بررسی اثرنانوذرات نقره بر زمان ماندگاری زعفران ایرانی با استفاده از پوشش‌های بسته‌بندی نانو SNP 103.3 بر خواص میکروبی و رهایش ذرات نانو به محصول نهائی

حامد اهری[1*]، امیرعلی انوار[1]، انعام شکری[2]، منصور بیات[1]، فرزاد طلاکش[2]، محمد صادقی[3]، هدی رحمان نیا[4]

چکیده

زعفران ایران به عنوان طلای سرخ در بازارهای جهانی حائز اهمیت می‌باشد. یکی از عوامل اصلی در رقابت بازارهای جهانی پوشش‌های بسته بندی مرغوب در جهت تقلیل بار میکروبی محصول و افزایش زمان ماندگاری می باشد در این تحقیق به روی تعداد۱۰ بسته ۵ گرمی زعفران تهیه شده از فروشگاه‌های زنجیره‌ای و معتبر در سطح شهر تهران آزمون میکروبی برپایه استاندارد ۲۱۹۸ (آزمون میکروبی زعفران موسسه استاندارد ایران) انجام‌یافته و نسبت به پوشش‌های عاری از پوشش نانو که تحت عنوان شاهد بودند، بررسی و مقایسه گردید که در نهایت یکی از انواع پوشش‌های ۳و۵وصفردرصد معادل ppm ٤۰۰۰ توانست بار میکروبی را تا ۹۸ درصد تقلیل دهد، نتایج فاز دوم طرح نیز ناشی از عدم رها سازی ذرات نانو به محصول بسته بندی شده نهائی دارد و میزان رهایش گروه های تحت آزمایش بوسیله آزمون تیترینو سنجش گردید که معادل صفر ppm بوده است، در قسمت دوم طرح تحقیقاتی مذکور به بررسی میزان باقی ماندگی ذرات نانو در محصول بسته بندی شده نهائی بعد از زمان‌های ۱ و ۲و ۳ماه انجام گردید که پس از انتقال به آزمایشگاه شیمی مواد غذائی توسط دستگاه اندازه گیری فلزات سنگین (تیترینو مدل ٤۲۸) به بررسی میزان باقی ماندگی ذرات پرداخته شد که نتایج حاکی از باقی ماندگی کمتر از ppm۱ در نمونه‌های تهیه شده بود.

واژگان کلیدی: *زعفران، ذرات نانو ، بار میکروبی*

تاریخ دریافت: ۹۱/٦/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۸

مقدمه

جنس زعفران (کروکوس) متعلق به خانواده‌ی زنبقی‌ها (ایریداسه) است. زعفران گونه‌های متعددی دارد، اما از بین این گونه‌ها، از نظر تجارتی با توجه به ویژگی‌های اندازه‌ی کلاله، رنگ، عطر (بوی خوشایند) و طعم (عطر و مزه) دهندگی تنها به کلاله ویا کلاله‌ی همراه با بخش‌هایی از گل گونه‌ی کروکوس ساتیوس، پس از خشک شدن، زعفران اطلاق می شود. از نظر گیاه شناسی، گیاه زعفران، گیاهی، چند ساله و بدون ساقه است که دارای پیاز غده ای، تقریباً کروی شکل به قطر ۵-۳ سانتی متر می‌باشد. از هر پیاز ٦ تا ۹ برگ سوزنی چمنی مانند و ۱ تا ۳ گل بنفش رنگ خارج می‌شود (۱۲). گل‌ها غالباً دارای سه کاسبرگ شبیه به هم می‌باشند. مادگی در مرکز گل قرار دارد و دارای‌یک تخمدان غده‌ای است. از قسمت تخمدان میله‌ی باریکی به نام خامه خارج می‌گردد. خامه، طویل، کشیده و زرد کم رنگ است که به کلاله‌ی شفاف قرمز نارنجی (غالباً سه شاخه) به طول ۳-۲/۵ سانتی‌متر منتهی می‌شود. در اصطلاح به قسمت کلاله‌ها ویا کلاله‌های همراه با بخش‌هایی از خامه‌ی گل زعفران، پس از خشک شدن زعفران گفته می شود. در یونان این ادویه «کروکوس» نامیده می شود. در این کشور، زعفران در منطقه‌ی ماسه دونیا، ناحیه‌ی کروکوس کوزانیس کشت می گردد. عنوان شده است که نام کروکوس بر گرفته از همان ناحیه می باشد. اما این نام قبل ازیونان وجود داشته و احتمالاً منشاء آن مناطق بابل و آشور است. در گزارش‌های مختلف خاستگاه زعفران را کشورهای ایران، هند، یونان و اسپانیا ذکر کرده‌اند. اما اعتقاد بر این است که گیاه

۱*- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان، تهران، ایران.
Dr_hamed_ahari@hotmail.com
۲- آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذائی تعاونی فرآورده‌های گوشتی ایران
۳- عضو هیات علمی دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران
٤- دانشجوی کارشناسی، دانشگاه پیام نور استان تهران، تهران، ایران

Archive of SID
www.SID.ir

زعفران از مناطق شرق مدیترانه، احتمالاً آسیای میانه و ایران به سایر مناطق گسترش‌یافته باشد(۱۷).

