

ارزیابی بسته بندی با پوشش‌های ۳٪ و ۵٪ نانونقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم در رشد قارچی نان های مصرفی

حامد محمدی^a، سید امیرعلی انوار^b، پیمان قجربیگی^c، حامد اهری^{d*}، ایرج طوماری^e

^a کارشناس ارشد گروه تغذیه و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
^b استادیار دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^c استادیار گروه تغذیه و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
^d استادیار دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^e کارشناس آزمایشگاه مجتمع آزمایشگاهی رازی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: در این پژوهش با توجه به خاصیت ضد میکروبی بسته‌های محتوی نانوذرات نقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم، تاثیر این بسته ها روی فلور قارچی نان‌های مصرفی با بسته‌های پلی اتیلن رایج مورد مقایسه قرار گرفت. این مطالعه تجربی در رابطه با افزایش زمان ماندگاری نان‌های مصرفی به اجرا در آمده است.

مواد و روش‌ها: ابتدا بصورت تصادفی تعداد ۲۴ نمونه از هر ۶ نوع نان سنگک، بربری، تافتون، جو، باگت و تست تولیدی از ۱۲ نانواپی منطقه ۲ شهر تهران تهیه شد. نمونه‌های نان اخذ شده در پوشش‌های نانویی ۳٪، ۵٪ و پلی اتیلن معمولی (شاهد) قرار داده شد و در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۸ در دو تکرار بر اساس استاندارد ملی ایران تحت کنترل و آزمایشات میکروبی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثر نوع فیلم و مدت نگهداری به عنوان عوامل اصلی بر فلور قارچی نان معنی‌دار بوده است ($P=0/000$). به طوریکه با حضور نانوذرات در پوشش بسته‌بندی، فلور قارچی کاهش داشته است و با افزایش مدت روزهای نگهداری تعداد انواع قارچ افزایش یافته است ولی این افزایش در اکثر موارد در نوع نان و نوع قارچ یکسان نبود و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشت ($P=0/000$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده چنین می‌توان گفت که استفاده از پوشش‌های حاوی نانوذرات نقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم برای بسته بندی نان با توجه به افزایش روز افزون جمعیت و در راستای ارتقای امنیت غذایی نسبت به پوشش‌های پلی اتیلن ارجحیت دارد و استفاده از این نوع پوشش‌ها در صنایع پخت بعد از ارزیابی ایمنی پوشش بسته بندی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ذخیره سازی، کپک، نان، نقره، نان

مقدمه

افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی از جمله نان امری بسیار مهم و قابل توجه است. نان از نظر کیفیت و ارزش غذایی قابل اهمیت است زیرا به تنهایی می تواند قسمت اعظم انرژی، پروتئین و سایر مواد مغذی بدن را تامین نماید. نان مانند انواع محصولات دیگر غلات به عنوان ارزان ترین منبع انرژی و پروتئین در تغذیه قسمت اعظمی از مردم جهان نقش حیاتی دارد. در سال های اخیر کشور ایران با انبوهی از ضایعات نان مواجه هست، به طوری که گاهی تا ۳۰٪ نان، تبدیل به ضایعات می شود که از این ۳۰٪، ۷ تا ۸٪ آن به علت بسته بندی نامناسب است و با توجه به حجم بسیار بالای مصرف نان در ایران، این رقم بسیار قابل توجه می باشد. علل ضایعات بالای نان های مصرفی عمدتاً به دلیل کیفیت نامناسب، ماندگاری کوتاه و بیایاتی می باشد (کریمی، ۱۳۸۵). اگر بتوان با تکیه بر امر تحقیق از ضایعات نان کاست یا حداقل از روند رو به رشد آن جلوگیری نمود، خدمتی موثر صورت گرفته و می توان امیدوار بود که با تعدیل ضایعات نان به یکی از اصولی ترین مسائل اقتصادی پاسخ داده شود.

کاهش کیفیت و ماندگاری صنایع پخت به طور معمول توسط کپک ها و باکتری ها صورت می گیرد که این تغییرات، بعد از تغییرات ناشی از فرآیند بیایاتی آغاز می گردد. این عوامل سبب کاهش قابلیت پذیرش محصولات صنایع پخت توسط مصرف کنندگان می شود (ستاری نجف آبادی و همکاران، ۱۳۸۸). ضمن اینکه می تواند سلامت عمومی را نیز در معرض خطر قرار دهد، زیرا بعضی از قارچ ها سموم خطرناکی ایجاد می کنند که باعث مسمومیت های خفیف، شدید و حتی کشنده می شوند در تحقیق میکائیلی آلودگی بالای نان به انواع قارچ نشان داده شده است و نتایج آن تنها در ۱۰ درصد نمونه ها منفی بود و جنس اسپرژیلوس، پنسیلیوم، موکور و رایزوپوس به ترتیب از مهم ترین قارچ های رویشی روی نان تشخیص داده شد. لذا کاهش میزان رشد و تنوع قارچی نان می تواند کمک شایانی به کاهش میزان احتمال خطر یا حل این گونه مسائل نماید (میکائیلی، ۱۳۸۲). در حال حاضر روش های متعددی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی وجود دارد (کنسرو کردن، انجماد و...) که البته تعداد اندکی از آنها به دلیل شرایط خاص تولید، عرضه و مصرف برای نان قابلیت استفاده دارد.

