مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال دهم، شماره 3، پاییز 1394، صفحات 56-47

کاربرد فیلم‌های نانوکامپوزیت بر پایه پلی‌اتیلن با دانسیته پایین حاوی خاک رس آلی اصلاح شده با نانوفلزات در بسته‌بندی پنیر لیقوان

پریسا عبدالستاری[1]، سیدهادی پیغمبردوست[2]، جواد حصاری[3]، سیدجمال‌الدین پیغمبردوست[4]، رضا رضائی مکرم[5]

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران
2- نویسنده مسئول: استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران
پست الکترونیکی peighambardoust@tabrizu.ac.ir
3- استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران
4- استادیار علوم و تکنولوژی پلیمر، دانشکده مهندسی شیمی و نفت ، دانشگاه تبریز، ایران
5- استادیار میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

تاریخ دریافت: 94/2/2 تاریخ پذیرش: 94/5/16

چکیده

سابقه و هدف: پنیر لیقوان از جمله پنیرهای سنتی پرطرفدار ایرانی است که به دلیل عطر و طعم فوق‌العاده از دیرباز مورد توجه عموم قرار داشته است. به‌دلیل تولید این پنیر از شیر خام وجود میکروارگانیسم‌های پاتوژن و عامل فساد در آن اجتناب ناپذیر است. لذا هدف از این پژوهش کاربرد فیلم‌های فعال نانوکامپوزیتی حاوی نانورس آلی و نانوذرات فلزی در پلیمر پلی‌اتیلن با دانسیته پایین در پنیر لیقوان بود.

مواد و روش‌ها: بسته‌های پنیر با استفاده از فیلم‌های نانوکامپوزیت تهیه و در دمای ^{o}C 4 نگهداری شد. آزمون‌های میکربی و فیزیکی شیمیایی پنیر بسته‌بندی شده بلافاصله پس از بسته‌بندی (لحظه صفر) و پس از 7، 14، 21 و 28 نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد سرعت رشد باکتری‌های کلی‌فرم و *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر لیقوان بسته بندی شده در فیلم‌های نانوکامپوزیتی پلی‌اتیلن حاوی رس اصلاح شده آلی با فلزات نقره و مس تا 28 روز پس از انبارمانی به صورت معنی‌داری ($p<0/05$) کاهش یافت. در صورتی‌که این بسته بندی تأثیری بر روند کلی تغییرات باکتری‌های لاکتوباسیلوس نداشت. نتایج آزمون مهاجرت نانوذرات فلزی با توجه به استانداردهای اتحادیه اروپا و اداره دارو و غذای آمریکا بر ایمن بودن استفاده از نانوکامپوزیت‌های حاوی نانوذرات فلزی دلالت داشتند.

نتیجه‌گیری: فیلم پلی اتیلنی حاوی نانورس اصلاح شده آلی با نانوذرات فلزی نقره و مس سبب کاهش باکتری‌های کلی‌فرم و *استافیلوکوکوس اورئوس* و عدم تأثیر قابل توجه بر روند تغییرات کلی فلور میکربی پنیر گردید.

واژگان کلیدی: پنیر لیقوان، زمان ماندگاری، نانوکامپوزیت، نانورس، نانو نقره

• مقدمه

پنیر یکی از متنوع‌ترین فرآورده‌های لبنی است و هرگونه عامل نامساعد داخلی و خارجی می‌تواند سبب بروز مشکلاتی در زمینه عطر و طعم و بافت آن شود. سیستم‌های بسته‌بندی در جهتی طراحی شده‌اند که بتوانند تا حدودی این مشکلات را چه در حین رسیدن و چه در حین ذخیره سازی برطرف کنند. پنیر لیقوان از جمله پنیرهای سنتی پرطرفدار ایرانی است. استفاده از شیر خام و عدم پاستوریزاسیون شیر مصرفی پنیر لیقوان می‌تواند سبب بروز آلودگی‌های کپکی و سایر مشکلات میکربیولوژیکی گردد. از طرفی بسته‌بندی نامناسب این پنیر مشکلات میکربی آن را تشدید می‌کند. بسته‌بندی مواد غذایی ضروری و فراگیر است: ضروری است، زیرا بدون بسته‌بندی می‌تواند ایمنی و کیفیت غذا به خطر افتد، و فراگیر است، زیرا تقریباً تمام موادغذایی حداقل تا حدودی بسته‌بندی می‌شوند. بسته‌بندی زمانی فعال نامیده می‌شود، که نقشی غیر از ارائه یک مانع بی اثر در مقابل شرایط خارجی ایفا کند. کاربرد فناوری نانو در حیطه بسته‌بندی موادغذایی سبب

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

افزایش ماندگاری موادغذایی گردیده است (1). خاک‌های رس اصلاح شده آلی، محصولات حاصل از فعل و انفعالات بین مواد معدنی خاک رس و ترکیبات آلی است که کاربرد مهمی در نانوکامپوزیت‌های پلیمری پیدا کرده‌اند. آلی‌سازی (Organophilization) مناسب، گام کلیدی برای ورقه‌ای کردن موفق ذرات رس در اکثر ماتریس‌های پلیمری می‌باشد که انرژی فعال‌سازی خاک رس را کاهش داده و سازگاری آن را با پلیمرهای آلی بهبود می‌بخشد. خاک‌های رس اصلاح شده آلی ارزان‌تر از نانو مواد دیگر هستند زیرا به راحتی از منابع طبیعی قابل دسترسی هستند. نانوذرات رس آلی اصلاح شده با جاگیری در ساختار پلیمر سبب کاهش نفوذپذیری بسته در مقابل نفوذ گازها می‌شود (2). در میان کاتیون‌های فلزی یون نقره دارای بیشترین خاصیت ضدمیکروبی در مقابل طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌های شناخته شده است. به‌طوری‌که علاوه بر باکتری‌ها روی قارچ‌ها و ویروس‌ها نیز مؤثر است. خاصیت ضدمیکروبی آن درازمدت (Shelf life) بوده و فراریت کمی دارد. از سوی دیگر سمیت آن برای سلول‌های یوکاریوت کم است و می‌توان آن را بر روی انواع پلاستیک افزود (3). نقره در حالت فلزی بی اثر است اما در تماس با سلول واکنش داده و یون آزاد می‌کند. یون‌های نقره بسیار واکنش دهنده هستند و با پروتئین‌های بافت، ترکیب و موجب تغییر ساختار دیواره سلول و غشاء هسته و در نتیجه مرگ سلول میکربی می‌شوند (4). مس یکی از مواد معدنی ضروری موجود در اکثر موادغذایی است. همچنین دارای خاصیت شدید ضدمیکروبی می‌باشد. خاصیت ضدمیکروبی مس روی *اشرشیاکلای*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروباکترآئروژنز* و *پرییپونی باکتر آئروژنیزا* ثابت شده است. ولی در مقایسه با نقره اثر ضدمیکروبی کمتری دارد (3). اما پخش این نانوذرات در ماتریس پلیمر به سبب فعالیت سطحی بالا یکنواخت نیست.