از گذشته‌های دور زعفران مصارف خوراکی و طبی داشته است. اما امروزه زعفران بیشتر کاربرد غذایی دارد. اگرچه تحقیقات معتبر علمی خواص درمانی، مانند: ضد سرطانی، کاهش بیلی روبین خون، افزایش اکسیژن در بافت‌های مختلف، کاهش استرس و بی‌اشتهایی آن را نیز ثابت کرده‌اند(۱۲).

هم اکنون زعفران گران‌ترین ادویه‌ی دنیا است، و ایران مهمترین تولید کننده‌ی این محصول می‌باشد. اهمیت زعفران در ایران از جنبه‌های گوناگونی نظیر: نیاز اندک به آب (در مقایسه با سایر محصولات کشاورزی)، از نظر اجتماعی و سیاسی (اشتغال زایی و جلوگیری از مهاجرت روستاییان و ارتزاق بیش از ٤٠٠ هزار نفر) از لحاظ توسعه‌ی صادرات غیر نفتی قابل بررسی می‌باشد. در حال حاضر ایران ۹۰-۷۰٪ تولید جهانی این محصول را دارا می‌باشد. دیگر کشورهای اصلی تولید کننده‌ی زعفران عبارتند از: هندوستان (حدود ۲/۵ تا ۵/۵ تن)،یونان (حدود ٤/۳ تن)، آذربایجان (حدود ۳/۷ تن)، اسپانیا (حدود ۲/٦ تن)، مراکش (حدود ۱ تن) و ایتالیا (حدود ۰/۲٤ تن)(۱۰).

تحقیقات نانو تکنولوژی و پروژه‌ها و دستاوردهایی در فرآیندهای غذایی، مهندسی صنایع غذایی و بسته بندی مواد غذایی از هم اکنون در خط تولید نوآوری‌ها قرار گرفته اند. دانشمندان بر این عقیده اند که دستاوردهای نانو تکنولوژی را به شکل بسته‌های نانو برای مثال می‌توان در شرکت‌هایی با هدف تغذیه قسمت‌های خاصی از بدن به کار گرفت. همچنین تعداد زیادی از شرکت‌های بسته بندی مواد غذایی پیشقدم شده اند و تکنیک‌هایی از قبیل بهبود ایمنی غذا و امکان ردیابی در زنجیره غذائی را میسر می‌کنند. بعضی از انواع محصولات نانو تکنولوژی از قبیل فیلم‌های ضد میکروبی از هم اکنون وارد بازار مصرف شده اند. با این حال توجه جامعه علمی و عموم به تاثیرات مثبت این تکنولوژی جلب شده است. درک این تکنولوژی تا حدودی به دلیل طبیعت آن مشکل است که همین امر ممکن است آن را از توسعه باز دارد(۱).

کاربرد نانو در صنعت بسته بندی

با توجه به ویژگی‌های ضد میکروبی تولیدات نانو، یکی از مهم ترین کاربردهای آن در صنعت بسته بندی می‌باشد. از این رو، تولید بسته بندی‌هایی با کارآیی وسیع و موثر در برابر انواع میکروارگانیسم‌ها بوسیله تکنولوژی نانو، می‌تواند باعث افزایش عمر مفید و ماندگاری دراز مدت محصولات شود(۱۱).

مواد و روش کار

۱-۱-محلول پپتون نمکی با بروموکرزول ارغوانی برای رقت سازی و تهیه مایع سوسپانسیون اولیه

۲- محیطهای جستجوی انترو کوک (Enterococcus)

۲-۱-محیط کشت اسلنتز بارتلی *(SLANETZ-BARTLEY)*

۲-۲-محیط کشت KF

۲-۳-محیط کشت صفرا – اسکولین آزاید آگار

۲-٤-محیط کشت برومو کرزول – پاریل آزاید براث

۳-محیط جستجوی E.coli

۳-۱ آبگوشت لوریل سولفات Lauryl Sulfate Broth

۳-۲- EC آبگوشت (آبگوشت اشریشیاکلی)

۳-۳- محیط آب پپتونه بدون اندول Pepton water indol free

۳-٤- معرف اندول (کواکس) Kovac's reagent

٤- محیط جستجو شمارش اسپور کلستریدیوم‌های احیا کننده سولفیت (Sulfite – reducing bacteria)

٤-۱- محیط کشت آهن – بلاد آگار دار (۹و ۸)

جدول ۱: حداکثر مجاز تعداد کلنی در هر گرم زعفران (اقتباس از استاندارد ٥٦٨٩

نوع میکروب	حداکثر مجاز تعداد کلنی در استاندارد ٥٦٨٩
انتروکوک	منفی
اشرشیا کلی	منفی
کپک	10^2
اسپورکلستریدیوم احیاکننده سولفیت	10^2

www.SID.ir

در این تحقیق اثر پوشش‌های نانو نقره بـر اثـرات میکروبـی زعفران در چهار میکروارگانیسم که معمولاً در زعفران مطرح هستند بررسی شده اسـت، کـه سـوش‌هـای مـورد بررسـی عبارتند از انترکوک اشرشیا کلی اسپور کلستریدیوم های احیا کننده سولفید و کپک که حد مجاز آنهـا در جـدول ۱ آمـده است و در این تحقیق سـعی بـر ایـن بـوده اسـت کـه اثـر میکروب زدایی نانو نقره را در بسته بندی زعفران برای پایین آوردن بار میکروبی میکرو ارگانیسم‌هـای ذکـر شـده کـه در سلامت محصول نهائی بسیار مهم می‌باشد را بررسی نمائیم.