مرسوم ترین مواد بسته بندی نان کاغذ، مقوای نازک، مقوای ضخیم، آلومینیوم و مواد پلاستیکی می باشد (اثنی عشری و صداقت، ۱۳۹۰). پلیمرهای مختلفی در بسته بندی نان استفاده می شود که یکی از مهمترین و اصلی ترین این لایه هایی که در بسته بندی محصولات نانوائی به کار گرفته می شود پلی اتیلن است بطوریکه در سال ۱۹۷۰ بیش از ۸۰ درصد نان ها با پلی اتیلن با دانسیته کم (Low Density Poly Ethylene) بسته بندی می شد که نفوذپذیری آن نسبت به رطوبت متوسط بوده و یکی از ارزان قیمت ترین پلیمرهای موجود است. ضخامت های معمول مورد استفاده در بسته بندی نان ۲۵ تا ۴۰ میکرون است (مقدادیان، ۱۳۸۳). یکی از تکنولوژی ها جدید که امروزه برای نگهداری مواد غذایی مورد توجه محققین قرار گرفته است و برای محصولات صنایع پخت نیز قابل استفاده است، استفاده از بسته بندی های ضد میکروب می باشد که در ساخت آنها از موادی در مقیاس نانو استفاده می شود و در این بین نانوذرات نقره از موثرترین آنها می باشد (Azeredo, 2013). نانوذرات پر کاربرد طلا، نقره و اکسیدروی پرداختند. نتایج این تحقیق جهت ارائه راهکارهای موثر برای خنثی کردن اثرات سمی نانومواد در صنایع مختلف قابل کاربرد است. نتایج آنها حاکی از کمترین میزان سمیت مربوط به ذرات نانونقره در بین سایر نانوذرات می باشد این در حالی است که این نانوذرات بیشترین فعالیت ضد میکروبی را از خود نشان داده است (Negahdary and Ajdary, 2014). نانو ذرات نقره نسبت به آنتی بیوتیک ها دارای مزایایی می باشند که به تعدادی از آنها اشاره می شود: میکروارگانسیم ها به نانوذرات نقره مقاومت پیدا نمی کنند زیرا نانو ذرات نقره بر روی قسمت های مختلف و آنزیم های متعددی مؤثر هستند. نانوذرات نقره بر روی طیف گسترده ای از میکروارگانسیم ها مؤثر هستند. بر خلاف آنتی بیوتیک ها که پس از واکنش با سلول تغییر شکل یافته و بی اثر می شوند، نانوذرات نقره پس از اثر بر میکروب ها آزاد شده و بر میکروارگانسیم های دیگر تأثیر می گذارند (حیاتی رودباری و همکاران، ۱۳۹۲).

از فیلم های فوق در تحقیقات متعددی برای بسته بندی مواد غذایی استفاده شده است و نتایج آنها افزایش ماندگاری ماده غذایی را نشان داده اند. در تحقیق

Emamifar و همکاران (۲۰۱۱) افزایش طول عمر آب پرتقال با استفاده از نانو ذرات نقره و روی، در تحقیق Forughi و همکاران (۲۰۱۱) افزایش عمر ماندگاری فرآورده‌های گوشتی با استفاده از نانوذرات نقره و دی اکسیدتیتانیوم، در تحقیق مردادی و بینش (۱۳۸۹) و پیروموسوی و همکاران (۱۳۹۲) افزایش طول عمر خرما بدون تغییرات نامطلوب با استفاده از نانوذرات نقره و دی اکسیدتیتانیوم و در تحقیق ولی پورمطلق و همکاران (۱۳۸۸) افزایش کیفیت و ماندگاری زرشک با استفاده از ذرات نانونقره در پوشش بسته بندی نشان داده شده است. تحقیقات دیگری اثر نانوذرات مختلف را روی انواع قارچ درون محیط های کشت در شرایط آزمایشگاهی بررسی نموده اند که نتایج آنها نیز حاکی از توقف رشد یا کاهش رشد قارچ بوده است (Naghsh Haghghi *et al.*, 2011; *et al.*, 2013).

در زمینه افزایش ماندگاری نان پژوهش‌هایی نیز صورت گرفته است. در تحقیق Lainez و همکاران تعداد قارچ‌های نان نگهداری شده در دمای ۱ و ۷ درجه سانتی‌گراد را شمارش کردند نتایج آنها بترتیب از عدم رشد قارچ در طی دوره ۲۸ روز و رشد قارچ از روز نهم در دماهای مزبور را نشان داد (Lainez *et al.*, 2008). نتایج Leuschner و همکاران نیز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد حاکی از شروع فعالیت قارچ‌ها از روز پانزدهم بود (Leuschner *et al.*, 1999). در تحقیقات نجف آبادی و همکاران نشان داده شد که استفاده از فیلم های نانویی (نانوذرات نقره و رس) در کاهش تعداد کل میکروب ها و کپک‌ها مؤثر است و سبب حفظ تازگی و افزایش طول عمر نان می‌شود (ستاری نجف آبادی و همکاران، ۱۳۸۸؛ ستاری نجف آبادی و همکاران، ۱۳۹۰).

قارچ‌ها از مهمترین عوامل افزایش ضایعات نان در صنایع پخت و عامل ایجاد بیماری‌های خطرناک در انسان می‌باشند. بعضی قارچ‌ها حتی در میزان کم حضورشان در مواد غذایی بسیار خطرناک می‌باشد لذا نوع قارچ علاوه بر میزان رشد آن عامل تعیین کننده و مهمی در افزایش مشکلات فوق می‌باشد، بنابراین توجه به فلور قارچی نان علاوه بر میزان رشد قارچ لازم و ضروری می‌باشد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۸). تحقیقات نشان داده است که بسته‌های حاوی نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم

سبب کاهش میزان رشد میکروبی شده است که این امر به دلیل مقاومت این بسته‌ها در مقابل نفوذ گازها از جمله اکسیژن و خاصیت قطبیت لحظه‌ای نانوذرات می‌باشد (Forughi *et al.*, 2011). با توجه به اثر نانوذرات بر میکروب‌ها و متعاقبا افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی و با نظر به افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد نگهدارنده استفاده از این تکنولوژی نوین در مواد غذایی نیز ضروری به نظر می‌رسد.

با توجه به موارد فوق در این تحقیق کوشیده شد تا در یک دوره نگهداری یک ماه، میزان رشد و چگونگی توزیع انواع قارچ در نان‌های بسته بندی شده با فیلم‌های حاوی نانوذرات نقره ۳ و ۵ درصد پوشش داده شده بر روی دی اکسید تیتانیوم و فیلم‌های پلی اتیلن معمولی بررسی شود و سپس تاثیر این فیلم‌ها در ماندگاری انواع نان با یکدیگر مقایسه و مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین اثر مدت نگهداری، نوع نان و تفاوت نوع قارچ در میزان رشد و توزیع قارچی روی انواع نان بررسی شد. هدف این تحقیق، بکارگیری بسته‌های پلیمری حاوی نانو ذرات نقره بر پایه دی اکسیدتیتانیوم به عنوان روشی نوین، جهت افزایش زمان ماندگاری نان‌های مصرفی رایج بود. در ضمن، تحقیق مشابه خارجی یا داخلی در زمینه اثر فیلم‌های نانویی به کار رفته در این پژوهش بر فلور قارچی در انواع نان انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی دو نوع پوشش بسته‌بندی نانویی توسط اکسترودر در شرایط آزمایشگاه شیمی به صورت غیر شفاف ساخته شد و نتایج با فیلم پلی اتیلن معمولی (فاقد ذرات نانو) مقایسه شد. ابتدا تعداد ۲۴ نمونه از هر ۶ نوع نان سنگک، بربری، تافتون، جو، باگت و تست که رایج ترین نان های مصرفی در ایران می‌باشد، از نانویی‌های منطقه ۲ شهر تهران به صورت تصادفی تهیه و توسط دستگاه دوخت الکتریکی بسته بندی شد (نیکوزاده، ۱۳۸۶).