استفاده از خاک رس اصلاح شده به عنوان حامل مواد ضدمیکربی معدنی به علت دارا بودن ظرفیت تبادل یونی بالا، مساحت سطح زیاد، ظرفیت جذب بالا، بار منفی سطحی و سمیت کم یا عدم سمیت، سبب پخش یکنواخت‌تر نانوذرات فلزی در ماتریس پلیمر می‌شود. (5). هدف از تحقیق حاضر کاربرد بسته‌های پلیمری حاوی رس اصلاح شده آلی و اصلاح شده با نانوذرات مس و نقره برای نگهداری پنیر لیقوان به عنوان روشی بسته‌بندی نوین جهت افزایش عمر ماندگاری و کاهش سرعت رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن موجود در پنیر بود.

• مواد و روش‌ها

مواد اولیه: پنیر لیقوان از کارگاه تولید پنیر سنتی از روستای لیقوان تهیه شد. دو نوع نانوکامپوزیت پلی‌اتیلن- خاک رس اصلاح شده آلی و خاک رس اصلاح شده آلی با فلزات نقره و مس در پتروشیمی تبریز به روش برهمکنش مذاب در اکسترودر دو مارپیچ تهیه گردید و نتایج با فیلم شاهد (پلی‌اتیلن خالص) مقایسه شد. ترکیب فیلم‌های به کار رفته در جدول 1 آمده است (8-6). محیط‌های کشت میکربی شامل ویولت رد بایل آگار (Violet Red Bile Lactose Agar, VRBA) برای بررسی گروه کلی فرم، مانیتول سالت آگار (Mannitol Salt Agar, MSA or Chopman Agar) جهت کشت *استافیلوکوکوس اورئوس*، ام آر اس آگار (Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar) جهت بررسی لاکتوباسیلوس‌ها و YGC (Yeast extract Glucose Chloramphenicol Agar) برای کپک و مخمر استفاده شد. که همگی از شرکت شارلو اسپانیا تهیه گردید.

جدول ۱. نام‌گذاری و نوع فیلم‌های به کار رفته در پژوهش

تیمار	ترکیب و درصد
S	کنترل (فاقد نانوذرات)
A	Cloisite15A 2%+ Cloisite 20A 2%+ Cloisite 30B 2%
B	Cloisite30B-Ag 2%+ Cloisite30B-CuO 2 %

فیلم‌های نانوکامپوزیتی بر پایه LDPE مورد استفاده در این تحقیق

فیلم A: برای تهیه فیلم از ماتریکس پلیمری پلی‌اتیلن دانسیته پایین نوع LH0075 (شرکت پتروشیمی بندر امام) استفاده شد. خاک رس اصلاح شده آلی از نوع Cloisite 15A ، Cloisite 20A و Cloisite 30B (شرکت Southern Clay آمریکا) تهیه شد. برای افزایش سازگاری خاک رس با ماتریکس پلی‌اتیلن، سازگاردهنده پلی‌اتیلن پیوند شده با مالئیک انیدرید به نسبت 1:1 خاک رس از شرکت کیمیا جاوید سپاهان تهیه شد.

فیلم B: برای اصلاح خاک رس مورد استفاده توسط ذرات نقره فلزی، از محلول نیترات نقره به عنوان منبع نقره و از محلول سدیم بوروهیدرید ($NaBH_4$) به عنوان احیاء کننده یون‌های نقره به نقره فلزی و همچنین برای اصلاح خاک رس توسط یون‌های مس از سولفات مس استفاده شد.

روش اصلاح خاک رس توسط نقره فلزی برای تهیه خاک‌های رس نوع Cloisite 30B و سدیم مونتموریلونیت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

اصلاح شده با نقره، ابتدا خاک رس نوع Cloisite 30B و سدیم مونتموریلونیت به‌طور جداگانه به‌وسیله همزدن شدید به مدت یک ساعت در آب مقطر پخش شدند و سپس محلول نیترات نقره به سوسپانسیون مزبور اضافه شد. سوسپانسیون برای یک ساعت دیگر در دمای اتاق به‌شدت هم زده شد تا واکنش تبادل یونی کامل شود. سپس محلول تازه تهیه شده سدیم بوروهیدرید با همزدن مداوم به سوسپانسیون اضافه گردید. بعد از افزودن عامل احیاء کننده، همزدن برای یک ساعت دیگر ادامه یافت. سپس بخش جامد و مایع سوسپانسیون با کاغذ صافی از هم جدا شدند. رسوب حاصل سه بار با آب مقطر شسته شد. محصول این مرحله در دمای 60 درجه سانتی‌گراد در طول شب خشک شده و سپس برای دست‌یابی به پودر یکنواخت آسیاب گردید.

اصلاح خاک رس توسط یون‌های مس: ابتدا خاک رس با محلول سولفات مس برای 6 ساعت در 60 درجه سانتی‌گراد همراه با هم زدن مخلوط شد. فازهای مایع و جامد با کاغذ صافی از هم جدا شدند. رسوب حاصل تا رسیدن به pH=5 با آب مقطر شستشو شد. محصول این مرحله در دمای 80 درجه سانتی‌گراد در طول شب خشک شد و سپس برای به دست آوردن یک پودر همگن آسیاب شد.

