

## تأثیر بسته‌های محتوی نانوذرات نقره بر مشخصه‌های میکروبی و ظاهری زرشک در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن معمولی

ناصر ولی پور مطلق<sup>۱\*</sup> محمد تقی حامد موسویان<sup>۲</sup> سید علی مرتضوی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۲۰

تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۱

### چکیده

در این پژوهش با توجه به خاصیت ضد میکروبی و مقاومت بسته‌های محتوی نانوذرات نقره در مقابل نفوذ گازها از جمله اکسیژن، تأثیر این بسته‌ها در افزایش کیفیت و ماندگاری زرشک با بسته‌های پلی اتیلن رایج مورد مقایسه قرار گرفت. در این راستا مشخصه‌های میکروبی مختلف و رنگ دانه‌های زرشک بررسی شدند. آزمایش‌های میکروبی بر اساس استانداردهای ملی ایران انجام شد و داده‌های بدست آمده بوسیله نرم افزار *SPSS15* مورد بررسی آماری قرار گرفتند که کاهش رشد میکروبی را در مورد کپک و شمارش کلی باکتریها برای بسته‌های محتوی نانوذرات نقره با غلظت‌های ۱ درصد و ۲ درصد در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن نشان دادند. بررسی رنگ ظاهری نمونه‌ها نیز بر اساس میانگین رنگ قرمز و درصد روشنایی عکس‌های گرفته شده از دانه‌های زرشک و به کمک نرم افزار فتوشاپ ۱۰ انجام شد که بررسی آماری داده‌های بدست آمده بوسیله نرم افزار *SPSS15* نشان داد رنگ ظاهری زرشک مورد مطالعه در بسته‌های محتوی نانوذرات نقره با غلظت بالاتر از ۱ درصد از رنگ قرمز و درصد روشنایی بیشتری به نسبت نمونه‌های مربوط به بسته‌های پلی اتیلن معمولی برخوردار بودند. بسته‌های با غلظت‌های پایین از نانوذرات نقره در حد  $200 \text{ ppm}^1$  اثر قابل توجهی بر افزایش کیفیت و ماندگاری زرشک در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن معمولی نشان ندادند.

**واژه‌های کلیدی:** زرشک، بسته‌های نانوسیلور، نانوذرات نقره، میکروارگانیزم، خاصیت ضد میکروبی، پلی اتیلن

### مقدمه

گرفته تا فواید و کاربردهای دارویی، قطع یقین توجه به گسترش صادرات و توسعه بازار این محصول می‌تواند علاوه بر اینکه درآمد ارزی فراوانی نصیب کشورمان نماید در ایجاد اشتغال پایدار و جلوگیری از مهاجرت روستاییان نقش بسزایی داشته باشد. علاوه بر تولید مرسوم زرشک خشک که به‌عنوان مکمل برنج و یا چاشنی در تهیه غذا استفاده می‌شود تولید فرآورده‌های مختلفی نظیر تولید سس، ژله، پاستیل، آب نبات، کنستانتیره، آمبیوه، نوشابه گازدار، مربا، مارمالاد، شربت زرشک، پودر زرشک، پولکی، سوهان عسلی و لواشک زرشک نیز دامنه کاربرد این محصول را

از آنجاییکه ایران تنها تولیدکننده زرشک بی‌دانه در دنیا می‌باشد و با توجه به اهمیت اقتصادی، اجتماعی و زیست محیطی و همچنین کاربردهای فراوان این محصول در زمینه‌های مختلف از مصارف و فرآورده‌های مختلف غذایی

۱ و ۴ به ترتیب کارشناس ارشد مهندسی شیمی گرایش صنایع غذایی و دانشیار گروه مهندسی شیمی، دانشگاه فردوسی مشهد  
(نویسنده مسئول: Email: nasservalipoormotlagh@gmail.com)  
۴ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

4- Part per million  
5- Nanosilver packages  
6 Part per million

وارسته زرشک مورد مطالعه در این تحقیق از نوع *Berberis vulgaris var. asperma* می باشد.

امروزه فناوری نانو با دستکاری در سطح اتم ها و مولکول ها موادی با خواص ویژه تولید کرده است. مقیاس نانو منحصر به فرد است زیرا در آن محدوده خصوصیات ذاتی ذره از قبیل رنگ، استحکام، مقاومت در مقابل حرارت، نفوذ گازها، رطوبت، امواج و... بهبود می یابد. همچنین اندازه ذره در مقیاس نانو باعث افزایش فوق العاده سطح ویژه به ازای یک حجم ثابت از ماده و لذا افزایش تماس نانوذرات می شود (۴، ۹ و ۲۳).

امروزه پلاستیک های پلیمری در حال حاضر کاربرد وسیعی در صنایع غذایی دارند. پلی اتیلن یکی از ساده ترین پلیمرها است. در صنعت، پلی اتیلن با چگالی پایین از گاز اتیلن تحت فشار حدود  $60000 \text{ Psi}$  و درجه حرارت حدود  $149^\circ \text{C}$  با مقدار کمی از پراکسید آلی بعنوان کاتالیزور ساخته می شود. قابلیت انحناء، محافظت در برابر رطوبت، قیمت پایین، وزن سبک و نداشتن بو از مهمترین خواص آن می باشد. سفت و نیمه شفاف است اما نفوذ پذیری آن نسبت به گازها زیاد می باشد. اساس روش های ساخت فیلم های پلاستیکی را روش اکستروژن<sup>۱</sup> تشکیل می دهد (۶ و ۸). امروزه با ظهور فناوری نانو و تولید نانو کامپوزیت های ضد باکتریایی مختلف با خواص منحصر به فرد، استفاده از این بسته های جدید بیش از سایر پوشش ها مورد توجه قرار گرفته اند. برخی از این بسته بندی ها علاوه بر خاصیت ضد میکروبی از شفافیت بیشتر و تیرگی کم، استحکام بالا و مقاومت در برابر حرارت و مقاومت در برابر نفوذ اکسیژن، رطوبت و مواد فرار نیز برخوردارند (۹ و ۴). در این زمینه انواع مختلف نانومواد مانند مس، روی، تیتانیوم، منیزیم، طلا

به عنوان ماده غذایی گسترش داده است. علاوه بر مصارف دارویی زرشک در طب سنتی، اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد انگلی زرشک به اثبات رسیده است. بیشتر خواص ضد میکروبی زرشک بواسطه ترکیبات آلکالوئیدها موجود در ترکیب شیمیایی قسمت های مختلف گیاه است. به علاوه زرشک باعث کاهش قند خون، ضد نفرس، ضد التهاب، ضد آکنه، ضد اسپاسم، کاهنده سطح کلسترول خون، اسپرم کش، تحریک کننده انقباضات رحمی، کاهنده فشار خون و ضد تومور می باشد. میوه زرشک دارای مقادیر زیادی ویتامین C است که میزان آن از لیمو ترش بیشتر می باشد (۷). زرشک همچنین برای سرطان ها یا غده های کبدی، گردن و معده و بزرگ شدن معده مورد استفاده قرار می گیرد (۱۲). گونه های مختلف زرشک را می توان به شرح ذیل بیان نمود (۷):

