DOI: 10.22059/IJBSE.2019.287876.665216 مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۵۰، شماره ۱۰، اسفند ۱۳۹۹ (ص ۲۰۹-۱۹۵)

Studying of the effect of low density poly ethylene (LDPE) based antimicrobial nanocomposite packaging containing TiO_2 nanoparticles on the shelf-life extension of button mushroom (*Agaricus bisporus*)

HADI ALMASI[1*], BEHBOUD POURFATHI[2], ROGHAYEH MOKHTARI ZONOUZI[3]

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2. Shirin Asal Food Industry Co., Tabriz, Iran
3. Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

(Received: Sep. 9, 2019- Revised: Oct. 14, 2019- Accepted: Nov. 12, 2019)

ABSTRACT

The aim of this research was to develop an antimicrobial active packaging for shelf life extension of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). TiO_2 nanoparticles at three levels of 0, 0.5 and 1.5% were added to the low density polyethylene (LDPE) film and nanocomposite films were produced by blowing extrusion method. These films were used for packaging of fresh mushrooms. Also, UV irradiation was used on the packaged samples for 15 min to stimulate the antimicrobial activity of the films. Evaluation of antimicrobial properties of films revealed that the inhibitory effect against growth of *E. coli* and *S. aureus* increased by increasing TiO_2 content and also by UV irradiation. Mushroom samples were stored for 15 days at refrigerator and physicochemical and microbial tests were applied on them. Weight loss, decreasing of phenolic compounds and also losing of vitamin C were decreased by using nanocomposite films and this effect increased by increasing TiO_2 content. Browning index and color difference with fresh mushroom was the lowest for 1.5% TiO_2 loaded and UV irradiated samples. Microbial counts of mushrooms increased during storage but active films were able to control this increment. Generally, this research indicated that the using of TiO_2 in the LDPE film as a non-contact active packaging along with UV irradiation is able to increase the shelf life of mushroom and preserve its quality attributes during the supply period.

Keywords: Button mushrooms, Nanocomposite films, Chemical properties, TiO_2 nanoparticles, UV irradiation

*Corresponding Author's Email: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

بررسی تأثیر بسته بندی نانوکامپوزیت ضدمیکروبی برپایه پلی اتیلن با چگالی پایین حاوی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در افزایش ماندگاری قارچ دکمه ای (*Agaricus bisporus*)

هادی الماسی[*1]، بهبود پورفتحی[2]، رقیه مختاری زنوزی[3]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. واحد تحقیق و توسعه، گروه صنایع غذایی شیرین عسل، تبریز، ایران

۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۱۱- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۷/۲۲- تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۸/۲۱)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، توسعه‌ی یک بسته بندی فعال ضدمیکروبی برای افزایش ماندگاری قارچ دکمه ای (*Agaricus bisporus*) بود. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) در سه سطح صفر، ۰/۵ و ۱/۵ درصد به ترکیب فیلم پلی اتیلن با دانسیته پایین (LDPE) اضافه شدند و به روش اکستروژن دمشی فیلم نانوکامپوزیت تولید شد. از این فیلم‌ها برای بسته بندی قارچ تازه استفاده شد. همچنین به منظور تحریک فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها از تابش دهی نور UV روی نمونه‌های بسته بندی شده به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. بررسی خاصیت ضدمیکروبی فیلم‌ها نشان داد که بازدارندگی در برابر رشد *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* با افزایش میزان TiO_2 و همچنین تحت تأثیر تابش دهی UV افزایش می‌یابد. نمونه‌های قارچ به مدت ۱۵ روز در دمای یخچال نگهداری شدند و آزمون های فیزیکوشیمیایی و بررسی کیفیت میکروبی روی آنها انجام شد. میزان افت وزن و کاهش ترکیبات فنولی و همچنین کاهش ویتامین C در اثر استفاده از بسته بندی‌های نانوکامپوزیت بطور قابل توجهی کاهش یافت و این تأثیر با افزایش میزان TiO_2 بیشتر شد. شاخص قهوه‌ای شدن و اختلاف رنگ با قارچ تازه در نمونه‌های بسته بندی شده در فیلم حاوی ۱/۵ درصد TiO_2 و تابش دهی شده با نور UV کمتر از سایر نمونه‌ها بود. با گذشت زمان، بار میکروبی نمونه‌های قارچ افزایش یافت اما فیلم‌های فعال توانستند این افزایش را کنترل کنند. بطور کلی پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از نانوذرات TiO_2 در فیلم LDPE به عنوان بسته بندی فعال غیرتماسی همراه با تابش دهی نور UV قادر است ماندگاری قارچ را افزایش داده و خصوصیات کیفی آن را در طول مدت عرضه، در سطح مطلوبی حفظ کند.

واژه‌های کلیدی: فیلم نانوکامپوزیت، قارچ دکمه‌ای، نانوذرات TiO_2، ویژگی‌های شیمیایی، تابش دهی نور UV

مقدمه

قارچ‌های خوراکی به دلیل ارزش غذایی بالا و خصوصیات مفید تغذیه‌ای، در سراسر جهان از مصرف بالایی برخوردارند. قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) پرمصرف‌ترین قارچ خوراکی محسوب می‌شود. با وجود فواید تغذیه‌ای این نوع قارچ، ساختار محافظ کمی در قارچ دکمه‌ای سفید وجود دارد و براحتی و در زمان کوتاه دچار فساد و افت کیفیت می‌شود. بافت قارچ تازه دارای رطوبت و نرخ تنفس بالا است و از دست دادن آب و افت وزن، فساد میکروبی و قهوه‌ای شدن از جمله مهمترین عوامل فساد قارچ خوراکی محسوب می‌شوند (Ye et al., 2012) . قارچ دکمه‌ای عمری کمتر از ۳ روز در دمای اتاق و ۸ روز در دمای یخچال به شکل تازه خوری دارد (Lagnika *et al*., 2013). به عنوان یک فرآورده‌ی طبیعی جهت مصرف تازه خوری، قارچ‌ها را نمی‌توان توسط آنتی اکسیدان‌ها یا ترکیبات ضدمیکروبی برای حفاظت آنها در برابر اکسیداسیون یا فساد میکروبی تحت تیمار قرار داد. چراکه این ترکیبات باعث تأثیر منفی روی طعم و خصوصیات حسی محصول خواهند شد. مطالعات گسترده‌ای بر روی افزایش ماندگاری قارچ‌ها با استفاده از محافظت‌کننده‌های مختلف انجام شده است از جمله بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده[1] (MAP) (Roy *et al*., 1995)، نگهداری در اتمسفر کنترل شده (Briones *et al*., 1992)، استفاده از پوشش‌های خوراکی (Nussinovitch & Kampf, 1993)، تیمار با محلول $CaCl_2$ (Miklus & Beelman ., 1996) و با استفاده از محلول سوربیتول (Roy et al., 1995). اگر چه نگهداری در اتمسفر کنترل شده در کاهش سرعت تنفس موثر است و باعث افزایش زمان ماندگاری میوه‌ها و سبزی‌ها می‌گردد، اما برای قارچ که میزان تنفس بسیار

* نویسنده مسئول: h.almasi@urmia.ac.ir

1 . Modified atmosphere packaging

بالا دارد مناسب نیست (Roy *et al*., 1995).

افزایش ضایعات مواد غذایی و افت کیفیت محصولاتی مانند قارچ خوراکی در طی عرضه و مصرف، باعث توجه محققین به توسعه‌ی بسته بندی‌های نوین به منظور افزایش ماندگاری مواد غذایی شده است (Ranjbaryan *et al*., 2019). بسته بندی فعال یک راه‌حل جدید و قابل اعتماد برای افزایش عمر مفید مواد غذائی محسوب می‌شود. بسته بندی فعال، نوعی بسته بندی است که علاوه بر داشتن وظایف بسته بندی مرسوم، با آزاد کردن ترکیبات مفید و یا جذب ترکیبات مضر در فضای داخل بسته، به افزایش ماندگاری محصول بسته بندی شده کمک کرده و نرخ فساد آن را به تأخیر می‌اندازد. یکی از انواع بسته بندی‌های فعال، بسته بندی‌های ضدمیکروبی است. از انواع مختلفی از ترکیبات ضدمیکروبی می‌توان در طراحی بسته بندی‌های فعال استفاده کرد. استفاده از نانوذرات و تولید بسته‌بندی‌های نانوکامپوزیت دارای خاصیت ضدمیکروبی، یکی از پیشرفت‌های‌نوین در بسته بندی مواد غذایی محسوب می‌شود. افزودن نانومواد دارای خاصیت ضدمیکروبی به ماده‌ی بسته بندی، ویژگی ضدمیکروبی قابل توجهی در بسته بندی نانوکامپوزیت ایجاد می‌کند (Golbandi *et al*., 2015).

دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) بدلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند هزینهٔ تولید نسبتاً پایین، ثبات شیمیایی و خاصیت فوتوکاتالیستی و اثر ضدمیکروبی مطلوب، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. شاخص پراکندگی نور بالا و جذب نسبتاً یکنواخت نور مرئی و پرتوهای فرابنفش[1] (UV) سبب شده است که TiO_2 کاربرد گسترده‌ای در صنایع رنگ، کاغذ و پلاستیک پیدا کند و به عنوان اصلی ترین منبع رنگدانه سفید برای پلیمرها شناخته شود. غیرسمّی بودن و داشتن فعالیت ضد میکروبی علیه انواع میکروب‌ها، موجب شده است تاTiO_2 به عنوان یک افزودنی در صنعت غذا نیز مورد توجه قرار گیرد. سازمان غذا و داروی آمریکا[2] (FDA)، کاربرد TiO_2 در داروها، مواد آرایشی و مواد غذایی و سطوح در تماس مستقیم با آنها را مورد تأیید قرار داده است (Bodaghi *et al*., 2013).

