پیوندهای مؤثر در افزایش ضخامت شبکه پروتئینی را ندارند، بنابراین از تعداد پیوندهای موثری که بین روغن و شبکه پروتئینی تشکیل می‌شود کاسته شده و ضخامت کاهش می‌یابد [34]. همان‌طور که در جدول (۲) ملاحظه می‌گردد ضخامت از $41/30 \mu\text{m}$ در فیلم شاهد، به $24/80 \mu\text{m}$ در فیلم

حاوی 30٪ روغن شاهدانه کاهش یافت.

با توجه به کاربرد فیلم‌های خوراکی شفافیت می‌تواند به عنوان یک متغیر بیان گردد [35]. تغییرات شفافیت را می‌توان با ضخامت، ماهیت مواد افزودنی و زنجیره‌های بسپار مرتبط دانست. بر اساس نتایج ارایه شده در جدول (۲) فیلم شاهد از شفافیت بالا ($83/5\%$) برخوردار بود و با افزایش غلظت روغن شاهدانه شفافیت فیلم به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) تا حداقل شفافیت برابر $52/60\%$ کاهش یافت. کاهش شفافیت فیلم‌ها را می‌توان به رنگ سبز تیره روغن شاهدانه نسبت داد.

حلالیت فیلم یک پارامتر مهم در انتخاب یک فیلم برای کاربردهای مختلف است که به فاکتورهای مختلفی از جمله برهم‌کنش‌های بین مولکولی با چگالی زیاد و به‌ویژه حضور پیوندهای کووالانسی بین مولکولی یا گروه‌های فیزیکی (پیچیدگی زنجیر) بستگی دارد [36]. از آنجایی که حلالیت فیلم به نوع، غلظت و شاخص‌های آب‌دوستی یا آب‌گریزی ترکیبات افزودنی نیز وابسته است، انتظار می‌رود با افزودن ترکیبات آب‌گریز حلالیت فیلم کاهش یابد. با توجه به جدول (۲) در این مطالعه نیز حلالیت فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) از $94/10$ به $53/20\%$ کاهش یافت. در سایر مطالعات انجام شده روی فیلم‌های خوراکی حاوی ترکیبات آب‌گریز نیز نتایج مشابه مطالعه حاضر به دست آمده است [37، 38].

جدول (2) ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه

Table 2 Physical properties of the sodium caseinate films containing hemp seed oil

زاویه تماس Contact angle (°)	حلالیت Solubility (%)	شفافیت Transparency (%)	ضخامت Thickness (µm)	روغن شاهدانه Hemp seed oil (%)
38.9±1.6 ^d	94.1±4.4 ^a	83.5±3.3 ^a	41.3±1.2 ^a	فیلم شاهد (صفر) Control film (0)
62.9±2.9 ^c	72.0±2.9 ^b	65.2±1.0 ^b	38.7±0.6 ^b	10
68.2±2.6 ^b	60.3±2.1 ^c	59.1±1.3 ^c	32.0±1.0 ^c	20
75.1±1.7 ^a	53.2±8.1 ^d	52.6±1.1 ^d	24.8±0.7 ^d	30

میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی کوچک متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار با هم هستند ($p < 0/05$) داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده اند.

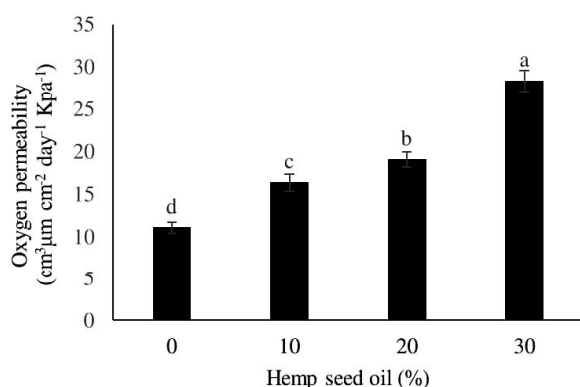
ساختار فیلم یعنی میزان بلوری بودن بسیار، چگالی، آرایش زنجیرها، وزن مولکولی و وجود اتصالات عرضی، بر نفوذپذیری فیلم‌های زیست تخریب پذیر مؤثر هستند [42].

