

# 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<sup>۱\*</sup>، امیرعلی انوار<sup>۱</sup>، انعام شکری<sup>۲</sup>، منصور بیات<sup>۱</sup>، فرزاد طلاکش<sup>۲</sup>، محمد صادقی<sup>۳</sup>، هدی رحمان نیا<sup>۴</sup>

## 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 تعداد ۱۰ 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) انجام یافته 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 درصد معادل ۴۰۰۰ ppm 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 تیترو 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 ۲ و ۳ ماه انجام گردید که پس از انتقال به آزمایشگاه شیمی مواد غذایی توسط دستگاه اندازه گیری فلزات سنگین (تیترو سنج مدل ۴۲۸) به بررسی میزان باقی ماندگی ذرات پرداخته شد که نتایج حاکی از باقی ماندگی کمتر از ۱ ppm در نمونه‌های تهیه شده بود.

واژگان کلیدی: زعفران، ذرات نانو، بار میکروبی

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۲ 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 تجارتي با توجه به ویژگی‌های اندازه‌ی

کلاله، رنگ، عطر (بوی خوشایند) و طعم (عطر و مزه) دهندگی تنها به کلاله و یا 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 ۳-۵ سانتی متر می‌باشد. از هر پیاز ۶ 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 دارای یک 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 سانتی متر منتهی می‌شود. در اصطلاح به قسمت کلاله‌ها و یا 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 کوزانسیس کشت می گردد. عنوان شده است که نام کروکوس بر گرفته از همان ناحیه می باشد. اما این نام قبل از یونان وجود داشته و احتمالاً منشأ 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

\* - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان، تهران، ایران.

Dr\_hamed\_ahari@hotmail.com

۲- آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی تعاونی فرآورده‌های گوشتی ایران

۳- عضو هیات علمی دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی، دانشگاه پیام نور استان تهران، تهران، ایران

زعفران از مناطق شرق مدیترانه، احتمالاً آسیای میانه و ایران به سایر مناطق گسترش یافته 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 ۴۰۰ 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 ۴/۳ تن)، آذربایجان (حدود ۳/۷ تن)، اسپانیا (حدود ۲/۶ تن)، مراکش (حدود ۱ تن) و ایتالیا (حدود ۰/۲۴ 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 گرفته‌اند. دانشمندان بر این عقیده‌اند 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 شده‌اند و تکنیک‌هایی از قبیل بهبود ایمنی غذا و امکان ردیابی در زنجیره غذایی را میسر می‌کنند. بعضی از انواع محصولات نانو تکنولوژی از قبیل فیلم‌های ضد میکروبی از هم اکنون وارد بازار مصرف شده‌اند. 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 کارایی 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 انتروکوک (Enterococcus)
- ۲-۱- محیط کشت اسلتر بارتلی (SLANETZ-BARTLEY)
- ۲-۲- محیط کشت KF
- ۲-۳- محیط کشت صفرا - اسکولین آزاید آگار
- ۲-۴- 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 اشیشاکلی)
- ۳-۳- محیط آب پپتونه بدون اندول (Pepton water indol free)
- ۳-۴- معرف اندول (کواکس) Kovac's reagent
- ۴- محیط جستجو شمارش اسپور کلستریدیوم‌های احیا کننده سولفیت (Sulfite - reducing bacteria)
- ۴-۱- محیط کشت آهن - بلاد آگار دار (۸ و ۹)

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

استاندارد ۵۶۸۹

نوع میکروب	حداکثر مجاز تعداد کلنی در استاندارد ۵۶۸۹
انتروکوک	منفی
اشرشیا کلی	منفی
کپک	۱۰ <sup>۲</sup>
اسپورکلستریدیوم	۱۰ <sup>۲</sup>
احیاکننده سولفیت	

در این تحقیق اثر پوشش‌های نانو نقره بر اثرات میکروبی زعفران در چهار میکروارگانیسم که معمولاً در زعفران مطرح هستند بررسی شده است، که سوش‌های مورد بررسی عبارتند از انترکوک اشرشیا کلی اسپور کلسترییدیوم های احیا کننده سولفید و کپک که حد مجاز آنها در جدول ۱ آمده است و در این تحقیق سعی بر این بوده است که اثر میکرووب زدایی نانو نقره را در بسته بندی زعفران برای پایین آوردن بار میکروبی میکرو ارگانیسم‌های ذکر شده که در سلامت محصول نهایی بسیار مهم می‌باشد را بررسی نمائیم.