روش تهیه فیلم های A و B: برای مخلوط کردن مواد اولیه و انجام فرآیند اکستروژن و تهیه نانوکامپوزیت مورد نظر، از اکسترودر با نام تجاری پلاتک اس ام (PLATEK SM) ساخت کشور کره جنوبی استفاده شد. درجه حرارت مناطق مختلف اکسترودر از قسمت تغذیه تا خروجی به ترتیب 125، 145، 155، 170، 185، 195، 195 و200 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. فشار اکسترودر به 12/5 بار و دمای ذوب به 200 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پس از اطمینان از تمیز شدن مسیر و ایجاد شرایط مذکور، پلی‌اتیلن و نانوذرات فلزی با درصدهای معین وزن شده به خوبی با هم مخلوط و از طریق قیف تغذیه وارد محفظه اکسترودر گردید. مواد طی عبور از داخل اکسترودر ذوب شده و با اعمال انواع نیروهای برشی و فشار به طور کامل با هم مخلوط شدند. مذاب حاصل به صورت نورای از قالب انتهایی اکسترودر خارج شده و با عبور از حوضچه آب سرد، خنک شده و وارد دستگاه گرانول‌ساز گردید. برای تولید فیلم از اکسترودر دو پیچه با نام کستینی (Castiny) ساخت کشور ایتالیا استفاده شد. در این مرحله گرانول‌های تهیه شده از قسمت تغذیه وارد دستگاه شده و بعد از حرارت‌دهی و اختلاط، به صورت فیلمی نازک بر روی غلطک خنک‌کننده پخش شده و همزمان با خنک شدن به وسیله چند غلطک سرد متوالی (Chill-Rolls) کشیده شده و در انتهای دستگاه به دور لوله‌ای چرخانده می‌شود. دمای نواحی مختلف این اکسترودر نیز به ترتیب 239، 239، 223، 223، 218، 215، 185 درجه سانتی‌گراد بود.

روش تهیه بسته‌های حاوی پنیر لیقوان: 50 گرم پنیر تازه لیقوان که صبح روز بسته‌بندی از روستای لیقوان تهیه شده بود و به مدت 24 ساعت در داخل آب نمک 18% قرار گرفته بود؛ به وسیله چاقوی تیز و استریل به ضخامت 1cm برش داده شد. فیلم‌های نانوکامپوزیت و فیلم پلی‌اتیلن سبک خطی به عنوان شاهد در ابعاد 20x22 cm برش خورد و به وسیله الکل 70 استریل شد، پنیر با ضخامت مفروض در داخل بسته‌ها قرار گرفت و دوخت بسته‌ها با دستگاه پرس پلاست ساخت گروه صنعتی مانا (دارای تایمر، ایران) در 3 تکرار صورت گرفت. بسته‌های آماده شده در دمای 4 درجه سانتی گراد به مدت 28 روز نگهداری شد و در فواصل زمانی 0، 7، 14، 21 و 28 روز آزمون‌های میکربی و فیزیکی شیمیایی بر روی نمونه‌های بسته‌بندی شده انجام گرفت (9).

آزمون‌های میکربی: با انتقال 10 گرم از پنیر هر بسته، به ارلن مایر حاوی 90 میلی‌لیتر محلول رینگر، محلول رقت 10^{-1} (1% وزنی-حجمی) تهیه شد. سپس 1 میلی‌لیتر از آن به لوله حاوی 9 میلی‌لیتر اضافه شد تا محلول 10^{-2} تهیه شود و بدین ترتیب رقت‌های بعدی به دست آمد. برای شمارش گروه کلی‌فرم از روش کشت آمیخته استفاده شد بدین ترتیب که 1 میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-6}-10^{-1} تهیه شده به داخل پتری استریل افزوده شد و سپس 20-15 میلی‌لیتر محیط کشت VRB (Scharlau Chemie, SA., Spain) که خنک شده بود روی رقت ریخته شد، 10-5 ثانیه به خوبی مخلوط شد سپس پتری‌ها داخل گرمخانه 35 درجه سانتی‌گراد به مدت 24-18 ساعت قرار گرفت. برای شمارش لاکتوباسیلوس‌ها از روش کشت آمیخته و محیط کشت (Scharlau Chemie, MRS, SA., Spain) استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا 1 میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-11}-10^{-1} تهیه شده به صورت جداگانه برداشته به پتری‌های استریل افزوده و محیط کشت استریل و خنک شده به پتری ریخته در سطح افقی مخلوط شد. سپس در دمای 35 درجه سانتی‌گراد داخل جار بی‌هوازی به مدت 72-48 ساعت گرمخانه گذاری شدند. شمارش کپک و مخمر به روش کشت سطحی و به وسیله محیط کشت (Scharlau Chemie, YGC SA., Spain) صورت گرفت. 20-15 میلی‌لیتر از محیط کشت موردنظر به هر پتری استریل شده افزوده شد پس از جامد شدن محیط کشت مقدار 0/1 میلی‌لیتر از محلول‌های

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

10^{-6}-10^{-1} توسط سمپلر به سطح محیط کشت منتقل شد و به وسیله اسپریدر پخش شد. پس از خشک شدن پتری‌ها در گرمخانه 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 5-3 روز قرار گرفت. شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز به روش کشت سطحی و محیط کشت مانیتول سالت آگار (Scharlau Chemie, SA., Spain) استفاده شد. پس از افزودن 20-15 میلی‌لیتر محیط کشت مانیتول سالت آگار داخل پتری‌های استریل اجازه داده شد تا محیط کشت ببندد سپس 0/1 میلی‌لیتر از محلول‌های 10^{-6}-10^{-1} به سطح محیط کشت ریخته و پخش شد و در انکوباتور 35 درجه سانتی‌گراد به مدت 48-24 ساعت قرار گرفت.

اندازه‌گیری pH: اندازه‌گیری pH، با وارد کردن مستقیم الکترود دستگاه pH متر (HANNA، ساخت شرکت MEDTHROM آلمان) به داخل نمونه پنیر همگن شده در دمای اتاق صورت گرفت (10).

اندازه‌گیری ماده خشک: اندازه‌گیری ماده خشک با استفاده از آون (شرکت MEMMERT آلمان) دمای 5±105 تا حصول وزن ثابت صورت گرفت (11).

آزمون مهاجرت: آزمون مهاجرت نانوذرات فلزی براساس استاندارد اروپا برای مواد پلاستیکی در تماس با سطح غذا (قوانین 82/711/EEC و 85/572/EEC) انجام شد. که طبق این استانداردها آزمون مهاجرت با مشابه غذایی اسید استیک 3% (V/V) برای موادغذایی اسیدی و آب مقطر برای موادغذایی با pH خنثی و نزدیک آن صورت می‌گیرد. که به دلیل pH اسیدی پنیر لیقوان کیسه‌هایی با ابعاد mm^2 200 x220 از فیلم‌های نانوکامپوزیتی تهیه شد و با 200 میلی‌لیتر از محلول استیک‌اسید 3% (حجمی/حجمی) پرشد سپس دوخت حرارتی صورت گرفت و در40 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 روز در انکوباتور نگهداری شد. پس از طی مدت زمان مقرر با شرایط مذکور غلظت نانوذرات نقره و مس به وسیله اسپکتروسکوپی جذب اتمی (NOVAA400 ساخت شرکت ANALYTIKJENA آلمان) مجهز به کوره گرافیتی اندازه‌گیری شد (13، 12).