- زرشک زالکی *Berberis crataegina*
  - زرشک زرافشانی *Berberis integerrima*
  - زرشک خراسانی *Berberis khorasanica*
  - زرشک راست خوشه *Berberis orthobotrys*
  - زرشک معمولی *Berberis vulgaris*
  - زرشک ژاپنی *Berberis thunbergii*
- زرشک مورد مطالعه در این پژوهش از تیره *Berberis vulgaris* بوده، که انواع وارسته های آن به شرح ذیل می باشد (۷):

- *Berberis vulgaris var. asperma*
- *Berberis vulgaris var. brachiobotrys = B. orientalis var. brachiobotrys*
- *Berberis vulgaris var. macrantha = berberis integerrima var. macrantha*
- *Berberis vulgaris var. alb*
- *Berberis vulgaris var. alba-variegata*
- *Berberis vulgaris var. argento marginata*
- *Berberis vulgaris var. atro purpurea*
- *Berberis vulgaris var. auro-marginata*

می‌دهند (۱۸). یک فیلم پلی‌اتیلنی با چگالی پایین حاوی نانوذرات نقره نیز مورد بررسی قرار گرفته که آزمون‌های میکروبی کاهش بار میکروبی را بر علیه باکتری‌های انتخابی و کپک و مخمر نشان دادند (۱۱). تاثیر بسته‌های پلی‌وینیل پیرولیدن<sup>۳</sup> محتوی نانوذرات نقره بر روی اسپاراژیوس سبز<sup>۴</sup> مورد بررسی قرار گرفتند که کاهش قابل توجه رشد میکروبی را نشان دادند، بطوریکه اسپاراژیوس بسته‌بندی شده در بسته‌های نانو با کیفیت خوب برای ۲۵ روز در دمای ۲ درجه سانتیگراد و ۲۰ روز در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد (۱۵). بسته‌های پلی‌اتیلن محتوی نانوذرات نقره همچنین اثر مفیدی بر خواص فیزیکی، شیمیایی و حسی عناب چینی در مقایسه با بسته‌های معمولی نشان دادند (۱۷). یک نوع نانو کامپوزیت محتوی نانوذرات نقره که با پوشش نانوذرات نقره بر روی پودر اکسید منیزیم ساخته شده، نیز فعالیت‌های ضد میکروبی بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی را نشان داد (۲۷). جانگک<sup>۵</sup> نانوذرات نقره متصل به اکسید آهن را تولید کرد که فعالیت ضد باکتری بسیار خوبی بر علیه استافیلوکوکوس اپیدرمیس<sup>۶</sup>، اشرشیا کلی و باسیلوس سابیتلیس<sup>۷</sup> نشان دادند (۱۴).

کاهش کیفیت محصول زرشک از نظر مشخصه‌های میکروبی و ظاهری از مهمترین عوامل موثر در رکود صادرات این محصول می‌باشد. فعالیت‌های آبی، رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت‌های آنزیمی و تغییر و تبدیل رنگدانه‌ها در نتیجه اکسیداسیون از مهمترین عوامل موثر بر کیفیت زرشک می‌باشند (۷) و عمده مشکلی که محصول زرشک در این زمینه با آن مواجه است، به مرحله خشک

و نقره مطرح شده است ولی نانوذرات نقره بیشترین اثر ضد میکروبی را نشان داده‌اند چرا که اثر ضد میکروبی خوبی بر علیه باکتری، ویروس و سایر میکروارگانیسم‌های یوکاریوتیک<sup>۱</sup> دارد (۱۴ و ۲۰). نقره از جمله فلزهایی است که به عنوان ماده ضد باکتری بی‌خطر و موثر مطرح شده است که می‌تواند بیش از ۶۵۰ نوع میکروارگانیسم از قبیل باکتری و ویروس را از بین ببرد. با افزایش نسبت سطح به حجم نقره در مقیاس نانو خاصیت ضد باکتری آن بهبود می‌یابد (۱۸، ۲۰). نانوذرات نقره معمولاً با یکی از روش‌های نوری (۱۶)، تولن<sup>۲</sup> (۱۹ و ۲۶)، به کمک احیاء کننده‌های شیمیایی (۲۱) و یا با تولید اکسید نقره (۱۰) تولید می‌شوند. تاکنون تاثیر بسته‌بندی‌های محتوی نانوذرات نقره بر روی زرشک بررسی نشده است اما در سایر مطالعات ظروف نگهداری *Fresher Longer* شامل نانوذرات نقره القا شده به درون مواد با پایه پلی‌پروپیلن برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها ساخته شده‌اند که در مقایسه با ظروف مرسوم رشد ۲۴ ساعته باکتری‌ها داخل ظروف *Fresher Longer* بیش از ۹۸ درصد کاهش یافت. این ظروف می‌تواند میوه‌ها و سبزیجات را ۳ تا ۴ برابر بیشتر از ظروف معمولی بدون رشد کپک و قارچ نگه دارد (۱۰). پلاستیک‌های پلی‌اتیلن محتوی ۰/۱ تا ۰/۸ درصد وزنی نانوذرات نقره ساخته شده‌اند که زمان ماندگاری سبزیجات با رنگ سبز تیره که به راحتی از بین می‌روند مانند پیازچه، اسفناج و گشنیز را یک هفته تا یک ماه به نسبت بسته‌های زیپ‌دار معمولی موجود در بازار افزایش می‌دهند. این بسته‌ها همچنین زمان ماندگاری سایر سبزیجات فاقد رنگ سبز را یک هفته تا ۱۰ روز، فلفل دلمه‌ای و خیار را ۵ تا ۷ روز، کلیه میوه‌ها را ۱۰ روز و ماهی را ۷ روز افزایش

3- Polyvinylpyrrolidone (PVP)

4- Green asparagus spears

5- Gong

6- *Staphylococcus epidermis*7- *Bacillus subtilis*

1- Eukaryotic

2- Tollens

عکس برداری در مکان ثابت و مشخصی در کف محفظه قرار می گرفتند و نور لامپها با امکانات هدایت کننده خاص از بالا و دو طرف نقطه نمونه گذاری بر روی این مکان مشخص، متمرکز می شدند. مدت زمان انجام پژوهش از ابتدای بسته بندی اولیه تا باز کردن آخرین بسته ها حدود ۵ ماه به طول انجامید که شامل ۲۲ مرحله منظم آزمایش (فاصله زمانی بین هر دو مرحله یک هفته) و سایر بررسی های لازم برای نمونه های ۲ و ۴؛ و ۱۳ مرحله برای نمونه های ۱ و ۳ بود.

