ارزیابی خاصیت آنتی‌باکتریال لفاف‌های بسته‌بندی نانو نقره اصلاح شده با فتوکاتالیست TiO_2 به روی کله پاچه

انوشه شریفان[۱]، رامین بهشتی زاده[۱]، حامداهری*[۱]، امیرعلی انوار[۲]

چکیده

کله‌پاچه یک غذای سنتی ایرانی است. با توجه به بار میکروبی این فرآورده و شرایط طبخ غیر بهداشتی، در این تحقیق برای اولین بار از پوشش‌های نانو نقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم در جهت کاهش بار میکروبی محصول استفاده گردیده است. تاثیر این پوشش‌ها در جهت کاهش بار میکروبی کله پاچه با پوشش‌های نانو نقره با غلظت‌های مختلف مقایسه گردید. در تحقیق مذکور کله پاچه (۱۰۰ گرم آن ۱۵ گرم چربی و ۹۰ میلی گرم کلسترول) از فروشگاه شهروند تهیه و سپس از هر قسمت از کله پاچه مقدار ۱۰گرم جدا و چرخ گردید و بعد از همگن شدن با پوشش‌های نانو نقره در سایز به طور میانگین حدود ٦٢ نانومتر در غلظت‌های ppm۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ در روزهای ۱ و ۲ و ۳ و ٤ و در غلظت‌های ppm ۳۰۰۰ و ۳۵۰۰ و۴۰۰۰ و نیز روزهای ۱ و ۲ و ۳ روز شمارش کلی میکروبی انجام گرفت. برای اندازه‌گیری نانو ذرات از (FESEM) و همچنین (FTIR) برای تعیین نوع پیوندهای شمیایی استفاده گردید. نتایج نشان داد نوع فیلم بسته‌بندی و مدت زمان نگهداری در یخچال ٤ºC، بر ماندگاری کله پاچه موثر بوده به طوریکه با حضور نانو ذرات نقره در پوشش بسته‌بندی بار میکروبی ثابت مانده و با افزایش زمان نگهداری هیچ تغیری مشاهده نشد. نتایج نشان داد که غلظت‌های ppm ۳۵۰۰ و ppm ٤۰۰۰ نانو ذره نقره در حفظ میزان نسبی باکتری اشریشیا کلای در ٤ روز آزمایش بر روی کله پاچه تاثیر بیشتری نسبت به سایر غلظت‌های نانو نقره دارند ($p<۰/۰۵$).

واژگان کلیدی: *کله پاچه، دی اکسید تیتانیوم، نانو ذرات نقره*

تاریخ دریافت۱۳۹۵/۱۲/۱٤ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۲/۱۷

مقدمه

افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی یک امر مهم و اجتناب ناپذیر می‌باشد. کله پاچه از آنجایی که یک غذایی سنتی و محلی در ایران می‌باشد، به دلیل رطوبت بالا و بار میکروبی می‌تواند زمینه مناسبی برای رشد پاتوژن‌های غذایی باشد. کله پاچه یک غذای سنتی ایرانی است که سالیان سال از گذشته تا به امروز مورد استفاده قرار می‌گرفته و در خاورمیانه و قفقاز جنوبی متداول بوده است. به طور کلی کله پاچه از پختن سر، دست و پای گوسفند تهیه شده و اجزای این غذا شامل بناگوش، زبان، مغز، چشم، گوشت، صورت و پاچه می باشد. خوردن آن از قدیم تا به امروز بین ایرانیان مرسوم بوده و در فصل زمستان به دلیل گرم و پرکالری بودن آن طرفداران بیشتری پیدا می‌کند کله پاچه غذایی بسیار سنگین است که می‌تواند موجب مشکلات گوارشی شود. لذا بهتر است کله پاچه در وعده صبحانه استفاده شود و مصرف آن در وعده شام می‌تواند موجب بی‌خوابی و ناراحتی‌های معده شود، در واقع باید گفت کله پاچه یک منبع غذایی است که چربی بسیار بالایی دارد به طوری که یک وعده مغز به وزن حدود ۱۲۰گرم بیشتر از۲۰۰۰ میلی گرم کلسترول دارد که در ۱۰۰ گرم آن نیز ۱۳۰ کالری انرژی نهفته می‌باشد. یکی از امتیازات مثبت مغز دام این است که منبع فوق العاده ویتامین B۱۲ شمرده می‌شود. از نظر تغذیه‌ای بهترین قسمت، پاچه می‌باشد که چربی کمی داشته و بدترین بخش، مغز است که سرشار از کلسترول می‌باشد.

کله پاچه دارای پروتئین و اسیدهای چرب فراوانی می‌باشد که می‌تواند محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های مولد فساد باشد. بنابراین کله پاچه به علت نامناسب بودن شرایط نگهداری از کشتارگاه تا بازار مصرف، دارای بار میکروبی بسیار بالایی می‌باشد. استفاده از نانوذرات فلزی به واسطه سایز کوچک ماده مصرفی(در مقیاس نانو)، انحلال نسبتا بالا،

*۱- دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران(Dr.h.ahari@gmail.com)

۲- دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Archive of SID

www.SID.ir

انعطاف‌پذیری بالا، ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی خوب به دلیل دارا بودن نسبت سطح به حجم بالاهمچنین به دلیل افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به یون های فلزی وآنتی بیوتیک‌ها و ایجاد سویه های مقاوم به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک‌ها و تولید اشکال دارویی متنوع و همچنین توجه ویژه جهانی نسبت به روش‌های تشخیص سریع و دقیق از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند. بدین صورت که ساختارهای نانو از طریق فرایندهایی که انرژی آزاد کلی سیستم را به حداکثر رسانده و به موجب آن انرژی فعال سازی مورد نیاز را به حداقل می‌رسانند تشکیل شده و این ساختارها طرح مولکولی سیستم های سطحی حفاظتی را بهبود می‌بخشند(١٤). اخیرا مطالعاتی انجام شده تا بتواند زمان ماندگاری و تازگی مواد غذایی را تا چند برابر افزایش دهند. بسته‌بندی های فعال بوسیله اضافه کردن نانو ذرات فلزی به فیلم‌های پلیمری ایجاد می‌شوند و یک راهکار جدید برای حفظ ماندگاری مواد می‌باشند(١٢و١٠).

