

ارزیابی ویژگی‌های کاغذهای کرافت پوشش‌دهی شده با محلول‌های پروتئینی حاوی پودر عصاره چای با فناوری لایه به لایه خود شکل گیرنده

حسن اسدی^۱، محبوبه کشیری^{۲*}، یحیی مقصودلو^۳، حبیب الله میرزایی^۴، ساجده آلتینکایا^۵

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و صنایع غذایی علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه علوم و صنایع غذایی

۳- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه علوم و صنایع

۴- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه علوم و صنایع

۵- عضو هیئت علمی دانشگاه پلی تکنیک ازمیر، دانشکده مهندسی شیمی، گروه پلی مر

چکیده

فناوری لایه به لایه خود شکل گیرنده یکی از روش‌های نوین در تولید کرافت‌های چندلایه با تکیه بر قرار گیری محلول پروتئینی بر بسترهای جامد است. هدف از این تحقیق تولید کرافت‌های چندلایه بر پایه پلی‌مرهای زیستی پروتئینی (زئین و ایزوله آب پنیر) حاوی پودر عصاره چایسبز با استفاده از فناوری لایه به لایه خود شکل گیرنده و ارزیابی خواص ضدباکتریایی، فیزیکی- مکانیکی و رهایش ترکیبات فنولی از کرافت پوشش‌دهی شده در دمای یخچالی و pHهای ۴/۵ و ۷ بود. نتایج حداقل غلظت بازدارندگی باکتریایی پودر عصاره چای سبز نشان داد که /شرشیاکلای (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) در مقایسه با لیستریا مونوسیژنوز (۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر) از حساسیت بیشتری برخوردار بود. نتایج ارزیابی خواص فیزیکی کرافت‌ها نشان داد که ضخامت، گراماژ و دانسیته حجمی طی پوشش‌دهی افزایش یافت. هم‌چنین قرارگیری زئین در لایه خارجی سبب کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب و افزایش مقاومت در برابر عبور هوا گردید. ارزیابی رهایش ترکیبات فنولی از بستر کرافت‌های پوشش‌دهی شده زئین به عنوان لایه خارجی در مقایسه با ایزوله پروتئین آب پنیر در روزهای خنثی بود. هم‌چنین رهایش ترکیبات فنولی از کرافت‌های پوشش‌دهی شده زئین به عنوان لایه خارجی در مقایسه با ایزوله پروتئین آب پنیر در روزهای نخست بیشتر و در زمان طولانی‌تری ادامه داشت. کاهش اندیس لگاریتمی کرافت پوشش‌دهی شده با زئین فعال دو لایه علیه /شرشیا کلای و لیستریا مونوسیژنوز به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۰۶ بود. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق کرافت پوشش‌دهی شده با دولایه زئین فعال برای بسته‌بندی مواد غذایی به عنوان حامل ترکیبات فنولی توصیه می‌گردد.

کلید واژگان: کرافت دولایه و چندلایه، پلی‌مرهای زیستی، رهایش ترکیبات فنولی

* مسئول مکاتبات: kashiri.m@gmail.com

۱- مقدمه

اثرات مخرب محیطی ناشی از تجمع پلی‌مرهای نفتی و تخریب‌ناپذیر یکی از مهم‌ترین نگرانی‌ها در جهان امروز است. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته میزان تولید پلی‌مرهای نفتی در سال ۲۰۵۰ به بیش از ۳۰۰ میلیون تن پیش‌بینی می‌شود که حجم قابل توجهی از پلی‌مرهای نفتی جهت تولید بسته‌بندی استفاده می‌شود که می‌تواند منجر به ایجاد مشکلات زیست محیطی جدی گردد [۱]. لذا جایگزینی پلی‌مرهای نفتی توسط پلی‌مرهای زیستی امری ضروری به نظر می‌رسد که مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است [۲]. لازم به ذکر است که پلی‌مرهای زیستی حامل-های خوبی برای انتقال ترکیبات زیست‌فعال جهت بسته‌بندی مواد غذایی به صورت فیلم و پوشش محسوب می‌گردد [۳] اما از دلایل اصلی در عدم کاربرد موفق پلی‌مرهای زیستی، ضعف در برخی خواص مکانیکی و خواص فیزیکی نظیر انحلال در آب می‌باشد [۴]. از این رو استفاده از فناوری‌های نظیر تولید فیلم‌های زیستی چندلایه بر پایه سطوح جامد نظیر کاغذ می‌تواند در پوشش این نقایص کمک فراوانی نماید [۵]. فناوری لایه به لایه خود شکل گیرنده^۱ یکی از روش‌های مناسب در تولید فیلم‌های لایه نازک است که مبتنی بر قرارگیری لایه‌های دارای بارهای الکتریکی متفاوت بر سطوح جامد می‌باشد. در واقع نیروی محرکه برای جذب پلی‌مرهای مختلف زیستی به یکدیگر، نیروی جاذبه الکترواستاتیک می‌باشد [۶].

فیبرهای طولی سلولزی تحت عنوان کاغذ کرافت دارای ویژگی‌های مکانیکی مناسب بوده و در صنایع بسته‌بندی به‌ویژه در تولید پوشش‌های چندلایه مقرون به صرفه مورد توجه قرار گرفته است. بررسی‌های صورت گرفته نشان می‌دهد که کاغذ کرافت به عنوان بستر، قابلیت تشکیل اتصال با پلی‌مرهای زیستی را دارد و بدین ترتیب مستعد به کارگیری جهت بسته‌بندی مواد غذایی مختلف نظیر فراورده‌های بر پایه آرد می‌باشد [۷-۱۰]. در میان پلی‌مرهای گیاهی مناسب جهت پوشش‌دهی، پروتئین زئین حاصل از گیاه ذرت به دلیل قابلیت تشکیل فیلم عالی و خواص ممانعت‌کنندگی مطلوب در برابر رطوبت و گازها یکی از

مناسب‌ترین مواد جهت انتقال ترکیبات زیست‌فعال می‌باشد [۱۱]. از مهم‌ترین دلایل انتخاب این پلی‌مر می‌توان به خصوصیات تشکیل فیلم عالی و حفاظت در برابر گازها اشاره کرد. همچنین ایزوله پروتئین آب پنیر یک فراورده جانبی (حاوی ۹۰ درصد پروتئین آب پنیر) به دست آمده طی فرایند تولید پنیر می‌باشد. بنابراین این پلی‌مر می‌تواند در تولید فیلم زیستی با صرفه اقتصادی بیشتر مورد استفاده قرار گیرد [۱۲].

چای سبز گیاهی با نام علمی *Camellia Sinensis* که غنی از ترکیبات زیست‌فعال به‌ویژه ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی-اکسیدانی قوی می‌باشد. ترکیبات فنولی علاوه بر بروز خواص آنتی‌اکسیدانی در پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های مزمن نظیر بیماری‌های قلبی-عروقی و انواع سرطان‌ها و در کمک به تنظیم وزن بدن، محافظت در برابر اشعه، کارایی عملکرد فیزیکی، سلامت دهان و سایر اثرات فیزیولوژیک موثر گزارش شده است. ترکیبات فنولی عصاره چای سبز عمدتاً به چهار گروه فلاونوئیدها، فلاوانول‌ها، فلاونول‌ها، و اسیدهای فنولی طبقه‌بندی می‌شوند که بر اساس بررسی‌های استیوارد و همکاران بیش از ۹۲ درصد خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز به فلاوانول‌ها مربوط می‌شود. لازم به ذکر است که در میان زیرگروه‌های متعدد فلاوانول‌ها، اپی‌گالوکاتچین بیشترین پتانسیل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داده است [۱۳].