آزمایش های میکروبی شامل کپک، مخمر، اشرشیا کلی، کلی فرم، استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی باکتری های هوازی مزوفیل بر اساس استانداردهای ملی ایران انجام شدند که بطور خلاصه به شرح ذیل می باشند (۱، ۲، ۶، ۳):  
 ۱- تهیه رقت های اعشاری متوالی از نمونه با رقیق کننده رینگر ۴ انتقال ۱ میلی لیتر از رقت های ساخته شده به پلیت های خالی استریل ۳ افزودن ۱۵ تا ۲۰ میلی لیتر محیط کشت آگاردار انتخابی برای باکتری مورد نظر و کشت به صورت پورپلیت و چرخاندن پلیت به صورت ۸ در سطح افقی ۴ گرم خانه گذاری در دمای مناسب پس از بسته شدن آگار (برای شمارش کلی باکتری ها در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت و برای کپک به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) ۵ شمارش کل کلنی های رشد یافته در هر پلیت را انجام داده = (a) ۶ در صورت نیاز انجام تست های تاییدی ۷  $a \times \text{عکس رقت} \times$  عکس حجم = (cfu/g) ۱ تعداد کلنی مورد نظر در هر گرم نمونه در هر پلیت A سپس میانگین مقادیر بدست آمده در کل پلیت ها را به عنوان تعداد کلنی مشخصه مورد نظر در هر گرم یا میلی لیتر از نمونه بیان می کنیم.

کردن که بیشتر به شیوه سنتی انجام می شود و نیز به بسته بندی های موجود بر می گردد. در این پژوهش با توجه به خصوصیات منحصر به فرد نانوکامپوزیت های محتوی نانوذرات نقره از جمله خاصیت ضد میکروبی و ممانعت در مقابل نفوذ اکسیژن، اثرات این نوع از بسته بندی ها بر کیفیت و ماندگاری زرشک بررسی شد.

## مواد و روش ها

ابتدا زرشک مورد نظر با نمونه برداری تصادفی از یک مزرعه انتخاب و سعی شد در تمام مراحل قبل از بسته بندی شرایط یکسانی داشته باشند، سپس نسبت به بسته بندی آنها در بسته های محتوی نانوذرات نقره با غلظت  $200 \text{ ppm}$  (نمونه شماره ۱)، ۱ درصد (نمونه شماره ۲)، ۲ درصد (نمونه شماره ۳) و همچنین در یک نوع بسته رایج در بازار جهت بسته بندی زرشک از جنس پلی اتیلن سبک و به صورت سلوفان (نمونه شماره ۴) اقدام شد.

در این پژوهش نوع مطالعه آزمایشگاهی بوده چنانکه هر یک هفته یک بسته از هر نوع بسته بندی مورد بررسی قرار گرفت و ضمن انجام آزمایشات میکروبی از زرشک محتویات بسته ها به منظور بررسی تغییر رنگ ظاهری دانه های زرشک عکس گرفته شد. همچنین پس از گرم خانه گذاری پلیت های کشت های میکروبی و ثبت نهایی نتایج آزمایش بلافاصله به منظور مستندسازی نتایج آزمایشات از این پلیت ها نیز عکس گرفته شد. کلیه عکس ها در یک محفظه خاص با ترکیب نور ثابت و یکنواخت و با میزان بزرگ نمایی یکسان گرفته شد. محفظه تهیه شده برای عکس برداری از فضای کافی برخوردار بود و دوربین در یک نقطه ثابت از آن قرار گرفته بود. یک لامپ با نور زرد و یک لامپ دیگر با نور سفید از بالا هر کدام از یک نقطه ثابت، نور یکنواختی با وضوح کافی برای نمونه ها ایجاد می کردند. نمونه ها جهت

گونه‌ای که با گذشت زمان، اختلاف بیشتری بین تعداد کلنی‌های نمونه مربوط به بسته‌بندی‌های محتوی نانوذرات نقره با نمونه‌های پلی‌اتیلن در مقایسه با هفته‌های قبلی آزمایش، مشاهده شد. همچنین با افزایش غلظت نانوذرات در بسته‌های نانو کامپوزیت (نمونه ۱ با ۲ و ۳) کاهش بیشتر در تعداد کلنی‌ها بدست آمد و از مقایسه نتایج نمونه شماره ۱ با نمونه ۴ تفاوت چندانی در تعداد کلنی‌های ایجاد شده مشاهده نشد. بررسی‌های آماری توسط نرم افزار *SPSS15* و با آزمون‌های *Duncan* و *Tukey* (سطح با معنی بودن = ۰/۰۵) نیز نشان دادند که: ۴ فاکتورهای گسسته نوع بسته بندی و زمان به طور جداگانه و نیز متقابل اثر معنی داری بر تمام مشخصه‌های وابسته میکروبی (کپک و شمارش کلی باکتری‌ها) دارند. ۴. نتایج نمونه شماره ۱، در شمارش کلی باکتری‌ها با نتایج نمونه شماره ۴ اختلاف معناداری نداشته ولی در مورد کپک با تمام انواع مختلف نمونه‌ها اختلاف معناداری نشان داد. ۳. نمونه شماره ۲ نیز در کپک و شمارش کلی باکتری‌ها با نمونه شماره ۳ اختلاف معناداری نداشته ولی در غیر از مورد فوق در تمام مشخصه‌ها با انواع مختلف نمونه‌ها اختلاف معناداری نشان داد. ۴. نمونه شماره ۳ در تمام مشخصه‌ها با سایر نمونه‌ها به جز نمونه شماره ۲ تفاوت معنی دار نشان داد.

لذا در خصوص مشخصه‌های میکروبی از نظر آماری بسته‌های محتوی نانوذرات نقره با غلظت‌های ۱ و ۲ درصد از نانوذرات به نسبت بسته‌هایی از همین جنس با غلظت  $200\text{ ppm}$  از نانوذرات و نیز بسته‌های پلی‌اتیلن معمولی به صورت سلفان اثر مثبت معناداری بر تمام مشخصه‌های میکروبی مورد بررسی نشان دادند. بسته‌های محتوی نانوذرات نقره با غلظت  $200\text{ ppm}$  به نسبت بسته‌های سلفانی پلی‌اتیلن در مورد کپک اثر مثبت معنی داری را نشان دادند. میانگین نتایج حاصل از آزمایشات میکروبی در شکل‌های ۱،

لازم به ذکر است که در این پژوهش جز برای آزمون مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس نیازی به تست‌های تاییدی نبود.