آنالیز آماری: آنالیز آماری با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های بسته‌بندی به کار رفت. جهت بررسی اثرات متقابل اثر بسته‌بندی و زمان رویه مدل خطی عام GLM (General Linear Model) به کار رفت مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال 5% انجام پذیرفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی، شرط نرمال بودن قبل از آزمون آنالیز واریانس با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی شد. تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 انجام و برای رسم نمودارها از Excell استفاده شد تمامی نمونه‌ها با سه تکرار انجام پذیرفت و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار در سه تکرار گزارش شد.

• یافته‌ها

درصد رطوبت: براساس نتایج گزارش شده در جدول 2 درصد رطوبت نمونه‌های پنیر هر سه تیمار درطی دوره نگهداری 28 روزه در 4°C کاهش و به تبع آن درصد ماده خشک افزایش یافت ($p<0/05$). بیشترین میزان کاهش در فیلم B و کمترین کاهش در فیلم S مشاهده شد.

pH: جدول 2 تغییرات pH نمونه‌های پنیر بسته‌بندی شده طی 28 روز نگهداری در دمای 4 °C را نشان می‌دهد. طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش بیشترین و کمترین pH به دست آمده در هر سه تیمار به ترتیب مربوط به لحظه صفر و روز 28ام است که بر روند کاهشی pH طی مدت زمان نگهداری تأکید می‌شود.

گروه کلی‌فرم: تعداد کلی‌فرم بلافاصله پس از بسته‌بندی (Logcfu/g) 5/06 شمارش شد. طبق یافته‌های به دست آمده در این پژوهش مقدار کلی‌فرم پنیر بسته‌بندی شده در فیلم نانوکامپوزیتی رس اصلاح شده آلی حاوی نانوذرات نقره و مس (B) با گذشت زمان نزدیک به 2 سیکل لگاریتمی کاهش نشان می‌دهد ($p<0/05$). درحالی‌که در فیلم پلی‌اتیلن سبک خطی (S) و فیلم نانوکامپوزیتی حاوی رس اصلاح شده آلی (A) این روند افزایشی بوده و تا روز 21ام تفاوت معنی‌داری بین دو فیلم مشاهده نمی‌شود ($p>0/05$)، ولی در شمارش روز 28ام بین هر سه نمونه پنیر بسته‌بندی شده تفاوت معنی‌داری وجود دارد و کمترین مقدار مربوط به فیلم B است ($p<0/05$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

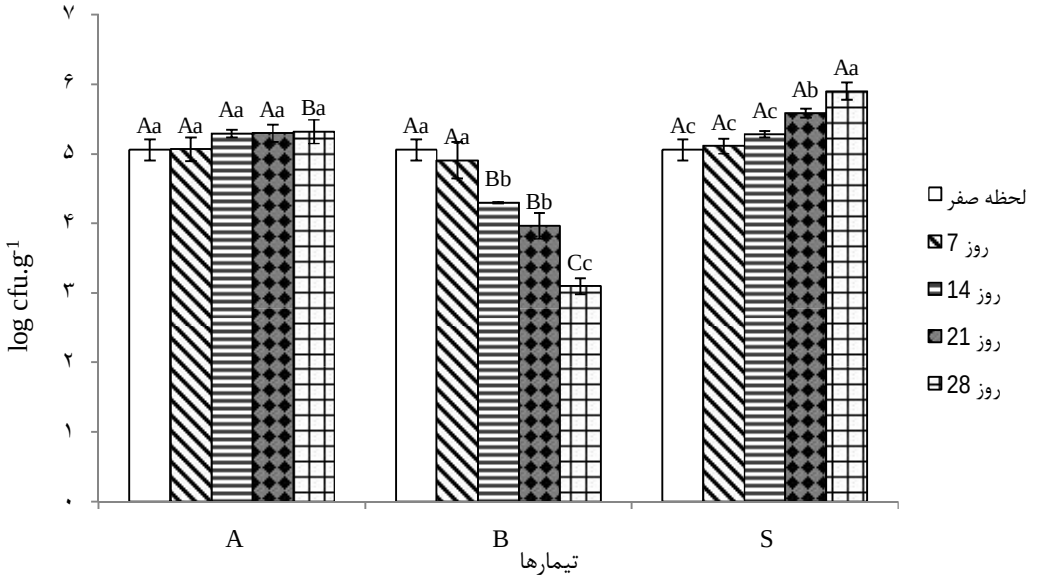
جدول2. تغییرات درصد رطوبت و pH پنیر لیقوان بسته‌بندی شده طی مدت زمان نگهداری

نوع بسته‌بندی	تیمار	طول انبارداری (روز)	درصد رطوبت	pH
پلی اتیلن سبک	S***	0	62/67 ± 0/142 Aa*	5/13 ± 0/032 Aa**
		7	62/64 ±0/112 Ab	4/97 ±0/025 Ab
		14	61/19 ±0/439 Ac	4/83 ±0/043 Ac
		21	60/53 ±0/530 Ad	4/78 ±0/020 Bc
		28	59/94 ±0/278 Ac	4/66 ±0/012 Bd
پلی‌اتیلن سبک حاوی Closite 15A 2% + Closite 20A 2% + Closite 30B 2%	A	0	62/67 ± 0/142 Aa	5/13 ± 0/032 Aa
		7	59/87 ±0/132 Bb	5/06 ±0/043 Bb
		14	58/19 ±0/996 Bc	4/90 ±0/010 Bc
		21	56/08 ±0/522 Cd	4/71 ±0/017 Cd
		28	55/98 ±0/319 Bd	4/69 ±0/015 Ad
پلی‌اتیلن سبک حاوی Cloisite 30B-Ag 2% + Cloisite 30B-CuO 2%	B	0	62/67 ± 0/142 Aa	5/13 ± 0/032 Aa
		7	59/26 ±1/134 Bb	5/11 ± 0/025 Ca
		14	58/52 ±0/657 Cbc	4/99 ±0/025 Cb
		21	57/82 ±0/127 Bc	4/86 ±0/015 Ac
		28	55/32 ±0/811 Cd	4/69 ±0/021 Ad

* مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

** حروف بزرگ مختلف نشان از وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و حروف کوچک مختلف نشان از وجود تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف بر اساس آزمون دانکن در سطح معنی‌داری (p<0/05) است.