الف: آماده سازی زعفران و تهیه سوسپانسیون اولیه بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۴-۸۹۲۳ و ۴-۶۸۸۷، برای آماده سازی زعفران ابتدا آن را باهاون چینی استریل شده نرم کرده و سپس مقدار ۱ گرم را در ۱۹ سی سی آب پپتونه نمکی بروموکرزول دار اضافه می‌کنیم (محیط کشت EC Broth) و خوب آن را بر هم زده یا توسط شیکر لوله ای و یا توسط استومیکر محلول سوسپانسیون اولیه یک بیستم ساخته و از این سوسپانسیون در آزمونهای بعدی استفاده گردید (۷ و ۵).

**روش جستجو و شمارش انتروکوک‌ها بر اساس**

#### استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۹۸

باکتری‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی، کروی یا تخم مرغی شکل از خانواده آنتروباکتریاسه هستند و دارای آنتی ژن ۵ می‌باشند در بررسی و آزمون مواد غذایی انتروکوک‌ها را مانند اشرشیا کلی به عنوان نشانگر آلودگی مدفوعی (شاخص بهداشتی) از خانواده آنتروباکتریاسه در نظر می‌گیرند که نسبت به اشرشیا کلی در برابر شرایط سخت محیطی مقاوم هستند (۶).

\*انتروکوک‌ها باکتری‌هایی هستند که قادر به احیای ترکیب ۳ و ۲ تری فنیل تترا زولیم و اسکولین را نیز در دمای ۴۴ درجه سلسیوس که در محیط‌های کشت به کار برده شده هیدرولیز می‌کنند.

برای جستجوی انتروکوک ابتدا مقدار ۱ میلی لیتر از آزمون را به ۱۰ سی سی محیط کشت مایع گلوکز تلقیح می‌کنیم و به مدت ۲۴ تا ۲۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری می‌کنیم و از تک پرگنه‌هایی که به رنگ صورتی ارغوانی یا قرمز رنگ هستند برای تایید آزمون هیدرولیز اسکولین را انجام می‌دهیم و در صورت انجام هیدرولیز وجود انتروکوک را مثبت اعلام می‌کنیم (۱۳).

#### روش جستجوی اشرشیا کلی بر اساس استاندارد ملی

#### ایران شماره ۲۹۴۶

اشرشیا کلی باکتری‌هایی هستند که در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد با تخمیر لاکتوز تولید گاز می‌کنند و از تریپتوفان نیز اندول تولید می‌کنند.

برای جستجوی ۱ میلی‌متر از آزمون را به ۹ میلی‌متر محلول لوریل سولفات با غلظت معمولی اضافه می‌کنیم و سپس لوله‌های تلقیح شده را به مدت ۲+۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری می‌کنیم و اگر گاز یا کدورت مشاهده نشد گرمخانه گذاری را برای همان مدت تمدید می‌کنیم. در صورت مشاهده هر گونه کدورت یا گاز پس از گرمخانه‌گذاری توسط حلقه کشت یک حلقه از لوله‌های مثبت را به لوله‌های حاوی ۱۰ سی سی محیط کشت EC تلقیح می‌کنیم و به مدت ۲+۲۴ ساعت در دمای ۴۴ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری می‌کنیم، اگر باز هم گاز مشاهده نشد زمان را به همان مقدار تمدید می‌کنیم. چنانچه در لوله‌ها گاز مشاهده شد از آن توسط حلقه کشت به لوله حاوی ۱۰-۵ سی سی آب پپتونه بدون اندول که دمای آن به ۴۴ درجه سلسیوس رسیده است تلقیح می‌کنیم و آن را بمدت ۲+۲۸ ساعت در دمای ۴۴ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری می‌کنیم بعد ۰,۵ میلی لیتر از معرف اندول (کواکس) را به لوله‌های آب پپتونه گرمخانه گذاری شده اضافه می‌کنیم و خوب مخلوط می‌نماییم و پس از یک دقیقه ایجاد رنگ قرمز در فاز الکل را دلیل بر وجود اندول