تبادل رطوبت بین ماده غذایی و محیط می‌تواند مشکلاتی را برای محصول به وجود آورد. به همین دلیل بازدارندگی فیلم‌های بسیار در برابر رطوبت از نظر نگهداری مواد غذایی بسیار مهم است [43]. به طور کلی به علت بالا بودن تعداد گروه‌های آب‌دوست در زنجیرهای بسیار فیلم‌های خوراکی کربوهیدراتی و پروتئینی، بازدارندگی آن‌ها در برابر بخار آب نسبت به فیلم‌های سنتزی کم‌تر است [44]. در نتیجه با افزودن ترکیبات آب‌گریز به محلول تشکیل دهنده فیلم می‌توان بازدارندگی این نوع فیلم‌ها را تا حدودی بهبود بخشید. همان‌طور که در شکل (1) مشاهده می‌شود با افزایش میزان روغن شاهدانه در فیلم‌ها، نفوذپذیری نسبت به بخار آب به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کاهش می‌یابد که دلیل آن، ماهیت آب‌گریزی روغن می‌باشد. لذا با افزودن روغن شاهدانه ماهیت آب‌دوستی فیلم‌های کازئینات سدیم کاهش یافته و سرعت انتقال بخار آب از آن کم‌تر می‌شود. البته این پدیده را می‌توان به خاصیت نرم‌کنندگی روغن شاهدانه نیز نسبت داد. زیرا زمانی که اندازه بخش آب‌گریز در فیلم‌های آب‌دوست افزایش می‌یابد، اثر نرم‌کنندگی آن نمود بیش‌تری پیدا کرده و باعث افزایش تحرک ماکرومولکول‌ها می‌شود. در نتیجه هر چند که خاصیت آب‌گریزی فیلم بیش‌تر می‌شود، اما به دلیل افزایش فضای آزاد زیاد بین زنجیرها، کارایی آن در کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب کم‌تر خواهد بود، به همین دلیل تأثیر چشمگیری بر روی نفوذپذیری نسبت به بخار آب نخواهد

آب‌دوستی و با آب‌گریزی از جمله خصوصیات فیزیکی سطحی یک ماده هستند. مواد آب‌گریز به دلیل ناهمواری‌های سطحی در ابعاد میکرومتری و نانومتری، اجازه پخش و یا جذب شدن آب به روی سطح را نمی‌دهند و از این رو باعث قطره‌ای شدن آب و سر خوردن آن می‌شوند. بر خلاف این دسته از مواد، سطح مواد آب‌دوست به گونه‌ای است که باعث پخش شدن کامل آب روی سطح و در نتیجه تشکیل یک لایه نازک از آب می‌گردد [39]. پدیده گسترش پذیری مایع بر روی سطح توسط زاویه تماس یا همان زاویه‌ای که آخرین لبه یک مایع با سطح زیرین خود ایجاد می‌کند اندازه‌گیری می‌شود. این پدیده به مقدار نسبی نیروهای چسبندگی و پیوستگی وابسته است که به ترتیب در داخل مایع و مابین دو فاز مایع و جامد وجود دارند [40]. زاویه تماس می‌تواند از صفر تا 180° تغییر کند، به طوری که هر قدر این زاویه بزرگ‌تر باشد سطح آب‌گریزتر است و قطره شکل کروی‌تری به خود می‌گیرد. در مقابل زاویه تماس کوچک یک سطح آب‌دوست را معرفی می‌کند. با توجه به ماهیت آب‌گریزی روغن شاهدانه افزایش زاویه تماس در فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه قابل انتظار می‌باشد [41]. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول (2) مقدار زاویه تماس فیلم شاهد برابر $38/90^\circ$ درجه تعیین گردید درحالی‌که این زاویه با افزودن 30% روغن شاهدانه به فیلم شاهد تا $75/10^\circ$ درجه افزایش یافت.