علاوه بر اهداف متعارف بسته‌بندی مانند: افزایش عمر ماندگاری، حفظ کردن کیفیت، تضمین سلامتی که با روش‌های مختلفی قابل دستیابی است. بسته‌بندی‌های ضد میکروبی طراحی می‌شوند تا میکروارگانیسم‌هایی را که مخالف سه عمل بالا را انجام می‌دهند، کنترل کند. بنابراین بعضی محصولات که در برابر فساد میکروبی یا آلودگی حساس نیستند، احتیاجی به بسته‌بندی ضدمیکروبی ندارند. اما به طور کلی غذا های فاسد شدنی و بیشتر داروها مستعد پذیرش آلودگی هستند. امروز ایمنی غذایی یک اهمیت خاصی دارد که بسته‌بندی‌های ضدمیکروبی تضمین خوبی برای این امر می‌توانند باشند. یکی از عوامل ضدمیکروبی شناخته شده نقره می‌باشد، نقره یک عامل ضدمیکروبی ایمن در مقایسه با سایر عوامل ضدمیکروبی که استفاده می‌شوند, می‌باشد زیرا احتمال وجود تاثیرات منفی سایر عوامل بر بدن انسان‌ها وجود دارد (١١).

یکی از تکنولوژی‌ها جدید که امروزه برای نگهداری مواد غذایی مورد توجه محققین قرار گرفته است و برای محصولات قابل استفاده است بهره گیری از بسته‌بندی های ضدمیکروب می‌باشد که در ساخت آنها از موادی در مقیاس نانو استفاده می‌شود و در این بین نانو ذرات نقره از موثرترین آنها می‌باشد(١٢).

از فیلم‌های فوق در تحقیق‌های متعددی برای بسته‌بندی مواد غذایی استفاده شده است و نتایج آنها افزایش ماندگاری ماده غذایی را نشان دادند. مرادی و همکارانش (١٣٨٨)، افزایش طول عمر خرما بدون تغییرات نامطلوب با استفاده از نانو ذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم را نشان دادند(٧). همچنین در تحقیق ولی پور مطلق و همکاران افزایش کیفیت ماندگاری زرشک با استفاده از ذرات نانو نقره در پوشش بسته‌بندی نشان داده شده است(٨). تحقیقات دیگری اثر نانو ذرات مختلف را روی انواع قارچ درون محیط های کشت در شرایط آزمایشگاهی بررسی نموده‌اند که نتایج آنها نیز حاکی از توقف رشد قارچ بوده است. هدف از این تحقیق ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال پوشش های بسته‌بندی نانو نقره اصلاح شده با فتوکاتالیست TIO_2 به روی کله پاچه می‌باشد.

مواد و روش کار

ابتدا برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از آمپول‌های لیوفیلیزه باکتری اشریشیا کلای(ATCC ٢٥٩٩٢) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC ٢٥٩٢٣) مجتمع زکریای رازی واحد علوم وتحقیقات تهران در شرایط سترون باز و به محیط کشت مایع (Nutrient broth) انتقال و به مدت ٢٤ ساعت در ^{O}C ٣٧ انکوبه شد. سپس جهت اطمینان از خالص بودن باکتری از محیط نوترینت براث به صورت خطی بر روی محیط کشت انتخابی ـ افتراقی کشت داده شد و به مدت ٤٨ ساعت در ^{O}C٣٧ گرمخانه گذاری گردید. سپس از هر کلنی باکتری، یک لوپ برداشت کرده و ٢٤ ساعت قبل هر آزمون تهیه گردیده و سپس از باکتری‌ها، سوسپانسیون میکروبی طبق استاندارد ٠/٥ مک فارلند، کدورتی معادل(CFU/ml ^{٨}١٠ × ١/٥) تهیه گردید و به ارزیابی

www.SID.ir

خاصیت ضدباکتریایی پوشش‌های با غلظت‌های مختلف ppm ۱۰۰۰ و ppm ۲۰۰۰ و ppm ۳۰۰۰ پرداخته شد(۷).

آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum inhibitory concentration)

سوسپانسیون باکتری‌ها قبل از تهیه محیط کشت تهیه شده و محیط کشت به سرعت در پلیت ها توزیع گردید. بلافاصله عمل تلقیح میکروارگانیسم‌های مورد نظر توسط سمپلر در نقطه ی میانی محیط کشت صورت گرفت. همچنین محیط کشت محتوی ۱٪ دی متیل سولفوکساید و پوشش آنتی باکتریال به عنوان کنترل مثبت رشد و محیط کشت محتوی ۱٪دی متیل سولفوکساید و دارای پوشش آنتی باکتریال اما بدون باکتری به عنوان کنترل منفی رشد در نظر گرفته شد.

آزمون شمارش کلی میکروبی روی کله پاچه

ابتدا از پوشش‌های مورد نظر ابعاد مساوی توسط چاقوی استریل بریده و توسط اتوکلاو استریل گردید. سپس به روی غلظت پوشش‌های ۱۰۰۰ ppm, ۲۰۰۰ppm, ۳۰۰۰ ppm, ۳۵۰۰ ppm و ٤۰۰۰ppm (تهیه شده از شرکت نانونصب پارس) از سوش‌های باکتریایی مورد نظر اشریشیا کلای (۲۵۹۹۲ ATCC) و استافیلوکوکوس اورئوس (۲۵۹۲۳ ATCC)، سوسپانسیون میکروبی تهیه و با استفاده از استاندارد ۰/۵ مک فارلند که کدورتی معادل ($۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml) دارد تهیه گردید. در مرحله بعد، کله پاچه با سوسپانسیون میکروبی به روش رقت سازی تلقیح و در بین پوشش‌ها با غلظت‌های متفاوت قرار گرفت و در یخچال $٤^{o}C$ در روز های ۱ و ۲ و ۳ و ٤ نگهداری گردیده شد، لازم به ذکر است یک بار هم آزمون شمارش کلی میکروبی برای کله پاچه در بین پوششی با غلظت ٤۰۰۰ ppm بدون تلقیح باکتری در دمای $٤^{o}C$ و در روزهای ۱ و ۲ و ۳ انجام گردید.