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

### شمارش اسپور کلستریدیوم بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۹۴۳۲

کلنی این باکتری‌ها به رنگ سیاه و احتمالاً دارای‌هاله سیاه در محیط‌های اختصاصی دیده می‌شود. 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 می‌دهیم 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 می‌کنیم و به هر پلیت حدود ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت سولفیت آهن آگار دار با دمای ۴۴-۴۷ درجه سانتی‌گراد اضافه می‌کنیم و خوب ترکیب نموده و سپس از جامد شدن محیط مقدار ۵-۱۰ میلی لیتر دیگر از همان محیط را روی آن می‌ریزیم، کشت دو لایه انجام شود بعد از جامد شدن پلیت‌ها را داخل جار بی‌هوازی قرار داده و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری کرده و کلنی‌های سیاه که احتمالاً دارای‌هاله سیاه باشند و در محیط رشد کرده‌اند را به عنوان باکتری‌های بی‌هوازی 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 می‌نمایم. روش شمارش کپک در فراورده‌های با فعالیت آبی مساوی یا کمتر از ۰.۹۵٪.

کپک‌ها میکرو ارگانسیم‌های رشته‌ای، 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) شماره ۲-۱۰۸۹۹ (۴)

مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه به محیط حاوی کشت انتقال می‌دهیم و با میله شیشه‌ای یا لوله آل 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 گرمخانه‌گذاری می‌کنیم و در صورت لزوم پلیت‌ها را برای مدت ۱ تا ۲ روز در معرض نور غیر مستقیم قرار می‌دهیم 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 هیچ‌گونه 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 (۱۹ و ۲).

به همین منظور ۱۰ نمونه دیگر را با کپکی که از نمونه آلوده جداسازی شده بود بصورت دستی آلوده به هاگ‌های 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.

در بخش دوم به بررسی اندازه‌گیری میزان رهائش ذرات نانو نقره در محصول بسته بندی شده پرداخته شد:

ابتدا پوشش‌های بسته بندی در درصدهای تهیه شده را که حاوی نقره می‌باشند به ابعاد (۲در۲ سانتی متر) بریده و بعد

از تهیه سوسپانسیون با اسید سولفریک ۴۰ درصد در دستگاه تیتراژور انتقال داده و در نهایت تا جایی که الکتروود دستگاه کاملاً درون بشر حاوی سوسپانسیون قرار گیرد، مخزن دستگاه حاوی نرمالیت استاندارد KCL می‌باشد که توسط الکتروود نقره و محلولی که حاوی نقره است، می‌توان میزان نقره را قرائت می‌نماید.

KCL موجود در مخزن وارد محلول نقره می‌شود سپس CL با Ag واکنش داده و رسوب AgCL تولید می‌شود 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:  $N_1 V_1 = N_2 V_2$  می‌توان نرمالیت محلول را حساب کرد.

$$N_1 = KCL$$

$$V_1 = KCL$$

$$N_2 = ?$$

$$V_2 = 5cc$$

$$1000 = mg/lit = ppm.$$

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 آوگادرو 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 (۴).

اصولاً نقطه اکسی 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 اکسی والان باید خیلی مهم باشد. روش پتانسیومتری یکی از متداول ترین روشهای تشخیص نقطه اکسی والان است این روش تشخیص، کل تیتراسیونهای آبی، غیر آبی اسید و باز، اکسیداسیون احیاء، رسوبی و کمپلکسومتری را پوشش می‌دهد (۱۳).