الف: آماده سازی زعفران و تهیه سوسپانسیون اولیه بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ٤-٨٩٢٣ و ٤-٦٨٨٧ ، برای آماده سازی زعفران ابتدا آن را باهاون چینی استریل شده نرم کرده و سپس مقدار ۱ گرم را در ۱۹ سی سـی آب پپتونـه نمکـی بروموکرزول دار اضافه می کنیم (محیط کشت EC Broth)و خوب آن را بر هم زده یا توسط شیکر لوله ای و یـا توسـط استومیکر محلول سوسپانسیون اولیه یک بیسـتم سـاخته و از این سوسپانسیون در آزمونهای بعدی استفاده گردید(۷و ۵).

روش جستجو و شـمارش انتـرو کـوک‌هـا بـر اسـاس استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۹۸

باکتری‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی، کروی یـا تخـم مرغـی شکل از خانواده آنتروباکتریاسه هسـتند و دارای آنتـی ژن ۵ می‌باشند در بررسی و آزمون مـواد غـذایی انتروکـوک‌هـا را مانند اشرشیا کلی به عنوان نشانگر آلودگی مدفوعی(شاخص بهداشتی) از خانواده آنترو باکتریاسه در نظـر مـی‌گیرنـد کـه نسبت به اشرشیا کلی در برابر شرایط سخت محیطی مقـاوم هستند(٦).

*انترو کوک‌ها باکتری‌هایی هستند که قادر به احیای ترکیب ۲و۳و۵ تری فنیل تترا زولیم و اسکولین را نیـز در دمـای ٤٤ درجه سلسیوس که در محیط‌های کشت به کـار بـرده شـده هیدرولیز می‌کنند.

برای جستجوی انتروکوک ابتدا مقدار ۱ میلی لیتر از آزمونـه را به ۱۰ سی سی محیط کشت مایع گلوکز تلقیح می کنیم و به مدت ٢٤ تا ٢٨ ساعت در دمـای ۳۵ درجـه سـانتی گـراد گرمخانه گذاری می کنیم و از تک پرگنه‌هایی کـه بـه رنـگ صورتی ارغوانی یا قرمز رنـگ هسـتند بـرای تاییـد آزمـون هیدرولیز اسکولین را انجـام مـی‌دهـیم و در صـورت انجـام هیدرولیز وجود انتروکوک را مثبت اعلام می کنیم(۱۳).

روش جستجوی اشرشیا کلی بر اسـاس اسـتاندارد ملـی ایران شماره ٢٩٤٦

اشرشیا کلی باکتری‌هـایی هسـتند کـه در دمـای ٤٤ درجـه سانتی‌گراد با تخمیر لاکتوز تولید گاز می‌کنند و از تریپتوفان نیز اندول تولید می‌کنند.

برای جستجوی ۱ میلی‌متر از آزمونه را به ۹ میلی‌متر محلول لوریل سولفات با غلظت معمولی اضافه مـی کنـیم و سـپس لوله‌های تلقیح شده را به مدت ۲+-٢٤ ساعت در دمـای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گـذاری مـی‌کنـیم و اگـر گـاز یـا کدورت مشاهده نشد گرمخانه گذاری را برای همـان مـدت تمدید می کنیم. در صورت مشاهده هر گونه کدورت یا گاز پس از گرمخانه‌گذاری توسـط حلقـه کشـت یـک حلقـه از لوله‌های مثبت را به لوله‌های حاوی ۱۰ سی‌سی محیط کشت EC تلقیح می‌کنیم و به مـدت ۲+-٢٤ سـاعت در دمـای ٤٤ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری می‌کنیم، اگـر بـاز هـم گـاز مشاهده نشد زمان را به همان مقدار تمدید می کنیم. چنانچه در لوله‌ها گاز مشاهده شد از آن توسط حلقه کشت بـه لولـه حاوی ۱۰-۵ سی‌سی آب پپتونه بدون اندول که دمای آن بـه ٤٤ درجه سلسیوس رسیده اسـت تلقـیح مـی کنـیم و آن را بمدت ۲+-٤٨ ساعت در دمـای ٤٤ درجـه سلسـیوس گـرم خانه گذاری می کنیم بعد ۰,۵ میلـی لیتـر از معـرف انـدول (کواکس) را به لوله‌های آب پپتونـه گرمخانـه گـذاری شـده اضافه می کنیم و خوب مخلوط می نمـاییم و پـس از یـک دقیقه ایجاد رنگ قرمز در فاز الکل را دلیل بر وجـود انـدول

Archive of SID

www.SID.ir

قرار داده و لوله‌هایی که در آنها گاز مشاهده شده بود را از نظر ای کلای مثبت اعلام می کنیم(۱۶و ۱۵).

شمارش اسپور کلستریدیوم بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۹۴۳۲

کلنی این باکتری‌ها به رنگ سیاه و احتمالاً دارای‌هاله سیاه در محیط‌های اختصاصی دیده می شود. جهت جستجو و شمارش این باکتری‌ها قبل از انجام آزمون سوسپانسیون اولیه را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵+-۷۵ درجه سانتی‌گراد شوک حرارتی می دهیم تا فقط فرم اسپور باکتری را جستجو و شمارش کنیم(۱۸).