*** نامگذاری و ترکیب فیلم‌ها در جدول 1 آمده است.



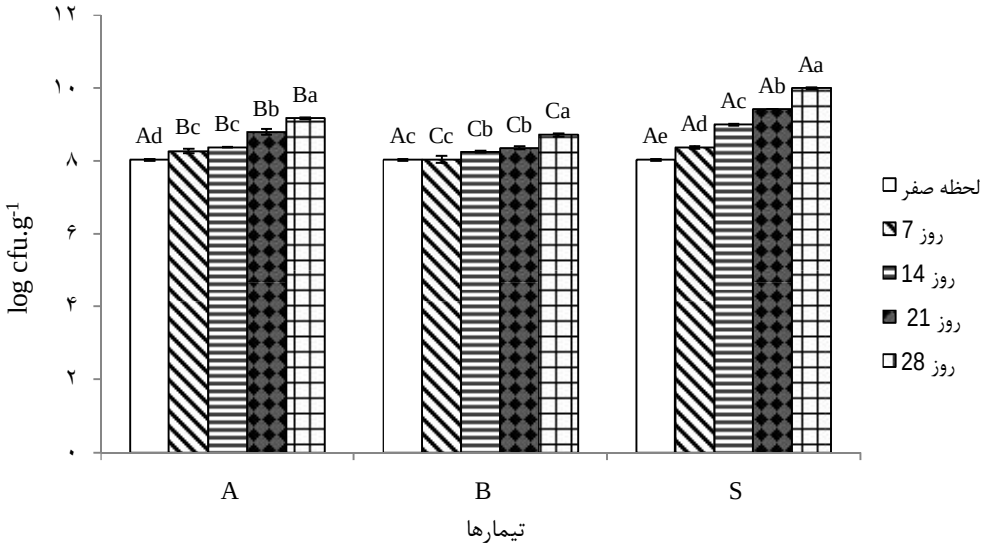
شکل1. میانگین شمارش کلی‌فرم‌ها به تفکیک نوع بسته‌بندی و مدت زمان نگهداری در پنیر لیقوان

حروف لاتین بزرگ متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و حروف لاتین کوچک مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف بر اساس آزمون دانکن در سطح p<0/05 است. نامگذاری و ترکیب فیلم‌ها در جدول 1 آمده است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

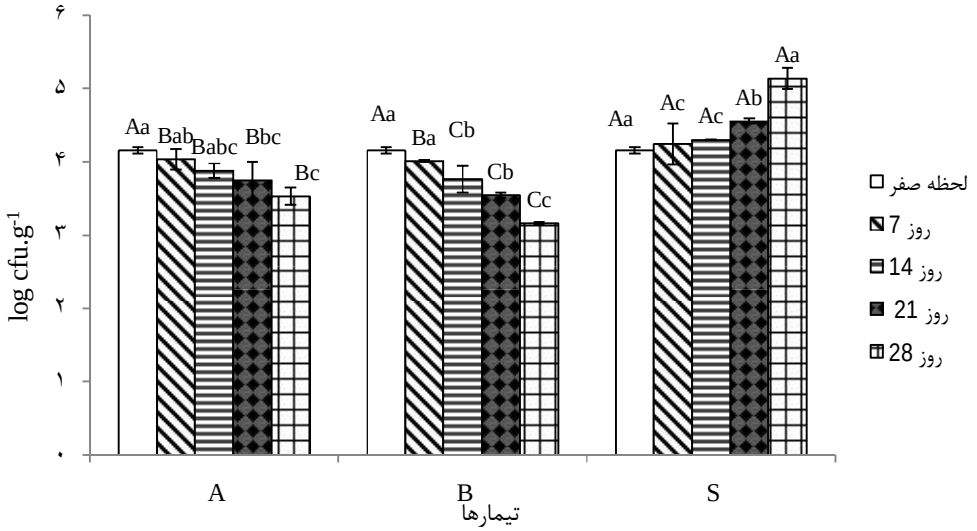
لاکتوباسیلوس‌ها: بیشترین شمارش لاکتوباسیلوس‌ها مربوط به فیلم S در روز 28ام بود ($p<0/05$). نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان‌دهنده روند افزایشی لاکتوباسیلوس‌ها در سه نمونه پنیر بسته‌بندی شده است اما در تمامی زمان‌های مورد بررسی کمترین مقدار لاکتوباسیلوس‌ها مربوط به فیلم نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات رس اصلاح شده آلی حاوی نانوذرات نقره و مس (B) بود.

استافیلوکوکوس اورئوس: متوسط لگاریتم تعداد کلنی در گرم (Logcfu/g) *استافیلوکوکوس اورئوس* بلافاصله پس از بسته‌بندی 4/16 شمارش شد. مقدار *استافیلوکوکوس اورئوس* در دو فیلم A و B با گذشت زمان کاهش یافت ولی روند تغییرات نمونه کنترل افزایشی بود ($p<0/05$). به‌طوری‌که در بین سه تیمار به کاربرده شده کمترین شمارش مربوط به فیلم نانوکامپوزیتی رس اصلاح شده آلی حاوی نانوذرات نقره و مس (B) بود.



شکل2. میانگین شمارش لاکتوباسیلوس‌ها به تفکیک نوع بسته‌بندی و مدت زمان نگهداری در پنیر لیقوان

حروف لاتین بزرگ متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و حروف لاتین کوچک مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف بر اساس آزمون دانکن در سطح $p<0/05$ است. نامگذاری و ترکیب فیلم‌ها در جدول 1 آمده است.