نان‌های بسته‌بندی شده با فیلم‌های نانویی و پلی اتیلن با توجه به تحقیقات گذشته در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴، ۲۸ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه میکروبی مواد غذایی نگهداری و مورد ارزیابی قرار گرفت (Leuschner *et al.*, 2008; Lainez *et al.*, 1999). همانگونه که جدول ۱

ارزیابی بسته بندی با پوشش های ۳٪ و ۵٪ نانونقره در رشد قارچی نان

داده‌ها با استفاده از آزمون‌های Chi-square و One-Way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و از آزمون تعقیبی Tukey (Post Hoc) برای مقایسه‌های دوتایی استفاده شد.

یافته‌ها

- تاثیر نوع فیلم روی فلور قارچی نان

با توجه به جدول ۲ و نمودار ۱، رشد انواع قارچ در بسته‌های نانویی نسبت به پلی اتیلن در طول دوره ذخیره‌سازی افزایش کمتری داشته است به طوری که اختلاف معنی‌داری در میزان رشد انواع قارچ در کلیه روزهای نگهداری به جزء روز اول ($P=0/936$) در نان‌های بسته بندی شده با بسته‌های نانویی با پلی اتیلن وجود دارد ($P=0/000$) ولی این اختلاف در پوشش‌های نانوکامپوزیت ۳ درصد و ۵ درصد معنی دار نیست ($P=0/371$).

- تاثیر مدت نگهداری بر فلور قارچی نان

همانگونه که نمودار ۲ و جدول ۳ نشان می دهد اختلاف معنی داری بین روزهای نگهداری در ارتباط با میزان رشد انواع قارچ وجود دارد ($P=0/000$) که با توجه به جدول ۴ اختلاف بین میزان رشد انواع قارچ در کلیه روز های تعیین شده معنی‌دار می‌باشد ($P=0/000$) و تنها در بین روزهای چهاردهم و بیست و هشتم این اختلاف معنی دار نیست ($P=0/718$).

- تاثیر نوع نان بر فلور قارچی

با توجه به نمودار ۳ و جدول ۵، بطور کل نوع نان در تعیین فلور قارچی نان موثر است ($P=0/000$)، البته همانطور که جدول ۶ نشان می دهد این اختلاف بین نان تست با تافتون ($P=0/983$)، نان باگت با جو ($P=0/346$) و سنگک با بربری ($P=0/370$) معنی دار نیست

طبق جدول ۷ اثر نوع نان در انتخاب فلور قارچی برای همه گونه‌های قارچی رشد یافته معنی‌دار شده است ($P=0/000$). با توجه به جدول ۸ در سطح ۰/۹۵، این اثر روی کپک اسپرژیلوس بین نان‌های سنگک با باگت و بربری، تافتون با تست معنی‌دار نشده است. کپک کلادوسپوریوم بیشتر روی نان باگت رشد یافته است و اختلاف آن با سایر نان‌ها معنی‌دار نیز می باشد. رشد کپک

ساختار فیلم‌های مورد استفاده را نشان می‌دهد، محدوده استفاده از ذرات نانو نقره از ۳٪ تا ۱۰٪ بود. در تیمارهای نانویی، ذرات نانو نقره در هنگام تولید به روش اکسترودر، به ترکیب فیلم‌ها اضافه شد و از نایلون معمولی LDPE (Low Density Poly Ethylene) نیز به عنوان فیلم شاهد استفاده گردید.

جدول ۱- اصول نام‌گذاری نوع فیلم‌های بکار رفته در پژوهش

شماره	نماد تیمار	ترکیب و درصد
۱	PE	شاهد (فاقد ذرات نانو)
۲	NS3	۳٪ نانونقره
۳	NS5	۵٪ نانونقره

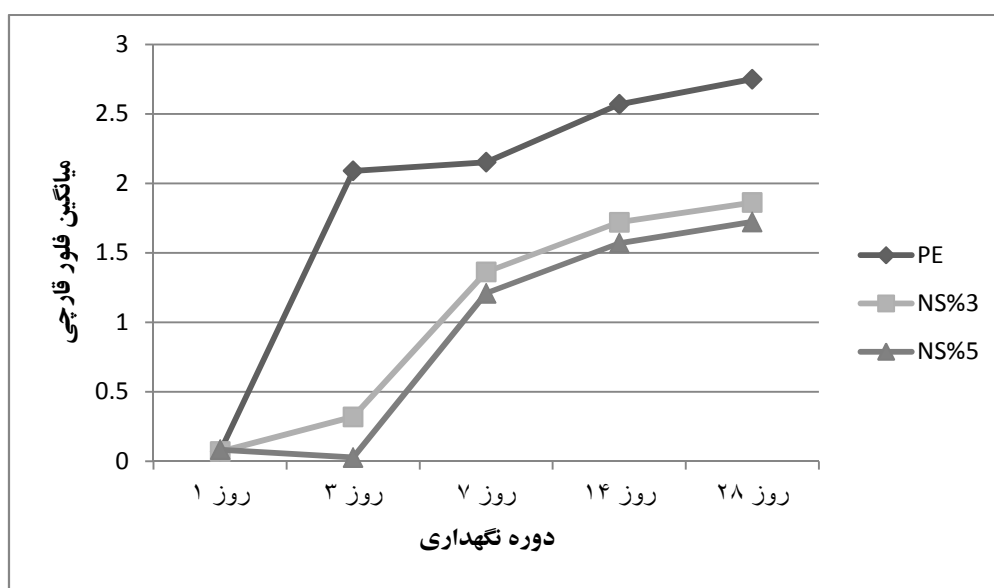
شناسایی قارچ‌ها در مرحله اول از روش رنگ‌آمیزی و میکروسکوپی صورت گرفت و در مرحله دوم از آزمون استاندارد (۱۰۵۵۱) واکنش زنجیره پلی‌مراز چندگانه‌ای (Multiplex PCR) استفاده گردید (بی‌نام، ۱۳۸۶). برای این منظور ابتدا از روش استاندارد اسلاید کالچر استفاده شد (بی‌نام، ۱۳۸۷)، با استفاده از پیت سترن مقدار یک دهم میلی‌لیتر از سوسپانسیون‌های تهیه شده به پلیت‌های حاوی محیط کشت دیکلران-رزنگال کلرامفنیکل آگار (DRBC) انتقال داده شد، پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. در نهایت کلیه‌های قارچی ایجاد شده روی محیط مذکور جهت مشاهده ساختمان میکروسکوپی قارچ به روش ذیل مورد بررسی قرار گرفت؛ توسط سوزن سر کج پلاتینی قسمت کوچکی از پرگنه قارچ برداشته شد و روی لام حاوی یک قطره محلول لاکتوفنول کتان بلو قرار گرفت و با لام سطح آن پوشانده شد سپس قارچ در زیر میکروسکوپ با عدسی با بزرگنمایی ۴۰X مورد بررسی قرار گرفت. در همین حال از آزمون مولتی پلکس PCR جهت شناسایی قارچ نیز جهت اطمینان بیشتر استفاده گردید. پلیت‌ها و پیپت‌ها پیش از انجام کشت میکروبی در دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت سترن شدند. برای سترن سازی محیط‌های کشت از اتوکلاو (دمای ۱۲۱°C به مدت ۲۰ دقیقه) استفاده شد. در این پژوهش بار کل میکروبی و قارچی ملاک اثر نیست بلکه میانگین تعداد نوع قارچ‌های رشد یافته (فلور قارچی) به عنوان ملاک اثر ذرات نانونقره، مد نظر قرار گرفته است.