مقدار ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه که شوک حرارتی داده شده است را به دو پلیت جداگانه منتقل می کنیم و به هر پلیت حدود ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت سولفیت آهن آگار دار با دمای ٤٤-٤٧ درجه سانتی گراد اضافه می کنیم و خوب ترکیب نموده و سپس از جامد شدن محیط مقدار ۵-۱۰ میلی لیتر دیگر از همان محیط را روی آن می ریزیم، کشت دو لایه انجام شود بعد از جامد شدن پلیت‌ها را داخل جار بی هوا زی قرار داده و به مدت ٢٤-٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گرادگرمخانه گذاری کرده و کلنی‌های سیاه که احتمالاً دارای‌هاله سیاه باشند و در محیط رشد کرده اند را به عنوان باکتریهای بی هوازی احیاء کننده سولفیت شمارش کرده و آزمونهای تاییدی جنس کلستریدیوم را مانند آزمون اسپور را روی آن انجام داده و در صورت تایید میانگین شمارش دو پلیت را به عنوان نتیجه اعلام می نمایم.

روش شمارش کپک در فراورده‌های با فعالیت آبی مساوی یا کمتر از ۹۵٪ .

کپک‌ها میکرو ارگانیسمهای رشته ای، هوازی مزوفیل و معمولاً به صورت کلنی، جوانه صاف یا کرک دار اغلب با ساختار اسپور زایی تولید مثل رنگی در سطح محیط رشد می‌کنند و علاوه در سطح میتواند در عمق محیط نیز رشد کند و کلنی گرد عدسی را ایجاد کند.

برای شمارش کپک(**طبق استاندارد ملی ایران (aw) شماره۲-۱۰۸۹۹(٤)**

مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه به محیط حاوی کشت انتقال می دهیم و با میله شیشه ای یا لوله ال شکل کشت سطحی انجام داده و مایع را (DG18) روی محیط پخش کرده تا کاملاً جذب محیط شود.

پلیت‌های کشت داده شده را به مدت ۷-۵ روز در دمای ۲۵ درجه سلیسوس گرمخانه گذاری می کنیم و در صورت لزوم پلیت‌ها را برای مدت ۱ تا ۲ روز در معرض نور غیر مستقیم قرار می دهیم سپس پلیت‌های کمتر از ۱۵۰ کلنی جوانه را انتخاب و شمارش کرده.

بر اساس اطلاعات و روش‌های اجرایی فوق در ابتدا ۱۰ نمونه شاهد و ۱۰ نمونه تیمار شده با فیلم کرم و ۱۰ نمونه تیمار شده با فیلم سفید آغشته به نانو نقره مورد آزمونهای مطرح شده قرار گرفت و هیچ گونه مورد مثبت مشاهده نشد سپس ۱۰ نمونه دیگر به عنوان شاهد مورد آزمون قرار گرفت که تعداد یک نمونه آلوده به کپک مشاهده گردید که مشخص گردید اگر زعفرانی دارای آلودگی باشد باید ادامه تحقیق بر اساس جستجوی کپک و اثر فیلم‌های آغشته به نانو نقره را بر درمان کپک بررسی نماییم(۱۹و ۲).

به همین منظور ۱۰ نمونه دیگر را با کپکی که از نمونه آلوده جداسازی شده بود بصورت دستی آلوده به هاگ های سطحی قارچ نموده و هر کدام را به سه قسمت تقسیم نمودیم. یک قسمت به عنوان شاهد در نظر گرفته و دو قسمت دیگر را هر یک در معرض فیلم کرم و شفاف آغشته به نانو نقره برای ۷۲ ساعت تحت تیمار قرار دادیم و سپس آزمون کپک را برای هر کدام از آنها انجام دادیم.

دربخش دوم به بررسی اندازه گیری میزان رهایش ذرات نانونقره در محصول بسته بندی شده پرداخته شد:

ابتدا پوشش های بسته بندی در درصدهای تهیه شده را که حاوی نقره می باشند به ابعاد (۲در۲ سانتی متر) بریده و بعد

www.SID.ir

ازتهیه سوسپانسیون با اسید سولفریک ٤٠ درصد دردستگاه تیترازور انتقال داده و در نهایت تا جایی که الکترود دستگاه کاملا درون بشر حاوی سوسپانسیون قرار گیرد، مخزن دستگاه حاوی نرمالیته استاندارد KCL می‌باشد که توسط الکترود نقره و محلولی که حاوی نقره است، می توان میزان نقره را قرائت می‌نماید.

KCL موجود در مخزن وارد محلول نقره می شود سپس CL با Ag واکنش داده و رسوب AgCL تولید می شود تا جایی این کار ادامه دارد که Ag در محلول موجود است و وقتی Ag به پایان رسید CL باقی می‌ماند که دستگاه اتمام Ag و مقدار Ag موجود در محلول را نشان می‌دهد.

از فرمول: N1 V1= N2 V2 می توان نرمالیته محلول را حساب کرد.

N1 = KCL

V 1 = KCL توسط دستگاه نشان داده می‌شود

N 2 =?نقره

V 2 = 5cc نقره

1000 = mg/lit = ppm.