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM)

به منظور تعیین خصوصیت نانو ذرات پلیمری تولیدی وتعیین مورفولوژی و اندازه این ذرات از تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی استفاده گردید. جهت آماده سازی نمونه‌های میکروسکوپ الکترونی، ابتدا آماده سازی ذرات پوشش بسته‌بندی از طریق تهیه سوسپانسون در حلال (Acetonitrile) درون فالکون‌های آزمایشگاهی انجام گردیده و مقدار mL ۳ از محلول حاصله را روی پایه دارای چسب گذارده تا حلال تبخیر گردد و سپس در دستگاه (Spotter cotaer) منتقل و روکش طلا به روی نمونه‌ها قرار گرفت و بعد از ۱۰ دقیقه نمونه‌ها به محفظه دستگاه میکروسکوپ الکترونی انتقال یافت و پوشش در برابر بمباران الکتریکی قرار گرفت و تصاویر ثبت گردید(۱۳).

آزمون (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

شناسایی کیفی یک نمونه مجهول، بر اساس نوع گروه‌های عاملی و پیوندهای موجود در مولکول‌های پوشش مربوطه و شناسایی کیفی و کمی ترکیبات آلی حاوی نانو ذرات صورت می گیرد. در روش طیف سنجی مادون قرمز، پرتو IR از نمونه عبور می‌کند، بخشی از آن توسط نمونه جذب و بخشی دیگر از داخل آن عبور می‌کند. طیف حاصل نشان دهنده جذب و عبور مولکولی است و اثر مولکولی نمونه را ایجاد می‌کند. این آزمون به وسیله دستگاه مدل (Nexus 870) ساخت آمریکا انجام گردید.

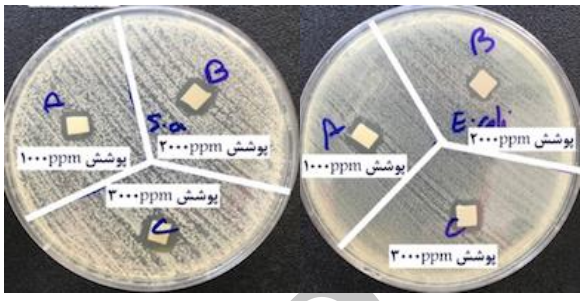
تحقیق حاضر بر اساس آزمایش فاکتور غلظت‌های متفاوت نانو ذره نقره در ٤ روز آزمایش انجام شد که تاثیر آنها بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از آزمون آنالیز واریانس ترکیبی (Mixed ANOVA) و تاثیر آن بر باکتری اشریشیاکلای به دلیل عدم تاثیر همزمان دو متغیر زمان و غلظت با کمک روش(One –Way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری (SPSS) نسخه ۲۱ انجام گرفت.

نتایج

نتایج اولیه از آزمون هاله عدم رشد نشان داد که، پوشش خاصیت آنتی باکتریال داشته و همان‌گونه که در نگاره ۱ مشاهده می‌گردد درسمت راست تصویر بررسی پوشش‌ها

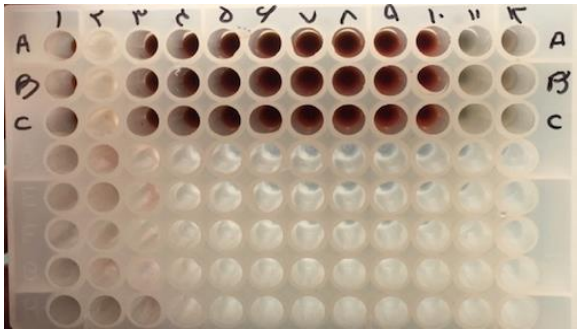
Archive of SID
www.SID.ir

نسبت به باکتری استافیلوکوکوس ارئوس بوده و در سمت چپ نسبت به باکتری اشریشیاکلای سنجیده شده است.



نگاره ۱- سمت راست (*Staphylococcus aureus*) و سمت چپ (*Escherichia coli*)

آزمون حداقل غلظت ممانعت کنندگی طبق استاندارد ملی شماره (۵۸۷۵) برای کلویید نانو نقره انجام گردید، که در این آزمون از غلظت ppm ۲۰۰۰ کلویید نانو نقره خاصیت کشندگی داشته و تا غلظت ppm ۸۰۰ ولی از غلظت ppm ٤۰۰ به بعد هیچ گونه اثر ممانعت کنندگی از رشد باکتری اشریشیاکلای مشاهده نگردید. برای اطمینان از اینکه در رقت‌های ppm ٦۰۰ و ppm۸۰۰ رشد باکتری مشاهده گردیده نشده باشد کشت خطی داده شد و هیچ گونه رشد باکتری در ppm ۸۰۰ مشاهده نگردید. در نگاره ۲ به طور کامل قابل مشاهده می‌باشد.



نگاره ۲- آزمون حداقل غلظت کشندگی نانو نقره به روی باکتری E.coli

همان طور که در جدول ۱ ملاحظه می‌گردد آزمون شمارش کلی میکروبی برای کله پاچه‌های تلقیح شده با باکتری‌های E. coli, S.aureus در پوشش‌های با غلظت‌های ppm۱۰۰۰ و ppm۲۰۰۰ و ppm۳۰۰۰ و ppm۳۵۰۰ و ppm٤۰۰۰ انجام گردیده شد.