با توجه به این‌که اکسیداسیون و فساد میکروبی از مهم‌ترین دلایل کاهش کیفیت مواد غذایی تلقی می‌گردد، استفاده از ترکیبات زیست‌فعال که علاوه بر بروز خواص آنتی‌اکسیدانی دارای خواص ضد میکروبی باشند در بسته‌بندی‌های فعال می‌تواند مفید واقع گردد. بر اساس گزارش محققان عصاره چای سبز علاوه بر داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی مطلوب دارای اثرات ضد میکروبی علیه دامنه وسیعی از باکتری‌ها است. بنابراین با توجه به اتلاف عمده محصولات غذایی توسط فساد ناشی از میکروارگانیسم‌ها و اکسیداسیون و گسترش بسته‌بندی‌های حاوی ترکیبات زیست فعال هدف از این تحقیق تولید فیلم چند لایه حاوی پودر در عصاره چای سبز با استفاده از فناوری لایه به لایه خود شکل گیرنده و ارزیابی تاثیر نوع پلی‌مر پروتئینی بر خواص فیزیکی و مکانیکی کرافت‌های تولیدی و اهمیت آن در کنترل رهایش

1. Layer-by-layer self-assembly

ترکیبات فنولی عصاره چای سبز در دو مدل‌های غذایی و ارزیابی خواص ضد میکروبی کرافت زیستی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد مورد استفاده در این تحقیق شامل کرافت (دارای گراماژ ۱۳۰-۱۲۵ گرم بر مترمربع، ساخت ایران)، زئین (سیگما، آمریکا)، ایزوله پروتئین آب‌پنیر (مرک، آلمان)، پودر عصاره چای سبز (مرک، آلمان)، اتانول ۹۶ درصد (ساخت ایران)، محیط کشت نوترینت براث (مرک، آلمان)، دی‌متیل سولفوکساید (مرک، آلمان)، معرف فولین سیوکالتو (سیگما، آمریکا) بودند.

۲-۲- آماده‌سازی و کشت باکتری

جهت انجام آزمون‌های میکروبی باکتری *اشرشیاکلا* و *لیستریامونوسیتوزنز* (تهیه شده از جمعیت میکروبی ایران) در محیط کشت مایع (نوترینت براث) تلقیح و تا رسیدن به فاز لگاریتمی موردنظر (کدورت ۲/۰ در طول موج ۶۰۰ نانومتر) در گرم‌خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

۲-۳- آماده‌سازی محلول‌های پوششی پروتئینی و

مراحل پوشش‌دهی با تکیه بر فناوری لایه به لایه

خود شکل گیرنده

۲-۳-۱- آماده‌سازی محلول پوششی زئین فعال

جهت تهیه محلول زئین فعال، ۱۰ گرم از پودر زئین به ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد افزوده و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد طی ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس در ادامه محلول را در دمای اتاق خنک و نرم‌کننده گلیسرول (۳۰ درصد وزن پلی‌مر) به محلول افزوده گشت و محلول عصاره چای (۳ درصد حجم محلول زئین) اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط مخلوط گردید [۱۱].

۲-۳-۲- آماده‌سازی محلول پوششی ایزوله پروتئین آب

پنیر فعال

ابتدا ۵ گرم پودر ایزوله پروتئین آب‌پنیر به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (۳ میلی‌لیتر از ۵۰ میلی‌لیتر برای حل کردن پودر عصاره چای سبز) اضافه و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری شیکردار هم‌زده شد. گلیسرول به عنوان نرم‌کننده (۶۰ درصد وزن پلی‌مر) اضافه و به مدت ۸ دقیقه کاملاً همگن گردید. در ادامه پودر عصاره چای (۳ درصد وزن محلول) با ۳ میلی‌لیتر آب مخلوط و به محلول پروتئین اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه یکنواخت شد [۱۲].

۲-۳-۳- پوشش‌دهی کرافت با فناوری لایه به لایه خود

شکل گیرنده

به منظور تولید کرافت فعال تک لایه‌دهی میلی‌لیتر از محلول زئین فعال (مطابق روش ۲-۳-۱) بر سطح کاغذ کرافت با ابعاد (۱۵×۲۰ سانتی‌متری) (CK) برش داده شده ریخته و توسط دستگاه کاستینگ با سرعت ۵۰ میلی‌متر در ثانیه و با تنظیم فاصله ۲۰۰ میکرون از سطح عبور داده شد و بلافاصله در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (p_1 , ZGTE). در ادامه به‌منظور تولید کرافت دولایه پوشش‌دهی شده با بکارگیری کرافت تک‌لایه فعال، همانند مرحله قبل ۲ میلی‌لیتر از محلول زئین فعال (p_2 ZGET/WPIGET)، ۲ میلی‌لیتر محلول زئین (p_3 , ZGET/ WPIGET)، ۲ میلی‌لیتر محلول ایزوله پروتئین آب‌پنیر فعال (p_4 , ZGET/WPIGET) استفاده گردید.

۲-۴- ارزیابی تاثیر پوشش‌های پروتئینی بر

خواص کرافت‌های تولیدی

۲-۴-۱- مقاومت در برابر ترکیدگی^۲

مقاومت در برابر ترکیدگی مطابق استاندارد ۲۷۵۸ ایزو (۲۰۱۴) با استفاده از دستگاه تست مقاومت ترکیدگی Frank Prufgerate GmbH ساخت کشور آلمان تعیین گردید. در این روش سطح موثر کاغذ در مقابل دهانه پروپ دستگاه تحت فشار قرار گرفت و حداکثر فشار وارده بر سطح

1. Grammage (نسبت وزن به سطح کاغذ)

2. Burst Resistance (BR)

کرافت های برش داده در ابعاد 5×5 سانتی متر در محلول های آبی ($pH=4.5$ و $pH=7$) با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد و رهایش فنولی از سطح کرافت به روش فولین سیوکالتو در طی زمان های مختلف اندازه گیری گردیدند. اساس کار در این روش، احیا معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ و اندازه گیری حداکثر جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر می باشد [۱۷].

۲-۴-۶- ارزیابی خواص ضد میکروبی

۲-۴-۶-۱- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره چای

سبز علیه اشرشیاکلائی و لیستریامونوسیتوژنز

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی پودر عصاره چای سبز به روش لکه گذاری انجام گرفت. در این راستا غلظت های مورد آزمون پودر عصاره چای سبز 0.156 ، 0.312 ، 0.625 ، 1.25 و 2.5 میلی گرم بر میلی لیتر جهت ارزیابی فعالیت باکتری اشرشیاکلائی و 0.156 ، 0.312 ، 0.625 ، 1.25 و 2.5 میلی گرم بر میلی لیتر برای باکتری لیستریامونوسیتوژنز آماده و در محیط کشت مایع 100 میکرو لیتر از هر دو باکتری اضافه گردید. 5 میکرو لیتر از هر غلظت آماده شده فوق بر سطح محیط کشت نوترینت آگار لکه گذاری شدند و در دمای 37 درجه سانتی گراد قرار داده شدند پس از 24 ساعت حداقل غلظتی که رشد باکتری مشاهده نشده به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی در نظر گرفته شدند [۱۸].

۲-۴-۶-۲- ارزیابی خواص ضد باکتریایی فیلم چند لایه بر پایه

کرافت حاوی عصاره چای سبز در محیط کشت مایع

یک گرم از کرافت پوشش دهی شده با دولایه زئین فعال (p_2) توزین و به 10 میلی لیتر محیط کشت مایع (نوترینت براث) اضافه و 100 میکرو لیتر از باکتری هایی که در بخش آماده سازی میکروبی اشاره شده است در آن بارگذاری گردید. لازم به ذکر است که کرافت فاقد پوشش دهی به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. سپس نمونه های آماده شده در گرم خانه با دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت قرار داده شد و در نهایت جهت شمارش باکتری تلقیح شده در محلول رقت سازی انجام و تعداد باکتری ها شمارش گردیدند [۱۹].