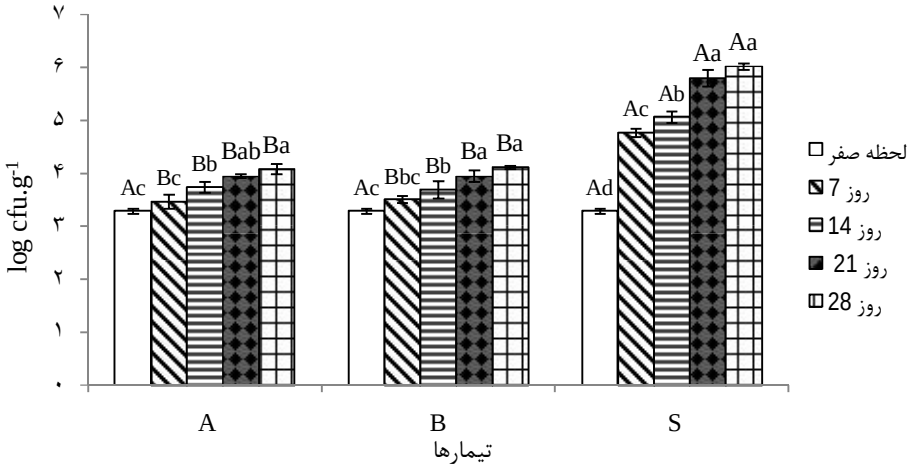
شکل3. میانگین شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* به تفکیک نوع بسته‌بندی و مدت زمان نگهداری در پنیر لیقوان

حروف لاتین بزرگ متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و حروف لاتین کوچک مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف بر اساس آزمون دانکن در سطح $p<0/05$ است. نامگذاری و ترکیب فیلم‌ها در جدول 1 آمده است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

کپک و مخمر: شمارش اولیه کپک مخمر بلافاصله پس از بسته‌بندی (Logcfu/g) 3/28 بود و با گذشت زمان نیز در هر سه تیمار مورد بررسی روند افزایشی مشاهده شد به طوری که بیشترین مقدار در هر زمان مربوط به فیلم پلی‌اتیلن سبک خطی (S) و کمترین مقدار مربوط به دو فیلم نانوکامپوزیتی (A و B) بود ($p<0/05$).

مهاجرت نانوذرات فلزی: مقدار مهاجرت یون نقره و مس به مشابه ماده غذایی به ترتیب 46/89 ppb و9/05 ppm به دست آمد (جدول 3). طبق استاندارد EU (European Union) در سال 2011 مقدار مجاز مهاجرت یون نقره 50 ppb گزارش شده است (14). استاندارد EFSA مقدار مجاز مهاجرت یون مس به غذا را 50 ppm گزارش کرد (15). Emamifar و همکاران حد مجاز مهاجرت یون نقره را 10 ppm گزارش کردند (16). Espitia و همکاران حد مجاز استاندارد مس را 10 ppm و Ibrahim و همکاران با توجه به مطالعات خود بر روی سمیت یون مس در سلول‌های انسانی حد مجاز نهایی را 50 ppm دانستند (18، 17). با توجه به استانداردهای به‌دست آمده از مقالات و مقایسه آن با نتایج و داده‌های به‌دست آمده می‌توان به ایمن بودن استفاده از این بسته‌ها اذعان داشت.



شکل4. میانگین شمارش کپک و مخمر به تفکیک نوع بسته‌بندی و مدت زمان نگهداری در پنیر لیقوان

حروف لاتین بزرگ متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و حروف لاتین کوچک مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف بر اساس آزمون دانکن در سطح $p<0/05$ است. نامگذاری و ترکیب فیلم‌ها در جدول 1 آمده است.

جدول3. نتایج آزمون مهاجرت نانوذرات فلزی به مشابه ماده غذایی

عنصر	حداقل حدود آشکارسازی (µg/l)		مقادیر اندازه‌گیری شده در فیلم B* (µg/l)
	کوره گرافیتی	شعله	
نقره	0/005	0/9	46/89
مس	0/02	1	9050

*نامگذاری و ترکیب فیلم‌ها در جدول 1 آمده است.

• بحث

تغییرات درصد رطوبت پنیر طی مدت زمان نگهداری: به طورکلی نمی‌توان روند ثابتی برای افزایش یا کاهش درصد رطوبت پنیرهای سنتی در نظرگرفت، اما همانطور که در این تحقیق نیز مشاهده شد معمولاً این روند در پنیر لیقوان و پنیرهای سنتی مشابه ترکیه نظیر کاشار و کامروس کاهشی است. روند کاهشی درصد رطوبت پنیر طی 28 روز نگهداری با مطالعات Pourali Behzad مطابقت نشان می‌دهد (19). اما آن‌چه که از مطالعات برمی‌آید نشانگر عدم تأثیر قابل توجه بسته‌بندی‌های ضدمیکربی بر روی روند کلی تغییرات درصد رطوبت است. نتایج Dukalska و همکاران نیز برهمین امر تأکید دارد (20).

تغییرات pH پنیر طی مدت زمان نگهداری: pH از عواملی است که تأثیر زیادی بر روی پایداری پنیر و شرایط رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت آنزیمی و سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی در طی رسیدن دارد. تجزیه لاکتوز مقدمه تمام تبدیل‌ها، تولید اسید و تنظیم pH مناسب در پنیر است که این امر در هنگام رسیدن طبیعی پنیر، باعث هدایت پروتئولیز در مسیر صحیح و مانع فساد آن می‌شود. میزان اسیدیته و pH بر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

فعالیت فلور میکربی و آنزیم‌های مختلف در طول تولید، دوره رسیدن و قوام و طعم پنیر تأثیر دارد (21). pH پنیرهای سنتی عرضه شده توسط Mirzaei در بازار تبریز 0/3±4/68 گزارش شد و روند کاهشی آن را طی 60 روز رسیدن، مشاهده کرد (22). نتایج مشاهده شده در این تحقیق با یافته‌های Dukalska و همکاران سازگاری دارد (20).

تغییرات گروه کلی‌فرم‌ها در پنیر طی مدت زمان نگهداری: به نظر می‌رسد یکی از اصلی‌ترین دلایل وجود مقادیر بالای گروه کلی‌فرم پنیر لیقوان عدم پاستوریزاسیون شیر مصرفی در پنیرسازی است از طرفی عدم رعایت بهداشت طی شیردوشی و عدم رعایت اصول نگهداری علوفه و نگهداری دام‌ها مزید برعلت شده تا وجود گروه کلی‌فرم در پنیرهای سنتی ایران جزء لاینفک این محصولات باشد. بیشترین میزان کاهش کلی‌فرم مربوط فیلم B بود که به دلیل تأثیر نانوذرات نقره و مس می‌باشد و با گذشت 14 روز از نگهداری، حدود به 1 سیکل لگاریتمی کاهش مشاهده شد و پنیر بسته‌بندی شده در فیلم شاهد، روند افزایشی را نشان داد. نتایج به‌دست آمده با یافته‌های Sinigaglia و همکاران (23) و Panfil-Kuncewicz و همکاران مطابقت دارد (9) ولی در مشاهدات Incoronato و همکاران در پنیر سنتی فیوردیلاته گروه کلی‌فرم در همه نمونه‌ها ابتدا روند افزایشی سپس ثبات را نشان داد و در نمونه‌های حاوی نانوذرات فلزی روند افزایشی به مراتب کندتر از سایر نمونه‌ها بود (24). Gumiero و همکاران در نمونه شاهد روند افزایشی و در سایر نمونه‌ها روند ثابتی را مشاهده کردند (25).