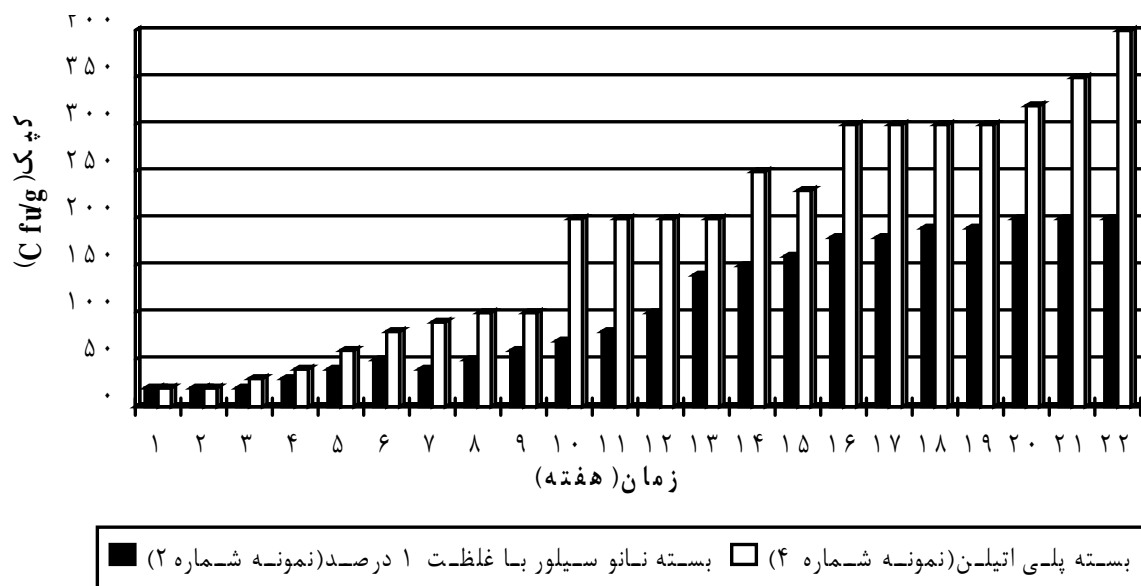
رنگ ظاهری دانه‌های زرشک با مقایسه رنگ قرمز و درصد روشنایی عکس‌های هر نمونه بوسیله نرم افزار فتوشاپ ۱۰ مورد بررسی قرار گرفت. از هر عکس ۵ نقطه به صورت تصادفی انتخاب و عدد مربوط به میانگین رنگ قرمز ۱۰۱ پیکسل<sup>۱</sup> اطراف هر کدام از آن نقطه‌ها در نرم‌افزار فتوشاپ خوانده شد. میانگین اعداد خوانده شده، عدد مربوط به رنگ قرمز و درصد نهایی روشنایی آن تصویر در نظر گرفته می‌شد.

آزمون‌های میکروبی و بررسی رنگ قرمز و درصد روشنایی بر اساس یک طرح فاکتوریل تصادفی برای ۳ تکرار، ۴ نمونه و ۱۳ هفته آزمایش انجام شدند و در مجموع ۱۵۶ داده بدست آمد (در مورد نمونه‌های ۲ و ۴ به دلیل وجود بسته‌های اولیه و برای مقایسه بهتر اثر بسته‌های محتوی نانوذرات نقره با بسته‌های پلی‌اتیلن معمولی، آزمایشات تا ۲۲ هفته ادامه یافتند). جهت بررسی آماری داده‌های بدست آمده از نرم افزار *SPSS15* استفاده شد و میانگین نتایج با آزمون‌های *Duncan* و *Tukey* (سطح با معنی بودن = ۰/۰۵) مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

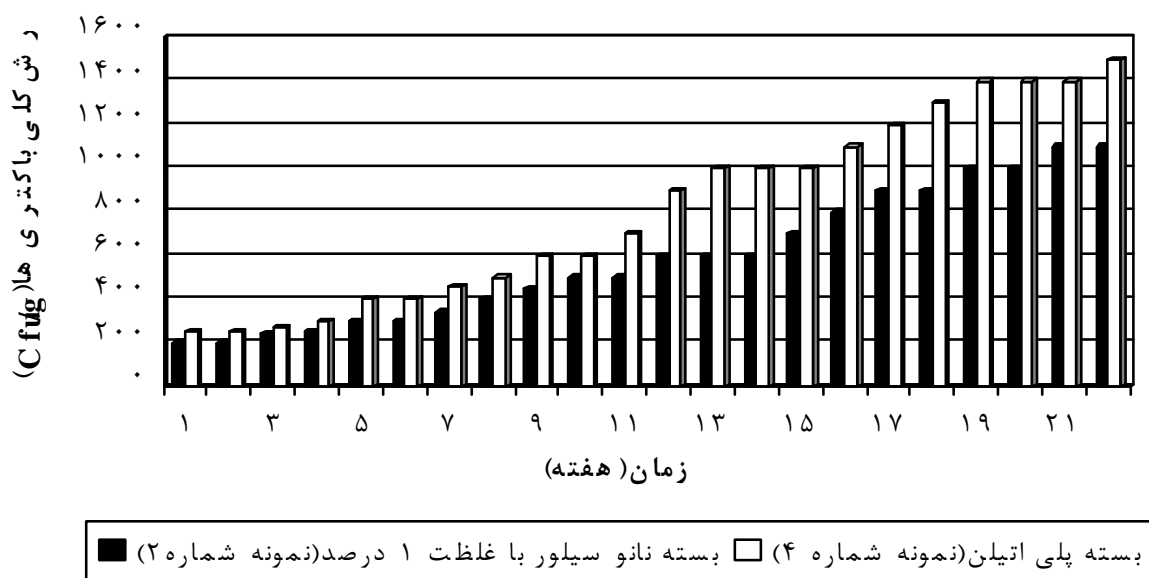
## نتایج و بحث

تقریباً در تمام نمونه‌ها در بازه‌های زمانی مختلف استافیلوکوکوس اورئوس، کلی‌فرم، اشرشیا کلی و مخمر مشاهده نشد. کلنی‌های کپک و همچنین کلنی‌های مشاهده شده از آزمایشات شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل در بسته‌بندی‌های نانو تقریباً در تمام هفته‌های آزمایش، کمتر از نمونه‌های مربوط به بسته‌های پلی‌اتیلن بدست آمد به

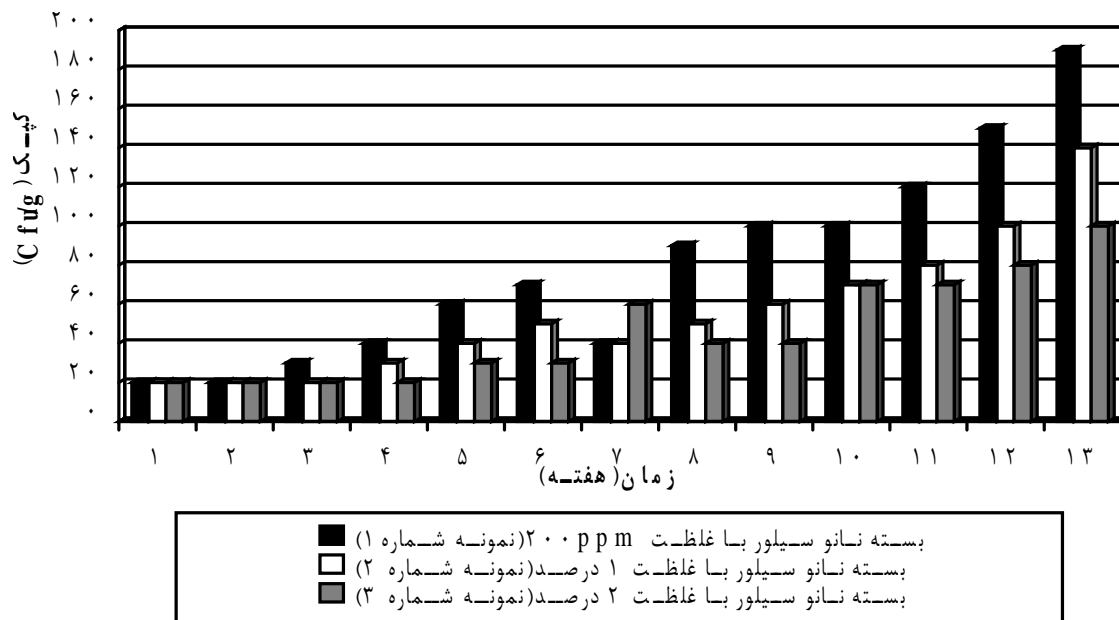
۲، ۳ و ۴ نشان داده شده‌اند.