کاغذ (کیلو پاسکال) تا رسیدن به نقطه ترکیدگی به عنوان مقاومت در برابر ترکیدگی در نظر گرفته شد [۱۴].

۲-۴-۲- نفوذ پذیری نسبت به بخار آب^۱

آزمون نفوذ پذیری به بخار آب مطابق روش ASTM E96 (۱۹۹۵) به صورت وزن سنجی انجام شد. جهت انجام آزمایش درون کپ هایی به قطر 6 سانتی متر و ارتفاع 2.5 سانتی متر سیلیکاژل خشک افزوده شد. نمونه های کرافت به صورت دایره برش خورده و در دهانه کاپ به وسیله پیچ و مهره نگاه داشته شدند. سپس کاپ ها را درون دسیکاتور حاوی محلول نمک اشباع با رطوبت نسبی 75 درصد در دمای محیط قرار داده شده و در ادامه به مدت یک هفته کاپ ها در هر 24 ساعت روی ترازو دیجیتالی با دقت 0.001 گرم توزین و نمودار افزایش وزن کاپ ها در برابر زمان رسم شد و با استفاده از رابطه ۱ نفوذ پذیری نسبت به بخار آب (WVP) نمونه ها محاسبه گردیدند [۱۵].

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{\Delta P} \quad \text{رابطه ۱}$$

در این رابطه $WVTR$ شیب منحنی افزایش وزن کاپ، A مساحت سطح دهانه کاپ، X میانگین ضخامت فیلم و ΔP اختلاف فشار بخار در دو سوی کاغذ بوده که برابر با $21.06/27$ پاسکال بود.

۲-۴-۳- مقاومت در برابر عبور هوا^۲

مقاومت در برابر عبور هوا مطابق استاندارد ۲۷۵۸ ایزو (۲۰۱۴) با استفاده از دستگاه تست عبور هوا (Troy, N.Y)، ساخت آمریکا) تعیین گردید. در این روش مدت زمان لازم (ثانیه) برای عبور 100 میلی لیتر هوا از سطح کاغذ تعیین گردید [۱۶].

۲-۴-۴- ارزیابی خصوصیات سطح کرافت های تولیدی

در این روش خصوصیات سطحی کاغذ های کرافت با استفاده از میکروسکوپ نوری صورت پذیرفت. در این روش کرافت های تولیدی در ابعاد مناسب برش خورده و تصاویر در بزرگنمایی 50 و 100 ثبت شدند.

۲-۴-۵- ارزیابی رهایش ترکیبات فنولی عصاره چای

سبز از کرافت های تولیدی

1. Water Vapor Permeability (WVP)
2. Water Vapor Transmission Rate (WVTR)
3. Air Permeability Resistance (APR)

4. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تاثیر پوشش های پروتئینی بر خواص

فیزیکی کرافت های تولیدی

نتایج ضخامت، گراماژ و نفوذپذیری در برابر بخار آب کرافت های تولیدی ارزیابی و در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طوری که مشاهده می شود، فرایند پوشش دهی منجر به افزایش ضخامت و گراماژ کرافت (p_4, p_3, p_2, p_1) در مقایسه با نمونه فاقد پوشش به عنوان کنترل (CK) گردید که می تواند بیانگر کارایی فرمولاسیون محلول های پروتئینی تلقی گردد. هم-چنین با توجه به این که محلول های پروتئینی فرموله شده از ساختاری منسجم و یکنواختی برخوردار بودند، تثبیت محلول پوششی بر سطح کرافت با استفاده از ماشین کاستینگ به آسانی و بدون ایجاد تورم بر سطح کاغذ کرافت صورت پذیرفت. گراماژ به عنوان یکی از فاکتور بسیار تاثیرگذار بر خواص مکانیکی کاغذها قلمداد می شود [۲۰]. لازم به ذکر است که گراماژ از نسبت وزن به مساحت کاغذ به دست می آید. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق بیشترین ضخامت در فیلم پوششی دولایه کرافت با لایه آخر ایزوله پروتئین آب پنیر (تیما ۴) (p4)

(۰/۱۹۴mm) مشاهده شد. ضخامت متفاوت کرافت های تولیدی در تحقیق حاضر می تواند تحت تاثیر ویسکوزیته محلول های پوششی پروتئینی باشد که در حقیقت ترکیب و ساختار اسیدهای آمینه هریک می تواند در ویسکوزیته نهایی محلول پوششی موثر باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که پوشش دهی لایه آخر کرافت با ایزوله پروتئین آب پنیر (p_4) در مقایسه با کرافت های دارای پوشش زئین در لایه آخر (p_2, p_3) سبب افزایش معنی داری در ضخامت کرافت دولایه گردید ($P < 0.05$). از طرفی با افزایش نفوذ زنجیره پروتئینی در ساختار فیبری کرافت و ایجاد تورم می تواند در افزایش ضخامت کرافت موثر باشد.

دانشیه حجمی نمونه کاغذهای کرافت پوشش دهی شده (p_4, p_3, p_2, p_1) کاهش معنی داری در مقایسه با نمونه شاهد نشان دادند که از این حیث با نتایج باتیستی و همکاران (۲۰۱۷) در پوشش دهی کاغذ با استفاده از محلول پروتئینی ژلاتین مبنی بر اشغال فضای بیشتر نمونه های پوشش دهی شده در مقایسه با نمونه شاهد مطابقت داشت [۲۱]. در حقیقت این نتایج بیانگر آن است در مقیاس تجاری کرافت های فعال پوشش دهی شده در مقایسه با کرافت های معمولی (فاقد پوشش) در وزن و طول یکسان به حجم و فضا بیشتری برای نگهداری نیاز خواهد داشت.

Table 1 Determination of grammage, thickness, density and specific surface uncoated and coated paper, with different layers base on protein

Treatments	Thickness (mm)	Grammage (g/m ²)	Bulk Density (g/m ³)	WVP (g mm m ⁻² h ⁻¹ Kpa)
Un coated (CK)	0.170 ± 0.001 ^c	117.8 ± 0.21 ^c	0.692 ± 0.006 ^c	0.01473 ± 0.0015 ^b
ZGET (p ₁)	0.178 ± 0.001 ^d	141.27 ± 0.12 ^c	0.793 ± 0.002 ^a	0.01478 ± 0.0018 ^b
ZGET/ ZGET (p ₂)	0.180 ± 0.001 ^c	135.31 ± 0.19 ^b	0.751 ± 0.005 ^d	0.01386 ± 0.0010 ^a
ZGET/ Z (p ₃)	0.182 ± 0.001 ^b	142.76 ± 0.10 ^d	0.784 ± 0.001 ^c	0.01323 ± 0.0015 ^a
ZGET/WPIGET (p ₄)	0.194 ± 0.008 ^a	153.19 ± 0.22 ^a	0.789 ± 0.005 ^b	0.01546 ± 0.0017 ^c

Zein with green tea extract (ZGTE) and whey protein isolate with green tea extract (WPIGTE), zein (Z)

نوع پلی مر پوشش دهنده کرافت بر خواص ممانعت کنندگی نسبت به بخار آب موثر بوده است. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق نفوذپذیری نسبت به بخار آب کرافت فاقد پوشش ۱۹۷۳ mm²h⁻¹Kpa تعیین گردید که در مقایسه با پلی مرهای ستیزی متداول نظیر پلی اتیلن با دانشیه پایین (۰/۰۴۰^۱Kpa g mm m⁻²h⁻¹) و پلی اتیلن با دانشیه بالا (۰/۰۱۲^۱Kpa g mm m⁻²h⁻¹) در سطح پایین تری قرار داشت [۲۴]. بر اساس گزارش کروچتا و د- مولدر- جانسون (۱۹۹۷) نفوذ پذیری در برابر بخار آب پلی مرها با هدف بسته بندی مواد غذایی در سه

۳-۲- تاثیر پوشش های پروتئینی بر نفوذپذیری

نسبت به بخار آب کرافت های تولیدی

نفوذپذیری نسبت به بخار آب یکی از پارامترهای مهم در بسته بندی مواد غذایی می باشد که با تکیه بر روشی کارآمد نظیر پوشش دهی سطوح کاغذ می توان ویژگی های ممانعت کنندگی را بهبود بخشید [۲۲، ۲۳]. همان طور که در شکل ۳ مشاهده می شود،

ساختار پوشش زئین تک‌لایه کرافت اتصالات فیبر-کرافت پایه تحت تاثیر قرار می‌گیرد و منجر به تورم فیبرهای سلولزی می‌گردد [۳۲].