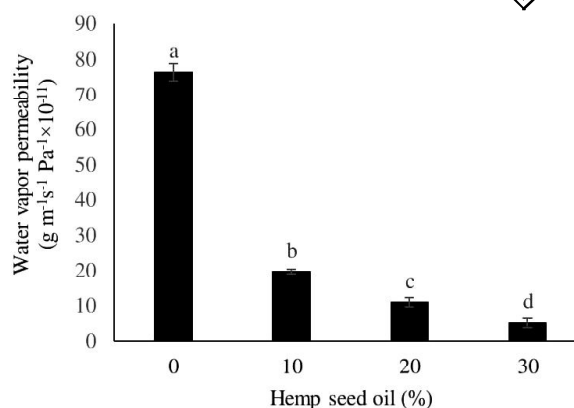
3-3- ویژگی‌های سدکنندگی

عوامل مختلفی نظیر حالت فیزیکی و جرم مولکولی نرم‌کننده‌ها، برهم‌کنش بین نرم‌کننده‌ها و اکسیژن و نوع



شکل (2) تغییرات نفوذپذیری نسبت به اکسیژن فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه.

Fig. 2 Oxygen permeability changes of the sodium caseinate films containing hemp seed oil.



شکل (1) تغییرات نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه.

Fig. 1 Water vapor permeability changes of the sodium caseinate films containing hemp seed oil.

زنده‌ای نباید تحت این شرایط در محیط حاوی غلظت MBC حضور داشته باشد [50]. میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی روغن شاهدانه در رقت‌های مختلف در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا در جدول (3) ارائه شده است.

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول (3)، غلظت 25 و $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ روغن شاهدانه بر روی استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب اثر مهارکنندگی و کشندگی دارد. همچنین غلظت 250 و $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ روغن شاهدانه بر روی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا اثر مهارکنندگی و غلظت $2500 \mu\text{g mL}^{-1}$ اثر کشندگی بر روی این دو ریزسازواره دارد.

نتایج قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از فیلم کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه در جدول (4) نشان داده شده است. بر طبق مشاهدات، در هیچ یک از پلیت‌های کنترل، رشدی مشاهده نگردید که این مسئله عدم وجود آلودگی در محیط کشت را تأیید می‌کند. با افزایش غلظت روغن شاهدانه، قطر هاله عدم رشد به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) افزایش پیدا کرد. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که استافیلوکوکوس اورئوس حساسیت بیش‌تری در مقابل روغن شاهدانه نسبت به اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا از خود نشان داد. با توجه به این‌که باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت مقاومت بیش‌تری در مقابل مواد ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند، لذا

داشت و توانایی محدود کردن نفوذپذیری نسبت به بخار آب توسط روغن و لیپیدها کاملاً محدود است. کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب در اثر افزودن ترکیبات آب‌گریز نظیر اولئیک اسید و روغن زیتون توسط سایر محققان نیز بررسی شده است که به نتایج مشابهی دست یافتند [45-48].

میزان نفوذپذیری نسبت به اکسیژن در فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه در مقایسه با نمونه شاهد در شکل (2) نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد میزان نفوذپذیری فیلم نسبت به اکسیژن به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) با افزایش غلظت روغن شاهدانه افزایش یافت. به احتمال زیاد اکسیژن از ساختار مارپیچی پروتئین‌های کازئینی با سرعت کم‌تری نسبت به ساختارهای لیپیدی عبور می‌نماید [49].

3-4- ویژگی‌های ضد میکروبی روغن شاهدانه و فیلم ضد میکروبی

حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) کم‌ترین غلظت از ماده ضد میکروبی است که دارای اثر بازدارندگی بر روی یک ریزسازواره خاص داشته باشد، تحت این شرایط ریزسازواره دیگر قادر به رشد نخواهد بود، بدین معنی که ریزسازواره در محیط حضور دارد اما قادر به تکثیر نیست. حداقل غلظت کشنده (MBC) کم‌ترین غلظتی از ماده ضد میکروبی است که سبب مرگ ریزسازواره می‌شود. به این ترتیب هیچ ریزسازواره