استفاده از نانوذراتTiO_2 در ماتریس پلیمری مواد بسته بندی، علاوه بر بهبود خواص ماده بسته بندی، قادر است ترکیبات غذایی را نیز در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، تولید ترکیبات بدبو ناشی از فساد و لکه‌های رنگی محافظت نماید. همچنین نانوذرات TiO_2 با گاز اتیلن وارد واکنش شده و آن را تجزیه می‌نمایند. بنابراین عمر نگهداری و انبارداری سبزی‌ها و میوه‌های آماده مصرف را افزایش می‌دهند. بکارگیری نانوذرات اکسید فلزی در پلیمرها و بیوپلیمرهای بسته بندی، اغلب به منظور بهبود یا توسعه فعالیت ضدّمیکروبی و عدم عبور اشعه‌های مضر انجام شده است. بدلیل وجود خاصیت فوتوکاتالیستی TiO_2 است که این نانوذره خاصیت ضدمیکروبی از خود نشان می‌دهد. تحت تأثیر تابش نورUV ، نانوذرات TiO_2 قدرت اکسیدکنندگی بسیار قوی پیدا می‌کنند که باعث می‌شود این نانوذره بر روی ترکیبات آلی موجود در اسکلت ساختمانی میکروارگانیسم‌ها اثر تخریب کنندگی داشته باشد (Li *et al*., 2011). مطالعات متعددی بر روی بسته بندی‌های پلیمری و بیوپلیمری حاوی نانوذراتTiO_2 صورت گر فته است. Zolfi *et al*., (2014) تأثیر TiO_2 بر روی نفوذپذیری فیلم مرکب ایزوله پروتئین آب پنیر[3](WPI) – کفیران نسبت به بخار آب را بررسی کردند. آنها مشاهده کردند که با افزایش میزان TiO_2 تا ۵٪ وزن مخلوط بیوپلیمر، WVP[4] بطور چشمگیری کاهش می‌یابد.

پلی اتیلن با دانسیته پایین (LDPE) متداول‌ترین پلیمر سنتزی مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی محسوب می‌شود. قیمت پایین، تولید راحت و شکل پذیری مطلوب و قابلیت استفاده برای تولید انواع مختلف مواد بسته بندی از جمله ویژگی‌های مطلوب LDPE محسوب می‌شود. Bodaghi *et al*. (2013) فیلم نانوکامپوزیت LDPE حاوی ترکیب دو فاز آناتاز و روتایل TiO_2 تولید نموده و تأثیر خاصیت فوتوکاتالیستی آن را بر روی غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌های *Pseudomonas spp*. و *Rhodotorula mucilaginosa* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که در حضور فیلم نانوکامپوزیت و پس از نیم ساعت تابش نور UV، تعداد هر دو نوع میکروارگانیسم حدود ۳ برابر بیشتر از حالت استفاده از فیلم خالص LDPE کاهش می‌یابد.

با وجود اثبات اثرات مطلوب نانوذرات TiO_2 تاکنون تأثیر بسته بندی‌های نانوکامپوزیت حاوی نانوذرات TiO_2 بر روی افزایش ماندگاری قارچ خوراکی مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف این پژوهش مطالعه‌ی تأثیر فیلم LDPE حاوی غلظت‌های مختلف TiO_2 و همچنین تابش دهی نور UV بر روی افزایش ماندگاری قارچ خوراکی و حفظ خصوصیات آن در طی نگهداری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

قارچ‌های دکمه‌ای تازه از یک تولید کننده محلی در شهر ارومیه تهیه شد. گرانول پلاستیک LDPE از شرکت صنایع پتروشیمی ایران و نانوذرات TiO_2 از شرکت تأمین کننده نانوذرات به نام شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (مشهد) تهیه شد. سوش

1 . Ultra violet
2 . Food and drug administration
3 . Whey protein isolate
4 . Water vapor permeability

باکتریایی اشرشیا کلی (*E. coli*) (ATCC 25922) و سوش باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) به صورت لیوفیلیزه از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. محیط کشت نوترینت براث و مولر هینتون آگار از شرکت Merck (آلمان) خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده نیز درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت Sigma (آلمان) تهیه شدند.

آماده سازی فیلم

فیلم‌های نانوکامپوزیت LDPE حاوی غلظت‌های مختلف TiO_2 با استفاده از دستگاه اکسترودر دو مارپیچ در مقیاس صنعتی (شرکت بهنقش، ارومیه) تولید شد. بدین صورت که گرانول‌های LDPE با سطوح مختلف TiO_2 (صفر، ۰/۵ و ۱/۵ درصد) بخوبی مخلوط شده و به دستگاه اکسترودر دمشی تزریق شد و پس از فراوری در دمای ۱۶۰ درجه سلسیوس، فیلم حاصل با ضخامت ۱۲۰ میکرومتر بصورت رول جمع آوری گردید.

بسته‌بندی نمونه‌های قارچ و نگهداری آن‌ها

برای بسته‌بندی قارچ‌های دکمه‌ای، کیسه‌هایی از فیلم نانوکامپوزیت با استفاده از دستگاه درزبند حرارتی تهیه شد و ۳۰۰ گرم قارچ درون هریک از آنها قرار گرفت و تحت اتمسفر هوای معمولی با درزبندی حرارتی بسته‌بندی تکمیل شد. پلاستیک LDPE خالص بعنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت. در دسته‌ای دیگر از نمونه‌های قارچ، پس از بسته‌بندی با فیلم‌های مختلف، بسته‌ها به مدت ۱۵ دقیقه تحت تیمار تابش نور UV در طول موج ۲۴۵ nm (لامپ UV-C مدل Siemens، توان ۱۸ وات) قرار گرفت. فاصله منبع نوری تا سطح بسته در ۱۵ سانتی متر تنظیم شد و تابش دهی به صورت مساوی بر روی هردو سطح بسته‌ها (هر طرف به مدت ۷/۵ دقیقه) انجام شد. فیلم‌های حاوی ۰/۵ و ۱/۵ درصد TiO_2 به ترتیب با کدهای $TiO_2$0.5 و $TiO_2$1.5 مشخص شدند و برای نشان دادن نمونه‌های تیمار شده با نور UV از کدهای $TiO_2$0.5-UV و $TiO_2$1.5-UV استفاده شد. بسته بندی فاقد نانوذرات به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد و بسته بندی معمولی استفاده شده تحت تابش نور فرابنفش با کد UV نشان داده شد. شش نمونه قارچ بسته‌بندی شده با تیمارهای مختلف، به مدت ۱۵ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد و در دوره‌های زمانی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز، آزمون‌های مختلف بر روی نمونه‌های قارچ انجام گرفت.

اندازه گیری خواص ضد میکروبی فیلم‌ها

فعالیت ضدباکتریایی نمونه‌های فیلم با استفاده از روش انتشار دیسک آگار و با توجه به تعیین منطقه مهار رشد میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفت (Kanmani & Rhim, 2014). دو سوش استاندارد باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان نماینده‌ی باکتری‌های گرم مثبت و باکتری *اشرشیاکلای* به عنوان نماینده‌ی باکتری‌های گرم منفی مورد آزمایش قرار گرفتند. باکتری گرم مثبت و منفی به ترتیب در BHI[1] براث در ۳۷ درجه سلوسیوس و TSB[2] براث در ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت انکوبه شدند. از محیط‌های مایع کشت تهیه شده (۰/۱ میلی لیتر) از هر باکتری در شرایط استریل به لوله اپندورف حاوی ۰/۹ میلی لیتر آب مقطر منتقل شد و به دو برابر رقیق شدند. ۱ میلی لیتر از محیط‌های مایع محلول نیم مک فارلند تهیه شد و بر روی TSA[3] و BHI آگار پخش شد و در ادامه، از نمونه‌های فیلم آماده شده دیسک های با قطر ۵ mm بریده شده و با دقت روی محیط های کشت آماده شده قرار داده شد. قبل از استفاده از فیلم‌ها، سطح آنها با استفاده از پنبه آغشته به الکل به طور کامل استریل شد. پس از آن پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و سپس میزان بازدارندگی رشد میکروارگانیسم‌ها توسط تعیین هاله عدم رشد یا ناحیه بازدارندگی رشدی که در اطراف فیلم‌ها شکل گرفته است تعیین گردید. برای این کار از کولیس استفاده شد. قطر هاله، بعنوان شاخص بازدارندگی گزارش شد.

شمارش بار میکروبی قارچ‌ها

جهت شمارش بار میکروبی کل، ابتدا یک گرم از هر نمونه به کمک ترازوی سه صفر توزین شد و از نمونه‌ی توزین شده رقت‌های متوالی، تا رقت 10^{-8} تهیه شد. رقت‌سازی در محیط کشت آب پپتونه ۰/۱ درصد انجام شد. سپس هر یک از رقت‌های تهیه شده برروی دو پیلت حاوی محیط کشت پلیت کانت آگار به روش پورپیلت کشت داده شد. پلیت‌ها جهت رشد کلنی‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۲±۳۵ درجه سلسیوس در داخل انکوباتور یخچال‌دار قرار داده شد. پس از رشد کلنی‌های باکتریایی، اقدام به شمارش باکتری‌ها شد. پلیت‌های حاوی ۲۵ تا ۲۵۰ کلنی برای شمارش انتخاب شدند. پس از شمارش پلیت‌ها تعداد کلنی‌ها در عکس رقت ضرب شده و به این صورت میزان بار میکروبی کل نمونه‌ی قارچی محاسبه گردید (Borchert *et al.*, 2014).

جهت شمارش باکتری‌های سرما دوست نیز به روش ذکر شده و با استفاده از محیط کشت BHI آگار عمل گردیده و پلیت‌ها

1 . Brain heart infusion broth
2 . Tryptic soy broth
3 . Tryptone soy agar

در دمای۲±۱۲ درجه سلسیوس به مدت ۷ روز گرمخانه گذاری گردید. همچنین برای شمارش کپک و مخمر نیز پس از رقت سازی به روش قید شده از محیط کشت SDA استفاده شده و پلیت ها در دمای ۲±۲۲ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت گرم خانه گذاری گردید(Borchert *et al*., 2014).