جدول ۱- شمارش کلی میکروبی برای پوشش‌ها و نمونه تلقیح شده با E. coli , S.aureus

روز ۱	ppm۱۰۰۰	ppm۲۰۰۰	ppm۳۰۰۰	روز ۳	ppm۱۰۰۰	ppm۲۰۰۰	ppm۳۰۰۰
S.aureus Control	۱۰^۷ × ٤	۱۰^۷ × ٤	۱۰^۷ × ٤	*S.aureus* Control	۱۰^۸×۲	۱۰^۸×۲	۱۰^۸×۲
S.aureus Nano	۱۰^۷ × ۲	۱۰^۷ × ٤	۱۰^۷ × ۲	*S.aureus* Nano	۱۰^۸×۱	۱۰^۸×۲	۱۰^۷ × ۲/٥
E. coli Control	۱۰^۷ ۳×	۱۰^۷ × ۳	۱۰^۷ × ۳	*E. coli* Control	۱۰^۸×۱/۳	۱۰^۸×۱/۳	۱۰^۸×۱/۳
E. coli Nano	۱۰^۷ ۳×	۱۰^۷ × ۳	۱۰^۷ × ۲	*E. coli* Nano	۱۰^۸×۱	۱۰^۸×٥1/	۱۰^۷ × ٥
روز۲	ppm۱۰۰۰	ppm۲۰۰۰	ppm۳۰۰۰	روز٤	ppm۱۰۰۰	ppm۲۰۰۰	ppm۳۰۰۰
S.aureus Control	۱۰^۷ ×/6 ۸	۱۰^۷ ×/6 ۸	۱۰^۷ ×/6 ۸	*S.aureus* Control	۱۰^۸×٥	۱۰^۸×٥	۱۰^۸×٥
S.aureus Nano	۱۰^۷ × ۷	۱۰^۷ × ۷,۲	۱۰^۷ × ۳	*S.aureus* Nano	۱۰^۸×٥/٤	۱۰^۸×٤/۳	۱۰^۷ × ٦
E. coli Control	۱۰^۷ × ۲/۹	۱۰^۷ × ۲/۹	۱۰^۷ × ۲/۹	*E. coli* Control	۱۰^۸×۲/٦	۱۰^۸×۲/٦	۱۰^۸×۲/٦
E. coli Nano	۱۰^۷ × ۸/٦	۱۰^۷ × ۱/۸	۱۰^۷ × ٤	*E. coli* Nano	۱۰^۸×۳	۱۰^۸×۲	۱۰^۷ × ۳/٥
روز۱	ppm۳۰۰۰	ppm۳٥۰۰	ppm٤۰۰۰	روز۲	ppm۳۰۰۰	ppm۳٥۰۰	ppm٤۰۰۰
S.aureus Control	۱۰^۷ × ۲	۱۰^۷ × ۲	۱۰^۷ × ۲	*S.aureus* Control	۱۰^۸×۱	۱۰^۸×۱	۱۰^۸×۱
S.aureus Nano	۱۰^۷ × ۱	۱۰^۷ × ٥/۱	۱۰^۷ × ٥/۲	*S.aureus* Nano	۱۰^۷ × ٥/٦	۱۰^۷ × ۳/۲	۱۰^۷ × ۲

Archive of SID
www.SID.ir

E. coli Control	$۱۰^{۷} \times ٦/۱$	$۱۰^{۷} \times ٦/۱$	$۱۰^{۷} \times ٦/۱$	*E. coli* Control	$۱۰^{۸} \times ۱/۱$	$۱۰^{۸} \times ۱/۱$	$۱۰^{۸} \times ۱/۱$
E. coli Nano	$۱۰^{۷} \times ۲/۱$	$۱۰^{۷} \times ۵/۲$	$۱۰^{۷} \times ۸/۱$	*E. coli* Nano	$۱۰^{۷} \times ۱/۳$	$۱۰^{۷} \times ۲/٦$	$۱۰^{۷} \times ۸/۱$

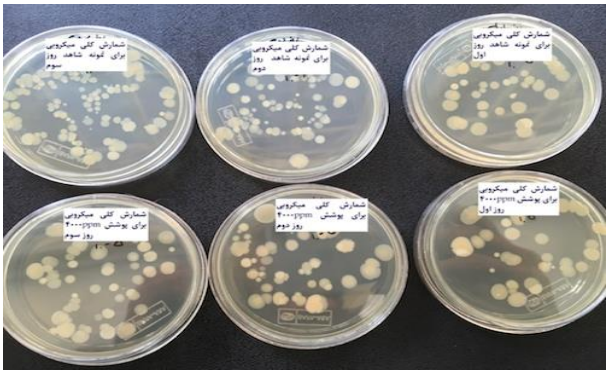
در آزمون‌های مقایسه‌ای جفتی (Bonferroni) نتایج حکایت از اختلاف معنی‌دار $p<۰,۰۰۰۵$ بین شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس CFU/ml در تمامی زمان‌ها با یکدیگر دارد.

یک نتیجه معنی‌دار مستقلی از اثر زمان بر روی بر لگاریتم تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس CFU/ml نشان دهنده آن است که در صورت عدم حضور موثر سایر فاکتورها، زمان خود به تنهایی نقش بسزایی در تبلور اختلاف مقادیر باکتریایی خواهد داشت ($p< ۰/۰۰۰۵$).

سپس در آزمون شمارش کلی برای پوشش ppm ٤۰۰۰ , نمونه کله پاچه به صورت تکه ای جدا گردید و بدون تلقیح باکتری در مجاورت پوشش‌های نانو نقره با غلظت ppm ٤۰۰۰ قرار گرفت ودر روز های ۱و۲و۳ در یخچال $٤\ ^{o}C$ نگهداری شد و شمارش کلی میکروبی آن در جدول ۲ به طور کامل مشاهده می‌گردد. شمارش کلی میکروبی برای پوشش‌های نانو در همه روزها نشان داد که بارمیکروبی افزایش نیافته و ثابت مانده است. در نگاره ۳ در هر سه روز به طور کامل نشان داده شده است.

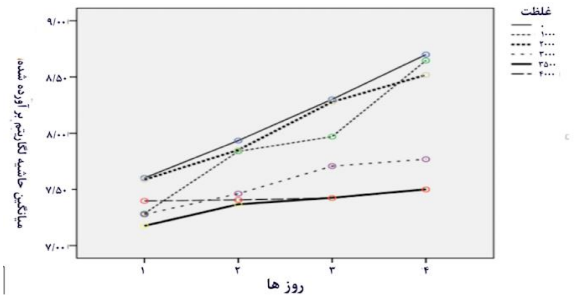
جدول ۲- شمارش کلی میکروبی تکه های کله پاچه در پوشش ppm ٤۰۰۰ نانو نقره بدون اضافه کردن باکتری