سنگک و بربری حائز اهمیت می باشد که میزان رشد در هر دو تقریباً یکسان است. میزان رشد کپک کرایزوسپوریوم رامی توان در دو گروه با رشد تقریباً یکسان تقسیم نمود: گروه اول سنگک، بربری و جو و گروه دوم تست، تافتون و باگت. کپک فوزاریوم مانند کلادوفیالوفورا تنها در یک نوع نان بربری مشاهده گردید که اختلاف رشد آن نیز با سایر نان‌ها معنی‌دار است.

پنیسلیم بین نان‌های تافتون با تست و تست با باگت و جو با سنگک تقریباً یکسان است. اختلاف رشد کپک رایزوپوس نیز روی نان‌های جو، تست و تافتون معنی‌دار نیست و کپک کلادوفیالوفورا تقریباً تنها روی نان جو مشاهده شد و رشد آن اختلاف معنی‌داری با سایر نان‌ها دارد. کپک آلترناریا در نان‌های تافتون و تست مشاهده نگردید و اختلاف میزان رشد مخمر کاندیدا تنها در نان‌های

جدول ۲- مقایسه میانگین رشد انواع قارچ در طول دوره نگهداری بر حسب پوشش بسته بندی

زمان (روز)	نوع پوشش	میانگین	انحراف معیار	آزمون ANOVA
۱	PE	۰/۰۶۹۴	۰/۲۵۵۹۹	df=۲۱۳,۲
	NS3	۰/۰۶۹۴	۰/۲۵۵۹۹	F=۰/۸۳۲
	NS5	۰/۰۸۳۳	۰/۲۷۸۳۲	P-Value=۰/۹۳۶
۳	PE	۲/۰۹۷۲	۱/۷۰۴۶۷	df=۲۱۳,۲
	NS3	۰/۳۱۹۴	۰/۹۳۱۸۵	F=۷۱/۲۸۹
	NS5	۰/۰۲۷۸	۰/۱۶۵۴۹	P-Value=۰/۰۰۰
۷	PE	۲/۰۹۷۲	۱/۷۱۲۹۱	df=۲۱۳,۲
	NS3	۱/۳۶۱۱	۱/۴۹۴۶۴	F=۷/۰۵۸
	NS5	۱/۲۰۸۳	۱/۳۲۰۸۸	P-Value=۰/۰۰۱
۱۴	PE	۲/۵۶۹۴	۱/۲۷۶۲۹	df=۲۱۳,۲
	NS3	۱/۷۲۲۲	۱/۳۵۵۴۵	F=۱۲/۱۰۱
	NS5	۱/۵۶۹۴	۱/۳۰۸۹۸	P-Value=۰/۰۰۰
۲۸	PE	۲/۷۵۰۰	۱/۲۰۷۳۷	df=۲۱۳,۲
	NS3	۱/۸۶۱۱	۱/۴۵۶۴۶	F=۱۲/۵۹۷
	NS5	۱/۷۲۲۲	۱/۳۲۳۹۱	P-Value=۰/۰۰۰
کل	PE	۱/۹۱۶۷	۱/۶۴۳۳۴	df=۱۰۷۷,۲
	NS3	۱/۰۶۶۷	۱/۳۹۶۷۷	F=۵۰/۰۲۴
	NS5	۰/۹۲۲۲	۱/۲۵۷۶۵	P-Value=۰/۰۰۰



نمودار ۱- مقایسه میزان رشد انواع قارچ در پوشش‌های مختلف در کل دوره نگهداری و به تفکیک روز