اندازه گیری محتوای فنولی کل[1](TPC)

برای تعیین فنول کل، از نمونه‌های قارچ عصاره تهیه شد. برای عصاره گیری، ۵۰ گرم قارچ آسیاب شد و سپس با استفاده از فشردن خمیر قارچ در یک پارچه‌ی صافی تمیز، عصاره بدست آمد. مقدار ترکیبات فنلی در عصاره‌ها با روش Folin–Ciocalteu اندازه گیری شد (Savitree *et al*., 2004) و نتایج به صورت mg/g معادل اسید گالیک (GAE) بیان شد. غلظت ۱ میلی‌گرم از هر نمونه در حلال اتانول تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر نمونه با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف ده برابر رقیق شده‌ی Folin–Ciocalteu در اتانول و ۲ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد مخلوط شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند و در پایان جذب در۷۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد.

تعیین میزان افت وزن[2] (WL)

افت وزن (WL) محصولات در هر بسته به وسیله انتقال قارچ به داخل سینی جدید و توزین روی ترازو تعیین شد. این میزان به صورت درصد وزن اولیه گزارش شد:

$$WL = \frac{W_i - W_t}{W_i} \times 100 \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

W_i وزن اولیه قارچ ها، W_t وزن قارچ‌ها در زمان آزمون می‌باشد.

اندازه گیری مواد جامد محلول[3](TSS)

میزان مواد جامد محلول نمونه‌های قارچ با استفاده از یک رفراکتومتر دستی (Align، چین) تعیین شد. چند قطره از عصاره حاصل از فشردن نمونه‌های قارچ بر روی سطح رفراکتومتر ریخته شد و درجه بریکس به عنوان شاخص میزان مواد جامد محلول قرائت شد (Borchert *et al*., 2014).

تعیین میزان اسکوربیک اسید

۵ تا ۱۰ گرم نمونه آسیاب شده وزن شده و ۵۰ میلی لیتر از نسبت مساوی متافسفریک اسید – اسید استیک (۱۵ درصد) به آن اضافه شد تا pH نمونه به ۱/۲ برسد. نمونه به سرعت با کاغذ صافی شماره ۱ واتمن فیلتر شد و با محلول متافسفریک اسید-اسید استیک تا حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول فوق داخل ارلن ریخته شد. برای تهیه نمونه شاهد، ۲ میلی‌لیتر محلول متافسفریک-اسید استیک در ارلن دیگری ریخته شد. برای تهیه نمونه استاندارد ، ۲ میلی لیتر محلول استاندارد اسکوربیک اسید (۰/۵ درصد) در ارلن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. ۵ میلی‌لیتر متافسفریک – اسید استیک به نمونه اصلی و استاندارد اضافه شد. هر سه ارلن به سرعت با محلول ایندوفنل تیتر شد تا رنگ صورتی ظاهر گشته و برای ۵ ثانیه باقی بماند. حجم ایندوفنل مصرفی قرائت شد و میزان اسید اسکوربیک با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Borchert *et al*., 2014):

(رابطه ۲)

$$\text{Ascorbic acid } (mg/100g) = (Y - B/S - B) \times (V/2) \times (100/W)$$

W وزن نمونه به گرم، V حجم نمونه تهیه شده به میلی لیتر، S حجم ایندوفنل برای نمونه استاندارد به میلی لیتر، B حجم ایندوفنل برای نمونه شاهد به میلی لیتر و Y حجم ایندوفنل برای نمونه اصلی به میلی لیتر است.

اندازه گیری خواص رنگی

رنگ نمونه‌ها توسط دستگاه رنگ سنج (MINOLTA مدل CM-3600d ساخت کشور ژاپن)، مورد ارزیابی قرار گرفت. پارامترهای رنگی بر حسب روشنایی (L*)، قرمزی– سبزی (a*) و زردی-آبی (b*) تعیین شد وسپس از روی آنها اختلاف رنگ کلی[4](ΔE) و شاخص قهوه ای شدن[5](BI) به ترتیب با روابط ۳ و ۴ محاسبه شدند (Borchert et al, 2014):

(رابطه ۳)

$$\Delta E = [(L_{standard} - L_{sample})^2 + (a_{standard} - a_{sample})^2 + (b_{standard} - b_{sample})^2]^{0.5}$$

منظور از standard در رابطه فوق، ویژگی‌های رنگی نمونه‌های قارچ تازه در روز ابتدای آزمون می‌باشد.

$$BI = \frac{100(x - 0.31)}{0.17} \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

که در این رابطه، x برابر است با:

$$x = \frac{a - 1.75L}{5.645L + a - 3.012b} \qquad \text{(رابطه ۵)}$$

تجزیه و تحلیل آماری

همهٔ آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری SPSS 23 در سطح احتمال ۵ درصد ($p < ۰/۰۵$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام شد.

1 . Total phenol content
2. weight loss
3 . Total soluble solids
4. Total color difference
5. Browning index

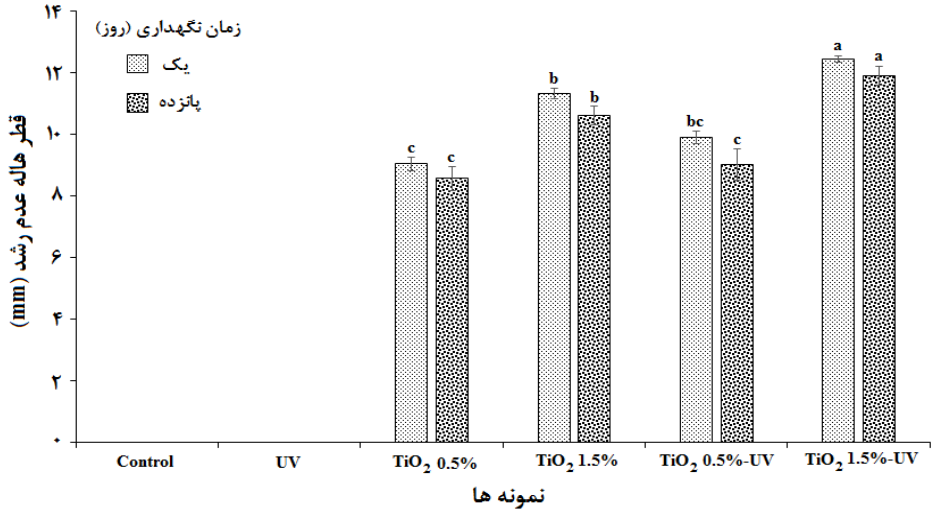
نتایج و بحث

خاصیت ضدمیکروبی فیلم‌ها

هدف از استفاده از نانوذرات TiO_2 در ترکیب با فیلم LDPE، ایجاد خاصیت ضدمیکروبی در فیلم نانوکامپوزیت بود. بنابراین لازم است ابتدا این ویژگی در فیلم‌های تولید شده مورد بررسی قرار گیرد تا از ایجاد خصوصیات عملکردی خوب در فیلم‌ها و همچنین قابلیت استفاده از آن‌ها بعنوان بسته بندی فعال ضدمیکروبی اطمینان حاصل شود. شکل‌های ۱ و ۲ فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های فعال نانوکامپوزیت را به‌ترتیب بر روی باکتری *E. coli* و *S .aureus* نشان می‌دهند. فیلم خالص LDPE هیچگونه اثر ضدمیکروبی نشان نداده و هاله عدم رشدی در برابر هیچ‌کدام از باکتری‌ها برای آن مشاهده نشد. این امر نشان می‌دهد که پلیمر LDPE و افزودنی‌های مورد استفاده در تولید این فیلم، هیچگونه خاصیت ضدمیکروبی از خود نشان نمی‌دهند. تابش دهی نور UV نیز تأثیری بر روی خاصیت ضدمیکروبی فیلم LDPE نداشت. بنابراین می‌توان گفت که ساختار شیمیایی و خواص عملکردی فیلم LDPE چندان تحت تأثیر تابش نور UV قرار نمی‌گیرد. این درحالی است که از اشعه فرابنفش جهت اصلاحات ساختاری و ایجاد خواص عملکردی مختلف در بیوپلیمرهای پروتئینی و پلی ساکاریدی استفاده می‌شود (Shahabi-Ghahfarrokhi *et al.*, 2015; Fathi *et al.*, 2018).

همان طور که در شکل‌ها مشخص است، با افزودن ۰/۵ درصد TiO_2 خاصیت ضدمیکروبی قابل توجهی در فیلم LDPE بر روی هر دو باکتری ایجاد شد و با افزایش غلظت نانوذره به ۱/۵ درصد، فعالیت ضدمیکروبی بطور معنی داری ($p \leq 0.05$) افزایش یافت. مکانیسم اثر ضدمیکروبی نانوذرات TiO_2 هنوز بطور کامل مشخص نشده است. با این وجود، مکانیسم‌های احتمالی میکروب کشی این نانوذره را می‌توان بدین صورت خلاصه نمود (Oleyaei *et al.*, 2016): ۱) نانوذره TiO_2 می‌تواند یون Ti^{2+} آزاد کند که قادر است از دیواره سلولی باکتری عبور کرده و با دخالت در سیتوپلاسم سلولی باعث مرگ میکروارگانیسم شود؛ ۲) TiO_2 قادر است هیدروژن پروکسید (H_2O_2) تولید کند که می‌تواند به غشای سلول آسیب برساند؛ ۳) تجمع مستقیم نانوذرات TiO_2 در اطراف غشای سلول میکروارگانیسم، احتمالاً با تغییر آرایش غشای سلولی قادر است نفوذپذیری سلول را افزایش داده و با تغییر مایع سیتوپلاسمی باعث مرگ یا ممانعت از رشد آن شود؛ ۴) نانوذرات TiO_2 با تولید گونه‌های اکسیژنی فعال و رادیکال‌های آزاد می‌توانند باعث تخریب دیواره سلولی و مرگ میکروارگانیسم شوند.