۳-۳- تاثیر پوشش‌های پروتئینی بر شاخص

ترکیب‌های کرافت‌های تولیدی

مقاومت به ترکیب‌های کاغذ از طریق اعمال حداکثر فشار مورد نیاز بر سطح مشخص کاغذ توسط دیافراگم دایره‌ای محدب محاسبه می‌شود. نتایج بررسی تاثیر فرمولاسیون محلول‌های پروتئینی بر سطح کرافت با استفاده از فناوری آرایش خودبه‌خودی در شکل ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مقاومت به ترکیب‌های کرافت پوشش‌دهی شده در مقایسه با کرافت فاقد پوشش (شاهد) بهبود چشمگیری یافت. بر اساس گزارش محققان از مهم‌ترین عوامل موثر بر شاخص مقاومت کاغذها می‌توان به قدرت فیبرهای سلولزی، مساحت و طول فیبرها و نیروی حاصل از برهم کنش فیبرها اشاره کرد (خاوادیا و همکاران، ۲۰۱۰). بر اساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق شاخص ترکیب‌های کرافت تک‌لایه پوشش‌دهی شده با زئین فعال (p_1) و دولایه پوشش زئین فعال در مقایسه با کرافت فاقد پوشش (p_0) به ترتیب $5/29$ و $5/39$ درصد افزایش نشان داد. همچنین مقایسه مقاومت به ترکیب‌های کرافت‌های دولایه پوشش‌دهی شده با زئین (p_2 و p_3) می‌توان بیان داشت پودر عصاره چای سبز تاثیر معنی‌داری از نظر آماری بر مقاومت به ترکیب‌های کرافت دولایه نداشت ($P > 0.05$). همچنین تاثیر نوع پلی‌مر بر خواص مکانیکی کرافت تک‌لایه پوشش‌دهی شده با زئین فعال بررسی و نتایج آن در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود کرافت تک‌لایه پوشش‌دهی شده با ایزوله پروتئین‌آب‌پنیر خالص ($579/16 \text{ kPa}$) در مقایسه با پوشش‌دهی بازئین خالص ($640/73 \text{ kPa}$) کاهش معنی‌داری در مقاومت به ترکیب‌های کرافت تولیدی مشاهده شد که از این حیث با نتایج هان و کروچتا (۲۰۰۱) مبنی بر تاثیر ایزوله پروتئین‌آب‌پنیر در بهبود اندک خواص مکانیکی کاغذهای پوشش‌دهی شده مطابقت دارد. بر اساس این گزارش محققان برهم کنش ضعیف بین پروتئین آب‌پنیر و ترکیبات سلولزی کاغذ را موثر در کاهش مقاومت مکانیکی عنوان کردند. همچنین مشاهدات عینی اولیه نیز مبنی بر عدم سازگاری و امکان پوشش‌دهی غلظت‌های متفاوت ایزوله پروتئین‌آب‌پنیر بر سطح کرافت به عنوان لایه نخست تصدیق‌کننده اثر ایزوله

گروه ضعیف ($24/0/2 \text{ g mm m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ Kpa}$)، متوسط ($g \text{ mm m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) و خوب ($0/0042/0/42 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ Kpa}$) طبقه‌بندی می‌شوند [۲۵]. بر این اساس کرافت‌های پوشش‌دهی شده در این تحقیق از نظر نفوذپذیری نسبت به بخار آب را می‌توان در دسته متوسط قرار داد. نتایج نفوذپذیری نسبت به بخار آب کرافت پوشش‌دهی شده با محلول‌های پروتئینی در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، کرافت پوشش‌دهی شده تک‌لایه و دولایه زئین فعال (p_1 و p_2) در مقایسه با کرافت فاقد پوشش (p_0) اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد نداشت ($P > 0.05$). در صورتی که با قرارگیری لایه جدید زئین خالص بر سطح پوشش تک‌لایه کرافت (تیمار p_3)، کاهش معنی‌داری در نفوذپذیری در برابر بخار آب مشاهده شد. بر اساس گزارش محققان پیشین نفوذپذیری در برابر بخار آب کاغذهای پوشش‌دهی شده، تحت تاثیر نوع پلی‌مر و برهم‌کنش آن‌ها با فیبرهای سلولزی [۲۱]، ترکیبات تشکیل دهنده پوشش [۲۶]، تعداد لایه‌ها و ضخامت قرار داشته است [۲۷] که با نتایج این تحقیق مبنی بر اثر مثبت افزایش تعداد لایه‌های محلول زئین مطابقت داشت. از طرفی حضور اسیدهای آمینه آب‌گریز فراوان در ساختار زئین نظیر اسیدهای آمینه گلوتامین، لوسین، پرولین و آلانین در بهبود خواص ممانعت‌کنندگی کاغذ کرافت موثر گزارش شده است [۲۸] که از این حیث با نتایج لای و همکاران (۱۹۹۷) مبنی بر کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های بر پایه زئین در مقایسه با سایر پلی‌مرهای بر پایه پروتئین مطابقت داشت [۲۹]. این در حالی است که نفوذپذیری در برابر بخار آب کرافت دولایه پوشش‌دهی شده با ایزوله آب‌پنیر (p_4) در مقایسه کرافت دولایه پوشش‌دهی شده با زئین فعال (p_2) و زئین خالص (p_3) به ترتیب $5/11$ و $02/12$ درصد بیشتر بود که دلیل آن را می‌توان به اسیدهای آمینه آب دوست تشکیل دهنده ایزوله آب‌پنیر نسبت داد [۳۰]. علاوه بر این گالستد و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که محلول پروتئینی می‌تواند با تاثیر بر درجه نفوذ محلول پروتئینی خواص کاغذهای پوشش‌دهی شده را تحت تاثیر قرار دهد [۳۱]. بر این اساس توجه به ماهیت محلول ایزوله پروتئین‌آب‌پنیر و نیز بر اساس گزارش هان و کروچتا (۲۰۰۱) می‌توان بیان داشت که با نفوذ و تثبیت محلول ایزوله آب‌پنیر در

گزارش خاوالدیا و همکاران (۲۰۱۰) مبنی بر توانایی پروتئین زئین در کاهش سرعت نفوذ گازها در کاغذهای پوشش دهی شده مطابقت داشت. از طرفی دیگر نتایج این تحقیق نشان داد که سرعت نفوذ هوا به شدت تحت تاثیر نوع پلی مر پوششی قرار داشت به طوری که سرعت نفوذ هوا طی پوشش دهی با ایزوله - پروتئین پروتئین آب پنیر فعال بر سطح کرافت تک لایه زئین فعال (p4) (۲۳/۶۹ ثانیه) در مقایسه با پوشش دهی زئین فعال بر بستر کرافت تک لایه زئین فعال (p2) (۰۷/۱۲۶ ثانیه) در سطح بالاتری قرار داشت. به طور کلی نتایج حاصل بیانگر آن است که در مجموع فرایند پوشش دهی بر سطح کرافت منجر به کاهش معنی دار در سرعت نفوذ هوا می شود به طوری که پوشش دهی دولایه کرافت با لایه نهایی ایزوله پروتئین آب پنیر فعال در مقایسه با نمونه شاهد بیش ۵/۱ مرتبه کاهش در سرعت نفوذ هوا مشاهده شده بود که علت این امر را می توان احتمالا به نفوذ در ساختار فیبری و پر کردن فضای خالی بین آنها نسبت داد که از حیث با نتایج محققان پیشین مبنی بر تاثیر نوع پلی مر پوششی بر سطح کاغذ و میزان پوشش دهی آن بر مقاومت در برابر عبور هوا مطابقت داشت [۳۵].