اساس تشخیص نقطه اکسی والان به این روش مبتنی بر دو الکتروود می‌باشد، یکی الکتروود شناساگر و دیگری الکتروود مرجع و چیزی که در اینجا اندازه‌گیری می‌شود پتانسیل الکتروودها نیست بلکه تفاضل پتانسیل بین الکتروود شناساگر و الکتروود کار در هر لحظه می‌باشد.

در واقع الکتروود شناساگر پتانسیلی را تامین می‌نماید که وابسته به وضعیت محلول داخل ظرف تیتراسیون می‌باشد. و الکتروود مرجع عهده دار تامین پتانسیلی است که کاملاً مستقل از وضعیت محلول داخل ظرف تیتراسیون است. این اختلاف پتانسیل بین دو الکتروود توسط یک ولتاژمتر اندازه‌گیری می‌شود که مقاومت داخلی بسیار بالایی دارد. رابطه تئوری اندازه‌گیری این اختلاف پتانسیل به قرار زیر می‌باشد (۳).

$$U = U_0 + 2.303 \times RT \times \text{Log} a_i$$

$$Z_i \times F$$

$$R = 8.314 \text{ J/K/mol}$$
 ثابت گازها

$$U =$$
 پتانسیل بین دو الکتروود اختلاف

$$U_0 =$$
 پتانسیل الکتروود شناساگر

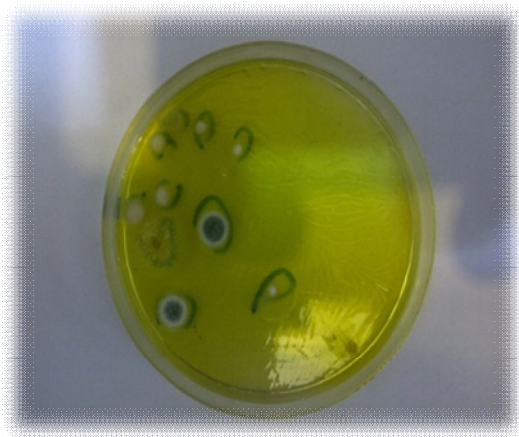
$$Z_i =$$
 بار یونی

$$F = 96484.56 \text{ C/mol}$$
 عدد فارادی

$$a_i =$$
 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:

از رشد پاتوژن جلوگیری ننموده است ولی فیلم‌های شفاف آغشته به نانو نقره ۴۰۰۰ پی پی ام در این مدت توانسته است حدود ۹۸ درصد 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

ابتدا آماده‌سازی نمونه‌های فیلم در آزمایشگاهی انجام یافته و سپس مقدار ۳ سانتیمتر 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 بزرگنمایی ۱۰/۰۰kx تصاویر نمونه به روی مانیتور ظاهر گردیده که در بخش نتایج رویت می‌گردد (۱۶ و ۵).

## نتایج

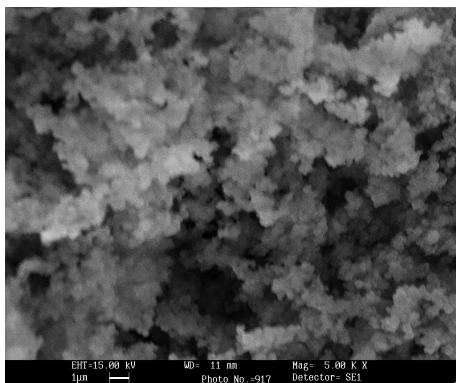
با بررسی و شمارش کپک و مقایسه آنها با یکدیگر مشخص گردید که فیلم‌های آغشته به نانو نقره ۱۲۰۰ پی پی ام اثر ممانعت کننده نداشته و در مدت ۷۲ ساعت (جدول ۲ و ۳)