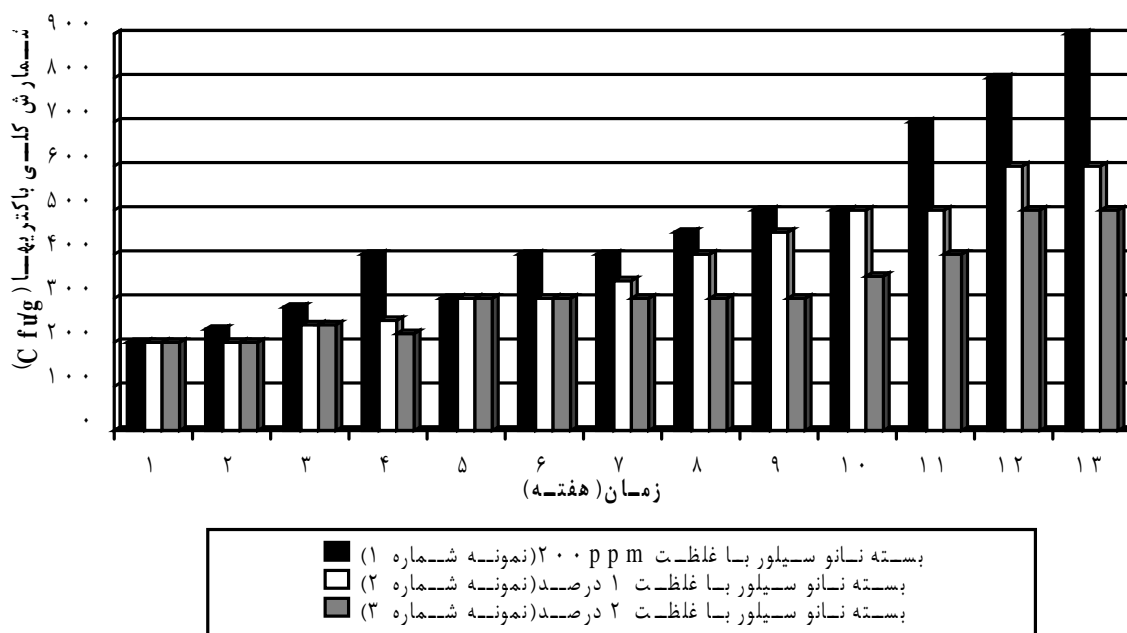
شکل ۱. نمودار مقایسه‌ای مقدار کپک در نمونه‌های شماره ۲ و ۴ برای ۲۲ هفته آزمایش



شکل ۲. نمودار مقایسه‌ای مقدار شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های شماره ۲ و ۴ برای ۲۲ هفته آزمایش



شکل ۳. نمودار مقایسه‌ای مقدار کپک در نمونه‌های شماره ۱، ۲ و ۳ برای ۱۳ هفته آزمایش



شکل ۴. نمودار مقایسه‌ای شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های شماره ۱، ۲ و ۳ در ۱۳ هفته آزمایش

و همچنین افزایش ناگهانی در نتایج مربوط به شمارش کلی باکتری‌ها در هفته چهارم برای نمونه شماره ۱ و سپس کاهش این مشخصه در هفته پنجم، می‌تواند احتمالاً بخاطر

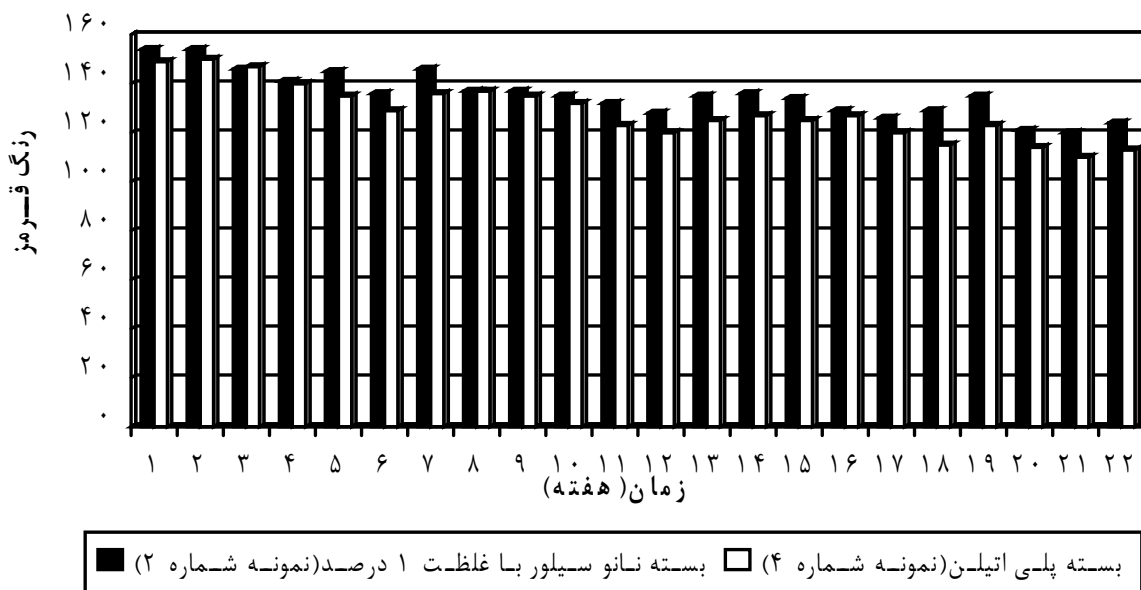
همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود افزایش ناگهانی در نتایج مربوط به کپک در هفته چهاردهم برای نمونه شماره ۴ و سپس کاهش این مشخصه در هفته پانزدهم

نمونه های شماره ۲ و ۴ اختلاف معناداری نداشته ولی در غیر از موارد فوق در تمام مشخصه ها با تمام انواع مختلف نمونه ها اختلاف معناداری نشان داد. ۳. نمونه شماره ۲ نیز در عدد مربوط به رنگ قرمز با نتایج نمونه های شماره ۱، ۴ و در درصد روشنایی با نمونه شماره ۳ اختلاف معناداری نداشته ولی در غیر از موارد فوق در تمام مشخصه ها با انواع مختلف نمونه ها اختلاف معناداری نشان داد. ۴. نمونه شماره ۳ در تمام مشخصه ها با سایر نمونه ها تفاوت معنادار نشان داد و تنها در عدد مربوط به درصد روشنایی با نمونه شماره ۲ تفاوت معناداری نداشت.

لذا در خصوص مشخصه های ظاهری، بسته های محتوی نانوذرات نقره با غلظت ۲ درصد از نانوذرات به نسبت بسته هایی از همین جنس با غلظت  $200 \text{ ppm}$  از نانوذرات و نیز بسته های پلی اتیلن اثر مثبت معناداری بر تمام مشخصه های ظاهری مورد بررسی دارند. میانگین نتایج حاصل از بررسی های ظاهری در زیر در شکل های ۵، ۶، ۷ و ۸ نشان داده شده اند.