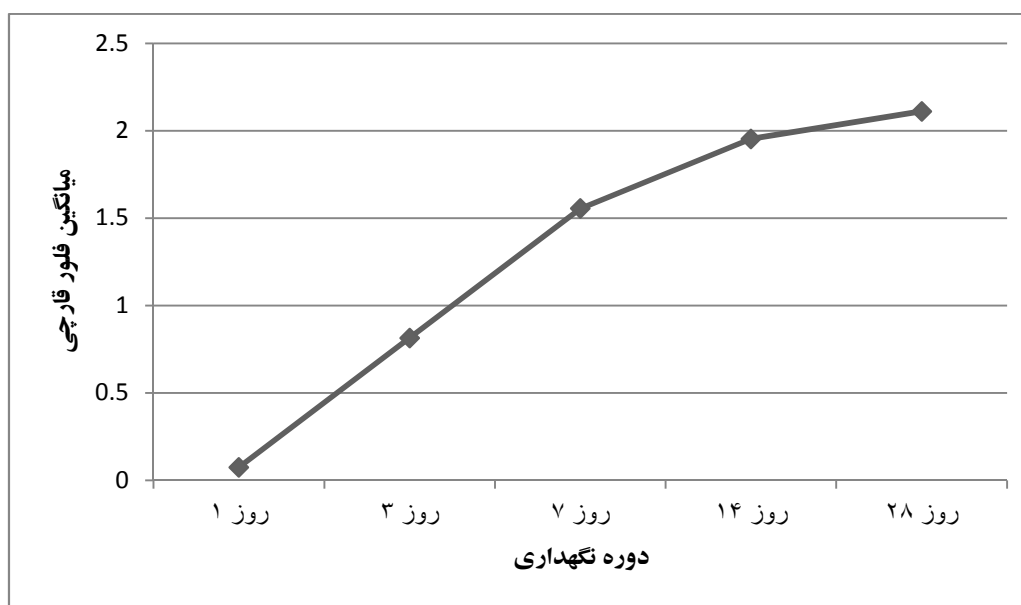
ارزیابی بسته بندی با پوشش های ۳٪ و ۵٪ نانونقره در رشد قارچی نان

جدول ۳- مقایسه میانگین رشد انواع قارچ در طول دوره نگهداری

زمان (روز)	میانگین	انحراف معیار	آزمون ANOVA
۱	۰/۰۷۴۱	۰/۲۶۲۵۰	df=۱۰۷۵, ۴
۳	۰/۸۱۴۸	۱/۴۴۷۶۸	F=۹۲/۰۵۹
۷	۱/۵۵۵۶	۱/۵۶۰۱۶	P-Value=۰/۰۰۰
۱۴	۱/۹۵۳۷	۱/۳۸۰۱۵	
۲۸	۲/۱۱۱۱	۱/۴۰۳۲۱	

جدول ۴- نتایج آزمون های تعقیبی (Post Hoc):

کل دوره نگهداری	زمان	فاصله زمانی
روز ۱	روز ۳	روز ۷
روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۸



نمودار ۲- مقایسه کلی میانگین فلور قارچی در مدت نگهداری

جدول ۵- مقایسه میانگین فلور قارچی در انواع نان

نوع نان	میانگین	انحراف معیار	آزمون ANOVA
سنگک	۲/۰۲۷۸	۱/۹۸۱۵۶	df=۱۰۷۴, ۵
بربری	۲/۲۹۴۴	۱/۶۶۶۹۶	F=۷۷/۱۱۳
تافتون	۰/۳۵۰۰	۰/۶۹۶۹۶	P-Value= ۰/۰۰۰
باگت	۱/۵۷۷۸	۱/۰۹۳۱۸	
تست	۰/۲۵۵۶	۰/۵۷۰۴۳	
جو	۱/۳۰۵۶	۱/۱۵۸۳۹	

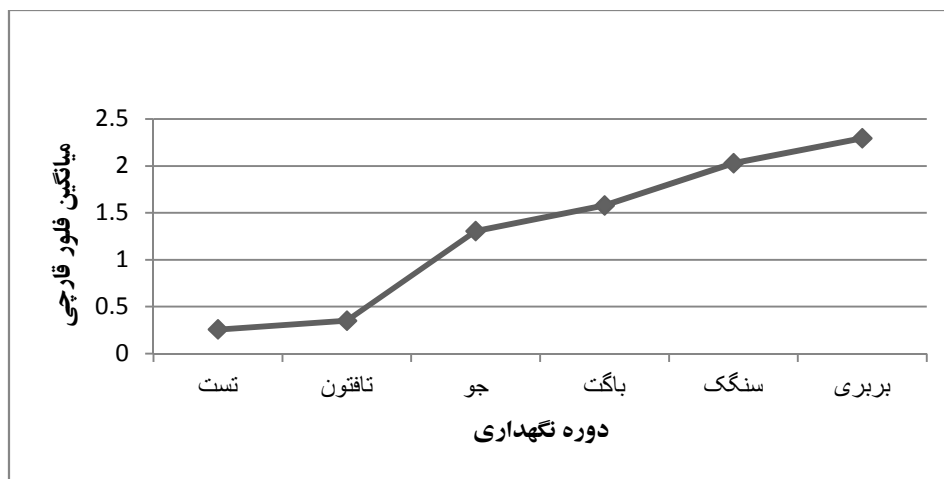
جدول ۶- نتایج آزمون های تعقیبی (Post Hoc)