روز ۱	ppm٤۰۰۰	روز ۲	ppm٤۰۰۰	روز۳	ppm٤۰۰۰
شمارش تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها در گرم (شاهد)	$۱۰^{۷} \times ٤/٤$	شمارش تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها در گرم (شاهد)	$۱۰^{۸} \times ۳/۳$	شمارش تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها در گرم (شاهد)	٤×۱۰^{۸}
شمارش تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها در گرم (نانو)	$۱۰۷ \times ٦/۳$	شمارش تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها در گرم (نانو)	$۱۰۷ \times ۵/٦$	شمارش تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها در گرم (نانو)	۱۰۷×۷



نگاره ۳- شمارش کلی کله پاچه بدون تلقیح باکتری در مجاورت پوشش ppm ٤۰۰۰

همان طور که ملاحظه می‌گردد در نمودار ۱ نتایج منحنی میانگین حاشیه لگاریتم برآورد شده باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حکایت از آن دارد که این مقادیر در ۲ گروه کمی قابل بررسی هستند. بطوریکه گروه شاهد به همراه غلظت‌های ppm ۱۰۰۰ وppm ۲۰۰۰ در مقادیر بالاتر لگاریتمی خود را از ۳ گروه دیگر با کمیت بالاتر جدا کرده و با افزایش زمان مقدار لگاریتم برآورد شده باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تا روز چهار از افزایش محسوس برخوردار است.

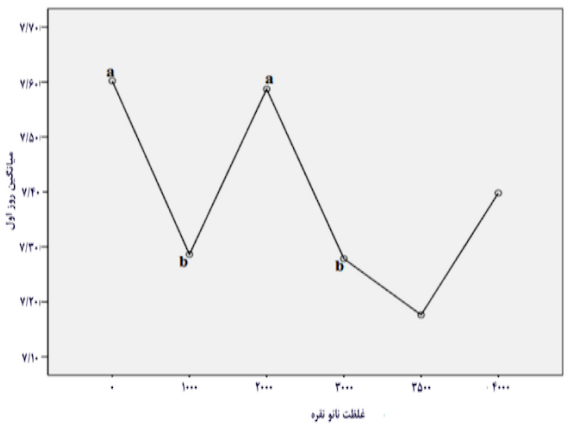


نمودار ۱- میانگین برآوردی باکتریها با تاثیر از دو فاکتور زمان و نوع قرارگیری باکتری در کله پاچه

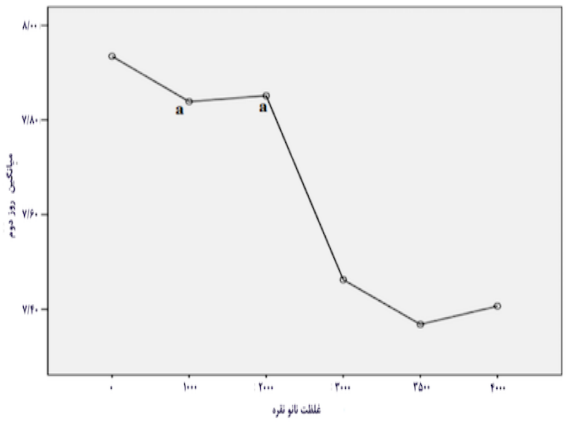
در سوی دیگر میانگین حاشیه لگاریتم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت‌های ppm ۳۰۰۰، ppm ۳۵۰۰ وppm ٤۰۰۰ در دامنه ۷/۲-۷/۷ برآورد گردیده است. کمینه مقدار میانگین

www.SID.ir

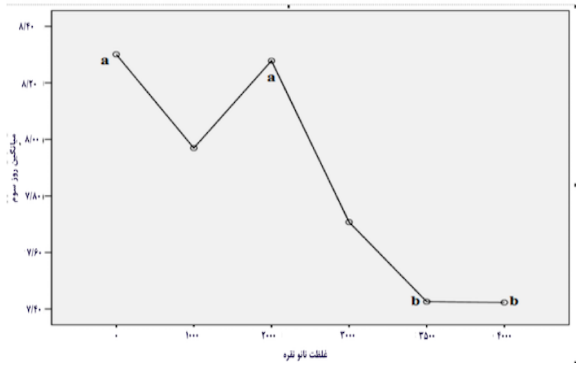
حاشیه لگاریتم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در طی روزهای سوم و چهارم در مقادیر غلظت‌هایppm ۳۵۰۰ وppm ٤۰۰۰ مشاهده شد که مقادیر آنها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. (p> ۰/۰۵) نتیجه نهایی آنست که صرفا غلظت‌هایppm ۳۵۰۰ و ppm ٤۰۰۰ نانو ذره نقره قادر است تا میزان میانگین حاشیه لگاریتم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در کله پاچه را به صورت نسبی ثابت نگه دارد.



نمودار ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذره نقره بر میانگین لگاریتم شمارش اشریشیا کلای در روز اول

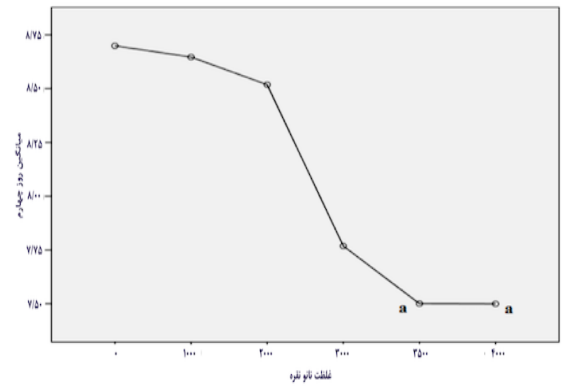


نمودار ۳ – تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذره نقره بر میانگین لگاریتم شمارش اشریشیا کلای در روز دوم



نمودار ٤ – تاثیر غلظت‌های مختلف نانو نقره بر میانگین لگاریتم شمارش اشریشیا کلای در روز سوم

همان طور که در نمودار ۳ و۲ نتایج منحنی میانگین لگاریتم شمارش باکتری اشریشیا کلای در روز دوم و روز اول حکایت از آن دارد که این مقادیر صرفا در غلظت ppm ۳۵۰۰ در کمترین میزان خود در مقایسه با سایر غلظت‌ها در روز دوم نشان داده شده است. هر چند مقادیرppm ۳۰۰۰ وppm ٤۰۰۰ با تفاوت معنی‌دار(p< ۰/۰۵)در مقایسه با غلظت ppm ۳۵۰۰ در حداقل فاصله با آن هستند.