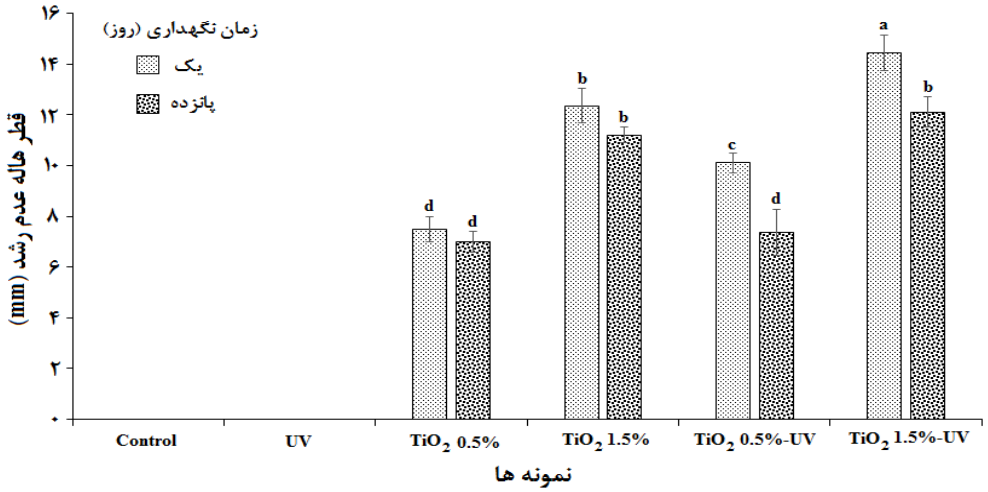
با توجه به شکل ۱ و ۲ مشخص است که تابش دهی نور UV باعث افزایش قابل توجه در خاصیت ضدمیکروبی فیلم‌ها شد. بطوریکه فیلم حاوی ۱/۵ درصد TiO_2 پس از تابش دهی نور UV، بالاترین قطر هاله دم رشد را برای *E. coli* (۱۲/۴۳ mm) و *S. aureus* (۱۴/۴۵ mm) نشان داد. همان طور که اشاره شد، تابش نور UV بر روی فیلم خالص LDPE بی‌تأثیر بود. بنابراین افزایش خاصیت ضدمیکروبی فیلم نانوکامپوزیت پس از تابش نور UV را می‌توان به تأثیر این اشعه بر روی نانوذرات TiO_2 نسبت داد.



شکل ۱: تأثیر خواص ضدمیکروبی فیلم‌های نانوکامپوزیت LDPE حاوی TiO_2 بر روی باکتری گرم منفی *E.coli*
حروف غیرمشابه نشان دهندهٔ وجود اختلاف بین تمام نمونه‌ها در سطح ۵٪ است ($p \leq 0.05$).

نانوذرات TiO_2 برای غیرفعال‌سازی دامنهٔ وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، کپک‌ها، مخمرها و ویروس‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Ghanbarzadeh *et al.*, 2015). در تحقیقی مشابه، Bodaghi *et al.*, (2013) فیلم LDPE حاوی ترکیب دو فاز آناتاز و روتایل TiO_2 تولید نموده و تأثیر خاصیت فوتوکاتالیستی آن را بر روی غیرفعال

سازی میکروارگانیسم‌های *Pseudomonas spp.* و *Rhodotorula mucilaginosa* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که در حضور فیلم نانوکامپوزیت و پس از یک ساعت تابش نور UV، تعداد هر دو نوع میکروارگانیسم حدود ۳ برابر بیشتر از حالت استفاده از فیلم خالص LDPE کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات TiO_2 تحت تأثیر تابش نور UV افزایش می‌یابد و دلیل آن تشدید فعالیت مکانیسم‌های دوم و چهارم (تولید H_2O_2 و تولید گونه های اکسیژنی فعال) تحت تأثیر تابش نور UV در ناحیه C می‌باشد. نکته قابل توجه دیگر در شکل‌های ۱ و ۲ این است که با گذشت زمان نگهداری فیلم‌ها، خاصیت ضدمیکروبی آنها تاحدودی کاهش می‌یابد. اما نکته جالب این است که این کاهش در اثر گذشت زمان، در مورد فیلم‌هایی که تحت تأثیر تابش نور UV قرار گرفته‌اند بویژه برای باکتری *S.aureus* بیشتر است درحالیکه تأثیر زمان نگهداری بر روی فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌هایی که تحت تأثیر نور UV قرار نگرفته‌اند غیرمعنی دار است ($p \geq 0.05$). این مشاهده نشان می‌دهد که تأثیر نور UV بر روی القا و تحریک فعالیت نانوذرات TiO_2 رفته رفته کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تابش دهی یکباره، برای حفظ خصوصیات ضدمیکروبی این نانوذره کافی نیست و در استفاده‌های طولانی مدت (بیشتر از ۱۵ روز) بایستی فیلم‌های نانوکامپوزیت مجدداً تحت تأثیر تابش نور UV قرار بگیرند. دلیل این امر این است که بخشی از گونه‌های اکسیژنی فعال تولید شده در اثر تابش دهی، توسط محیط‌های غذایی جذب می‌شوند و بخشی از آن نیز ممکن است از فضای داخلی بسته به بیرون انتشار یابند. با توجه به نفوذپذیری بالای فیلم LDPE به اکسیژن، این امر دور از انتظار نیست (Bodaghi *et al.*, 2013).



شکل ۲: تأثیر خواص ضدمیکروبی فیلم‌های نانوکامپوزیت LDPE حاوی TiO2 بر روی باکتری گرم مثبت *S.aureus*
حروف غیرمشابه نشان دهندهٔ وجود اختلاف بین تمام نمونه‌ها در سطح ۵٪ است ($p \leq 0.05$).

نکته قابل توجه دیگر که مقایسه‌ی شکل‌های ۱ و ۲ بدست می آید، تفاوت در سطح تأثیرگذاری فیلم‌های فعال بر روی دو باکتری می‌باشد. قطر هاله عدم رشد بدست آمده برای اکثر فیلم‌ها، در مورد *S. aureus* بیشتر از *E. coli* بود. علت این امر، مقاومت بیشتر باکتری گرم منفی *E. coli* نسبت به باکتری گرم مثبت *S. aureus* می‌باشد. دلیل مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی مانند *E. coli* به ترکیبات ضدمیکروبی وجود اثر محافظت کنندگی لایه لیپوپلی‌ساکارید روی دیواره سلول باکتری گرم منفی در مقایسه با غشای یگانه گلیکوپروتئینی/تکوئیک اسید باکتری‌های گرم مثبت است که باعث می‌شود نانوذرات، اثر کمتری روی این باکتری‌ها داشته باشند و باکتری‌های گرم مثبت مانند *S. aureus* نسبت به نانوذرات ضدمیکروبی حساس‌تر هستند (Shahmohammadi Jebel & Almasi, 2016).

میزان افت وزن

افت وزن یکی از مهمترین مشکلات در دوره نگهداری پس از برداشت می‌باشد. دلیل این مشکل این است که قارچ برخلاف اکثر سبزی‌ها، فاقد یک پوسته خارجی سخت بوده و تنها با یک ساختار اپیدرمی متخلخل و نازک پوشانده شده است. به همین دلیل طی نگهداری، بدلیل تبخیر رطوبت، دچار افت وزن می‌شود. این افت رطوبت، علاوه بر چروکیدگی و تغییر خصوصیات ظاهری می‌تواند روی سایر خصوصیات کیفی شیمیایی قارچ نیز تأثیرگذار باشد (Lagnika *et al.*, 2013). جدول ۱ میزان افت وزن نمونه‌های قارچ

نگهداری شده با بسته بندی‌های نانوکامپوزیت، در دوره‌های زمانی مختلف را نشان می‌دهد. همان طور که مشخص است، با گذشت زمان، میزان افت وزن در تمام نمونه‌ها افزایش می‌یابد. اما میزان این افزایش در نمونه شاهد که با فیلم خالص LDPE بسته بندی شده است، بیشتر از سایر نمونه ها می‌باشد. بطوریکه میزان افت وزن در این نمونه، از ۱۲/۳۱ درصد در روز پنجم به ۲۳/۳۹ درصد در روز پانزدهم رسیده است. تأثیر تابش دهی نور UV بر روی کاهش میزان افت وزن نیز قابل توجه بود. بطوریکه ۱۰ دقیقه تابش دهی نور UV توانست افت وزن را بطور قابل توجهی کنترل کرده و کاهش دهد.

با این وجود، فیلم‌های فیلم‌های نانوکامپوزیت قادر بودند بیشترین تأثیر را در کنترل افت وزن نشان دهند. تأثیر توأم حضور TiO_2 و تابش دهی نور UV نیز قابل توجه بود و نمونه‌ی $TiO_2$1.5%-UV کمترین میزان افت وزن را در بین تمام نمونه ها و در تمامی زمان‌های آزمون نشان داد. همان طور که در جدول مشخص است، میزان افزایش افت وزن در نمونه های بسته بندی شده با فیلم‌های فعال، تا روز دهم غیرمعنی دار بود و پس از آن افت قابل توجه در همه نمونه ها ظاهر شد.

جدول ۱: میزان افت وزن (درصد) نمونه های قارچ نگهداری شده در بسته بندی های نانوکامپوزیت فعال در طی نگهداری در دمای یخچال

نمونه	زمان نگهداری (روز)		
	۵	۱۰	۱۵
شاهد	۱۲/۳۱±۱/۲۱^{cA}	۱۵/۶۸±۰/۹۸^{dA}	۲۳/۳۹±۱/۶۵^{eB*}
UV	۶/۷۵±۱/۱۷^{bA}	۱۱/۷۰±۲/۲۱^{cB}	۱۹/۴۳±۰/۷۸^{dC}
TiO_2 0.5%	۸/۵۷±۱/۰۰^{bA}	۶/۶۴±۰/۵۵^{bA}	۱۲/۴۵±۰/۰۰^{cB}
TiO_2 1.5%	۲/۱۴±۰/۹۸^{aA}	۳/۴۸±۰/۵۴^{aA}	۶/۵۵±۰/۳۲^{bB}
TiO_2 0.5%-UV	۱/۵۰±۰/۸۷^{aA}	۲/۳۹±۰/۱۱^{aA}	۴/۵۷±۱/۰۰^{abB}
TiO_2 1.5%-UV	۲/۱۹±۰/۳۴^{aA}	۲/۱۸±۰/۰۹^{aA}	۳/۳۰±۱/۰۲^{aB}

***حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین تیمارها در یک ستون و حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین زمان‌ها در یک ردیف می باشد.**