کل دوره نگهداری	زمان	نوع نان
تست	تافتون	جو
سنگک	بربری	باگت

جدول ۷- مقایسه میانگین رشد هر یک از انواع قارچ رشد یافته در انواع نان

نوع قارچ	نوع نان	میانگین	انحراف معیار	آزمون ANOVA
آسپرژیلوس	سنگک	۰/۶۰۰	۰/۴۹۱۲۶	df=۱۰۷۴, ۵
	پریری	۰/۶۹۴۴	۰/۴۶۱۹۳	F=۵۴/۶۶۲
	تافتون	۰/۱۶۶۷	۰/۳۷۳۷۲	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	۰/۵۵۰۰	۰/۴۹۸۸۸	
	تست	۰/۰۹۴۴	۰/۲۹۳۲۶	
	جو	۰/۳۸۸۹	۰/۴۸۸۸۶	
کلادوسپوریوم	سنگک	۰/۰۳	۰/۱۶۵	df=۱۰۷۴, ۵
	پریری	۰/۰۱	۰/۱۰۵	F=۲۲/۹۱۱
	تافتون	۰/۰۱	۰/۰۷۵	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	۰/۱۹	۰/۳۹۷	
	تست	*	*	
	جو	۰/۰۶	۰/۲۴۰	
پنیسیلیوم	سنگک	۰/۴۴	۰/۴۹۸	df=۱۰۷۴, ۵
	پریری	۰/۵۶	۰/۴۹۸	F=۳۱/۶۱۷
	تافتون	۰/۰۹	۰/۲۸۵	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	۰/۲۷	۰/۴۴۳	
	تست	۰/۱۴	۰/۳۴۷	
	جو	۰/۴۰	۰/۴۹۱	
رایزوپوس	سنگک	۰/۲۵	۰/۴۳۴	df=۱۰۷۴, ۵
	پریری	۰/۴۷	۰/۵۰۱	F=۵۸/۲۰۸
	تافتون	۰/۰۸	۰/۲۷۷	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	۰/۴۵	۰/۴۹۹	
	تست	۰/۰۲	۰/۱۲۸	
	جو	۰/۰۲	۰/۱۴۸	
کلادوفیالوفورا	سنگک	۰/۰۱	۰/۰۷۵	df=۱۰۵۴, ۵
	پریری	۰/۰۱	۰/۰۷۵	F=۱۵/۷۶۹
	تافتون	۰/۰۱	۰/۰۷۵	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	*	*	
	تست	*	*	
	جو	۰/۱۰	۰/۳۰۱	
آلترناریا	سنگک	۰/۴۳	۰/۴۹۷	df=۱۰۵۴, ۵
	پریری	۰/۲۲	۰/۴۱۳	F=۴۲/۴۱۹
	تافتون	*	*	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	۰/۱۱	۰/۳۱۵	
	تست	*	*	
	جو	۰/۲۰	۰/۴۰۱	
کاندیدا	سنگک	۰/۱۳	۰/۳۴۱	df=۱۰۵۴, ۵
	پریری	۰/۱۰	۰/۳۰۱	F=۱۸/۶۲۰
	تافتون	*	*	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	۰/۰۱	۰/۰۷۵	
	تست	*	*	
	جو	*	*	
کرایزوسپوریوم	سنگک	۰/۱۳	۰/۳۴۱	df=۱۰۵۴, ۵
	پریری	۰/۱۱	۰/۳۰۸	F=۱۴۸۸۶/۰۷۸
	تافتون	*	*	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	*	*	
	تست	۰/۰۱	۰/۰۷۵	
	جو	۰/۱۳	۰/۳۴۱	
فوزاریوم	سنگک	*	*	df=۱۰۷۴, ۵
	پریری	۰/۳۴۱	۰/۳۴۱	F=۲۷/۵۳۸
	تافتون	*	*	P-Value=۰/۰۰۰
	باگت	*	*	
	تست	*	*	
	جو	*	*	

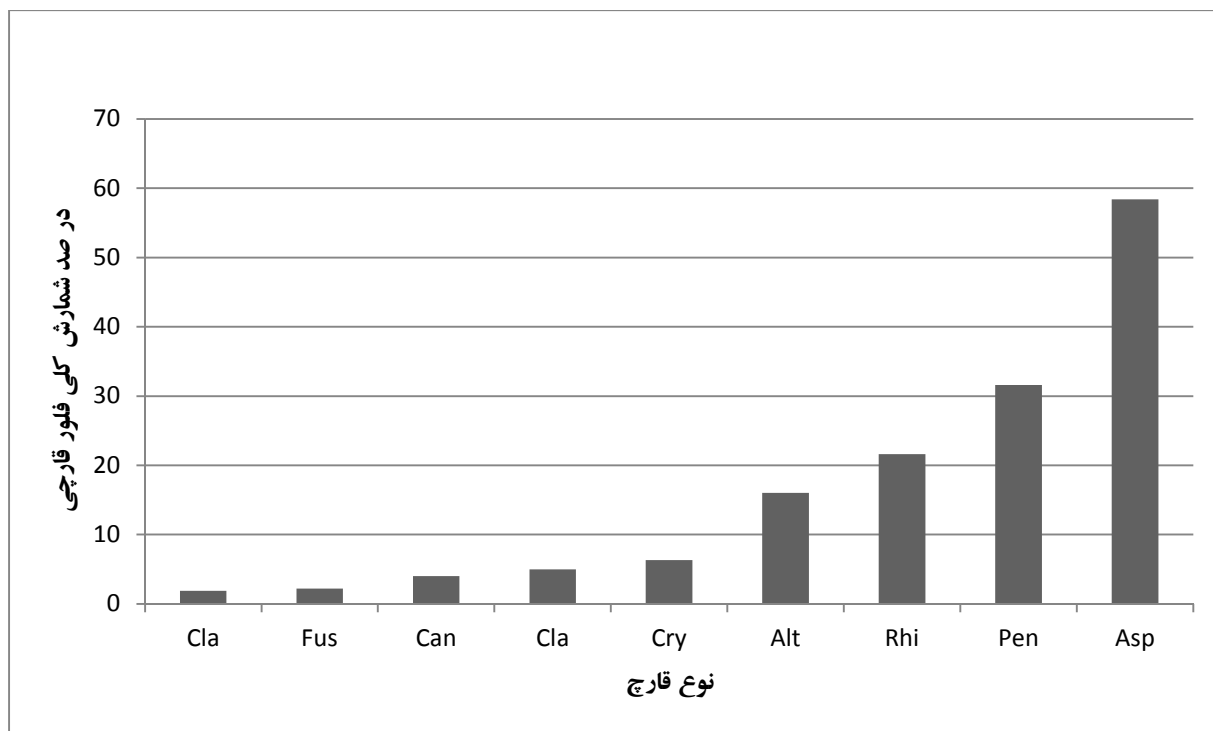
ارزیابی بسته بندی با پوشش های ۳٪ و ۵٪ نانونقره در رشد قارچی نان



نمودار ۳- مقایسه تاثیر نوع نان بر میانگین فلور قارچی

جدول ۸- نتایج آزمون های تعقیبی (Post Hoc)

نوع نان		نوع قارچ	
سنگک	باگت	تست	آسپرژیلوس
بربری	سنگک	تافتون	
	باگت	تست	کلادوسپوریوم
	تافتون	تافتون	
	سنگک	سنگک	
	بربری	بربری	
سنگک	جو	تافتون	پنیسلیم
بربری	سنگک	تست	
	باگت	جو	رایزوپوس
	بربری	تست	
		تافتون	
	جو	تست	کلادوفیالوفورا
		بربری	
		تافتون	
		باگت	
		سنگک	
سنگک	جو	تافتون	آلترناریا
	بربری	تست	
		تست	کاندیدا
		جو	
		تافتون	
		باگت	
	بربری	تافتون	کرایزوسپوریوم
	سنگک	باگت	
	جو	تست	
	بربری	سنگک	فوزاریوم
		تافتون	
		باگت	
		تست	
		جو	



نمودار ۴- میزان رشد انواع قارچ در کل دوره نگهداری

- تاثیر نوع قارچ بر میزان رشد

با توجه به نمودار ۴ میزان رشد کپک پنسیلیوم ۳۱/۶ درصد، رایزوپیوس ۲۱/۶ درصد، آلترناریا ۱۶ درصد، کرایزوسپوریوم ۶/۳ درصد، کلادوسپوریوم ۵ درصد، کاندیدا ۴ درصد و فوزاریوم ۲/۲ درصد می باشد و کپک های اسپرژیلوس با ۵۸/۴ درصد و کلادو فیالوفورا با ۱/۹ درصد با رشد در روی انواع نان ها به ترتیب بیشترین و کمترین میزان را به خود اختصاص دادند.