جدول (3) اثر ضد میکروبی روغن شاهدانه در مقابل ریزسازواره‌های مورد آزمون

Table 3 Antimicrobial effect of hemp seed oil against tested microorganisms

رقت روغن شاهدانه										نوع ریزسازواره Microorganism type
Hemp seed oil dilution ($\mu\text{g mL}^{-1}$)										
5000	2500	1000	500	250	100	50	25	12.5	6.25	
-	-	-	+	+	+	+	+	++	+++	استافیلوکوکوس اورئوس <i>S. aureus</i>
-	-	+	+	+	++	++	++	++	+++	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>
-	-	+	++	++	++	++	++	+++	+++	سودوموناس آئروژینوزا <i>P. aeruginosa</i>

+ نشان دهنده رشد باکتری (تعداد بیش‌تر این علامت نشان‌دهنده میزان رشد زیاد ریزسازواره مورد آزمون است)
- نشان‌دهنده عدم رشد باکتری

جدول (4) میانگین قطر هاله عدم رشد (mm) فیلم‌های کازئینات سدیم حاوی روغن شاهدانه به روش دیسک انتشاری در مولر- هینتون آگار

Table 4 Average of inhibition zone diameter (mm) of sodium caseinate films containing hemp seed oil by disk diffusion method in Mueller-

Hinton agar

سودوموناس آئروژینوزا <i>P. aeruginosa</i>	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	استافیلوکوکوس اورئوس <i>S. aureus</i>	رقت روغن شاهدانه Hemp seed oil dilution ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
0.00±0.00 ^{Ad}	0.00±0.00 ^{Ae}	0.00±0.00 ^{Ai}	0
0.00±0.00 ^{Ad}	0.00±0.00 ^{Ae}	0.00±0.00 ^{Ai}	6.25
0.00±0.00 ^{Ad}	0.00±0.00 ^{Ae}	0.00±0.00 ^{Ai}	12.5
0.00±0.00 ^{Bd}	0.00±0.00 ^{Be}	6.50±0.33 ^{Ah}	25
0.00±0.00 ^{Bd}	0.00±0.00 ^{Be}	8.29±0.16 ^{Ag}	50
0.00±0.00 ^{Bd}	0.00±0.00 ^{Be}	11.39±0.38 ^{Af}	100
0.00±0.00 ^{Cd}	6.26±0.12 ^{Bd}	15.96±0.69 ^{Ae}	250
0.00±0.00 ^{Cd}	6.90±0.15 ^{Bd}	20.97±0.83 ^{Ad}	500
6.79±0.19 ^{Cc}	10.13±0.39 ^{Bc}	24.24±0.41 ^{Ac}	1000
12.11±0.27 ^{Cb}	15.09±0.90 ^{Bb}	28.67±0.33 ^{Ab}	2500
15.40±0.30 ^{Ca}	19.05±0.89 ^{Ba}	31.28±0.55 ^{Aa}	5000

میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی کوچک متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار با هم هستند ($p < 0/05$)
میانگین‌ها در هر ردیف با حروف انگلیسی بزرگ متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار با هم هستند ($p < 0/05$)
داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است.

می‌باشد [51]. هم‌چنین به‌نظر می‌رسد مقاومت سلول‌های میکروبی وابسته به سرعت و میزان انحلال مواد ضد میکروبی در بخش لیپیدی غشای سلولی باشد. اگرچه این مسئله نمی‌تواند توضیح کاملی برای شرح اختلاف در حساسیت باکتری‌های گرم مثبت و منفی باشد؛ به‌همین علت اختلاف در آب‌گریزی سطح غشای سلول نیز به‌عنوان یک عامل مؤثر پیشنهاد شده است [52].