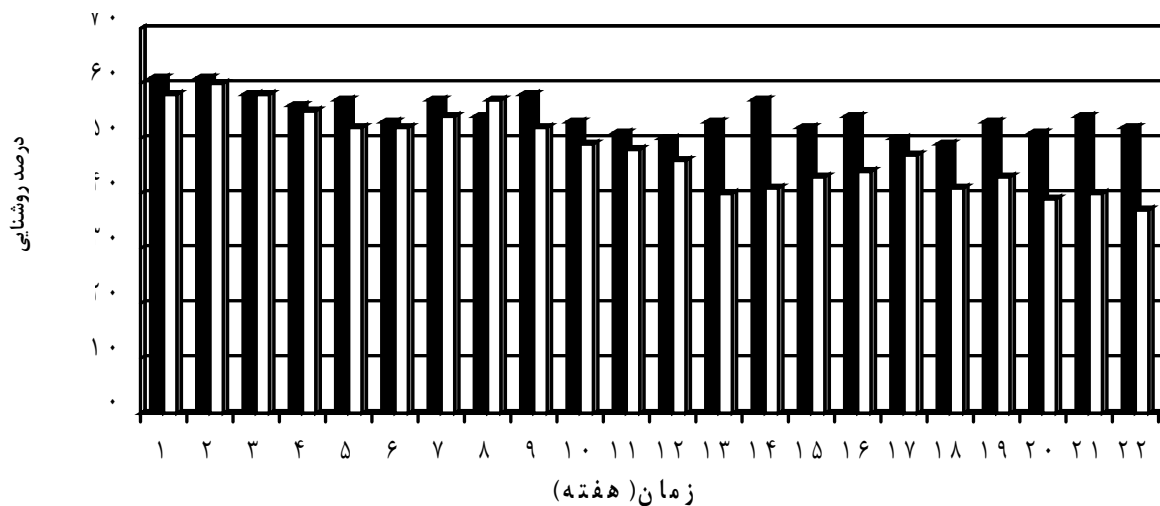
خطای آزمایش های مذکور در این ۲ هفته و در مورد این ۲ نمونه باشد که علیرغم تلاش فراوان جهت رعایت کلیه شرایط لازم در کلیه مراحل آزمایش های میکروبی روی داده است. اما تعداد این نتایج که دور از سایر داده ها می باشند، بسیار اندک است.

رنگ ظاهری دانه های زرشک بر اساس میانگین رنگ قرمز و درصد روشنایی عکس های هر نمونه که بوسیله نرم افزار فتوشاپ بدست آمده بود مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. در اکثر هفته های آزمایش هم درصد روشنایی و هم عدد مربوط به رنگ قرمز نمونه های شماره ۳ بیش از نمونه ۱ و ۴ بدست آمد. بررسی های آماری توسط نرم افزار SPSS15 و با آزمون های *Tukey* و *Duncan* (سطح با معنی بودن = ۰/۰۵) نیز نشان دادند که: ۴ فاکتورهای گسسته نوع بسته بندی و زمان به طور جداگانه اثر معنی داری بر مشخصه های رنگ قرمز و درصد روشنایی دارند. اما اثر متقابل معنی داری بر روی این مشخصه ها نشان ندادند. ۴. نتایج نمونه شماره ۱، در تمام مشخصه های ظاهری با نتایج



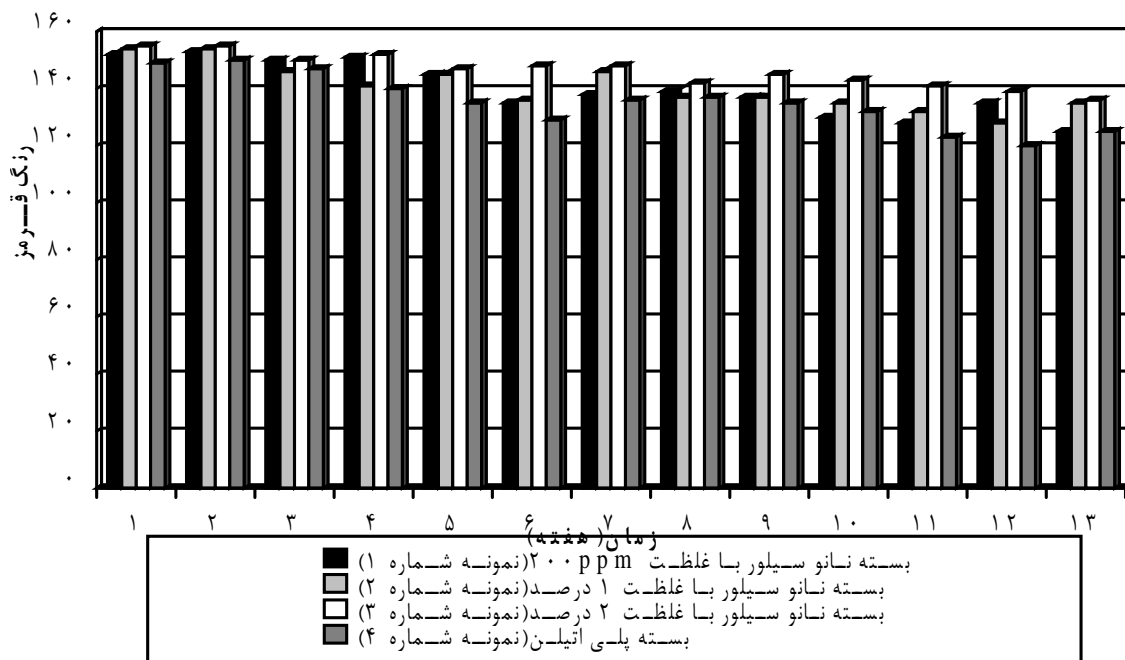
شکل ۵. نمودار مقایسه ای رنگ قرمز نمونه های ۲ و ۴ در ۲۲ هفته بررسی مشخصه های ظاهری