بحث

اثر عوامل مختلف (نوع فیلم و مدت نگهداری) بر میزان رشد انواع قارچ نان بسته بندی شده به این ترتیب است: همانطور که انتظار می رفت تاثیر ذرات نانو نقره به خوبی قابل مشاهده است. و بیشترین شمارش کلی فلور قارچی مربوط به پوشش پلی اتیلن است و با افزایش درصد نانو نقره تا ۵ درصد شمارش انواع قارچ کاهش یافته است. و همانطور که پیروموسوی و همکاران و Forughi و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کرده اند بسته بندی های حاوی نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم به ترتیب باعث افزایش زمان ماندگاری رطب مضافتی و فرآورده های گوشتی می گردد، یافته های این پژوهش نیز حاکی از اثر مثبت این

نوع نانوکامپوزیت ها در افزایش زمان ماندگاری نان می باشد و با توجه به اینکه بین فیلم ۳ درصد و ۵ درصد اختلاف معنی دار نیست می توان به جهت هزینه ساخت کمتر از نمونه ای با درصد پایین تر استفاده نمود (Forughi et al., 2011). Emamifar و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند میزان زمان ماندگاری آب پرتقال در بسته های حاوی نانوذرات نقره و اکسید روی به ۲۸ روز افزایش می یابد (Emamifar et al., 2011). در این تحقیق نیز نشان داده شد با بسته بندی نانوی ۳ درصد و ۵ درصد می توان میزان رشد فلور قارچی نان را حداقل تا روز سوم مانند روز اول ثابت نگه داشت این نشان می دهد که کیفیت نان از جهت میزان رشد انواع قارچ تقریباً در روز سوم برای دو پوشش نانویی ۳ درصد و ۵ درصد همانند روز اول است ولی در روزهای بعدی (۷، ۱۴ و ۲۸) تنها میزان رشد فلور قارچی را کاهش می دهد، این مطلب نیز بیانگر این است که نان ها نمی توانند کیفیت روز اول را داشته باشند.

نوع نان نیز در تعیین فلور قارچی موثر واقع شد و نشان داده شد که که بعضی نان ها شرایط تقریباً یکسان و بعضی شرایط کاملاً متفاوتی را جهت رشد انواع قارچ دارا می باشند و بعضی از قارچ ها نیز نشان دادند که با کوچک ترین تغییرات محیطی تفاوت چشمگیری در میزان رشد آنها

ارزیابی بسته بندی با پوشش های ۳٪ و ۵٪ نانونقره در رشد قارچی نان

نتیجه گیری

در این تحقیق بعد از بسته بندی انواع نان با دو درصد متفاوت از نانو ذرات نقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم و ذخیره سازی در دمای محیط به مدت ۲۸ روز مشخص شد فیلم های نانویی به دلیل کاهش میزان فلور قارچی نان نسبت به پوشش های پلی اتیلن معمولی مناسب تر هستند، در این بین فیلم های نانویی ۵ درصد به جهت اثر گذاری بیشتر و فیلم های نانویی ۳ درصد به جهت میزان هزینه ساخت کمتر و میزان اثر گذاری مناسب، بهتر شناخته شدند. در نهایت با توجه به کلیه نتایج حاصل از این پژوهش استفاده از پوشش های بسته بندی حاوی ذرات نانونقره بر پایه دی اکسید تیتانیوم برای بسته بندی انواع نان بعد از ارزیابی ایمنی پوشش بسته بندی به لحاظ عدم مهاجرت نانوذرات به ماده غذایی مورد توصیه است.

سپاسگزاری

نویسندگان این تحقیق از همکاری مجتمع آزمایشگاهی رازی و پلی کلینیک تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات کمال سپاس و امتنان را دارند.

منابع

اثنی عشری، م. و صداقت، ن. (۱۳۹۰). کاهش ضایعات با تکنیک های جدید بسته بندی نان و محصولات صنایع پخت. همایش صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.

بی نام. (۱۳۸۶). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-ردیابی عوامل بیماری زای منتقل شده از غذا به روش واکنش زنجیره ای پلیمرز. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۵۵۱، چاپ اول.

بی نام. (۱۳۸۷). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-روش جامع برای شمارش کپک ها و مخمرها. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۸۹۹، چاپ اول.

پیروموسوی، ف.، حیدری نسب، ا.، هاشمی پور رفسنجانی، ح. و رجیعی پور چشمه گز، ع. (۱۳۹۲). بررسی اثر فیلم های حاوی نانو ذرات نقره بر زمان ماندگاری رطب

ایجاد می گردد. در کل از این مطالب می توان نتیجه گرفت که هنگام انتخاب فیلم مناسب باید به نوع نان نیز توجه ویژه ای شود که نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه جهت تعیین پوشش بسته بندی مناسب می باشد.

ضمنا سرعت رشد انواع قارچ از روز اول تا چهاردهم بیشتر می باشد و از آن به بعد کاهش می یابد که این امر می تواند به دلیل فراهم بودن شرایط زیستی مناسب یا عدم تراکم میزان قارچ در ابتدای دوره نگهداری باشد.

نتایج این پژوهش همانند تحقیق نجف آبادی و همکاران مؤید اثر مثبت ذرات نانو نقره روی قارچ های رویشی نان می باشد اما این پژوهش نشان داد میزان این اثر روی انواع قارچ و انواع نان متفاوت است (ستاری نجف آبادی و همکاران، ۱۳۸۸).

همانطور که میکائیلی گزارش کرده است، قارچ های اسپرژیلوس و پنسیلیوم از مهم ترین گونه های قارچی رویشی در نان می باشند در اینجا نیز مشاهده شد که این دو گونه درصد بالاتری را نسبت به سایر گونه های قارچی به خود اختصاص داده اند که مطالب فوق می تواند تأیید کننده قارچ های اسپرژیلوس، پنسیلیوم و به عنوان مهمترین قارچ های صنایع غذایی به خصوص نان باشد (میکائیلی، ۱۳۸۲).