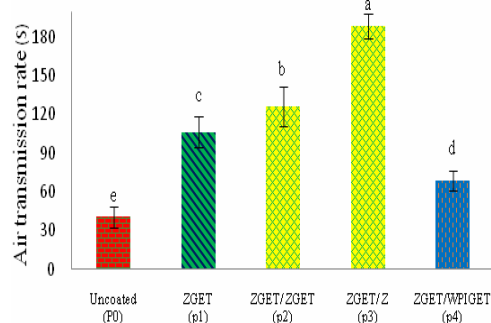


Fig 3 Air transmission time of uncoated and coated paper, with different layers base on protein. Zein with green tea extract (ZGTE) and whey protein isolate with green tea extract (WPIGTE), zein (Z).

۳-۵- تاثیر پوشش پروتئینی بر رهایش ترکیبات

فنولی عصاره چای سبز از کرافت های تولیدی

رهایش ترکیبات فنولی کل عصاره چای سبز بر مبنای مقادیر جذب ناشی از واکنش ترکیبات فنولی رها شده از سطح کرافت به درون بافر با استفاده از معرف فولین سیوکالتو، بر اساس مقایسه آن با محلول استاندارد اسیدگالیک تعیین و نتایج حاصل از آن در شکل ۴ آورده شده است. به طور کلی با ارزیابی رهایش

پروتئین آب پنیر بود. در همین راستا خاوالدیا و همکاران (۲۰۰۵) به منظور بهبود عملکرد فرایند پوشش دهی و خواص مکانیکی کاغذ، تغییر فرمولاسیون محلول فیلمی از طریق افزودن موم کارنوبا در ساختار فیلم پروتئینی آب پنیر مثبت گزارش کردند [۳۳].

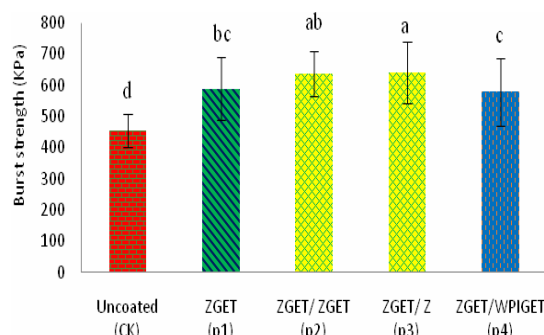


Fig 2 Burst strength of uncoated and coated paper Kraft, with different layers base on protein Zein with green tea extract (ZGTE) and whey protein isolate with green tea extract (WPIGTE), zein (Z)

۳-۴- تاثیر پوشش های پروتئینی بر سرعت

نفوذ پذیری نسبت به هوا در کرافت های تولیدی

در سالیان اخیر بسته بندی های با ویژگی ممانعت کنندگی در برابر عبور اکسیژن در صنایع بسته بندی به طور فزاینده ای مورد توجه قرار گرفته اند. زیرا بکارگیری بسته بندی با ویژگی های ممانعت - کنندگی در برابر اکسیژن سبب افزایش عمر ماندگاری و جلوگیری از فساد مواد غذایی توسط واکنش های وابسته به اکسیژن نظیر رنسدیتی چربی ها، رشد میکروارگانیسم ها، واکنش قهوه ای شدن آنزیمی و تخریب ویتامین ها می شود. در همین راستا کاغذ کرافت علی رغم زیست تخریب پذیری، خواص چاپ پذیری و مکانیکی مطلوب به دلیل داشتن ساختاری متخلخل از ویژگی های ممانعت کنندگی ضعیفی در برابر عبور اکسیژن برخوردار بوده و جهت نگهداری مواد غذایی به مدت طولانی مناسب نمی باشد [۳۴]. نتایج حاصل از این تحقیق در شکل ۳ آورده شده است. شاخص سرعت نفوذ هوا به نمونه کرافت فاقد پوشش حدود ۸۳/۴۰ ثانیه تعیین گردید که در مقایسه با نمونه دارای پوشش تک لایه زئین بیش از ۵/۲ برابر بیشتر بود. همان - طور که مشاهده می شود با افزایش لایه پوششی زئین (p2, p3) سرعت نفوذ هوا به طور معنی داری کاهش یافت که از این حیث با

مبتنی بر قرارگیری لایه‌های با بار الکتریکی مخالف می‌باشد، بنابراین از جمله ترکیبات مناسب برای قرارگیری به‌عنوان لایه فوقانی می‌توان به ایزوله پروتئین-آب‌پنیر [۳۹] و پروتئین زئین اشاره کرد که قابلیت فراوانی جهت تشکیل پیوند با بسیاری از ترکیبات فنولی نظیر کاتچین دارند [۴۰،۴۱]. همچنین بررسی رهایش کاغذهای کرافت دولایه (تیمار دوم، تیمار چهارم) در محیط اسیدی و قلیایی نشان‌دهنده رهایش سریع‌تر ترکیبات فنولی در کاغذهای کرافت دارای پوشش بیرونی ایزوله آب‌پنیر بوده است.

مقایسه کاغذهای تک لایه پوشش‌دهی شده فعال P_1 و P_3 نشان داد که حضور لایه زئین بر سطح کرافت فعال تک‌لایه قادر به کاهش سرعت رهایش بود که از این حیث با نتایج مومین و ادواردو (۲۰۱۱) مبنی بر افزایش تعداد لایه‌های ثانویه بر کارآمدی رهایش ترکیبات ریزپوشانی شده مطابقت داشت [۴۱] که دلیل این امر را می‌توان به چگونگی قرارگیری لایه و تغییرات ساختار پروتئین پوشش‌دهی شده با قرارگیری لایه جدید بر سطح کاغذ کرافت نسبت داد.

ترکیبات فنولی از سطح کرافت‌های فعال می‌توان به توانایی آنتی-اکسیدانی نمونه‌ها پی برد زیرا میزان ترکیبات فنولی و اثر آنتی-اکسیدانی مواد با یکدیگر رابطه مستقیم دارند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، محیط رهایش بر سرعت خروج ترکیبات فنولی از بستر کرافت تاثیر به‌سزایی داشت. سرعت رهایش ترکیبات فنولی در محیط اسیدی ($pH=5/4$) در مقایسه با محیط خنثی ($pH=7$) بیشتر بود که بر اساس مطالعات صورت گرفته این پدیده را می‌توان به تغییر ساختار پروتئین‌ها در محیط اسیدی نسبت داد. در این راستا لی و همکاران (۲۰۱۲) نشان داده‌اند که بکارگیری محلول استیک‌اسید سبب انحلال بهتر پروتئین زئین نسبت به محلول اتانول می‌شود [۳۶]. همچنین کشیری (۲۰۱۵) با قرار دادن فیلم زئین کمپوزیت در محیط اسیدی تغییر شگرف در ساختار زئین و افزایش فاصله بین مولکول‌ها را گزارش کرد [۳۷] و در تحقیقی دیگر بویاسی و همکاران (۲۰۱۶) با کاهش pH تسریع میزان رهایش لیزوزوم‌ها در فیلم ایزوله پروتئین را مشاهده نمودند که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابقت داشت [۳۸]. باتوجه به اینکه فناوری لایه به لایه خود شکل‌گیرنده