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

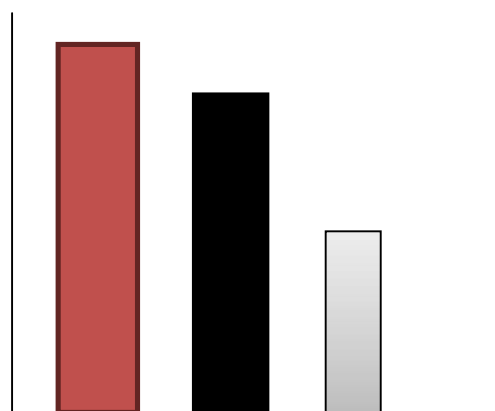
درصد فیلم‌ها	۰		۳		۵	
	Ent	TCAMB	Ent	TCAMB	Ent	TCAMB
فیلم بسته بندی						
بدون ذرات نانو نقره	۲۰۰۰	۱۰۰۰۰	۳۶۰	۸۰۰۰	۱۲	۴۰۰۰
حاوی ذرات نانو نقره	۴۰۰	۱۰۰۰	۶۰	۱۰۰۰	۱۲	۱۰۰

جدول ۳: محاسبه اثرشیاکلی (E.coli) و کلستریدیوم پرفرینتیس (C.Pf) در فیلم‌های نانو و شاهد




فیلم بسته بندی	۰		۳		۵	
	E.Coli	C.Pf	E.Coli	C.Pf	E.Coli	C.Pf
بدون ذرات نانو نقره	۲۰۰۰	۱۰۰۰۰	۴۰۰	۴۰۰	۴۰۰	۱۰۰
حاوی ذرات نانو نقره	۴۰۰	۲۰۰۰	۰	۰	۰	۰



نگاره ۳: بابرگنمائی MAA KX 5/00 باقطرذرات امیکرومتر فیلم A



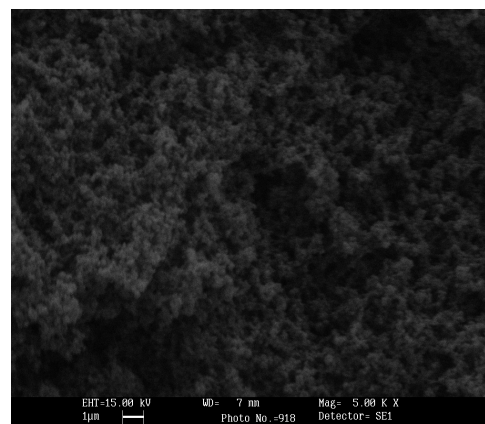
نمودار ۱: درصد رشد کپک در کلیه نمونه‌ها

 نمونه تیمار شده با فیلم نانو نقره کرم  
 نمونه‌های شاهد  
 نمونه‌های تیمار شده با فیلم نانو نقره شفاف

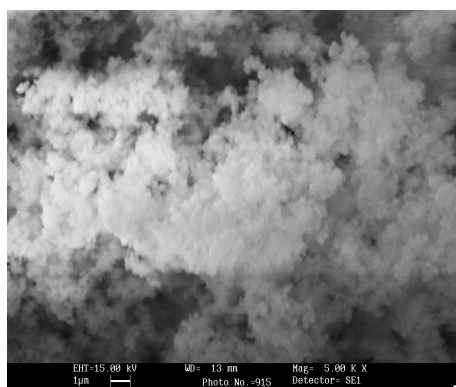
1-Spotter Coater 2-scanning electron microscope

در پروژه دوم طرح مذکور به بررسی میزان باقی ماندگی ذرات نانو بعد از ۱ و ۳ ماه 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 در یک نمونه ۲ پی پی ام گزارش گردید که بیانگر اتمام الکتروود تشخیصی و اعمال یون‌های نقره مثبت می‌باشد لذا به طور معنی داری آزمون عدم رهائش تأیید می‌گردد (نگاره های ۲ الی ۴).

نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی



نگاره ۴: MAA بابرگنمائی KX 5/00 باقطرذرات امیکرومتر



نگاره ۴: بابرگنمائی NAA KX 5/00 باقطرذرات امیکرومتر فیلم B

### بحث

در تحقیق مذکور، بسته بندی با فیلم‌های حاوی نانو ذرات که بر پایه کلونید سیلور بودند برای اولین بار در ایران جهت افزایش زمان ماندگاری زعفران و کاهش بار میکروبی در زعفران به عنوان یک 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 غذایی بنشینند از چرخه خارج می‌شوند و یا بعبارتی در تحقیق دیگری که میزان باقی ماندگی بررسی شده وجود ذرات به

روی زعفران رد گردیده است، همین طور در دسته دوم از این پوشش‌های نانو از کلونید نانو سیلور 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 دنبال یافتن 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 سازی یون‌های نقره باعث کاهش، جلوگیری و یا به تاخیر انداختن رشد میکروبها و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت محصول غذایی می شود. این ترکیبات در ساختار پدهای جاذب و یا در ترکیب با پلیمرهای پلی اتیلن، پلی پروپیلن، پلی استایرن به کار می رود (۱۵).

روشهای معمول نگهداری غذا شامل فرآیند حرارتی، خشک کردن، انجماد، سرد کردن، پرتو دهی، بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و افزودن مواد ضد میکروبی یا نمک‌ها می باشد. متأسفانه برخی از این روش‌ها در مورد غذاهای تازه و آماده

مصرف قابل کاربرد نمی باشد. 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 ضد میکروبی به صورت سطحی در غذا، فواید آن را به دلیل خستگی شدن این ترکیبات در سطح و یا 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، طلا یا مس به داخل فیلم بسته بندی تولید و با آزاد سازی یونهای فلزی باعث کاهش، جلوگیری و یا به تاخیر انداختن رشد میکروب‌ها و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت محصول غذایی می شود (۲ و ۳).

در ژاپن استفاده از نانو ذرات نقره به عنوان ماده ضد میکروب در پلاستیک‌ها توسعه یافته 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 می باشند (۲۰ و 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 پوشش‌ها هرچه سایز ذرات



- absorption into various polymeric packaging materials. *J. Food Sci.* (57):963-6.
- Gallo, J.A.Q., Debeaufort, F., Voilley, A. (1999): Interactions between aroma and edible films. I. permeability of methylcellulose and low-density polyethylene films to methyl ketones. *J. Agric Food Chem.* (47):108-13.
  - Gremil, H. (1994): Flavor change in plastic containers. *Perfum Flav.* (21):1-8.
  - Landois, G.J., Hotckiss, JH, editor. (1998): Food packaging interaction. American Chemical Society, Washing D.C. P: 42-58.
  - Letinski, J., Halek, G.W. (1992): Interactions of citrus flavor compounds with polypropylene films of varying crystallinities. *J. Science Food Agric.* (57):481-3.
  - 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.
  - Linsse, J.P.H., Roozen JP. In: Mathlouthi M, editor. (1994): Food packaging and preservation. Blackie Academic & Professional, Glasgow. P: 48-61.
  - Mahoney, S.M., Hernandez, R.J., Giacini, 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.
  - 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.
  - 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.
  - 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. Elsevier Science B.V. Amsterdam, P: 735-41.
  - 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.

نانومتریک تر و کوچکتر باشند با توجه 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 ۱ تا 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 و تحقیقات تهران) که طرح مصوب مذکور با حمایت مالی این ارگان انجام یافته 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

- 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، ۳۴-۴۵، ۷۶-۸۲
- Blain, P.J. (1994): *Memorie d'Ing'énieur ENS". BANA. Agricultural Univ. Wageningen, The Netherlands.* P: 9-11.
- Brody, A.L (2002): Flavor scalping quality loss due to packaging. *J. Food tech.* 56 (6): 124-5.
- Carballo, G.I., 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.
- Charara, Z.N., Williams, J.W, Schmidt, R.h. Marshal M.R. (1992): Orange flavor

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., Okamura, 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-density polyethylene. *Oil and food products. J. Sci Food Agric.* (80):179-7.2002.