در مجموع، در سایر تحقیقاتی که در این زمینه در مورد نان و سایر مواد غذایی انجام شده است و به آنها اشاره شد، تنها اثر مثبت ذرات نانونقره و سایر نانوذرات به کار رفته در پوشش بسته بندی در کاهش بار کلی میکروبی و قارچی مواد غذایی نشان داده شده است ولی اثر این نانوذرات روی فلور قارچی و میکروبی مشخص نگردیده همچنین در معدود تحقیقات انجام شده در زمینه نان تنها از نوع پوشش استفاده شده در این پژوهش به عنوان شاهد استفاده گردیده است لذا با توجه به اهمیت نوع قارچ و نوع باکتری و نوع پوشش بسته بندی در صنایع مواد غذایی، بررسی های بیشتری برای هر یک از مواد غذایی جهت تعیین اثر ذرات نانونقره و سایر نانوذرات روی فلور قارچی و میکروبی در پوشش های مختلف رایج را می طلبد تا بتوان برنامه ریزی های بعدی و تکمیلی را برای افزایش کارایی این تکنولوژی جدید جهت افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی انجام داد و آن را کامل تر از پیش نمود.

کنگره سراسری تغذیه ایران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز.

نیکوزاده، ح. (۱۳۸۶). تاثیر افزودن سبوس جودوسر و پوسته اسفرزه بر خواص رئولوژیکی خمیر و کیفیت ماندگاری نان سنگک. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته علوم صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی.

ولی پور مطلق، ن.، حامد موسویان، م.ت، و مرتضوی، ع. (۱۳۸۸). تاثیر بسته‌های محتوی نان ذرا نقره بر مشخصه‌های میکروبی و ظاهری زرشک در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن معمولی. مجله پژوهش های صنایع غذایی ایران، جلد ۵، شماره ۲، صفحات ۸۷-۷۵.

De Azeredo, H. M. C. (2013). Antimicrobial nanostructures in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 30, 56-69.

Emamifar, A., Kadivar, M., Shahed, M. & Solimalianzadeh, S. (2011). Effects of nanocomposite packaging containing silver and zinc oxide on the shelf-life of fresh orange juice. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 6, 57-67.

Forughi, S., Dabbaghmoghaddam, A., Ahari, H., Akbarein, H., Anvar, A. A., Aghazadeh meshki, M. & Ghanbari Sagharlou, N. (2011). A Survey on the Shelf life Extension of Foods with Nanofilms. *Army University of Medical Sciences*, 9, 81-86.

Haghighi, F., Rodbar Mohammadi, S., Mohammadi, P. & Eskandari, M. (2011). The Evaluation of Antifungal Activity of Titanium Dioxide Nanoparticles and Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid on Growth Inhibition of Standard Strain of *Candida albicans*. *Armaghane Danesh*, 15.

Lainez, E., Vergara, F. & Bárcenas, M. E. (2008). Quality and microbial stability of partially baked bread during refrigerated storage. *Journal of Food Engineering*, 89, 414-418.

Leuschner, R., O'callaghan, M. & Arendt, E. (1999). Moisture distribution and microbial quality of part baked breads as related to storage and rebaking conditions. *Journal of food science*, 64, 543-546.

Naghsh, N., Doudi, M., Soleimani, S. & Torkan, S. (2013). The synergic effect of

مضافتی. مجله علوم غذایی و تغذیه، سال دهم، شماره ۴، صفحات ۶۵-۷۲.

حیاتی رودباری، ن.، امیری نیا، س.، پریور، ک. و سیدعلیان، ر. (۱۳۹۲). جایگزینی آنتی بیوتیک با نانو ذرات نقره در رقیق کننده‌های اسپرم گاو. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی. سال سوم، شماره ۱۰، صفحات ۵۹-۶۵.

ستاری نجف آبادی، م.، مینایی، س.، شریفی نسب، ه.، افشاری ح. و ستاری نجف آبادی، ف. (۱۳۹۰). تاثیر بسته‌بندی با فیلم های نانویی بر ویژگی‌های ارگانولپتیکی و میکروبی نان. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، شماره ۴۲، صفحات ۱۴۹-۱۴۱.

ستاری نجف آبادی، م.، مینایی، س.، عزیزی، م.ح. و افشاری ح. (۱۳۸۸). تاثیر بسته بندی با فیلم های نانویی بر ویژگی های ارگانولپتیکی و میکروبی نان. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال چهارم، شماره ۴، صفحات ۷۴-۶۵.

کریمی، م. (۱۳۸۵). بررسی اثر سطوح مختلف سدیم استئاروئیل لاکتیلات بر خواص رئولوژی خمیر و کیفیت نان تافتون. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته علوم صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی.

مرادی، ا. و بینش، م. (۱۳۸۹). بررسی تاثیر استفاده از نانو ذرات نقره و دی اکسیدتیتانیوم در بسته بندی پلی اتیلنی مورد استفاده در نگهداری خرماي مضافتی بر روی تغییرات میکروبی آن طی ۶ ماه. مجله زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی، سال دوم، شماره ۴، صفحات ۵۲-۴۵.

مرتضوی، ع.، کاشانی نژاد، م. و ضیاءالحق، ح. (۱۳۸۸). میکروبیولوژی مواد غذایی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات ۳۰-۶۰.

مقدادیان، ن.، شاهدی، م. و کبیر، غ. (۱۳۸۳). بررسی روش‌های بسته‌بندی نان تافتون. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال هشتم، شماره ۱، صفحات ۱۶۹-۱۵۷.

میکائیلی، ع. (۱۳۸۲). بررسی گونه‌های قارچی آفلاتوکسینوژن آرد و نان خشک شهر کرمانشاه. نهمین

alcoholic eucalyptus and nanosilver on colony count of *Aspergillus*. *Gorgan University of Medical Sciences*, 14.

Negahdari, M. & Ajdari, M. (2014). The Toxicity of Gold, Silver, and Zinc Oxide

Nanoparticles on LDH Enzyme in Male Mice. *Annual Review & Research in Biology*, 4, 1346-1352.