تغییرات لاکتوباسیل‌ها در پنیر طی مدت زمان نگهداری: باکتری‌های اسیدلاکتیک به طور گسترده‌ای در طبیعت توزیع شده و به تعداد بالایی در غذاهای با تخمیر خودبخودی وجود دارند بسیاری از محصولات سنتی لبنی شدت و قدرت طعم خود را از باکتری‌های اسیدلاکتیک غیراستارتری به‌دست می‌آورند (26). بیشترین سویه‌های شناسایی شده در پنیر لیقوان را لاکتوباسیلوس‌ها تشکیل می‌دهند. در مراحل اولیه رسیدن میانگین کل جمعیت میکربی روند صعودی ولی در انتهای دوره رسیدن یعنی بعد از 3 ماه، کاهش کلی مشاهده می‌شود (27). باکتری‌های لاکتوباسیلوس در فیلم شاهد طی مدت زمان نگهداری روند افزایشی داشتند که با مطالعه Dukalska و همکاران سازگاری دارد (20). پنیر بسته‌بندی شده در فیلم حاوی نانوذرات فلزی نسبت به فیلم شاهد روند افزایشی کندتری نشان داد که به دلیل وجود نانوذرات نقره و مس در این فیلم می‌باشد که با یافته‌های Sinigaglia و همکاران مطابقت دارد (23). همچنین در تحقیقی مشابه روند افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در پنیر کلئو در بسته‌بندی فعال و نگهداری 32 روزه قابل مشاهده بود (28).

تغییرات *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر طی مدت زمان نگهداری: احتمال داده می‌شود اصلی‌ترین دلیل وجود *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر به عدم رعایت بهداشت تولید پنیر توسط تولیدکنندگان و به تماس مستقیم و بدون پوشش دست در هنگام تولید باشد. *استافیلوکوکوس اورئوس* توانایی تحمل نمک حتی در غلظت 3 مول را نیز دارد. باکتری‌های هالوفیل کلرید سدیم را در غلظت‌های 2/6-2/8 مول تحمل می‌نمایند. پس در حالت نگهداری پنیر در آب نمک تاحدی توانایی تحمل شرایط نامطلوب را دارد. Mirzaei *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر لیقوان عرضه شده در بازار تبریز را $(4/53\pm0/32)\times10^3$ cfu/g گزارش داد (22). پنیر بسته‌بندی شده در فیلم B پس از گذشت 28 روز نگهداری 1 سیکل لگاریتمی کاهش را نشان داد، فیلم حاوی نانوذرات رس اصلاح شده آلی (A) کاهشی کمتر نسبت به فیلم B مشاهده شد. درحالی‌که در فیلم شاهد ابتدا روند تقریباً ثابت سپس افزایش مشاهده شد که این نتایج با یافته‌های Sinigaglia و همکاران سازگاری دارد (23). ولی در بررسی Incoronato و همکاران در پنیر فیوردیلاته در نمونه شاهد روند افزایشی طی مدت زمان نگهداری مشاهده شد ولی در سایر تیمارها ابتدا روند ثابت سپس روند افزایشی مشاهده شد (24).

تغییرات کپک مخمرها در پنیر طی مدت زمان نگهداری: از علل رشد کپک و مخمر در نمونه پنیر می‌توان به عدم پاستوریزاسیون شیر مصرفی در پنیرسازی اشاره داشت. معمولاً بررسی‌ها در پنیرهای سنتی بر روند افزایشی کپک ومخمر طی دوره رسیدن تأکید دارد به‌طوری‌که Mirzaei مقدار کپک در پنیر لیقوان عرضه شده در بازار تبریز را $(4/54\pm2/37)\times10^3$ cfu/g و مقدار مخمر را $(92/08\pm38/86)\times10^3$ cfu/g گزارش داد (22). تعداد کپک مخمر در هر 3 نوع فیلم روند افزایشی نشان داد که با یافته‌های Dukalska و همکاران سازگاری دارد (20). از طرفی روند افزایش کپک در پنیر بسته‌بندی شده در فیلم شاهد نسبت به سایر فیلم‌ها بیشتر بود که مطابق یافته‌های به دست آمده توسط Panfil-Kuncewicz و Muizniece-Brasav بود (9، 28). اما در مطالعه Gumiero و همکاران روند تغییرات کپک مخمر در نمونه شاهد افزایشی و در سایر تیمارها ثابت بود (25). مقالاتی که در زمینه بسته‌بندی پنیر وجود دارند نیز روند افزایش کپک مخمر را طی دوره نگهداری به وضوح نشان داده‌اند. تعداد کپک مخمر در پنیر جیبنابیدا در بسته‌های فلزی و پلاستیکی در دمای یخچال طی 42 روز اول نگهداری

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

روند افزایش نشان داد که با داده‌های به‌دست آمده در این تحقیق نیز مطابقت دارد (29).

در جمع بندی می‌توان گفت که بسته حاوی رس اصلاح شده آلی حاوی ناوذرات فلزی نقره و مس سبب کاهش جمعیت کلی‌فرم‌ها و *استافیلوکوکوس اورئوس* گردید ضمن آن‌که تأثیر قابل توجهی بر فلور میکربی پنیر نداشت.