دلایل افت وزن در محصولات کشاورزی پس از برداشت آنها عبارتند از تغییرات فیزیولوژیکی و هضم آنزیمی مواد پکتیکی، تجزیه نشاسته و مصرف قند توسط میکروارگانیسم‌ها و از دست دادن رطوبت. در مورد تأثیر بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده (Kim *et al*., 2006; Lagnika *et al*., 2013)، کاغذ حاوی اسانس دارچین (Echegoyen & Nerin, 2015) و فیلم فعال پلی لاکتیک اسید حاوی اسانس دارچین (Qin *et al*., 2015) بر روی کنترل افت وزن قارچ در طی نگهداری نیز نتایج مشابهی گزارش شده است. مطالعات مختلف پیشین نشان داده‌اند که نفوذپذیری فیلم‌های پلیمری و بیوپلیمری نسبت به اکسیژن و بخار آب تحت تأثیر افزودن نانوذرات TiO_2 بطور چشمگیری کاهش می‌یابد (Olyaei *et al*., 2016). بنابراین با توجه به مکانیسم‌های ذکر شده برای افت وزن، می‌توان بیان نمود که در حالت استفاده از بسته بندی‌های نانوکامپوزیت، نفوذپذیری نسبت به بخار آب کاهش یافته و میزان افت رطوبت در قارچ ها کمتر می‌شود. همچنین با کاهش نفوذپذیری نسبت به اکسیژن و کنترل نقل و انتقال گازها، سرعت تنفس نیز کمتر شده و نرخ تجزیه مواد آلی نیز کمتر می‌شود. با این وجود، در فیلم‌های تابش دهی شده و تابش دهی نشده، با وجود حضور غلظت مشابه نانوذره، اختلاف قابل توجهی در میزان افت وزن مشاهده می‌شود. همچنین تأثیر تابش نور UV بر روی کاهش افت وزن در بسته بندی خالص LDPE نیز قابل توجه بود. این امر نشان می‌دهد که علاوه بر کاهش نفوذپذیری به گازها، فعالیت میکروبی نیز می‌تواند بر روی افت وزن موثر باشد. تابش نور UV با کنترل فعالیت میکروبی (که در ادامه به آن اشاره خواهد شد)، فعالیت‌های متابولیکی میکروارگانیسم‌ها را کاهش داده و تجزیه ترکیبات آلی قارچ توسط آنها را مهار می‌کند و در نتیجه افت وزن پس از تابش دهی نور UV کمتر می‌شود. Li *et al*. (2011) نیز تأثیر قابل توجهی برای فیلم PVC حاوی ZnO بر روی کاهش میزان افت وزن در برش‌های سیب بسته بندی شده گزارش نمودند.

مواد جامد محلول کل (TSS)

جدول ۲ میزان مواد جامد محلول کل در نمونه‌های قارچ بسته بندی شده را در طی زمان نگهداری نشان می‌دهد. میزان مواد جامد محلول در نمونه قارچ تازه برابر ٪۱/۱۳ بود. بررسی تأثیر زمان نگهداری، نشان می‌دهد که با افزایش زمان، میزان TSS افزایش می‌یابد. این افزایش در تمام نمونه‌ها بجز در نمونه $TiO_2$1.5%-UV در معنی دار بود ($p \leq 0.05$). بررسی اختلافات بین تیمارها نیز نشان دهندهٔ اثر قابل توجه نوع بسته بندی بر روی TSS بود. بطوریکه حضور TiO_2 اثر قابل توجهی در کاهش

TSS داشت اما تغییر غلظت این نانوذره چندان تأثیرگذار نبود. همچنین تأثیر تابش نور UV در کنترل افزایش TSS در حضور نانوذرات TiO_2 بیشتر از زمانی بود که این نانوذرات حضور نداشتند.

جدول ۲: مقادیر مواد جامد محلول (درصد) نمونه‌های قارچ نگهداری شده در بسته بندی‌های نانوکامپوزیت در زمان‌های مختلف نگهداری در دمای یخچال

نمونه	زمان نگهداری (روز)		
	۵	۱۰	۱۵
شاهد	۶/۷۵±۰/۳۱ ^{cA}	۱۰/۵۰±۱/۰۰ ^{dB}	۱۲/۲۵±۰/۰۵ ^{dC*}
UV	۵/۲۵±۰/۶۵ ^{cA}	۸/۵۰±۰/۴۳ ^{cB}	۱۰/۵۰±۰/۷۶ ^{cC}
TiO_2 0.5%	۲/۷۵±۰/۸۶ ^{bA}	۶/۲۵±۰/۷۶ ^{bB}	۸/۷۵±۰/۵۴ ^{bC}
TiO_2 1.5%	۲/۰۰±۰/۴۸ ^{bA}	۴/۰۰±۰/۳۷ ^{bB}	۸/۲۵±۰/۴۵ ^{bC}
TiO_2 0.5%-UV	۱/۱۹±۰/۱۱ ^{aA}	۳/۲۵±۰/۵۴ ^{abB}	۷/۷۵±۱/۳۵ ^{bC}
TiO_2 1.5%-UV	۱/۱۹±۰/۴۴ ^{aA}	۲/۰۰±۰/۰۰ ^{aA}	۲/۷۵±۱/۰۷ ^{aA}

***حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p \leq 0.05$) بین تیمارها در یک ستون و حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p \leq 0.05$) بین زمان ها در یک ردیف می باشد.**

تغییرات TSS نمونه‌های قارچ را می‌توان به میزان افت رطوبت آنها نسبت داد. درواقع، با تبخیر آب، کل وزن قارچ کاهش یافته و درنتیجه درصد مواد جامد محلول افزایش می‌یابد. هرچند که Qin *et al.* (2015) نظر دیگری در این زمینه داشتند. این محققین دلیل افزایش TSS در نمونه شاهد در طول نگهداری را افزایش رسیدگی قارچ عنوان کردند. آنها بیان داشتند که در حالت استفاده از بسته بندی پلی لاکتیک اسید حاوی اسانس دارچین، بدلیل کاهش اکسیژن محتوی بسته، نرخ تنفس در قارچ کمتر شده و سرعت رسیدگی و تولید متابولیت‌های با وزن مولکولی کمتر کاهش می‌یابد. درنتیجه روند افزایش TSS قارچ نیز کندتر می‌شود. چنین تفسیری نیز می‌تواند در مورد نتایج پژوهش حاضر صدق کند. کاهش نفوذپذیری به اکسیژن در اثر حضور TiO_2 و همچنین تأثیر تابش UV در جذب اکسیژن محتوی بسته توسط نانوذرات، باعث کاهش فشار اکسیژن در داخل بسته شده و سرعت تنفس را کاهش می دهد و مانع تغییرات فیزیولوژیک و افزایش TSS در قارچ می‌شود (Lange *et al.*, 2015).

میزان فنول کل

آنتی اکسیدان‌های موجود در مواد غذایی بویژه سبزی‌ها و میوه‌ها شامل ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدها، اسکوربیک اسید و توکوفرول‌ها می‌باشند که بنام فنول کل از آنها یاد می‌شود. میزان فنول کل در نمونه‌های قارچ مورد آزمون، برابر ۱۵/۵۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بود. این عددِ نسبتاً بالا نشان می‌دهد که قارچ خوراکی منبع مناسب تغذیه‌ای برای تأمین ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی طبیعی برای انسان محسوب می‌شود. جدول ۳ روند تغییرات فنول کل در نمونه‌های قارچ بسته بندی شده با فیلم‌های نانوکامپوزیت را در طی ۱۵ روز نگهداری نشان می‌دهد. همان طور که مشخص است، با گذشت زمان نگهداری، در نمونه‌های بسته بندی شده با فیلم خالص LDPE (با و بدون تابش نور UV) و فیلم حاوی ۰/۵ درصد TiO_2، میزان فنول کل بطور معنی داری کاهش یافته است ($p \leq 0.05$). بنابراین فیلم LDPE خالص، نقشی در حفظ ترکیبات فنولی قارچ نشان نداد و در تمام زمان‌های آزمون، این نمونه دارای کمترین میزان ترکیبات فنولی بود. همچنین تابش دهی نور UV نیز در حفظ ترکیبات فنولی اثر چندانی نداشت. در نمونه‌های بسته بندی شده با فیلم حاوی ۱/۵ درصد TiO_2 در روزهای پنجم و دهم آزمون، کاهش ترکیبات فنولی معنی دار نبود و در نمونه هایی که از ترکیب TiO_2 و تابش دهی نور UV استفاده شده بود، اثر زمان نگهداری کاملاً غیرمعنی دار بود ($p \geq 0.05$).

با مقایسه بین نمونه‌های قارچ بسته بندی شده با فیلم‌های مختلف و در روزهای آزمون یکسان نیز می‌توان به تأثیر نوع بسته بندی بر روی حفظ ترکیبات فنولی پی برد. همان طور که مشخص است، فیلم حاوی ۱/۵ درصد TiO_2 با تابش نور UV، بیشترین تأثیر را در حفظ ترکیبات فنولی قارچ نشان داد (mg/100 g ۱۳/۳۴ در روز پانزدهم). با مقایسه نتایج خواص ضدمیکروبی فیلم‌های فعال، می‌توان به این نتیجه دست یافت که روند تغییرات در میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های قارچ، مشابه روند تغییرات در خاصیت ضدمیکروبی فیلم‌هاست. فیلم‌های حاوی غلظت بیشتر نانوذره به همراه تابش دهی آنها، بیشترین خاصیت ضدمیکروبی را نشان دادند و در این آزمون نیز بیشترین میزان ترکیبات فنولی برای این نمونه‌ها مشاهده شد. بنابراین می‌توان چنین استنباط

نمود که احتمالاً فعالیت آنزیمی میکروارگانیسم‌ها باعث تخریب و تجزیه ترکیبات فنولی می‌شود و کاهش فعالیت میکروبی در قارچ در حضور فیلم‌های فعال (که در ادامه به آن اشاره خواهد شد)، باعث کاهش تجزیه ترکیبات فنولی می‌شود. Borchert *et al.*, (2014) بیان کردند که غیرفعال کردن آنزیم پلی فنول اکسیداز موجود در خود قارچ نیز می‌تواند به حفظ ترکیبات فنولی در آن کمک کند. بنابراین ممکن است کاهش نفوذپذیری نسبت به اکسیژن در حضور نانوذرات TiO_2 باعث کاهش فشار اکسیژن درون بسته شده و بدین ترتیب فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز کاهش یافته و به تبع آن، تجزیه ترکیبات فنولی کاهش یابد. این درحالی است که در مطالعه‌ای گزارش کردند که تحت تأثیر تیمار با H_2O_2 و تابش دهی ماوراءبنفش، میزان فنول کل قارچ در طول دوره نگهداری افزایش می‌یابد (Guan *et al.*, 2013).