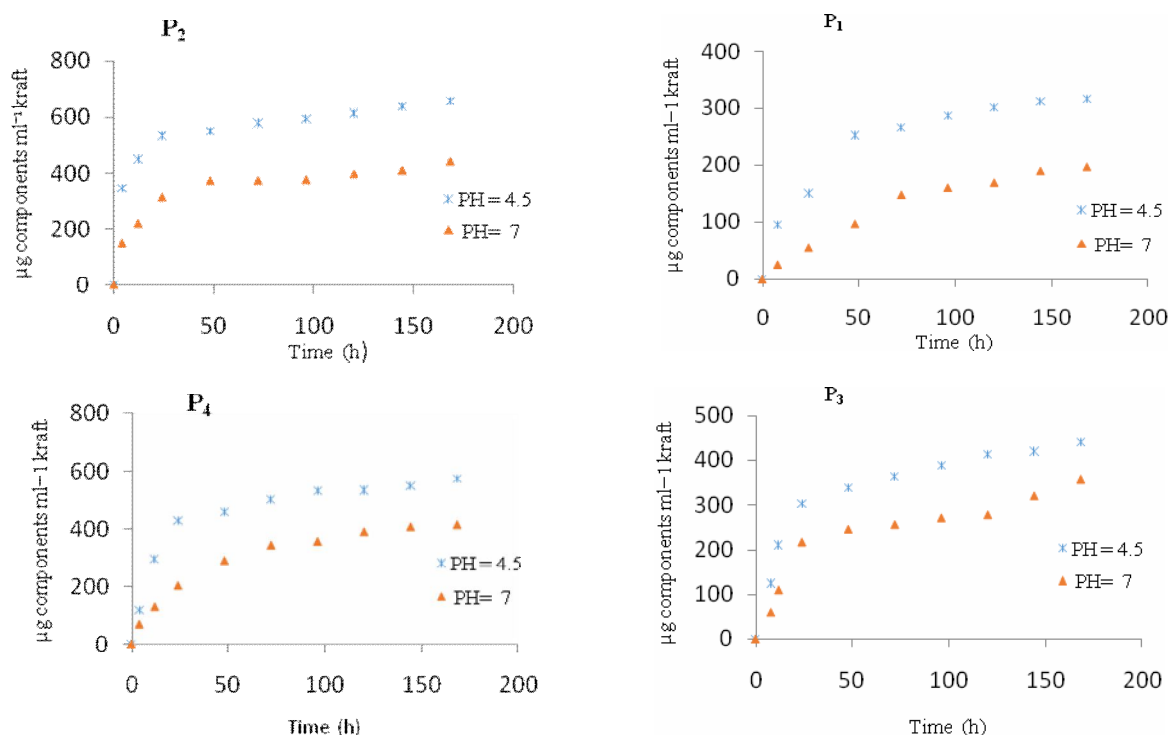


Fig 4 Release profiles of phenolic compounds from Kraft based films (concentrations of green tea extract: 3% (w/w) of protein solution)

۳-۶- ارزیابی خواص ضدباکتریایی پودر عصاره

چای سبز

از مهم‌ترین ترکیبات عصاره چای سبز می‌توان به کاتچین از خانواده فلاونول‌ها، اسیدهای فنولی (اسید گالیک) و فلاونول‌ها (کوئرستین، کمپفرول، میریستین و گلیگوزیدهای آنها) اشاره کرد [۱۳] که در این بین محققان تاثیر ترکیبات فلاونوئیدی (به-ویژه فلاوان-۳-اول) و کاتچین‌ها (اپی‌گالوکاتکین-۳-گالات) بر بروز فعالیت ضد میکروبی عصاره چای سبز را مورد تایید قرار دادند [۴۲]. نتایج ارزیابی اثرات ضدباکتریایی پودر عصاره چای سبز به-روش لکه‌گذاری در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، پودر عصاره چای سبز قادر به بروز خواص ضد میکروبی علیه *اشرشیاکلا* (شاخص باکتری گرم منفی) و *لیستریامونوسیتوژنز* (شاخص باکتری گرم مثبت) بود. مکانیسم عمل ضد میکروبی ترکیبات عصاره چای سبز را می‌توان به تخریب غشاء سیتوپلاسمی و در نهایت بازداري از سنتز دیواره سلولی باکتری (گیمنز و همکاران، ۲۰۱۳) و نیز تداخل بر عملکرد آنزیم دی‌هیدروفولات‌ردوکتاز در سنتز پورین و پرمیدین

مورد نیاز برای رشد باکتری نسبت داد [۴۳، ۴۴]. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق حداقل غلظت مورد نیاز پودر عصاره چای سبز برای جلوگیری از رشد *اشرشیاکلا* و *لیستریامونوسیتوژنز* به ترتیب ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (شکل A) و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (شکل B) تعیین شد که بیانگر حساسیت بیشتر *اشرشیاکلا* در مقایسه با باکتری *لیستریامونوسیتوژنز* می‌باشد. از این حیث با نتایج نبیر و همکاران (۲۰۱۷) مبنی بر مقاومت بیشتر باکتری *اشرشیاکلا* در برابر عصاره چای سبز مطابقت نداشت. لازم به ذکر می‌باشد که خواص ضد میکروبی عصاره چای سبز در منابع مختلف بسته به شرایط استخراج عصاره، سویه‌های باکتریایی و غلظت مورد استفاده متفاوت گزارش شده است [۴۵]. از طرفی برخی از محققان برخلاف گزارش نبیر و همکاران (۲۰۱۷) مبنی بر بروز خواص ضد میکروبی قوی عصاره چای سبز علیه طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی، شاهد عدم فعالیت ضد میکروبی عصاره چای سبز علیه باکتری‌های گرم منفی نظیر *اشرشیاکلا* بودند [۴۶].

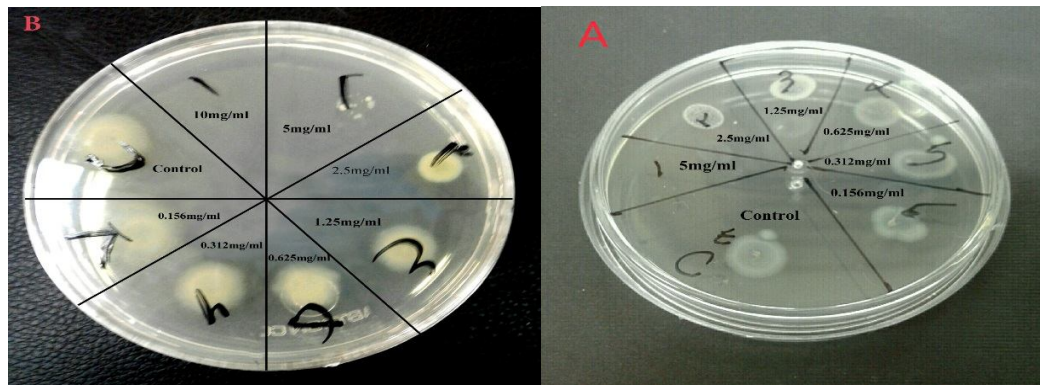


Fig 5 Antibacterial activities of green tea extract against *E. coli* and *L. monocytogenes* (A and B) in different concentrations.