نمودار ۵- تاثیر غلظت‌های مختلف نانونقره بر میانگین لگاریتم شمارش اشریشیا کلای در روز چهارم

همان طور که در نمودار ۵ و٤ مشاهده می‌گردد نتایج منحنی میانگین لگاریتم شمارش باکتری اشریشیا کلای در روز چهارم وسوم حکایت از آن دارد که این مقادیر صرفا در غلظت ppm ۳۵۰۰ وppm ٤۰۰۰ در کمترین میزان خود در مقایسه با سایر غلظت‌ها در روز چهارم و روز سوم نشان داده است. هرچند

www.SID.ir

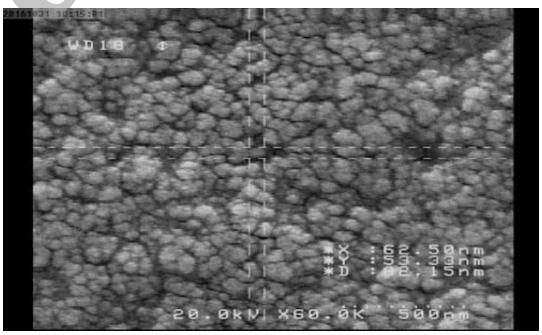
این مقادیر با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشته‌اند (۰/۰۵ >p).

آزمون‌های شیمیایی

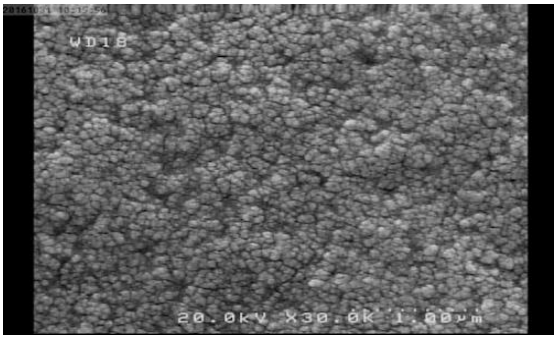
نتایج میکروسکوپ الکترونی

برای اندازه‌گیری نانو ذرات نقره و پراکندگی ذرات و کلوخه ای نشدن نانو ذرات نقره با میکروسکوپ الکترونی روبشی اندازه‌گیری گردید که نگاره ۵ و ٤ پراکندگی ذرات را نشان می‌دهد. همان گونه که در تصاویر میکروسکوپ الکترونی مشاهده می‌گردد همچنین اندازه پراکنش ذرات در پوشش‌ها نانو نقره به طور متوسط از ۵۵–٦۵ nm گزارش گردید.

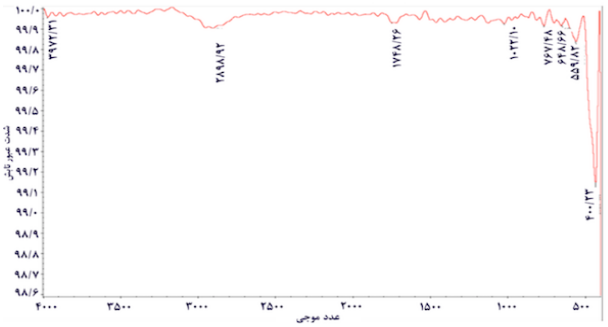
همان طور که در نگاره ٤ و۵ ملاحظه می‌گردد پراکنش ذرات با ۲۰ کیلو ولت و با ۳۰ KX و ٦۰ و DW ۱۸پراکندگی نانو ذرات نقره را در تصویر نشان داده شده، اندازه ذرات به طور میانگین ٦۲ nm اندازه‌گیری شده است.



نگاره ٤– تصویر میکروسکوپ الکترونی Fesem از پوشش با بزرگنمایی ٦۰ KX



نگاره ۵– تصویر میکروسکوپ الکترونی Fesem از پوشش با بزرگنمایی KX ۳۰



نمودار ٦ – آزمون FTIR برای پوشش نانو نقره

همان طور که در نمودار ٦ آزمون FTIR مشاهده می شود، هدف تعین و تشخیص مواد مجهول و تعیین یکنواختی ذرات در پوشش‌ها و تشخص پیوندهای شمیایی بوده است. همچنین هر چه مقدار تابش عبور کرده در یک عدد موجی مشخص کمتر باشد، میزان جذب تابش توسط پیوند مرتبط بیشتر خواهد بود. در قسمت چپ نمودار مقدار عبور امواج را در پوشش نشان میدهد و در سمت پایین نمودار شمارش موج‌های ساطع شده ثبت گردیده است.

بحث

همان طور که انتظار می رفت تاثیر ذرات نانو نقره به خوبی قابل مشاهده است و بیشترین شمارش کلی میکروبی مربوط به پوشش پلی اتیلن یا شاهد می‌باشد که بار میکروبی آن در هر روز افزایش داشته و با افزایش درصد نانو نقره لفاف‌های بسته‌بندی بار میکروبی کاهش یافته است. همان طور که پیرموسوی و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کرده اند بسته‌بندی‌های حاوی نانو ذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش ماندگاری رطب می‌گردد، یافته‌های این پژوهش نیز حاکی از اثر مثبت این نوع لفاف‌ها در افزایش زمان ماندگاری کله پاچه می‌باشد(۳). همانطور که akbar و همکاران در سال ۲۰۱٤ گزارش کردند ذرات نانو نقره با اندازه ۱۰۰ نانو متر در برابر دو پاتوژن گوشت مرغ به نام سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس موثر واقع گردید این در حالی است که اندازه ذرات نانو در تحقیق مذکور ٦۲ گزارش گردید و این

Archive of SID

www.SID.ir

ذرات توانست روی باکتری‌های اشریشیا کلای و استافیلوکوکوس اورئوس موثر باشد و خاصیت آنتی باکتریالی مشاهده گردید، هرچقدر سایز ذرات در پوشش‌های بسته‌بندی ریزتر باشد درمقیاس نانومتریک، میزان خاصیت آنتی باکتریال به شدت افزایش می‌یابد (۸).