حساسیت بیش‌تر استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کلی در مقابل روغن شاهدانه قابل انتظار بود. علت مقاومت بیش‌تر باکتری‌های گرم منفی به مواد ضد میکروب گیاهی احتمالاً پیچیدگی بیش‌تر غشای مضاعف سلولی این ریزسازواره‌ها در مقایسه با غشای یگانه پتیدوگلیکانی به همراه مقدار کمی پروتئین باکتری‌های گرم مثبت

فیزیکی، سدکنندگی و ضد میکروبی فیلم خوراکی کازئینات سدیم مورد بررسی قرار گرفت. افزودن روغن شاهدانه به فیلم کازئینات سدیم سبب کاهش ضخامت، شفافیت، حلالیت و نفوذپذیری نسبت به بخار آب گردید، در حالی که زاویه تماس و نفوذپذیری نسبت به اکسیژن افزایش یافت. اثر ضد میکروبی روغن شاهدانه در فیلم خوراکی کازئینات سدیم بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود. نتایج پژوهش حاضر می‌تواند دریچه جدیدی به سوی استفاده از بسته بندی‌های فعال زیست تخریب پذیر در صنعت غذا جهت بهبود کیفیت و ایمنی مواد غذایی و کاهش مخاطرات زیست محیطی حاصل از انباشت مواد بسته بندی سنتزی بگشاید.

با توجه به جدول (4) خواص ضد میکروبی ضعیف تری در غلظت‌های پایین روغن شاهدانه مشاهده شد. این کاهش قدرت ضد میکروبی می‌تواند به این دلیل باشد که اتصالات آب‌گریز و آب‌دوست ایجاد شده مانع از انتشار ترکیبات ضد میکروبی از درون ماتریس فیلم می‌گردند. همچنین توئین 80 که برای تسهیل دیسپرسیون بخش ضد میکروبی آب‌گریز افزوده می‌شود، می‌تواند با ترکیبات فنولی موجود در روغن شاهدانه واکنش داده و به عنوان خنثی کننده ترکیبات فنولی عمل نماید [53].

4- نتیجه گیری

در این پژوهش تاثیر افزودن روغن شاهدانه بر ویژگی‌های

منابع

- review on application of edible film on meat and meat products: An eco-friendly approach. *Critical. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(6), 1270-1279.
- [7] Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *Int. Food Res. J.*, 15(3), 237-248.
- [8] Atarés, L., Bonilla, J., Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *J. Food Eng.*, 100, 678-687.
- [9] Eghbal, N., Degraeve, P., Oulahal, N., Yarmand, M. S., Mousavi, M. E., Gharsallaoui, A. (2017). Low methoxyl pectin/sodium caseinate interactions and composite film formation at neutral pH. *Food Hydrocoll.*, 69, 132-140.
- [10] Guilbert, S., Cuq, B., Gontard, N. (1997). Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Addit. Contam.*, 14(6-7), 741-751.
- [11] Dehghani, S., Hosseini, S. V., Regenstein, J.M. (2018). Edible films and coatings in seafood preserva-
- [1] Ray, S. S., Bousmina, M. (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Progress in materials science*, 50(8), 962-1079.
- [2] Elsabee, M. Z., Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Mater. Sci. Eng. C*, 33(4), 1819-1841.
- [3] Abdul Khalil, H. P. S., Tye, Y. Y., Saurabh, C. K., Leh, C. P., Lai, T. K., Chong, E. W. N., Nurul Fazita, M. R., Mohd Hafiidz, J., Banerjee, A., Syakir, M. I. (2017). Biodegradable polymer films from seaweed polysaccharides: A review on cellulose as a reinforcement material. *Express Poly. Lett.*, 11(4), 244-254.
- [4] Dainelli, D. (2008). Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends Food Sci. Technol.*, 19, 103-112.
- [5] Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.-A., Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Crit. Rev. Food Sci.*, 38(4), 299-313.
- [6] Umaraw, P., Verma, A. K. (2017). Comprehensive