لازم به ذکر است که استفاده از دستگاه نیازی به استفاده از معرف ندارد ، در این روش حجم محلول استاندارد (تیترانت) مصرفی، جهت واکنش کامل با ماده مجهول (آنالیت) اندازه‌گیری می‌شود که این حجم مبین مقدار ماده مجهول می‌باشد. از آن زمان که لوشمیت و آووگادرو فهمیدند که یک گرم مولکول از ماده حاوی مقدار مشخصی ذره است محلول استاندارد (تیترانت) از حل کردن وزن مشخصی از ماده بدست آمد. این بدان معنی است که اندازه‌گیری حجم مشخصی از تیترانت در طی تیتراسیون می‌تواند شمارش تعداد مشخصی ذره از ماده مجهول (آنالیت) باشد. بدین ترتیب تیتراسیون همان شمارش است(٤).

اصولا نقطه اکی والان زمانی بدست می‌آید که آنالیت با تیترانت با نسبت استکیومتری مربوطه به طور کامل واکنش دهند.

اگر تیتراسیون را به عنوان «شمارش یونها یا مولکولها» بدانیم، بدست آوردن نقطه اکی و الان باید خیلی مهم باشد.

روش پتانسیومتری یکی از متداول ترین روشهای تشخیص نقطه اکی والان است این روش تشخیص، کل تیتراسیونهای آبی، غیر آبی اسید و باز، اکسیداسیون احیاء، رسوبی و کمپلکسومتری را پوشش می دهد(١٣).

اساس تشخیص نقطه اکی والان به این روش مبتنی بر دو الکترود می باشد، یکی الکترود شناساگر و دیگری الکترود مرجع و چیزی که در اینجا اندازه گیری می شود پتانسیل الکترودها نیست بلکه تفاضل پتانسیل بین الکترود شناساگر و الکترود کار در هر لحظه می باشد.

در واقع الکترود شناساگر پتانسیلی را تامین می نماید که وابسته به وضعیت محلول داخل ظرف تیتراسیون می‌باشد.

و الکترود مرجع عهده دار تامین پتانسیلی است که کاملاً مستقل از وضعیت محلول داخل ظرف تیتراسیون است.

این اختلاف پتانسیل بین دو الکترود توسط یک ولتامتر اندازه‌گیری می شود که مقاومت داخلی بسیار بالایی دارد.

رابطه تئوری اندازه گیری این اختلاف پتانسیل به قرار زیر می باشد(٣).

$$U = Uo + \frac{2.303 \times RT}{Zi \times F} \times Logai$$

R= ثابت گازها (8.314 J/K/mol)

U= اختلاف پتانسیل بین دو الکترود

Uo= پتانسیل الکترود شناساگر

Zi= بار یونی

F= عدد فارادی (96484.56 C/mol)

ai= فعالیت یونی

در نهایت در راستای تهیه پوشش‌های بسته‌بندی نانو جهت بررسی سایز ذرات و نحوه اتصال مونومرها در سطح پوشش‌های حاصله، توسط میکروسکوپ الکترونی به شرح ذیل تصویربرداری انجام گردید:

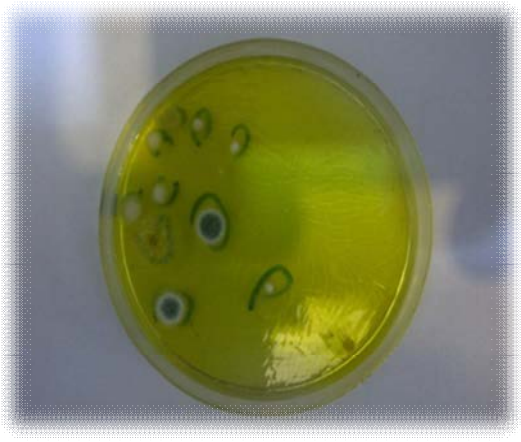
Archive of SID

www.SID.ir

ابتدا آماده‌سازی نمونه‌های فیلم در آزمایشگاهی انجام یافته و سپس مقدار ۳ سانتمتر از فیلم‌ها را روی پایه دارای چسب گذارده و سپس در دستگاه اسپاترکوتر(Spotter Coater) که حاوی گاز آرگون جهت تثبیت روکش آب طلا به روی نمونه‌های موجود برپایه می‌باشد انتقال داده تا بعد از ۳ دقیقه نمونه‌های آماده شده دارای روکش طلا به محفظه دستگاه میکروسکوپ الکترونی انتقال یابند و در نهایت بعد از تنظیم میکروسکوپ SEM(scanning electron microscope) به روی بزرگنمائی ۱۰/۰۰kx تصاویر نمونه به روی مانتیور ظاهر گردیده که در بخش نتایج رویت می‌گردد(۶و ۵).

نتایج

با بررسی و شمارش کپک و مقایسه آنها با یکدیگر مشخص گردید که فیلم‌های آغشته به نانو نقره ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام اثر ممانعت کننده نداشته ودر مدت ۷۲ ساعت (جداول ۲ و۳) از رشد پاتوژن جلوگیری ننموده است ولی فیلم‌های شفاف آغشته به نانو نقره ۴۰۰۰ پی پی ام در این مدت توانسته است حدود ۹۸ در صد از کپک‌ها را از بین برده و یا جلوی رشد و تکثیر آنها را بگیرد و آن را به حد استاندارد برساند.



نگاره ۱: کپک رشد کرده روی نمونه شاهد

جدول ۲: محاسبه کل باکتری‌های مزوفیل هوازی (TCAMB) و انتروباکتریاسه (Ent) در فیلم‌های نانو وشاهد.