جدول ۳: میزان فنول کل (mg/100 g) نمونه‌های قارچ نگهداری شده در تماس با بسته بندی‌های نانوکامپوزیت در طی نگهداری در دمای یخچال

نمونه	زمان نگهداری (روز)		
	۵	۱۰	۱۵
شاهد	۱۱/۱۳±۱/۷۱^{aC}	۸/۰۶±۱/۱۱^{aB}	۵/۴۰±۰/۱۵^{aA*}
UV	۱۲/۲۹±۰/۹۸^{aC}	۹/۳۶±۰/۰۰^{aB}	۶/۸۳±۰/۵۶^{aA}
TiO_2 0.5%	۱۳/۲۶±۰/۴۴^{aC}	۱۱/۲۳±۰/۵۴^{bB}	۹/۱۶±۰/۷۷^{bA}
TiO_2 1.5%	۱۴/۰۹±۱/۱۹^{abB}	۱۳/۲۵±۱/۴۵^{abB}	۱۱/۲۶±۱/۴۵^{bcA}
TiO_2 0.5%-UV	۱۴/۲۳±۰/۸۹^{abA}	۱۳/۵۵±۰/۲۳^{abA}	۱۲/۳۶±۰/۷۵^{cA}
TiO_2 1.5%-UV	۱۵/۱۰±۰/۵۶^{bA}	۱۴/۱۶±۰/۷۶^{bA}	۱۳/۳۴±۰/۴۵^{cA}

***حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین تیمارها در یک ستون و حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین زمان ها در یک ردیف می باشد.**

میزان ویتامین C

جدول ۴ تغییرات میزان ویتامین C را در نمونه‌های قارچ نشان می‌دهد. میزان اولیه ویتامین C در نمونه‌های قارچ برابر mg/100g ۱/۷۱ بود. تأثیر زمان نگهداری بر روی محتوای ویتامین C نمونه‌ها، مشابه محتوای ترکیبات فنولی قارچ بود و با گذشت زمان میزان آن در تمام نمونه ها کاهش پیدا کرد. بطوریکه در نمونه شاهد، در روز پانزدهم نگهداری مقدار آن به صفر رسید. در روز پنجم و پانزدهم نگهداری، اختلاف معنی داری بین فیلم LDPE با و بودن تابش نور UV مشاهده نشد. چراکه تابش نور UV خود می‌تواند به تخریب ویتامین C کمک کند. تأثیر تابش‌دهی UV در کاهش ویتامین C میوه‌ها و سبزی‌ها مختلف در طی نگهداری در پژوهش‌های مختلف نیز گزارش شده است (Jiang *et al.*, 2010, 2012). TiO_2 قادر به حفظ محتوای ویتامین C قارچ در طی نگهداری بود و با افزایش غلظت، تاثیر آن نیز بیشتر شد. همان طور که مشاهده می شود، در حضور نانوذرات TiO_2، تأثیر تابش دهی UV در کنترل تخریب ویتامین C بیشتر از زمانی بود که از این اشعه به تنهایی استفاده شد. این امر نشان دهندهٔ قابلیت جذب نور توسط نانوذرات و ممانعت از برخورد آنها به محصول می‌باشد. از طرف دیگر، مصرف شدن اکسیژن در چرخه الکترون – حفره در طی واکنش‌های نوری نانوذرات TiO_2 نیز می‌تواند به کاهش غلظت اکسیژن منجر شده و از این طریق باعث افزایش حفظ ویتامین C در نمونه‌های قارچ شود (Shahabi-Ghahfarrokhi *et al.*, 2015).

جدول ۴: محتوای ویتامین C mg/100g نمونه‌های قارچ نگهداری شده در تماس با بسته بندی‌های نانوکامپوزیت در طی نگهداری در دمای یخچال

نمونه	زمان نگهداری (روز)		
	۵	۱۰	۱۵
شاهد	۰/۶۹±۰/۰۰^{aC}	۰/۲۵±۰/۰۸^{aB}	۰/۰۰±۰/۰۰^{aA*}
UV	۰/۷۱±۰/۱۵^{aC}	۰/۳۴±۰/۰۴^{aB}	۰/۰۹±۰/۰۱^{bA}
TiO_2 0.5%	۰/۸۸±۰/۱۱^{aC}	۰/۴۸±۰/۰۲^{bB}	۰/۱۹±۰/۰۵^{cA}
TiO_2 1.5%	۱/۰۲±۰/۰۸^{bC}	۰/۸۰±۰/۰۲^{cB}	۰/۵۱±۰/۰۴^{dA}
TiO_2 0.5%-UV	۱/۳۷±۰/۱۱^{bB}	۱/۱۶±۰/۰۹^{dB}	۰/۶۳±۰/۰۰^{dA}
TiO_2 1.5%-UV	۱/۴۳±۰/۲۱^{bB}	۱/۱۴±۰/۰۷^{dB}	۰/۸۳±۰/۱۲^{dA}

***حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین تیمارها در یک ستون و حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین زمان‌ها در یک ردیف می باشد.**

فعالیت آنزیمی، تماس با اکسیژن و برخورد نور از جمله عواملی است که باعث کاهش ویتامین C در طول زمان نگهداری سبزیجات می‌شود. Peleg *et al.* (1991) چنین ادعا کردند که ترکیبات فنولی از جمله ویتامین C، در داخل بافت میوه‌ها و سبزی‌ها گیر افتاده و اتصالات کووالانسی برقرار کرده‌اند. با گذشت زمان و افزایش رسیدگی میوه و سبزی، بافت محصول نرم‌تر شده و ترکیبات پکتیکی تجزیه شده و ترکیبات فنولی آزاد می‌شوند و در این حالت احتمال تخریب و تجزیه آنها افزایش می‌یابد. خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات TiO_2 با مهار فعالیت آنزیم‌های میکروبی به کاهش مصرف و تجزیه ویتامین C توسط میکروارگانیسم‌ها کمک می‌کند. همچنین کاهش نفوذپذیری نسبت به اکسیژن از یک طرف و جذب اکسیژن درون بسته توسط نانوذرات TiO_2 از طرف دیگر، باعث کاهش محتوای اکسیژن درون بسته شده و به حفظ ویتامین C کمک می کند. Lagnika *et al.* (2013) نیز حفظ ویتامین C قارچ تحت تأثیر نگهداری در اتمسفر اصلاح شده را گزارش نمودند.

ویژگی‌های رنگی

رنگ یکی از پارامترهای کیفی مهم در ارزیابی خصوصیات قارچ خوراکی محسوب می‌شود. جدول ۵ مقادیر اختلاف رنگ کلی (ΔE) با قارچ تاره و شاخص قهوه‌ای شدن (BI) نمونه‌ها را در طول نگهداری نشان می‌دهد. همان طور که مشخص است در همه زمان‌های نگهداری، نمونه شاهد بیشترین اختلاف رنگ با نمونه قارچ تازه و همچنین بیشترین شاخص قهوه‌ای شدن را داشته است. تابش دهی نور UV اندکی پارامترهای رنگی را بهبود داد اما حضور نانوذرات TiO_2 بیشترین تأثییر را ممانعت از تغییرات رنگی نامطلوب نشان داد. شاخص BI برای نمونه قارچ تازه و در روز اول آزمون برابر ۷/۲۱±۰/۵۴ بود. تأثیر غلظت TiO_2 در عدم حضور نور UV روی پارامترهای رنگی غیرمعنی‌دار بود اما زمانی‌که از تابش دهی نور UV استفاده شد، بین نمونه‌های دارای ۰/۵ و ۱/۵ درصد اختلاف معنی‌دار در مقادیر ΔE و BI مشاهده شد و نمونه حاوی ۱/۵ درصد نانوذره همراه با تابش نور UV کمترین اختلاف رنگ و کمترین شاخص قهوه‌ای شدن را نشان داد.

جدول ۵: شاخص اختلاف رنگ کلی (ΔE) و شاخص قهوه‌ای شدن (BI) نمونه‌های قارچ نگهداری شده در تماس با بسته بندی‌های نانوکامپوزیت در طی نگهداری در دمای یخچال

نمونه	ΔE			BI		
	زمان نگهداری (روز)			زمان نگهداری (روز)		
	۵	۱۰	۱۵	۵	۱۰	۱۵
شاهد	۶/۰±۵/۳^{dA}	۱۷/۰±۴/۱^{dB}	۳۲/۰±۳/۳^{dC*}	۲۴/۰±۳/۶^{eA}	۳۶/۰±۰/۱^{dB}	۴۰/۰±۰/۰^{eC*}
UV	۵/۰±۸/۱^{cA}	۱۶/۰±۲/۴^{dB}	۲۷/۰±۱/۴^{cC}	۲۰/۰±۶/۴^{dA}	۲۹/۰±۵/۴^{cB}	۳۸/۰±۳/۸^{dC}
TiO_2 0.5%	۳/۰±۹/۱^{bA}	۹/۰±۸/۳^{cB}	۱۸/۰±۶/۵^{bC}	۱۷/۰±۴/۱^{cA}	۲۶/۰±۲/۴^{cB}	۳۰/۰±۰/۵^{cC}
TiO_2 1.5%	۴/۰±۴/۰^{bA}	۹/۰±۲/۲^{cB}	۱۶/۰±۹/۴^{bC}	۱۷/۰±۳/۸^{cA}	۲۴/۰±۶/۳^{cB}	۳۱/۰±۲/۲^{cC}
TiO_2 0.5%-UV	۴/۰±۱/۴^{bA}	۷/۰±۳/۱^{bB}	۱۶/۰±۸/۴^{bC}	۱۱/۰±۲/۱^{bA}	۲۱/۰±۸/۰^{bB}	۲۶/۰±۱/۵^{bC}
TiO_2 1.5%-UV	۳/۰±۰/۲^{aA}	۵/۰±۸/۳^{aB}	۱۳/۰±۳/۳^{aC}	۹/۰±۳/۱^{aA}	۱۵/۰±۴/۷^{aB}	۲۰/۰±۲/۲^{aC}