- meability, mechanical and thermal properties of casein based Zataria multiflora Boiss. extract containing film. *LWT-Food Sci. Technol.*, 44(10), 2316-2323.
- [21] سازمان ملی استاندارد ایران، 1376. استاندارد ملی ایران به شماره 4091. تجزیه متیل استرهای اسیدهای چرب به روش گاز کروماتوگرافی، چاپ اول.
- [22] ASTM D1746 - 09, Standard test method for transparency of plastic sheeting. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1997b.
- [23] Emam-Djomeh, Z., Moghaddam, A., Yasini Ardakani, S. A. (2015). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel extract, physical, mechanical, barrier and antimicrobial properties of pomegranate peel extract-incorporated sodium caseinate film and application in packaging for ground beef. *Packaging Technol. Sci.*, 28(10), 869-881.
- [24] ASTM E96-95, Standard test methods for water vapor transmission of material. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1995.
- [25] ASTM D3985, Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2010.
- [26] Baron, E., Finegold, S. M. (1990). Methods for testing antimicrobial effectiveness. *Diagnosis. Microb.*, 171-194.
- [27] Zaidan, M., Noor Rain, A., Badrul, A. R., Adlin, A., Norazah, A., Zakiah, I. (2005). In vitro screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method. *Trop Biomed*, 22(2), 165-170.
- [28] Horrobin, D. (1992). Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid. *Prog. Lipid Res.*, 31(2), 163-194.
- [29] Galasso, I., Russo, R., Mapelli, S., Ponzoni, E., Brambilla, I. M., Battelli, G., Reggiani, R. (2016). Variability in seed traits in a collection of *Cannabis sativa*: A review. *Food Chem.*, 240, 505-513.
- [12] Imran, M., Klouj, A., Revol-Junelles, A-M., Desobry, S. (2014). Controlled release of nisin from HPMC, sodium caseinate, poly-lactic acid and chitosan for active packaging applications. *J. Food Eng.*, 143, 178-185.
- [13] Colak, B. Y., Peynichou P., Galland, S., Oulahal, N., Prochazka, F., Degraeve, P. (2016). Antimicrobial activity of nisin and natamycin incorporated sodium caseinate extrusion-blown films: A comparative study with heat-pressed/solution cast films. *J. Food Sci.*, 81(5), 1141-1150.
- [14] Bonilla, J., Sobral, P. J. (2017). Antioxidant and physicochemical properties of blended films based on gelatin-sodium caseinate activated with natural extracts. *J. Applied Polym. Sci.*, 134(7), 44467- 44477.
- [15] Arrieta, M. P., Peltzer, M. A., López, J., Carmen Garrigós, M., Valente, A. J. M., Jiménez, A. (2014). Functional properties of sodium and calcium caseinate antimicrobial active films containing carvacrol. *J. Food Eng.*, 121, 94-101.
- [16] Zuardi, A. W., Crippa, J. A., Hallak, J. E., Moreira, F. A., Guimarães, F. S. (2006). Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 39(4), 421-429.
- [17] Rios, J., Recio, M. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, 100(1), 80-84.
- [18] Leizer, C., Ribnicky, D., Poulev, A., Dushenkov, S., Raskin, I. (2000). The composition of hemp seed oil and its potential as an important source of nutrition. *J. Nutr. Func. Med. Food.*, 2(4), 35-53.
- [19] کرمی، ز؛ یوسفی، ق؛ علیپورنجمی، م؛ امام جمعه، ز. (1392) مدل سازی و بهینه سازی استخراج روغن شاهدانه به کمک اولتراسونیک و با روش سطح پاسخ. نشریه علوم غذایی و تغذیه، جلد 10، شماره 2، ص 37-44.
- [20] Broumand, A., Emam-Djomeh, Z., Hamed, M., Razavi, S. H. (2011). Antimicrobial, water vapour per-