۳-۷- ارزیابی خواص ضدباکتریایی کرافت فعال

پوشش‌دهی شده تولیدی

خواص ضد میکروبی کاغذ کرافت پوشش‌دهی شده با فیلم زئین فعال (p_2) علیه *اشرشیاکلا* و *لیستریامونوسیتوژنز* در محیط مایع مورد ارزیابی و نتایج آن در شکل ۶ نشان داده شده است. ارزیابی اولیه میکروبی کاغذ کرافت نشان داد که کرافت مورد بررسی فاقد باکتری *اشرشیاکلا* و *لیستریامونوسیتوژنز* بود. جمعیت

باکتریایی قابل شمارش تلقیح شده *اشرشیاکلا* و *لیستریامونوسیتوژنز* در نمونه کرافت فاقد پوشش پودر عصاره چای (شاهد) $9/65 \text{ CFU/ml}$ بود. ارزیابی تعداد باکتری‌های قابل شمارش *اشرشیاکلا* ($9/40 \text{ CFU/ml}$) و *لیستریامونوسیتوژنز* ($9/59 \text{ CFU/ml}$) در محیط مایع بیانگر خواص ضد میکروبی نسبتاً ضعیف کرافت پوشش‌دهی شده با فیلم زئین فعال (p_2) در مقایسه با اسانس‌ها بود. به‌طوری که اندیس کاهش لگاریتمی محاسبه شده کاغذ کرافت حاوی پوشش فعال دولایه (p_2) علیه

توجهی بر بهبود خواص مکانیکی و ممانعت در برابر عبور هوا کاغذهای کرافت پوشش‌دهی شده داشت. علی‌رغم دستیابی به فناوری و پلی‌مر مناسب به‌عنوان حامل خوب برای ترکیبات فنولی عصاره چای سبز، بررسی فعالیت ضدباکتریایی کرافت پوشش‌دهی شده با دولایه زئین فعال حاکی از عدم بروز خواص باکتریایی بسیار قوی پودر عصاره چای سبز علیه *اشرشیاکلا* و *لیستریا مونوسیتوژنز* بود. بر این اساس به نظر می‌رسد افزودن ترکیبات با خواص ضد میکروبی قوی‌تر نظیر اسانس می‌تواند در بهبود عملکرد خواص ضد میکروبی عصاره پودر چای موثر باشد.

۵- تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و انیستیتیوی تکنولوژی از میر به‌ویژه دکتر احمت یمنجی اغلو که با فراهم آوردن امکانات تحقیق و حمایت‌های علمی ما را یاری کردند، سپاسگزاری می‌گردد.

۵- منابع

- [1] Anonymous, 2015, Euromonitor Off trade and retail plastics packaging. International Energy Agency, World Energy, www.coursehero.com.
- [2] Shan, G., Surampalli, R. Y., Tyagi, R.D. and Zhang, T. C. 2009. Nanomaterials for environmental burden reduction, waste treatment, & nonpoint source pollution control. *Frontiers Environmental Science & Engineering in China*, 3(3): 249-264.
- [3] Cheng, S.Y., Wang, B.J. and Weng, Y.M. 2015. Antioxidant and antimicrobial edible zein/chitosan composite films fabricated by incorporation of phenolic compounds and dicarboxylic acids. *LWT-Food Science Technology*, 63(1): 115-121.
- [4] Panyam, J. and Labhasetwar, V. 2003. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Elsevier*, 55: 329-347.
- [5] Balan, T., Guezennec, C., Nicu, R., Ciolacu, F. and Bobu, E. 2015. Improving barrier & strength properties of paper by multi-layer coating with bio-based additives. *Cellulose Chemistry and Technology*, 49: 607-615.

باکتری *اشرشیاکلا* و *لیستریا مونوسیتوژنز* به ترتیب ۲۵/۰ و ۰۶/۰ لگاریتم بود. همچنین یونالان و همکاران (۲۰۱۳) حضور ترکیبات فنولی در فیلم زیستی زئین در کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* مثبت ارزیابی نکردند که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابقت داشت. بر این اساس می‌توان دریافت که پودر عصاره چای سبز در مقایسه با اسانس‌ها به‌عنوان گزینه مناسب برای کنترل خواص ضد میکروبی محصولات توصیه نمی‌گردد.

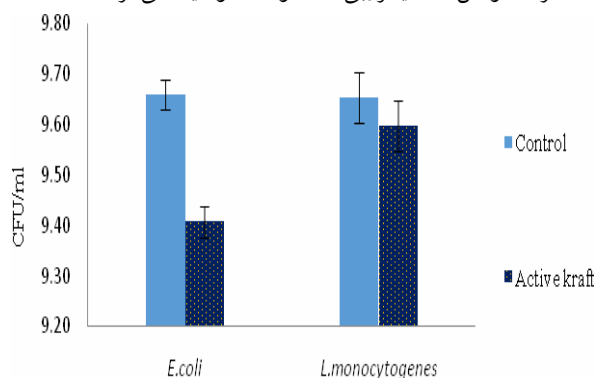


Fig 6 Antibacterial properties of active bilayer Kraft coating against *E. coli* and *L. monocytogenes*

۴- نتیجه‌گیری

یکی از مهم‌ترین مزیت فناوری لایه به لایه خود شکل گیرنده امکان قراگیری ترکیبات زیست فعال در بستر پلی‌مری به عنوان حامل‌های سلامت‌بخش نظیر ترکیباتی فنولی عصاره چای سبز می‌باشد. نوع پلی‌مر یکی از پارامتر بسیار موثر در شکل‌گیری این فناوری محسوب می‌گردد. در این تحقیق پوشش زئین در مقایسه با ایزوله پروتئین آب پنیر توانایی بهتری در شکل‌گیری لایه فعال بر سطح فیبر کاغذ کرافت داشت. نتایج ارزیابی نفوذپذیری به بخار آب نیز نشان دهنده بهبود ممانعت در برابر عبور بخار آب در کاغذهای کرافت دارای پلی‌مر زئین بر لایه خارجی در مقایسه با نمونه‌های دارای ایزوله پروتئین آب‌پنیر بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مدل‌های غذایی اسیدی در تسریع رهایش ترکیبات فنولی از سطوح کاغذ کرافت موثر بوده است. بدین مفهوم چنان‌چه هدف از بسته‌بندی مواد غذایی تسریع رهایش در زمان کوتاه باشد، می‌توان با فراهم‌سازی شرایط، ساختار پروتئینی پلی‌مر پوششی را تحت تاثیر قرار داد. همچنین افزایش تعداد لایه‌های فیلمی بر سطح کرافت اثر قابل