• References

1. Appendini P, Hotchkiss JH. Review of antimicrobial food packaging. J Innovative Food Sci Emerg Technol 2002; 3: 113-126.
2. Azeredo, H. Nanocomposites for food packaging applications. J Food Res Int 2009; 42: 1240-1253.
3. Llorens A, Picouet P, Trbojevich R, Fernandez, A. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. J Trends Food Sci Technol. 2012; 24: 19-29.
4. Rai M, Yadav A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. J Biotechnol Adv 2009; 27(1): 76-83.
5. Malachova K, Praus P, Rybkova Z, Kozak O. Antibacterial and antifungal activities of silver, copper and zinc montmorillonites. Applied Clay Sci 2011; 53: 642-645.
6. Samadpour S. Preparation of LDPE nanocomposite films containing nanoclay modified containing metallic nanoparticles and investigation of their physical, mechanical and antimicrobial properties. MSc Thesis. University of Tabriz, 2013.
7. Fasihnia H. Preparation of LDPE nanocomposite films containing organically modified nanoclay and investigation of their physical, mechanical and antimicrobial properties. MSc Thesis University of Tabriz, 2013.
8. IRIPO. 83198. Manufacture of antimicrobial nanocamposite films for active packaging foodstuff.
9. Panfil-Kuncewicz H, Stanieewski B, Szpendowski J, Nowak H. Application of active packaging to improve the shelf life of fresh white cheeses. Pol J Food Nutr Sci 2006; 15(56): 165-168.
10. ISIRI. 2852. Milk and milk products- determination of titrable acidity and value pH- Test method. 1st. Revision 1385.
11. ISIRI. 2344. Cheese and processed cheese – determination of total solids content (Reference method) Test method. 1st. Revision 1356.
12. European Commission. Council Directive 82/711/EEC of 18 October 1982 Laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Off J Eur Commun 1982; 297: 26–30.
13. European Commission. Council Directive 85/572/EEC of 19 December 1985 Laying down the list of simulants to be used for testing migration of constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Off J Eur Commun 1985; 372: 14–21.
14. Commission Regulation (EU). Plastic Materials and Articles Intended to Come in Contact with Food. Off J of the Eur Union 2011; 10/2011 of 14 of January 2011.
15. Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 12th list of substances for food contact materials. EFSA J 2006; 395: 401, 1-21.
16. Emamifar A, Kadivar M, Shahedi M, Soleimanian-Zad S. Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice. J Innovative Food Sci Emerg Technol 2010; 11: 742-748.
17. Espitia PJ, Soares NFF, Coimbra, JSR, Cruz RS, Medeiros EAA. Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. Food Bioprocess Technol 2012; DOI 10.1007/s11947-012-0797-6.
18. Ibrahim SA., Yang H, Seo CW. Antimicrobial activity of lactic acid and copper on growth of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 in laboratory medium and carrot juice.J. Food Chem 2008; 109: 137–143.
19. Pourali Behzad M, Mirzaei H. Study on the contamination rate of traditional white cheese presented in Tabriz Markets to coliforms and pathogenic *Escherichia coli*. BMG J (Tabriz Islamic Azad University) 1390; 2(3):71-80 [In Persian].
20. Dukalska L, Muizniece-Brasava S, Murniece I, Dabina-Bicka I, Kozlinskis E, Sarvi S. Influence of PLA Film Packaging on the Shelf Life of Soft Cheese Kleo. J World Academy of Sci, Eng and Technol 2011; 56: 295-301.
21. Fox PF, McSweeney P, Cogan TM, Guinee TP. Fundamentals of Cheese Science. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers 2000; pp 536-539.
22. Mirzaei H. Microbiological changes in Lighvan cheese throughout its manufacture and ripening. Afr J of Microbiol Res 2011; 5: 1609-1614.
23. Sinigaglia M, Bevilacqua A, Corbo MR, Pati S, Del Nobile MA. Use active compounds for prolonging the shelf life of Mozzarella cheese. Int Dairy J 2008; 18: 624-630.
24. Incoronato AL, Conte A, Buonocore GG, Del Nobile MA. Agar hydrogel with silver nanoparticles to prolong the shelf life of Fior di Latte cheese. J Dairy Sci 2011; 94(4): 1697-1704.
25. Gumiero M, Peressini D, Pizzarielo A, Sensidoni A, Lacumin L, Comi G. and Toniolo R. Effect of Tio_2 photocatalytic activity in a HDPE-based food packaging on the structural and microbiological stability of a short-ripened cheese. J Food Chem 2013; 138: 1633-1640.
26. Albenzio M, Corbo MR, Rehman SU, Fox PF, De Angelis M, Corsetti A, Sevi A, Gobetti M. Microbiological and biochemical characteristic of Canestrato Puglies cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating curd in hot whey. Int J microbiol 2001; 67: 35-48.
27. Hasani M, Hesari J,Farajnia S, Moghadam M .Technological characterisation of predominant Lactobacilli isolated from traditional Lighvan cheese. J Food Res (University of Tabriz) 1390; 21(4): 539-551.[In Persian]
28. Muizniece-Brasava S, Dukalska L, Murniece I, sarvi S, Dabina I, Kozlinskis E. Influence of active packaging on the shelf life of soft cheese Kleo. J Food balt 2011: 193-197.
29. Ahmad Idris YM, Alhassan IH. Effect of packaging material on microbiological properties of Sudanese white cheese. J Dairy Sci 2010; 5(3): 128-134.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

Application of LDPE Nanocomposite Films Incorporating Organoclay Modified with Nanometals in Packaging of Lighvan Cheese

Abdossattari P[1], Peighambardoust SH[2], Hesari J[3], Peighambardoust SJ[4], Rezaie Mokarram R[5]*

1- M.Sc of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

*2- *Corresponding author: Professor of Food Technology, Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.; Email: peighambardoust@tabrizu.ac.ir*

3- Professor of Food Technology, Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4- Assistant Prof. of Polymer Science and Technology, College of Chemical & Petroleum Engineering, University of Tabriz, Tabriz, Iran

5- Assistant Prof. of Food Microbiology, Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received 22 Apr, 2015 **Accepted 7 Aug, 2015**

Background and Objectives: Lighvan cheese is one of the most popular traditional Iranian cheese due to its excellent taste and flavor. It is traditionally made from unpasteurized (raw) milk, thus, the presence of pathogen and spoilage microorganisms in the fresh final product is inevitable. The aim of this study was to evaluate the use of active LDPE based nanocomposite films containing different metallic and clay nanoparticles in packaging of Lighvan cheese.

Materials and Methods: Cheese packages were prepared from nanocomposite films and stored at 4 ^{o}C. Physical and chemical analyses and microbial tests of the packed cheeses were done immediately after packaging (at day 0), and after 7, 14, 21 and 28 days of storage.

Results: After 28 days of storage, the growth rate of coliformbacteria and *Staphylococcus aureus* was significantly ($p<0.05$) decreased as a result of application of nanocomposite package containing nanometals; however, it did not affect the growth of lactic acid bacteria. The results of migration test of nano-metal particles from package into a food simulant showed that nanocomposites containing metal nanoparticle was safe according to the limits set by FDA and EFSA.

Conclusion: Packaging containing nanoclay modified with nano-Ag and nano-CuO would reduce coliform bacteria and *Staphylococcus aureus* with no detrimental effect on cheese micribiota.

Keywords: Lighvan cheese, Shelf life, Nano-composite, Nanoclay, Nano-silver, Active packaging

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]