***حروف غیرمشابه کوچک در هر متغیر، نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین تیمارها در یک ستون و حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) بین زمان ها در یک ردیف می‌باشد.**

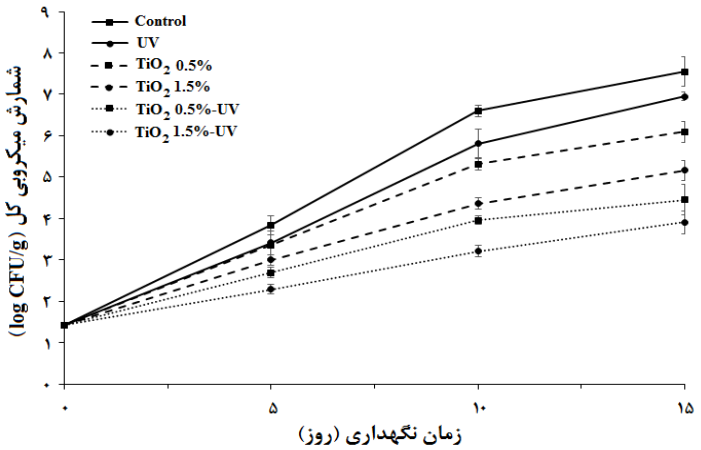
اکسیداسیون ترکیبات پلی فنولی تحت تأثیر آنزیم تیروزیناز مهمترین دلیل تغییرات رنگی قارچ خوراکی طی نگهداری بیان شده است (Oliviera *et al.*, 2012). تابش دهی نور UV با غیرفعال کردن آنزیم مذکور قادر است سرعت تغییرات رنگی را کاهش دهد. همچنین جذب و کاهش غلظت اکسیژن محتوی بسته در حضور نانوذرات TiO_2 و در طی چرخه الکترون – حفره در سطح این نانوذرات نیز می‌تواند نرخ اکسیداسیون ترکیبات پلی فنولی را کاهش دهد. Qin *et al.* (2015) در مورد تأثیر فیلم مرکب پلی لاکتیک اسید و پلی کاپرولاکتون حاوی سینام آلدهید بر روی خواص رنگی قارچ دکمه‌ای به نتایج مشابهی اشاره نموده‌اند. این نتایج نشان می‌دهد که بسته بندی فعال و تابش دهی نور UV با مکانیسم‌های شیمیایی، میکروبی و آنزیمی متعدد قادرند خصوصیات ظاهری قارچ را در طی عرضه در حد مطلوبی حفظ کنند.

شمارش میکروبی

باکتری‌های مزوفیل هوازی، میکروارگانیسم‌های طبیعی آلوده کننده قارچ می‌باشند اما پس از نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس)، باکتری‌های سرمادوست اهمیت بیشتری پیدا می‌کنند. همچنین فعالیت کپک‌ها و مخمرها نیز ممکن است باعث فساد قارچ شود. در این پژوهش نیز باکتری‌های هوازی کل،

باکتری های سرمادوست و کپک و مخمر مورد ارزیابی قرار گرفتند. شکل ۳ شمارش میکروبی کل در نمونه‌های قارچ بسته بندی شده با فیلم‌های نانوکامپوزیت را در طول نگهداری در دمای یخچال نشان می‌دهد. شمارش باکتریایی کل اولیه در نمون‌های قارچ برابر ۱/۳۶ log CFU/g بود. با افزایش زمان نگهداری، بار میکروبی در همه نمونه‌ها بطور معنی داری افزایش یافت. در طی ۱۵ روز نگهداری، شمارش میکروبی نمونه شاهد به حدود ۴ برابر آن در روز اول برداشت افزایش یافت. این امر نشان دهندهٔ فسادپذیری بالا و ماندگاری کم قارچ می‌باشد که لزوم استفاده از روش‌های نگهداری پس از برداشت و همچنین اهمیت توجه به بسته بندی مناسب این محصول را نشان می‌دهد. تابش دهی نور UV نیز توانست بار میکروبی را کاهش دهد و این کاهش، در روزهای ۱۰ و ۱۵ نگهداری با نمونه شاهد معنی دار بود ($p \leq 0.05$). Guan et al. (2013) نیز در مورد تأثیر تابش دهی نور UV بر کیفیت میکروبی قارچ خوراکی در طی نگهداری در دمای یخچال به نتایج مشابهی دست یافتند. نور UV مخصوصاً در ناحیه C باعث شکست زنجیر DNA در سلول‌های باکتری و مخمر و حتی سلول‌های انسانی شده و از تکثیر DNA ممانعت می‌کند و بدین ترتیب باعث مرگ سلول می‌شود (Gennadios *et al.*, 1998).

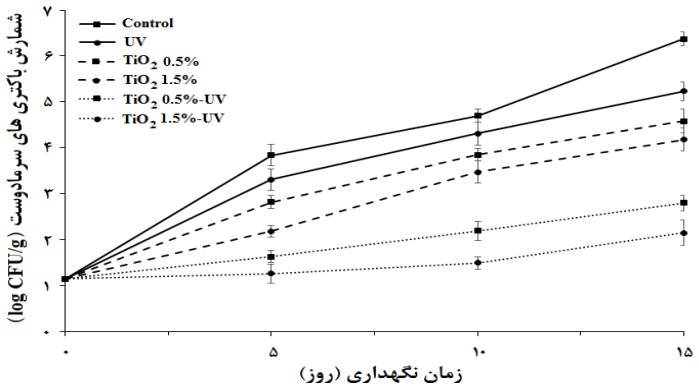
همان طور که در شکل مشخص است، روند افزایشی شمارش میکروبی در حضور فیلم‌های نانوکامپوزیت نیز کاهش یافت. با افزایش غلظت TiO_2 بار میکروبی بطور چشمگیری کاهش یافت. تأثیر نانوذرات در کنترل بار میکروبی قارچ را می‌توان بدین صورت توجیه نمود که اولاً اثر ضدمیکروبی خود نانوذرات باعث کاهش نرخ رشد باکتری‌ها شده و به مرگ آنها منجر می‌شود. ثانیاً حضور نانوذرات، با کاهش نفوذپذیری بسته نسبت به اکسیژن از یک طرف و مصرف اکسیژن محتوی بسته در طی واکنش های نوری نانوذرات از طرف دیگر، میزان اکسیژن در دسترس را کاهش داده و بنابراین محیط داخلی بسته را برای رشد باکتری‌ها نامساعد می‌کند. در مورد مکانیسم‌های ضدمیکروبی نانوذرات مورد استفاده، پیش از این بحث شده است. همچنین حضور همزمان نانوذرات و تابش دهی نور UV باعث کاهش بیشتر در شمارش میکروبی کل در محصول شد و بین آنها اثر هم افزایی مشاهده شد. نور UV در کنار حضور نانوذرات می‌تواند به مرگ باکتری‌ها منجر شود. حضور نانوذرات و تحریک آنها با نور UV، اولاً باعث کاهش غلظت اکسیژن شده و به جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های هوازی کمک می‌کند و ثانیاً محصولات تولید شده از فعالیت فوتوکاتالیستی نانوذرات اعم از H_2O_2 و سایر گونه‌های اکسیژنی فعال نیز خاصیت ضدمیکروبی داشته و به کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها کمک می‌کنند (Fathi *et al.*, 2019). بنابراین فساد میکروبی محصول در طی نگهداری کنترل شده و ماندگاری آن افزایش می‌یابد بدون اینکه از افزودنی خاصی در خود محصول استفاده شود و یا بر روی عطر و طعم، رنگ و سایر ویژگی‌های ماده غذایی تأثیر منفی بگذارد. این یکی از مزایای مهم بسته بندی‌های فعال مواد غذایی است. Lagnika *et al.* (2013) و Qin *et al.* (2015) به ترتیب در مورد تأثیر بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و بسته بندی با فیلم فعال حاوی اسانس دارچین در کاهش فشار اکسیژن محتوی بسته و درنتیجه کنترل فعالیت میکروبی در قارچ خوراکی به نتایج مشابهی دست یافتند.



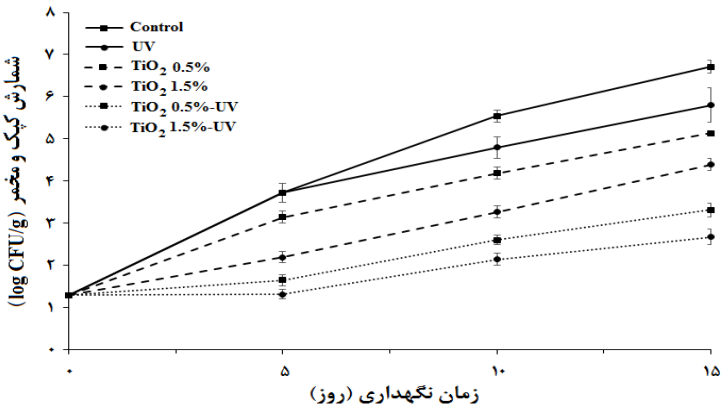
شکل ۳: شمارش باکتری کل در نمونه های قارچ طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال در بسته‌بندی‌های نانوکامپوزیت

شکل ۴ شمارش باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های قارچ در طی نگهداری را نشان می‌دهد. شمارش باکتری‌های سرمادوست اولیه در قارچ برابر ۱/۱۱ log CFU/g بود. نرخ افزایشی باکتری‌های سرمادوست در طی نگهداری در دمای

یخچال کاملاً مشهود است. اما تأثیر مهم تیمارهای مختلف بر روی باکتری‌های سرمادوست، تأثیر تابش دهی نور UV در حضور و عدم حضور نور TiO_2 می‌باشد. چنانچه مشخص است میزان کاهش تعداد باکتری‌های سرمادوست پس از تابش دهی نور UV، بیشتر از نرخ کاهش باکتری‌های کل پس از تابش دهی می‌باشد. این امر نشان می‌دهد که باکتری‌های سرمادوست موجود در قارچ خوراکی به اشعه UV حساسیت بیشتری دارند (Boyce et al., 2016). همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بسته بندی‌های نانوکامپوزیت بر روی شمارش کپک و مخمر نیز موثر بوده‌اند. مشاهده می‌شود که تعداد کپک و مخمر در روز اول نگهداری (۱/۲۹ log CFU/g) در نمونه‌های قارچ تقریباً برابر با شمارش میکروبی کل می‌باشد که این امر را می‌توان به شرایط فیزیولوژیکی و شرایط برداشت محصول نسبت داد. با استفاده از بسته بندی‌های نانوکامپوزیت، رشد کپک و مخمر نیز بصورت کنترل شده درآمده و نرخ افزایشی آنها در مقایسه با نمونه شاهد کمتر شده است و نمونه‌های قارچ بسته بندی شده در فیلم حاوی ۱/۵ درصد TiO_2 به همراه تابش دهی نور UV، کمترین شمارش کپک و مخمر را در تمام روزهای آزمون نشان دادند.