در تحقیق انجام شده در سال ۱۳۸۹ سلطانی و همکاران زمان ماندگاری قزل‌آلای رنگین کمان با کاربری فیلم هایی با سایز ٤٠ نانو متر تغیر محسوسی نداشته این در حالی هست که پوشش‌های به کارگیری شده در این تحقیق با اندازه ٦٤ نانو متر خاصیت ضد میکروبی در آنها مشاهده گردیده شد(۵).

خواص ضدمیکروبی نانو ذرات نقره برای گروه‌های مختلف باکتریایی مورد مطالعه متفاوت و منحصر به فرد است. از سوی دیگر مطالعات نشان داده است که بار الکتریکی منفی سطح باکتری‌ها موجب جذب شدن نانو ذرات نقره به خود می‌شود بنابراین احتمالا وجود اختلاف بار الکتریکی سطحی بین باکتری‌های گوناگون می‌تواند موجب تفاوت در میزان جذب نانو ذرات نقره به خود و در نهایت موجب تفاوت خاصیت ضد باکتریایی نانو نقره علیه سوش‌های مختلف باکتریایی شود. استفاده از پوشش‌های بسته‌بندی نانو به شرط عدم رهایش ذرات به درون محصول وعدم تغییر در بافت اولیه محصول قطعا به عنوان یکی از راهکارهای اصلی در افزایش زمان وتعویق فساد می‌باشد وجای آن دارد که استفاده از ترکیبات نگهدارنده طبیعی و گیاهی نیز بصورت ترکیبی همراه این لفاف‌ها مورد پایش قرار بگیرد (٤و ۳).

در سایر تحقیقاتی که در این زمینه در مورد فرآورده‌های گوشتی و مواد غذایی انجام شده و به آنها اشاره شد، تنها اثر مثبت ذرات نانو نقره و سایر نانو ذرات به کار رفته در پوشش بسته‌بندی در کاهش بارمیکروبی مواد غذایی نشان داده است. لذا با توجه به اهمیت نوع مواد غذایی و نوع باکتری، بررسی‌های بیشتری برای هر یک از مواد غذایی جهت تعیین اثر ذرات نانو نقره و سایر ذرات نانو به روی مواد غذایی می‌طلبد تا بتوان با برنامه ریزی‌های بعدی و تکمیلی را برای افزایش کارایی این تکنولوژی جدید جهت افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی با فساد پذیری بالا انجام داد و آن را کامل‌تر از پیش نمود(۱۵).

در تحقیقی که اهری و همکاران سال۱۳۹۱ انجام دادند ، به روی تعداد ۱۰ بسته ۵ گرمی زعفران تهیه شده از فروشگاه‌های زنجیره‌ای و معتبر در سطح شهر تهران آزمون میکروبی بر پایه استاندارد (۲۱۹۸ آزمون میکروبی زعفران موسسه استاندارد ایران) انجام شد و نسبت به پوشش‌های عاری از پوشش نانو که تحت عنوان شاهد بودند، بررسی و مقایسه گردید که در نهایت یکی از انواع پوشش‌های ۳ و ۵ و صفر درصد معادل ٤۰۰۰ppm توانست بار میکروبی را تا ۹۸درصد تقلیل دهد، در حالی که در پژوهش مذکور پوشش‌های با غلظتppm ۳۵۰۰ و ٤۰۰۰ توانست بارمیکروبی را در روز های سوم و چهارم ثابت نگه دارد(۱).

در تحقیق ستاری وهمکاران سال ۱۳۸۸ انجام گردید، پوشش‌ها نانو کامپوزیت که از نانو نقره ونانو رس استفاده گردیده شده بود یافتند که با افزایش درصد نانو نقره تا ۱/۵درصد شمارش کپک ها نسبت به نمونه شاهد با کاهش چشمگیری مشاهده شده است. این در حالی است که در پژوهش مذکور پوشش‌هایی با غلظت ۳۵۰۰ و٤۰۰۰ بیشترین تاثیر در کاهش بارمیکروبی را در کله پاچه داشتند و کمترین شمارش کلی میکروبی مربوط به پوشش ٤۰۰۰ بوده است (٦).

اهری و همکاران دریافتند که اثر نوع فیلم نانو نقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم و مدت نگهداری به عنوان عامل اصلی در کاهش فلور قارچی نان معنی‌دار بوده وبه طوری با حضور نانو ذرات در پوشش بسته‌بندی فلور قارچی کاهش یافته است، در حالی که در تحقیق مذکور نانو ذرات نقره با فتوکاتالیست تیتانیوم دی اکسید توانست بارمیکروبی کله پاچه را در پوشش‌هایی با غلظت ppm ۳۰۰۰ و ۳۵۰۰ و ٤۰۰۰ ثابت نگه دارد(۲).

www.SID.ir

در پژوهشی دیگر، akbar و همکاران سال ۲۰۱۳ اثر ترکیب ضد میکروبی فیلم های نانو کامپوزیت نقره پائین و پلی اتیلن با دانسیته پائین و اتمسفر اصلاح شده در ماندگاری بسته‌بندی فیله سینه مرغ بررسی کردند. نتایج نشان داد که در سطح معنی‌داری در مقایسه ماندگاری فیله سینه مرغ نسبت به اکسیداسیون فیلم شاهد افزایش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد که فیلم‌های پلی اتیلن دانسیته پائین حاوی نانو ذرات نقره می‌تواند به عنوان بسته‌بندی ضد میکروبی در مواد غذایی استفاده شود، در حالی که در پژوهش مذکور پوشش‌های حاوی نانو ذرات نقره با غلظت‌های ppm ۳۵۰۰ و ppm ۴۰۰۰ نانو ذرات نقره در ٤ روز آزمایش به روی کله پاچه تاثیر بیشتری نسبت به سایر غلظت‌های نانو نقره داشت(۹).

در این تحقیق از پوشش‌هایی با غلظت ppm ۳۵۰۰ و ppm ٤۰۰۰ استفاده گردیده شد که دارای بیشترین تاثیر به روی کله پاچه نگهداری شده در یخچال ٤°C داشته است و توانست بارمیکروبی کله پاچه را ثابت نگه دارد، ممکن است بتوان غلظت‌های بالاتر را باخاصیت آنتی باکتریال تولید و بکار برد ولی میزان رهایش در این دسته از پوشش‌ها به محصول یکی از اصلی ترین نکات ایمنی غذایی می‌باشد که با افزایش درصد پوشش‌ها میزان رهایش به شدت افزایش می یابد.