- range). Part 5: Gurley Method. ISO, Geneva, Switzerland.
- [17] Singleton, V. L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- [18] Hashemi, A., Shams, S., Barati, M. and Samedani, A. 2011. Antibacterial effects of methanol extract of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis* & *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL. *Ark Medical University Journal*, 14(57): 104-112.
- [19] Muriel-Galet, V., Lopez-Carballo, G., Hernandez-Munoz, P. and Gavara, R. 2014. Characterization of ethylene-vinyl alcohol copolymer containing laurilarginate (LAE) as material for active antimicrobial food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(1): 10-18.
- [20] Brodnjak, U.V. 2017. Influence of ultrasonic treatment on properties of bio-based coated paper. *Progress in Organic Coatings*, (103): 93-100.
- [21] Battisti, R., Fronza, N., Júnior, Á.V., da Silveira, S.M., Damas, M.S.P. and Quadri, M.G.N. 2017. Gelatin-coated paper with antimicrobial & antioxidant effect for beef packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, (11): 115-124.
- [22] Sangaj, N.S. and Malshe, V.C. 2004. Permeability of polymer in protective organic coatings-A review. *Progress in Organic Coating*, (50): 28-39.
- [23] Khwaldia, K., ArabTehrany, E. and Desobry, S., 2010. Biopolymer coatings on paper packaging materials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 82-91.
- [24] Kamal, M., Jinnah, I. and Utracki, L. 1984. Permeability of oxygen and water vapor through polyethylene/polyamide films. *Polymer Engineering and Science*, 24: 1337-1347.
- [25] Krochta, J. M. and Johnston, D. M. 1997. Edible & biodegradable polymer films: challenges & opportunities. *Food Technology*, 51(2): 61-74.
- [26] Aloui, H., Khwaldia, K., Slama, M.B. and Hamdi, M. 2011 Effect of glycerol and coating weight on functional properties of biopolymer-
- [6] Borges, J. and Mano, J.F. 2014. Molecular interactions driving the layer-by-layer assemble of multilayers. *Chemical Review*, 114(18): 8883-8942.
- [7] Barroti, S.L.B. 1998. Celulose e papel-tecnologia de fabricacao do papel. Instituto de Pesquisas Technological do Estado de Sao Paulo, 848-849.
- [8] Wang, Sh. and Jing, Y. 2016. Effects of chitosan coating layer on the surface properties & barrier properties of Kraft paper. *Bio Resources*, 11(1): 1868-1881.
- [9] Unalan, L.U., Arcan, L., Korel, F. and Yemenicioglu, A. 2013. Application of active zein based film with controlled release properties to control *Listeria monocytogenes* growth & lipid oxidation in fresh kashar cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20: 208-214.
- [10] Rastogi, V., & Samyn, P. (2015). Bio-based coatings for paper applications. *Coatings*, 5(4), 887-930.
- [11] Arcan, I., & Yemenicioglu, A. (2011). Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. *Food Research International*, 44(2): 550-556.
- [12] Ozer, B.B.P., Uz, M., Oymacy, P. and Altinkaya, S. 2016 Development of a novel strategy for controlled release of lysozyme from whey protein isolate based active food packaging film. *Food Hydrocolloids*, 61: 877-886.
- [12] Ozer, B. B. P., Uz, M., Oymacy, P., & Altinkaya, S. (2016). Development of a novel strategy for controlled release of lysozyme from whey protein isolate based active food packaging film. *Food Hydrocolloids*, 61: 877-886.
- [13] Lorenzo, J. M., & Munekata, P. E. S. (2016). Phenolic compounds of green tea: Health & technological application in food. *Asian Pacific of Tropical Biomedicine*, 6(8): 709-719.
- [14] ISO 2758: 2014: Paper. Determination of bursting strength. ISO, Geneva, Switzerland.
- [15] ASTM. (1996). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882e91 Philadelphia, PA: American Society for Testing & Material.
- [16] ISO 5636-5: 2013: Paper & board determination of Air Permeable (medium

- [37] Kashiri, M. 2015. Effect of food stimulants & temperature condition on releasing of Lauroyl-L-arginine ethyl ester mono hydrochloride & anti microbial properties of zein based films. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, 7(2): 61-76.
- [38] Boyaci, D., Korel, F. and Yemenicioglu, A. 2016. Development of activate at home type edible antimicrobial films: An example pH triggering mechanism formed for smoked salmon slices using lysozyme in whey protein film. *Food Hydrocolloids*, 60: 170-178.
- [39] Livney, Y. D. 2010. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid Interface Science*, 15(1-2): 73-83.
- [40] Haratifar, S. and Correding, M. 2014. Interaction between tea catechins & casein micelles & their impact on renneting functionality. *Food Chemistry*, 143: 27-32.
- [41] Munin, A. and Edwards-Lévy, F. 2011. Encapsulation of natural poly phenolic compounds: A review. *Pharmaceutics*, 3(4): 793-829.
- [42] Friedman, M. 2007. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, & antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51: 116-134.
- [43] Giménez, B., de Lacey, A.L., Pérez-Santín, E., López-Caballero, M. and Montero, P. 2013. Release of active compounds from agar and agar-gelatin films with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 30: 264-271.
- [44] Chung, J. H., Han, J. H., Hwang, E. J., Seo, J.Y., Cho, K.H. and Kim, K.H. 2003. Dual mechanisms of green tea extract (EGCG)-induced cell survival in human epidermal keratinocytes. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17: 1913-1915.
- [45] Nibir, Y.M., Sumit, A.F., Akh, A.A., Ahsan, N. and Hossain, M.S. 2017. Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 7: 352-357.
- [46] Chan, E.W., Soh, E.Y., Tie, P.P. and Law, Y.P. 2011. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Research*, 3: 266.
- coated paper. *Carbohydrate Polymers*, 986: 1063-1072.
- [27] Tihminlioglu, F., Atik, İ. D. and Özen, B. 2010. Water vapor and oxygen-barrier performance of corn-zein coated polypropylene films. *Journal of Food Engineering*, 96: 342-347.
- [28] Wang, Y. and Padua, G.W. 2010. Formation of zein microphases in ethanol-water. *Langmuir*, 26(15): 12897-12901.
- [29] Lai, H. M., Padua, G. W. and Wei, L. Sh. 1997. Properties & microstructure of zein sheets plasticized with palmitic and stearic acids. *Cereal Chemistry*, 74(6): 771-775.
- [30] Oymaci, P. and Altinkaya, S.A. 2016. Improvement of barrier & mechanical properties of whey protein isolate based food packaging films by incorporation of zein nanoparticles as a novel bionanocomposite. *Food Hydrocolloids*, 54: 1-9.
- [31] Gällstedt, M., Brottman, A. and Hedenqvist, M.S. 2005. Packaging - related properties of protein - and chitosan - coated paper. *Packaging Technology and Science: An International Journal*, 18: 161-170.
- [32] Han, J. and Krochta, J. 2001. Physical properties and oil absorption of whey - protein - coated paper. *Journal of Food Science*, 66: 294-299.
- [33] Khwaldia, K., Linder, M., Banon, S. and Desobry, S. 2005. Combined effects of mica, carnauba wax, glycerol and sodium caseinate concentration on water vapor barrier & mechanical properties of coated paper. *Journal of Food Science*, 70: 192-7.
- [34] Ramos, M., Valdes, A., Mellinas, A.C. and Garrigos, M.C. 2015. New trends in beverage packaging system: A review. *Beverages*, 1: 248-272.
- [35] Samahy, M. A., Mohamed, A. A., Rehim, M. H. A. and Mohram, M.E. 2017. Synthesis of hybrid paper sheets with enhanced air barrier & antimicrobial properties for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 168: 212-219.
- [36] Li, Y., Li, J., Xia, Q., Zhang, B., Wang, Q. and Huang, Q. 2012. Understanding the dissolution of α -zein in aqueous ethanol and acetic acid solutions. *The Journal of Physical Chemistry*, 116(39): 12057-12064.

Characteristics of kraft papers coated with protein solutions containing tea extract powder with a layer-by-layer technique

Asadi, H.¹, Kashir, M.^{2*}, Maghsoudlou, Y.³, Mirzaei, H.⁴, Altinkaya, S.⁵

1. Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2. Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
3. Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
4. Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
5. Department of Food Science and Technology, Izmir University

Layer by layer self- assembly technique is one of the newest methods to produce multilayer films relying on the placement of the liquid layers on solid substance. The purpose of this studies is to manufacture multilayer kraft based on protein biopolymers (zein and whey isolate protein) containing of green tea extract phenolic compounds by utilizing layer by layer self- assembly technique and evaluation antibacterial, physical-mechanical properties and release of phenolic compounds from coated kraft at refrigerator temperature in pH of 4.5 and 7. The minimum inhibitory concentration of green tea powder demonstrates that *Escherichia coli* (5mg/ml) compared to *Listeria monocytogenes* (10mg/ml) is more sensitive. The results of physical properties of krafts coated paper showed that thickness, grammage and bulk density increased by coating process. Also, the presence of zein in outer layer caused a significant reduction in WVP and increased air resistance. Evaluation of phenolic compounds release from coated krafts demonstrated that release rate in acidic food stimulant was more than the neutral one. Also, release content of kraft paper with zein as outer layers respect to whey isolated protein was higher in the first days and continued in a longer time. Log reduction value of coated kraft with active bilayer zein against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* was 0.25 and 0.06 respectively. According to the results of this study, active zein bilayer kraft is recommended as a carrier of phenolic compounds for the packaging of food products.

Keywords: Bilayer and multi-layer films, Biopolymers, Release of phenolic compounds

* Corresponding Author E-Mail Address: kashiri.m@gmail.com