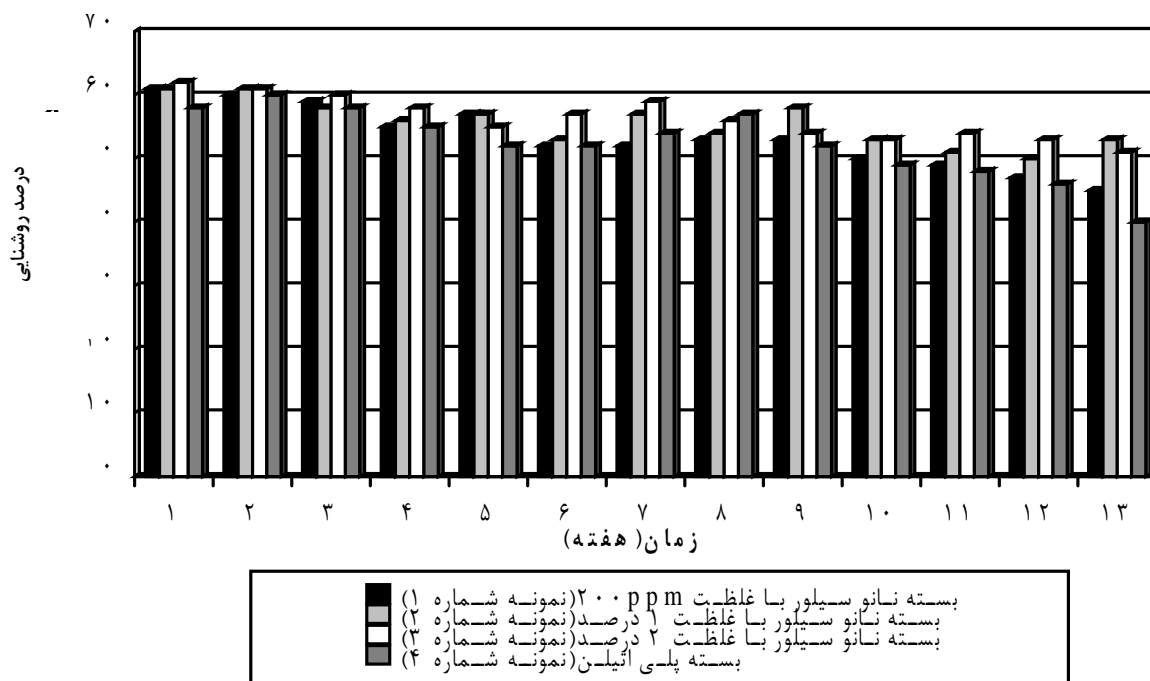


■ بسته پلای اتیلن (نمونه شماره ۴) □ بسته نانو سیلور با غلظت ۱ درصد (نمونه شماره ۲)

شکل ۶. مقایسه درصد روشنایی نمونه‌های ۲ و ۴ در ۲۲ هفته بررسی مشخصه‌های ظاهری



شکل ۷. نمودار نتایج عدد مربوط به رنگ قرمز نمونه‌های شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ در ۱۳ هفته بررسی مشخصه‌های ظاهری



شکل ۸. نمودار نتایج مربوط به درصد روشنایی نمونه های شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ در ۱۳ هفته بررسی مشخصه های ظاهری

می کنند. علاوه بر این نانوذرات نقره با نفوذ به داخل سلول و ایجاد پیوند با گروه های تیول پروتئاز<sup>۱</sup> باعث کاهش فعالیت پروتئاز می شوند. نانوذرات نقره با اجزای ساختمانی غشای باکتری واکنش می دهند و باعث تخریب سلول می شوند (۲۲، ۲۵، ۱۸ و ۲۰). نقره در حالت فلزی بی اثر است اما در تماس با سلول واکنش می دهد و یون آزاد می کند. یون های نقره بسیار واکنش دهنده هستند به طوری که با پروتئین های بافت ترکیب و موجب تغییر ساختار دیواره سلول و غشاء هسته و در نتیجه مرگ سلول می شوند. به عبارت دیگر اثر متقابل نانوذرات نقره و ریبوزوم سلول موجب توقف آنزیم ها و پروتئین ها می شود (۱۹ و ۲۰). با در نظر گرفتن این موضوع که وقتی مولکول های DNA آزاد هستند تکثیر DNA می تواند براحتی انجام شود ولی وقتی DNA در حالت فشرده است توانایی تکثیر خود را از دست می دهد، وقتی

موفقیت های بدست آمده نتیجه خواص منحصر به فرد بسته های نانو سیلیور مانند خواص ضد میکروبی و همچنین مقاومت در مقابل نفوذ رطوبت و گازها از جمله اکسیژن می باشد. با توجه به اینکه چهار عامل فعالیت های آبی، رشد میکروارگانیسم ها، فعالیت های آنزیمی و تغییر و تبدیل رنگدانه ها در نتیجه اکسیداسیون از مهمترین عوامل موثر بر کیفیت زرشک می باشند (۷). بسته بندی های محتوی نانوذرات نقره با خواص منحصر به فرد فوق الذکر باعث کاهش عوامل مخرب فوق و در نتیجه افزایش کیفیت و ماندگاری زرشک می شود. مواد ضد میکروبی سرعت رشد و حداکثر جمعیت میکروارگانیسم ها را با طولانی کردن فاز تاخیری یا غیرفعال کردن میکروب کم می کنند (۱۰). خاصیت ضد میکروبی بسته های محتوی نانوذرات نقره به این دلیل می باشد که ذرات نقره با افزایش سطح ویژه ای که در مقیاس نانو پیدا کرده اند به سطح پوسته سلول چسبیده، کارهای معمولی سلول نظیر تنفس و انتقال مواد را مختل

1- Thiol groups (--SH)

2- Proteases

در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن نشان می‌دهند.

- بسته‌های محتوی نانوذرات نقره با غلظت‌های بالاتر از ۱ درصد از نانوذرات نقره در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن در افزایش کیفیت رنگ ظاهری محصول زرشک اثر قابل توجهی دارند.
- به نظر می‌رسد اثر غلظت‌های پایین نانوذرات در حد  $200$  و  $1$  درصد بر افزایش کیفیت ظاهری محصول زرشک به اندازه غلظت‌های بالاتر آنها (در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن معمولی) نمی‌باشد.
- به نظر می‌رسد اثر غلظت‌های پایین نانوذرات در حد  $200$  ppm بر کاهش بار میکروبی محصول زرشک به اندازه غلظت‌های بالاتر آنها (در مقایسه با بسته‌های پلی اتیلن معمولی) نمی‌باشد.

امروزه با افزایش رقابت در بازارهای جهانی و صادرات و با پیشرفت‌های روزافزون صنعت بسته‌بندی به کار بردن یک بسته‌بندی مناسب می‌تواند به پیشی گرفتن در رقابت‌های اقتصادی و صادرات محصولات مختلف کمک فراوانی نماید. کاهش کیفیت ظاهری و میکروبی زرشک در اثر استفاده از بسته‌بندی‌های نامناسب باعث رکود بازار و صادرات آن شده است. با توجه به نتایج مثبت بدست آمده در خصوص افزایش کیفیت و ماندگاری محصول زرشک در اثر استفاده از بسته‌های محتوی نانوذرات نقره، استفاده از این بسته‌های نانو کامپوزیت خواهد توانست مشکل بسته‌بندی این محصول ارزشمند را حل نموده و امکان عرضه آن با مشخصه‌های میکروبی و ظاهری مناسب، مطابق استانداردهای بین‌المللی و مورد پذیرش مشتری را فراهم نماید.