در خاتمه چنین نتیجه گیری می‌شود که غلظت‌های ppm ۳۵۰۰ و ppm ٤۰۰۰نانو ذره نقره در حفظ میزان نسبی باکتری ایشیرشیا کلای در ٤ روز آزمایش بر روی کله پاچه تاثیر بیشتری نسبت به سایر غلظت‌های نانو نقره دارند. همچنین سایز نانو ذرات نقره با میکروسکوپ الکترونی اندازه‌گیری و ٦۲ nm گزارش گردید در نهایت با توجه به کلیه نتایج استفاده از لفاف‌های بسته‌بندی نانو نقره اصلاح شده با فتوکاتالیست TIO_2 برای افزایش ماندگاری کله پاچه توصیه می‌شود.

فهرست منابع

۱. اهری، ح.، انوار، الف.، شکری، الف.، بیات، م.، طلاکش، ف.، صادقی، م.، رحمان‌نیا، ه. (۱۳۹۱): بررسی اثر نانوذرات 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، مجله پاتو بیولوژی مقایسه‌ای، ۹ (٤): ۷۹۳-۸۰۲

۲. اهری، ح.، محمدی، ح.، انوار، س.، تومداری، الف.، قجربیگی، پ. (۱۳۹۵): ارزیابی بسته‌بندی با پوشش‌های ۳٪ و ۵٪ نانونقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم در رشد قارچی نان‌های مصرفی، مجله علوم غذایی و تغذیه، ۱۳ (۱): ۷۵-۸٦.

۳. پیرو موسوی، ف.، حیدری نسب، الف.، هاشمی‌پوررفسنجانی، ح.، چشمه گز، ر. (۱۳۹۲): بررسی اثر فیلم‌های حاوی نانو ذرات نقره بر زمان ماندگاری رطب مضافتی، مجله علوم غذایی وتغذیه، ۱۰ (٤): ۷۱-٦۵.

٤. ستاری نجف آبادی، م.، مینایی، س.، افشاری، ح.، عزیزی، م. (۱۳۸۸): تاثیر بسته‌بندی با فیلم های نانویی بر ویژگی های ارگانولیپتیکی و میکروبی نان، مجله علوم تغذیه و صنایع و غذایی ایران، ٤ (٤): ۷٤-٦۵.

۵. سلطانی، م.، اهری، ح.، عطایی، م. (۱۳۸۹): اثر ممانعت کنندگی ذرات نانو نقره بر برخی از باکتری‌های بیماری زای ماهی: استرپتوکوکوس اینیایی.لاکتوکوکوس گارویه، یرسینیا راکری، مجله طب دامی ایران، ۵۱ (۱): ٤۸-۲۹.

٦. ستاری، م.، مینایی، س.، عزیزی، الف.، افشاری، ح. (۱۳۸۸): تاثیر بسته‌بندی با فیلم های نانویی بر ویژگی های ارگانولپتیکی و میکروبی نان، مجله علوم تغذیه و صنایع و غذایی ایران، ٤ (٤): ٦۵-۷٤.

۷. مرادی، الف.، بینش، م. (۱۳۸۸): بررسی تاثیر استفاده از نانو ذرات نقره ودی اکسید تیتانیوم در بسته‌بندی پلی اتیلنی مورد استفاده در نگهداری خرمای مضافتی بر روی تغییرات میکروبی آن طی ٦ ماه، مجله زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد، ٤ (۲): ٤۵-۵۲.

۸ . ولی‌پور، م.، موسویان، م.، مرتضوی، س. (۱۳۸۸): تاثیر بسته‌های محتوی نانوذرات نقره بر مشخصه‌های میکروبی وظاهری زرشک در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن معمولی، مجله پژوهش‌های علوم وصنایع غذایی ایران، ۵ (۲): ۷۵-۸۷.

9. Akbar, A., Anal, A.k. (2013): Prevalence and antibiogram study of Salmonella and Staphylococcus aureus in poultry meat. Asian. Pac. J. Trop. Biomed. 3(2):163-168.

Archive of SID

www.SID.ir

10. Azlin, S., Cruz-Romero, M.C., Cummins, E., Kerry, J.P., Morris, M.A. (2016): The potential use of a layer-by-layer strategy to develop LDPE antimicrobial films coated with silver nanoparticles for packaging applications. J. Colloid Interface Sci. 461:239-248.

11. Cozzolino, C.A., Nilsson, F., Lotti, M., Sacchi, B., Piga, A., Farris, S. (2013): Exploiting the nano-sized features of microfibrillated cellulose (MFC) for development of controlled-Release packaging. Colloids Surf B Biointerfaces. 110:208-216.

12. Kuuliala, L., Pippuri, T., Hultman, J., Auvinen, S.M., Kolppo, K., Nieminen, T., Karp, M., Bjorkroth, J., Kuusipalo, J., Jaaskelainen, E. (2015): Preparation & antimicrobial characterization of silver-containing packaging materials for meat. Food Packaging and Shelf Life. 6:53-60.

13. Martins, N.C., Freire, C.S., Pinto, R.J., Fernandes, S.C., Neto, C.P., Silvestre, A.J., Causio, J., Baldi, G., Sadocco, P., Trindade, T. (2012): Electrostatic assembly of Ag nanoparticles onto nanofibrillated cellulose for antibacterial paper products. Cellulose. 19(4):1425-1436.

14. Martinez, A., Lagaron, J., Ocio, M. (2012): Development and characterization of silver-based antimicrobial ethylene-vinyl alcohol copolymer (Evoh) films for food-packaging applications. J. Agric. Food Chem. 60(21):5350-5359.

15. Patino, J.H., Henriquez, L.E., Restrepo, D., Mendoza, M.P., Lantero, M.I., Garcia, M.A. (2014): Evaluation of polyamide composite casings with silver-zinc crystal for sausages packaging. Food packaging and shelf life. 1:3-9.

16. Sharafi Soltani, M., Vadood, R., Nourdahr, R. (2012): Study on the antimicrobial effect of nanosilver tray packaging of minced beef at refrigerator temperature. Glob. Vet. 9(3):284-289.

Archive of SID

www.SID.ir