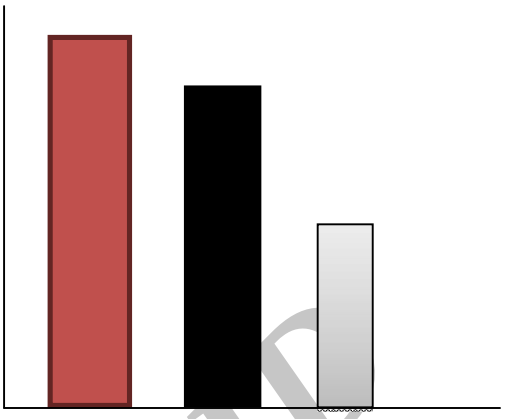
درصد فیلم‌ها / فیلم بسته بندی	۰		۳		۵	
	Ent	TCAMB	Ent	TCAMB	Ent	TCAMB
بدون ذرات نانو نقره	۲۰۰۰	۱۰۰۰۰	۳۶۰	۸۰۰۰	۱۲	٤۰۰۰
حاوی ذرات نانو نقره	٤۰۰	۱۰۰۰	٦۰	۱۰۰۰	۱۲	۱۰۰

جدول ۳: محاسبه اشرشیاکلی (E.coli) و کلستریدیوم پرفرینجس (C.Pf) در فیلم‌های نانو وشاهد

فیلم بسته بندی	۰		۳		۵	
	E.Coli	C.Pf	E.Coli	C.Pf	E.Coli	C.Pf
بدون ذرات نانو نقره	۲۰۰۰	۱۰۰۰۰	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰	۱۰۰
حاوی ذرات نانو نقره	٤۰۰	۲۰۰۰	۰	۰	۰	۰

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱: درصد رشد کپک در کلیه نمونه‌ها

نمونه تیمار شده با فیلم نانو نقره کرم

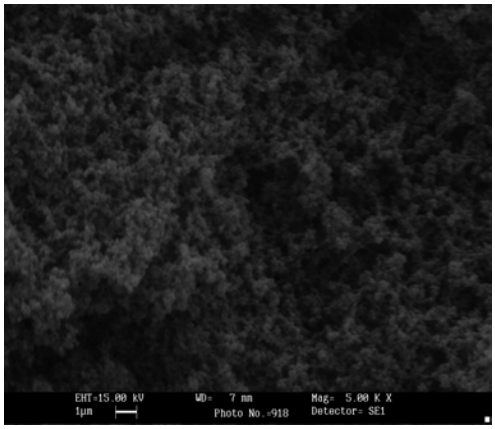
نمونه‌های شاهد

نمونه‌های تیمار شده با فیلم نانو نقره شفاف

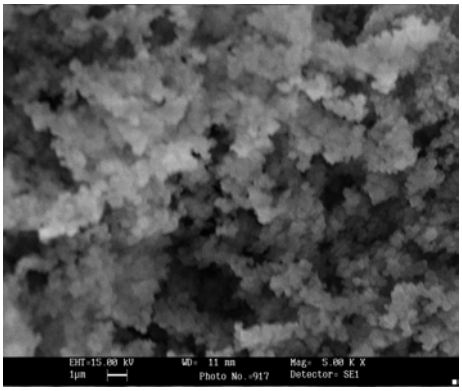
1-Spotter Coater 2-scanning electron microscope

در پروژه دوم طرح مذکور به بررسی میزان باقی ماندگی ذرات نانو بعد از ۱ و ۳ماه در پوشش‌های بسته بندی مذکور پرداخته شد نتایج حاکی از آن است که میزان باقی ماندگی بعد از تهیه محلول از محصول و تیتراسیون معادل صفر ppm بوده و تنها دریک نمونه ۲ پی پی ام گزارش گردید که بیانگر اتمام الکترود تشخیصی و اعمال‌یون‌های نقره مثبت می‌باشد لذا به طور معنی داری آزمون عدم رهایش تائید می‌گردد(نگاره های ۲ الی ٤).

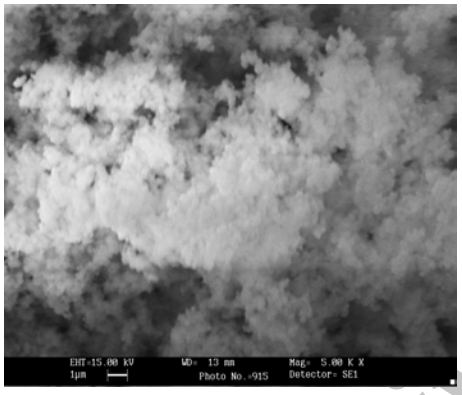
نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی



نگاره ۲: MAA بابزرگنمائی KX ۵/۰۰ باقطرذرات ۱میکرومتر



نگاره ۳: بابزرگنمائی KX ۵/۰۰ MAA باقطرذرات ۱میکرومتر فیلم A



نگاره ٤: بابزرگنمائی KX ۵/۰۰ NAA باقطرذرات ۱میکرومتر فیلم B

بحث

در تحقیق مذکور، بسته بندی با فیلم‌های حاوی نانو ذرات که بر پایه کلوئید سیلور بودند برای اولین بار در ایران جهت افزایش زمان ماندگاری زعفران و کاهش بار میکروبی در زعفران به عنوان‌یک سرمایه ملی مهم بکار گرفته شد.