### قدر دانی

بر خود لازم می‌دانیم از مساعدت‌های موسسه تحقیقات

یون‌های نقره به داخل سلول باکتری نفوذ می‌کند با اتصال به پایه مارپیچی *DNA* آنرا به شکل فشرده تبدیل می‌کند و توانایی تکثیر را از آن می‌گیرد و باعث مرگ سلول می‌شود. نانوذرات نقره به زنجیره تنفسی و تقسیم سلولی حمله می‌کند و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شوند (۲۰). همچنین به نظر می‌رسد ممانعت بیشتر در مقابل نفوذ مولکول‌ها به واسطه حرکت زیکزآگی مولکول‌ها در اطراف نانوذرات موجود در بسته‌ها که به نسبت حرکت مستقیم آنها در بسته‌های معمولی زمان بیشتری برای نفوذ کامل مولکول‌ها به درون بسته نیاز دارند، باشد (۲۴). زرشک تازه، به رنگ قرمز روشن است که به تدریج و با از دست دادن آب به قرمز تیره می‌گراید و با تخریب و تغییر ترکیبات در رنگدانه‌های موجود در زرشک به خصوص آنتوسیانین‌ها در اثر شرایط نامناسب فرآوری و نگهداری، به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره در می‌آید. تغییر و تبدیل رنگدانه‌ها به مواد دیگر تحت تاثیر عواملی چون آنزیم‌ها، اکسیداسیون، نور، حرارت انجام می‌گیرد که به شدت کیفیت ظاهری زرشک را کاهش می‌دهد. زرشک دارای آنزیم‌های فنولاز، پلی فنولاز و گلیکوزیداز می‌باشد. فعالیت این آنزیم‌ها در محدوده فعالیت آبی  $0/6$  به بالا است (۷). کاهش فعالیت‌های آنزیمی در اثر کاهش فعالیت آبی به دلیل ممانعت در مقابل نفوذ رطوبت و همچنین کاهش اکسیداسیون به دلیل ممانعت در مقابل نفوذ اکسیژن در بسته‌های محتوی نانوذرات نقره باعث کاهش تغییر و تبدیل رنگدانه‌های زرشک و در نتیجه حفظ کیفیت ظاهری آن به میزان بیشتر به نسبت سایر بسته‌ها می‌شود.

از مجموع نتایج بدست آمده می‌توان دریافت که:

- بسته‌های محتوی نانوذرات نقره به جز در غلظت‌های پایین از نانوذرات نقره در حدود  $200$  ppm اثر ضد میکروبی قابل توجهی در مورد محصول زرشک

و فناوری رضوی مشهد و آزمایشگاه مواد غذایی دانشگاه تمیزی و سرکار خانم عاطفه نخعی تقدیر و تشکر نمایم.  
علوم پزشکی بیرجند و همکاری سرکار خانم دکتر آزاده

### منابع

- ۱) استاندارد شماره ۲۹۴۶ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام روش جستجو و شمارش اشرشیاکلی با استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی، 1384، ICS Code : 07/100/30
- ۲) استاندارد شماره ۳ ۶۸۰۶ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام روش جامع برای شمارش استافیلوکوکوس های کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و سایر گونه ها) قسمت سوم جستجو، شناسایی و شمارش به شیوه محتمل ترین تعداد برای تعداد کم میکروارگانسیم، 1385، ICS Code: 07/100/30
- ۳) استاندارد شماره ۴ ۱۰۸۹۹ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام روش جامع برای شمارش کپک ها و مخمرها- قسمت دوم- روش شمارش کلنی در فرآورده های با فعالیت آبی مساوی یا کمتر از ۰/۹۵، ۱۳۸۷، ICS Code: 07/100/30
- ۴) راتنر، د، و راتنر، م. ۱۳۸۶. نانوفناوری، موسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف، تهران، چاپ اول.
- ۵) رحیمی فرد، ن. ۱۳۸۶. راهنمای سریع کنترل میکروبیولوژی مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی، انتشارات تیمورزاده، تهران، چاپ اول.
- ۶) صداقت، ن. ۱۳۸۴. تکنولوژی بسته بندی مواد غذایی، انتشارات مرز دانش، تهران، انتشارات بارناوا، مشهد، چاپ دوم.
- ۷) کافی م، و بالندری ا. ۱۳۸۱. زرشک فناوری تولید و فرآوری، انتشارات دانشگاه فردوسی، مشهد، چاپ اول.
- ۸) میرنظامی ضیابری، س ح. ۱۳۸۵. اصول بسته بندی مواد غذایی، انتشارات آبیژ، تهران، چاپ پنجم.
- ۹) نوری ا. س.، و خدایاری م. ۱۳۸۴. مقدمه ای بر نانو تکنولوژی، انتشارات نوپردازان، تهران، چاپ اول.
- 10) Brody, A., and B., Bugusu. 2008. Innovative Food Packaging Solutions, *Journal of Food Science*, 73, 107-116.
- 11) Brody, A. 2008. Satisfy Your Hunger for Packaging Knowledge, *Food Technology Magazine*, 122-125.
- 12) Duke, J.A. 1991, *Handbook of Medicinal Herbs* 8ed. CRC Press. Inc. Florida.
- 13) David D., and Jr, Evanoff. 2004. Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays, *J. Phys. Chem. B*, 108, 13948.
- 14) Gong, P., H. Li. 2007. Preparation and antibacterial activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Ag nanoparticles, *Nanotechnology*, 18, 604-611.
- 15) Jianshen, An, and M., Zhang. 2008. Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 41, Issue 6, 1100-1107.
- 16) Liu, S. X., and Z. P. Qu. 2004. A mechanism for enhanced photocatalytic activity of silver-loaded titanium dioxide, *Catalysis Today*, 877: 93-95.
- 17) Li, H., and F., Li. 2008. Effect of nano -packing on preservation quality of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill var. *inermis* (Bunge) Rehd), *Food Chemistry*, Volume 114, Issue 2, 547-552.
- 18) Nien Chung, Y., and P. Ming Chu. 2007. Nanosilver ver- containing preservation articles, and the preparation process and the uses thereof, *Ellicott City MD US*, International patent number: AA01N2512FI.

- 19) Pucek, A., and L. Kvitck. 2006. Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity, *J. Phys. Chem.* 110(33): 16248-16253.
- 20) Rai, M., and A., Yadav. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnology Advances*, Volume 27, Issue 1, 76-83.
- 21) Sondi, I., and D.V. Goia. 2003. Preparation of Highly Concentrated Stable Dispersions of Monodispersed Silver Nanoparticles, *J. Colloid Interface Sci*, 260, 75-81
- 22) Sondi, B., and I. Sondi. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria, *Colloid and Interface Science*, Volume 275, Issue 1, 177-182.
- 23) Sharon, M., and N., Richardson. 2007. Nanotechnology: Implications for food and nutrition professionals, *Journal of the American Dietetic Association*, 107, 1494-1496.
- 24) Sorrentino, A., and G., Gorrasi. 2007. potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications, *Food Science & Technology*, 18, 84-95.
- 25) Song, H. Y., and K. K., KO. 2006. Fabrication of Silver Nanoparticles and Their Antimicrobial Mechanisms, *European Cells and Materials*, Volume 11, Issue 1, 58.
- 26) Satio, Y., and J. J. Wang. 2005. Simple chemical method for forming silver surfaces with controlled grain sizes for surface plasmon experiments, *Langmuir*, 19: 6857.
- 27) Tayebi, L., and F., Zarkesh. 2008. The effect of nanosilver coated on magnesium oxide for antimicrobial properties, in 2th Int. Conf. Nanotechnology and Science, iran.