شکل۴: شمارش باکتری سرمادوست در نمونه های قارچ طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال در بسته‌بندی‌های نانوکامپوزیت



شکل ۵: شمارش کپک و مخمر در نمونه های قارچ طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال در بسته‌بندی‌های نانوکامپوزیت

نتیجه گیری کلی

این مطالعه نشان داد که نانوذرات TiO_2 در فیلم LDPE خاصیت ضدمیکروبی خوبی از خود نشان می‌دهند. بنابراین می‌توان از آنها در تولید بسته بندی فعال مواد غذایی استفاده نمود. همچنین تابش نور UV اثر ضدمیکروبی قابل توجهی دارد. استفاده از بسته بندی‌های فعال LDPE حاوی نانوذرات TiO_2 قادر است افت وزن قارچ در طول مدت نگهداری را کنترل کند. بسته بندی‌های فعال قادر بودند به حفظ ترکیبات فنولی و میزان ویتامین C در قارچ در طول ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال کمک کنند و با افزایش غلظت نانوذره این تأثیر بیشتر شد. با گذشت زمان، بار میکروبی نمونه‌های قارچ افزایش یافت اما فیلم‌های فعال توانستند این افزایش را کنترل کنند. تأثیر غلظت ۱/۵ درصد نانوذرات در حضور تابش UV در مهار رشد میکروبی بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. فیلم های نانوکامپوزیت و تابش نور UV بر روی خصوصیات رنگی قارچ نیز اثر مثبت داشت. بطور کلی ایجاد محیط بسته بندی ایزوله و استفاده از نانوذرات TiO_2 در قالب بسته بندی فعال غیرتماسی، قادر است ماندگاری قارچ را افزایش داده و خصوصیات کیفی آن را در طول مدت عرضه، در سطح مطلوبی حفظ کند. دلیل اصلی این امر، مصرف اکسیژن در طی واکنش‌های نوری نانوذرات TiO_2 و همچنین تولید گونه‌های اکسیژنی فعال در حین

برخورد نور UV به این نانوذرات می‌باشد. بنابراین نتیجه این تحقیق را می‌توان بعنوان یک بسته بندی نوین به منظور افزایش ماندگاری قارچ و سایر محصولات کشاورزی که مصرف تازه خوری دارند پیشنهاد نمود بدون اینکه به تماس مستقیم ماده بسته بندی و محصول درون آن نیاز باشد.

REFERENCES

Bodaghi H., Mostofi Y., Oromiehie A., Zamani Z., Ghanbarzadeh B., Costa C., Del Nobile, M. A.,(2013). Evaluation of the photocatalytic antimicrobial effects of a TiO_2 nanocomposite food packaging film by in vitro and in vivo tests. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2), 702-706.

Boyce J.M., Ferrel P.A., Towle D., & Fekieta R. (2016). Impact of room location on UV-C irradiance and UV-C dosage and antimicrobial effect delivered by a mobile UV-C light device. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 37, 667-672.

Briones G. L., Varoquaux P., Chambroy Y., Bouquant J., Bureau G., & Pascat B. (1992). Storage of common mushroom under controlled atmospheres. *International journal of food science & technology*, 27(493-505) .

Borchert N. B., Cruz-Romero M. C., Mahajan P. V., Ren M., Papkovsky D. B., & Kerry J. P. (2014). Application of gas sensing technologies for non-destructive monitoring of headspace gases (O_2 and CO_2) during chilled storage of packaged mushrooms (Agaricus bisporus) and their correlation with product quality parameters. *Food Packaging and Shelf Life*, 2(1), 17-29.

Echegoyen Y., & Nerin C., (2015). Performance of an active paper based on cinnamon essential oil in mushrooms quality, *Food Chemistry* 170, 30–36.

Fathi N., Almasi H., & Pirouzifard M.K. (2018). Effect of ultraviolet radiation on morphological and physicochemical properties of sesame protein isolate based edible films. *Food Hydrocolloids*, 85, 136-143

Fathi, N., Almasi, H., & Pirouzifard, M.K., (2019). Sesame protein isolate based bionanocomposite films incorporated with TiO_2 nanoparticles: Study on morphological, physical and photocatalytic properties. *Polymer Testing*, In Press Paper.

Gennadios A., Rhim J. V., Handa A., Weller C. L. & Hana M. A. (1998). Ultraviolet radiation affects physical and molecular properties of soy protein films. *Journal of Food Science*, 63, 225-228.

Golbandi R., & Mahmoudi, S. (2014). Active packaging: a new approach in food science. First conference on Food Quality, Tehran, Iran, (In Farsi).

Guan W., Fan X., & Yan R. (2013). Effect of combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, native microbial loads, and quality of button mushrooms. *Food Control*, 34(2), 554-559.

Ghanbarzadeh B., Oleyaei S. A., & Almasi H. (2015). Nanostructured materials utilized in biopolymer-based plastics for food packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(12), 1699–1723.

Jiang T., Jahangir M. M., Jiang Z., Lu, X., & Ying T. (2010). Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shiitake (Lentinus edodes) mushrooms during storage. *Postharvest biology and technology*, 56(3), 209-215.

Jiang T., Feng L., & Li J. (2012). Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (Lentinus edodes) treated with chitosan–glucose complex coating under cold storage. *Food Chemistry*, 131(3), 780-786.

Kanmani, P., & Rhim, J. W. (2014). Properties and characterization ofbionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnOnanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 106, 190–199.

Kim K. M., Ko J. A., Lee J. S., Park H. J., & Hanna M. A. (2006). Effect of modified atmosphere packaging on the shelf-life of coated, whole and sliced mushrooms. *LWT-Food Science and Technology*, 39(4), 365-372.

Lagnika C., Zhang M., & Mothibe K. J. (2013). Effects of ultrasound and high pressure argon on physico-chemical properties of white mushrooms (Agaricus bisporus) during postharvest storage. *Postharvest biology and technology*, 82, 87-94.

Lange S., Arroval T., Saar R., Kink I., Aarik J., & Krumme A. (2015). Oxygen barrier properties of Al_2O_3- and TiO_2-coated LDPE films. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 54, 121-129.

Li Y., Jiang Y., Liu, F., Ren F., Zhao G., & Leng X. (2011). Fabrication and characterization of TiO2/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1098-1104.

Miklus M., & Beelman R. (1996). $CaCl_2$ Treated Irrigation Water Applied to Mushroom Crops (Agaricus bisporus) Increases Ca Concentration and Improves Postharvest Quality and Shelf Life. *Mycologia*, 403-409.

Nussinovitch A., & Kampf N. (1993). Shelf-life extension and conserved texture of alginate-coated mushrooms (Agaricus bisporus). *LWT-Food Science and Technology*, 26(5), 469-475.

Oleyaei S. A., Zahedi Y., Ghanbarzadeh B., Moayedi A. A., (2016). Modification of physicochemical and thermal properties of starch films by incorporation of TiO_2 nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 89, 256-264.

Oliveira, F., Sousa-Gallagher, M.J., Mahajan, P.V., Teixeira, J.A., 2012. Developmentof shelf-life kinetic model for modified atmosphere packaging of fresh slicedmushrooms. *J. Food Eng.* 111, 466–473.

Peleg H., Naim M., Rouseff R.L. & Zehavi U. (1991). Distribution of bound and free phenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruits (*Citrus paradisi*). *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 57, 417–426.

Qin Y., Liua D., Wub Y., Yuana M., Lic L., Yang J., (2015). Effect of PLA/PCL/cinnamaldehyde antimicrobial packaging onphysicochemical and microbial quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*), *Postharvest Biology and Technology* 99, 73–79.

Ranjbaryan S., Pourfathi B., Almasi H. (2019). Reinforcing and release controlling effect of cellulose nanofiber in sodium caseinate films activated by nanoemulsified cinnamon essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 21 (100341).

Roy S., Anantheswaran R., & Beelman R. (1995). Fresh mushroom quality as affected by modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science*, 60(2), 334-340.

Savitree M., P. Isara S. L. Nittaya and S. Worapan 2004. Radical scavenging activity and total phenolic content of medicinal plants used in primary health care. *J Pharm Sci*. 9:32–35.

Shahabi-Ghahfarrokhi I., Khodaiyan F., Mousavi M., & Yousefi H. (2015). Preparation of UV protective kefiran/nano-ZnO nanocomposites: Physical and mechanical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 41-46

Shahmohammadi Jebel F., & Almasi, H. (2016). Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films. *Carbohydrate Polymers*, 149, 8-19.

Ye J., Li J., Han X., Zhang L., Jiang T., & Miao X. (2012). Effects of active modified atmosphere packaging on postharvest quality of shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) stored at cold storage. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(3), 474-482.

Zolfi M., Khodaiyan F., Mousavi M., & Hashemi M. (2014). Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-TiO_2 nanocomposite films. *International journal of biological macromolecules*, 65, 340-345.