عامل ضد میکروبی در واقع ذرات سیلور بوده که در مقیاس نانو به روی حاملین خود که ذرات نانو بودند پوشش داده شده و بر اثر خاصیت قطبیت لحظه ای برانگیخته شده و با خاصیت فتوکاتالیستی سبب بروز اثرات آنتی باکتریال به روی محصول می گردند و بدون اینکه به روی ماده غذائی بنشینند از چرخه خارج می‌شوند و یا بعبارتی در تحقیق دیگری که میزان باقی ماندگی بررسی شده وجود ذرات به

Archive of SID
www.SID.ir

روی زعفران رد گردیده است، همین طور در دسته دوم از این پوشش‌های نانو از کلوئید نانوسیلور در مرحله تولید استفاده شده بود که به صورت بی رنگ رویت می گردند که در مقایسه با پوشش‌های دارای حامل دی اکسید راندمان بالاتری برخوردار بودند(۵).

نانو ذرات نقره به دلیل نسبت سطح به حجم بسیار بالا و بالا بودن تعداد زیادی از اتم‌های فلز در واحد سطح، تماس بهتری با میکروارگانیسم‌ها داشته و ویژگی‌های ضد میکروبی منحصر به فردی را نسبت به فلز نقره در ابعاد بزرگتر نشان می دهند(۱۶).

از آنجایی که اکثر روش‌های نگهداری معمول مواد غذایی در مورد غذاهای تازه و آماده مصرف قابل کاربرد نیست. برای نگهداری این قبیل محصولات از بسته بندی‌های ضد میکروب استفاده می شود. این بسته بندی‌ها نوعی بسته بندی فعال بوده که حاوی ترکیبات ضد میکروبی می باشد. به دلیل افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به آنتی بیوتیک‌ها، دانشمندان به دنبال‌یافتن ترکیبات جایگزین برای آنتی بیوتیک‌ها هستند. نانو ذرات فلزی مانند طلا، نقره و مس از این دسته مواد می باشند. نقره به دلیل واکنش با گروه تیول آنزیم‌های میکروارگانیسم‌ها باعث دناتوره شدن آنزیم و در نهایت مرگ سلولی می شود. بسته بندی‌های حاوی نانو ذرات نقره با آزاد سازی‌یون‌های نقره باعث کاهش، جلوگیری ویا به تاخیر انداختن رشد میکروبها و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت محصول غذایی می‌شود. این ترکیبات در ساختار پدهای جاذب ویا در ترکیب با پلیمرهای پلی اتیلن، پلی پروپیلن، پلی استایرن به کار می‌رود(۱۵).

روشهای معمول نگهداری غذا شامل فرآیند حرارتی، خشک کردن، انجماد، سرد کردن، پرتودهی، بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و افزودن مواد ضد میکروبی‌یا نمک‌ها می باشد. متاسفانه برخی از این روش‌ها در مورد غذاهای تازه و آماده مصرف قابل کاربرد نمی‌باشد. بسته بندی ضد میکروبی نوعی بسته بندی فعال بوده و به ویژه در نگهداری گوشت، طیور و ماهی مورد استفاده قرار می گیرد. از آنجایی که کاربرد مستقیم مواد ضدمیکروبی به صورت سطحی در غذا، فواید آن را به دلیل خنثی شدن این ترکیبات در سطح ویا نفوذ این مواد به داخل محصول، کاهش می دهد. از طرف دیگر استفاده از مواد ضد میکروبی در گوشت و محصولاتی از این قبیل، ممکن است منجر به غیر فعال شدن برخی مواد و تغییر فلور میکروبی سطحی شود. بنابراین استفاده از این فیلم‌های بسته بندی حاوی مواد ضد میکروبی با مهاجرت آرام این مواد از بسته بندی فعال بوده که با افزودن نانو ذرات نقره، طلایا مس به داخل فیلم بسته بندی تولید و با آزاد سازی‌یونهای فلزی باعث کاهش، جلوگیری و یا به تاخیر انداختن رشد میکروب‌ها و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت محصول غذایی می شود(۳و ۲). در ژاپن استفاده از نانو ذرات نقره به عنوان ماده ضد میکروب در پلاستیک‌ها توسعه‌یافته است. به طوری که وجود مقادیر ناچیزی از نانو ذرات نقره از تشکیل بیوفیلم در ماده بسته بندی و آلودگی با میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می نماید.

درخصوص میزان باقی ماندگی با استفاده از تیتراسیون جواب نمونه‌ها بسیار ایده آل بوده و معمولاً تکرار پذیری اکثر تیتراسیون‌ها که با واحد انحراف استاندارد نسبی اندازه گیری می شوند زیر یک درصد می‌باشند(۲۰و ۱۹).

تیتراسیون در حد بالایی قابلیت اتوماسیون دارد این بدان معناست که در آنالیز نمونه‌های روتین بسیار مناسب است و از جمله دیگر مزایای تیتراسیون آن است که خیلی مقرون بالصرفه است در قیاس با سایر روشهای آنالیز کمی، این روش هزینه کم و کارایی بالایی دارد.