- far, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S. M., Khaksar, R. (2014). Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. *Carbohydr Polym.*, 101, 582-591.
- [39] Khazaei, N., Esmaili, M., Emam-Djomeh, Z., Ghasemlou, M., Jouki, M. (2014). Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. *Carbohydr Polym.*, 102, 199-206.
- [40] Wang, Z., Zhou, J., Xiao-xuan, W., Zhang, N., Sun, X., Ma, Z. (2014). The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the water vapor barrier properties of soybean protein isolate-based oleic acid/stearic acid blend edible films. *Food Hydrocoll.*, 35, 51-58.
- [41] Rocca-Smith, J. R., Marcuzzo, E., Karbowski, T., Centa, J., Giacometti, M., Scapin, F., Venir, E., Sensidoni, A., Debeaufort, F. (2016). Effect of lipid incorporation on functional properties of wheat gluten based edible films. *J. Cereal Sci.*, 69, 275-282.
- [42] Donhowe, G., Fennema, O. (1993). Water vapor and oxygen permeability of wax films. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70(9), 867-873.
- [43] Guilbert, S., Cuq, B., Gontard, N. (1997). Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Addit Contam.*, 14(6-7), 741-751.
- [44] Parris, N., Coffin, D. R. (1997). Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic zein films. *J. Agric Food Chem.*, 45(5), 1596-1599.
- [45] Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., Yarmand, M. S. (2011). Characterization of edible emulsified films with low affinity to water based on kefir and oleic acid. *Int. J. Biol. Macromol.*, 49(3), 378-384.
- [46] Taqi, A., Askar, K. A., Nagy, K., Mutihac, L., Stalder, L. genotypes. *Front. Plant Sci.*, <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00688>.
- [30] Oomah, B. D., Busson, M., Godfrey, D. V., Drovner, J. (2002). Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. *Food Chem.*, 76(1), 33-43.
- [31] Da Porto, C., Natolino, A., Decorti, D. (2015). Effect of ultrasound pre-treatment of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed on supercritical CO₂ extraction of oil. *J. Food Sci. Technol.*, 52(3), 1748-1753.
- [32] Torres-Salas, P., Pedrali, A., Bavaro, T., Ambrosini, S., Marrubini, G., Pappalardo, V. M., Massolini, G., Terreni, M., Ubiali, D. (2014). Preparation of PUFA concentrates as acylglycerols via enzymatic hydrolysis of hempseed oil (*Cannabis sativa* L.) in a homogeneous low-water medium. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 116(11), 1496-1504.
- [33] Miller, K., Krochta, J. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 8(7), 228-237.
- [34] Ekrami, M., Emam-Djomeh, Z. (2014). Water vapor permeability, optical and mechanical properties of Salep-based edible Film. *J. Food Process. Preserv.*, 38(4), 1812-1820.
- [35] Fang, Y. Tung, M. A., Britt, I. J., Yada, S., Dalglish, D. G. (2006). Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *J. Food Sci.*, 67(1), 188-193.
- [36] Gontard, N., Guilbert, S., Cuq, J. L. (1992). Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.*, 57(1), 190-195.
- [37] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., Farahmandghavi, F. (2015). Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Ind Crops Prod.*, 67, 403-413.
- [38] Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadi-

- matin, L. (2011). Effect of different concentrations of olive oil and oleic acid on the mechanical properties of albumen (egg white) edible films. *Afr. J. Biotechnol.*, 60(10), 12963-12972.
- [47] Pereda, M., Amica, G., Marcovich, N. E. (2012). Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydr Polym.*, 87(2), 1318-1325.
- [48] Ma, W., Hu, D., Wang, H., Wang, L. (2012). Effect of homogenization conditions on properties of gelatin-olive oil composite films. *J. Food Eng.*, 113(1), 136-142.
- [49] Gennadios, A., Weller, C., Testin, R. (1993). Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. *J. Food Sci.*, 58(1), 212-214.
- [50] Erkan, N., Doğruyol, H., Günlü, A., Genç, İ. Y. (2014). Use of natural preservatives in seafood: plant extracts, edible film and coating. *J. Food Health Sci*, 1(1), 33-49
- [51] Zhang, Y., Ma, Q., Critzer, F., Zhong, Q. (2015). Physical and antibacterial properties of alginate films containing cinnamon bark oil and soybean oil. *LWT-Food Sci. Technol.*, 64(1), 423-430.
- [52] Acevedo-Fani, A., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M., Alejandra Martín-Belloso, O. (2015). Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physico-chemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocoll.*, 47, 168-177.
- [53] Jouki, M., Mortazavi, S. A., Tabatabaei Yazdi, F., Koocheki, A. (2014). Characterization of antioxidant-antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. *Carbohydr Polym.*, 99, 537-546.