همچنین لازم به ذکر است که با توجه به تصاویر میکروسکوپی حاصل از پوشش ها هرچه سایز ذرات

www.SID.ir

نانومتریک تر و کوچکتر باشند باتوجه به درصد های حاصله میزان اثرگذاری میکروبی بیشتری را در برخواهد داشت علت استفاده از میکروسکوپ الکترونی در این تحقیق جهت بررسی نانومتریک بودن ذرات نقره مصرفی در پوشش ها بوده که در صورت نانو بودن در اندازه ۱تا ۱۰۰ نانومتر میزان اثرگذاری میکروبی را افزایش می دهد و سبب افزایش زمان ماندگاری بیشتر محصول می گردد .

تشکر و سپاسگزاری

بدین وسیله از باشگاه پژوهشگران جوان (واحد علوم وتحقیقات تهران) که طرح مصوب مذکور با حمایت مالی این ارگان انجام‌یافته است و از شرکت محترم نانو رنگدانه شریف که امکان استفاده از انواع پوشش‌های بسته بندی نانو SNP 103.3 را در اختیار قرار دادند علی الخصوص جناب آقای قاسمی و دکتر محمد صادقی کمال سپاس و امتنان را دارد.

فهرست منابع

۱. اهری، ح. و گروه مولفین، (۱۳۸۷): بهداشت مواد غذایی از دیدگاه نانو فناوری، چاپ اول، انتشارات پرتو واقعه با همکاری انتشارات دانش نگار، تهران، ایران، ۳٤– ٤٥، ٧٦– ۸۲.

2. Blain, P.J. (1994): Memorie d'lng'enieur ENS". BANA. Agricultural Univ. Wageningen, The Netherlands. P: 9-11.
3. Brody, A.L (2002): Flavor scalping quality loss due to packaging. J. Food tech. 56 (6): 124-5.
4. Carballo, G.l., Cava, D., Lagaron, J.M., Catala, R., Gavara, R. (2005): Characterization of the interaction between two food aroma components. A- pinene and ethyl butyrate and ethyl vinyl alcohol copolymer (EVOH) packaging films as a function of environmental humidity. J. Agric Food Chem (53):7212-6.
5. Charara, Z.N., Williams, J.W, Scmidt, R.h. Marshal M.R. (1992): Orange flavor absorption intovarious polymerice packaging materials. J. Food Sci. (57):963-6.
6. Gallo, J.A.Q., Debeaufort, F., Voilley, A. (1999): Interactions between aroma and edible films.1.permeability of methylcellulose and low-density polyethylene films to methyl ketones. J. Agric Food Chem. (47):108-13.
7. Gremil, H. (1994): Flavor change in plastic containers. Perfum Flav. (21):1-8.
8. Landois, G.J., Hotckiss, JH, editor. (1998): Food packaging interaction. American Chemical Society, Washing D.C. P: 42-58.
9. Letinski, J., Halek, G.W. (1992): Interactions of citrus flavor compounds with polypropylene films of varying crystallinities. J. Science Food Agric. (57):481-3.
10. Leufven, A., Hermansson, C. (1994): The Sorption of aroma components from tomato juice by food – contact polymers. J. Science Food Agric (64): 101 – 5. 1994.
11. Linssen, J.P.H., Roozen JP. In: Mathlouthi M, editor. (1994): Food packaging and preservation. Blackie Academic & Professional, Glasgow. P: 48-61.
12. Mahoney, S.M., Hernandez, R.J., Giacin, J.R., Harte, B.R. and Miltz, J. (1998): Permeability and Solubility of dlimonene vapor in cereal package liners. J. Food Science. (53): 253-7.
13. Nielsen, T.J., Jagerstad, M.I. and Oste, R.E. (1992): Study of factors affecting the absorption of aroma compounds in to low – density polyethylene. J. Food Science. (60): 377-81.
14. Nielsen, T.J. (1994): Limonene and myrcene sorption in to refillable polyethylene terephthalate bottles, and Washing effects on removal of sorbed compounds. J Food Sci. (59):227-30.
15. Rosca, I.D., Vergnaud, J.M. (1998): Recycling old polymers in bi-layer bottles. “Effect of the volume of the solid food on the contaminant transfer". In: Contis Et, Ho CT, Mussinan CJ, Parliament TH, Shahidi F, Spanier Am, editors Food flavor. Formation, analysis and packaging influences. Elesevier Science B.V. Amsterdam, P: 735-41.
16. Salame, M. (1989): The use of barrier polymers in food and beverage packaging. Lancaster, Pa. U.S.A. Technomic Publishing co. Inc. P: 132-45.

Archive of SID

www.SID.ir

17. Salopek-Sondi, B. (2004): Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E.coli as a model for Gramnegative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science. (275):177-182.
18. Takeuchi, Y., Okamur, H. (1976): Permeation of hydrocarbon vapors through polyethylene films. J Chem Engr Jap. (2): 136.1976.
19. Willing Van, R.W.G., Linssen, J.P.H., voragen A.G.J. (2000): Influence of food matrix on absorption of flavor compounds by linear low-density polyethylene. Proteins and carbohydrates. J. Sci Food Agric. (80):1779-89.
20. Willing Van, R.W.G., Linssen, J.P.H., voragen A.G.J. (2002): Influence of food matrix on absorption of flavor compounds by linear by linear low-denstiy polyethylene. Oil and food products. J. Sci Food Agric. (80):179-7.2002.

Archive of SID

www.SID.ir