

اثر گاز ازن بر برخی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی ادویه‌ها دارچین، میخک و زنجبیل

هدایت قنبری اصل^۱، نارملا آصفی^{۲*} و شهرام حنیفیان^۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۱۵

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

^۲ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

*مسئول مکاتبه: Email: n.asefi@iaut.ac.ir

چکیده

ادویه‌ها به عنوان مواد طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، از جمله نگهدارنده‌ها موثر در مواد غذایی خام و فرآوری نشده هستند که مستعد آلودگی با باکتری‌ها (فرم رویشی و فرم اسپوری)، مخمرها و کپک‌ها می‌باشند. در این پژوهش، تیماردهی ادویه‌ها دارچین، زنجبیل و میخک با گاز ازن با غلظت ۴ گرم در ساعت، در زمان‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه انجام و ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی آنها بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد که نوع ادویه و زمان تیماردهی بر میزان آلودگی میکروبی ادویه‌ها تاثیر معنی‌دار ($P < 0.05$) داشته است به طوری که میخک بیشترین و زنجبیل کمترین آلودگی میکروبی را بعد از ازن دهی نشان دادند. همچنین افزایش زمان ازن‌دهی باعث کاهش قابل توجه در میزان آلودگی میکروبی شد، به طوری که شمارش میکروارگانیزم‌های هوازی مزوفیل و شمارش کپک و مخمر بعد از ۶۰ دقیقه و کلی فرم بعد از ۱۰ دقیقه ازن زنی به صفر رسید. بررسی ویژگی‌های شیمیایی نیز نشان داد با اعمال ۶۰ دقیقه گاز ازن میزان رطوبت تغییر معنی‌دار نداشت، جز در مورد میخک که بعد از تیماردهی افزایش نشان داد. دارچین دارای بیشترین و زنجبیل دارای کمترین رطوبت بودند. ترکیبات فنولی اندازه‌گیری شده در سه ادویه دارچین، میخک و زنجبیل به ترتیب از بیشتر به کمتر بود و این میزان در نمونه دارچین با ۵۲ درصد کاهش بعد از تیماردهی معنی‌دار بود. درصد بازدارندگی رادیکال DPPH در سه ادویه متناظر با مقدار ترکیبات فنولی آنها بود و تیماردهی با ازن در نمونه زنجبیل باعث کاهش ۴۷ درصدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن شد.

واژگان کلیدی: ازن، دارچین، زنجبیل، میخک، بار میکروبی

مقدمه

است. از این رو یافتن ترکیبات و روش‌های جدید برای به حداقل رساندن رشد و فعالیت میکروبی‌های مضر غذایی با حفظ ترکیبات موثره کاملاً ضروری به نظر می‌رسد (فاضلی و همکاران ۲۰۰۷). ادویه‌ها به عنوان مواد طبیعی

تغییر الگوی زندگی به سمت سبک زندگی تازه و تولید مواد غذایی با کاهش آلودگی یکی از نیازهای اساسی مصرف‌کنندگان به منظور دستیابی به رژیم غذایی سالم

دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (بورت ۲۰۰۴). از جمله ادویه‌هایی که در ایران بعنوان چاشنی استفاده می‌شود می‌توان زنجبیل، دارچین و میخک را نام برد. زنجبیل، گیاه زردرنگ دارای رگه‌های بنفش بانام علمی *Officinale Zingider* بوده و از خانواده *Zingiberaceae* می‌باشد (شریفی فر ۱۳۸۷). دارچین با نام علمی *Cinnamomum verum* درختچه ای از راسته لورالس (*Laurales*) تیره برگ بوها (*Lauraceae*) از جنس دارچین‌ها است (جمشیدی ۱۳۹۰). درخت میخک با نام علمی *Caryophyllium aromaticus* بومی جزایر اندونزی و اقیانوسیه است. اوژنول که ماده اصلی عصاره میخک می‌باشد آرام‌کننده و ضد عفونی‌کننده است (خباز ۱۳۸۷). ادویه‌هایی که در سراسر جهان تولید می‌شوند، مستعد دارا بودن آلودگی باکتری‌ها (فرم رویشی و فرم اسپوری)، مخمرها و کپک‌ها هستند. بار میکروبی اکثر ادویه‌ها را اغلب انواع جنس باسیلوس مثل باسیلوس سوبتیلیس^۱، مگاتریوم^۲، و لیکنی فورمیس^۳ تشکیل می‌دهند. کلستریدیوم‌ها نیز به میزان کمی موجودند. بعضی اوقات بی‌هوازی‌ها و هوازی‌های گرما دوست، آنتروکوک‌ها و باکتری‌های گرم منفی خانواده آنتروباکتریاسه نیز وجود دارد. کپک‌های مختلف از تعداد کم تا میلیون‌ها و مخمرها بندرت دیده می‌شوند. میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا بندرت در ادویه‌ها مشاهده می‌گردند. وجود اشرشیاکلی نشانه آلودگی مدفوعی است. اسپورهای کلستریدیوم پرفرینژنس به تعداد کم یعنی از ۱۰ عدد تا چند صد عدد در هر گرم ممکن است وجود داشته باشد. آب غیر آشامیدنی که در برخی از فرایندها مانند خیساندن فلفل سیاه و تبدیل آن به فلفل سفید مصرف می‌شود، آلودگی میکروبی ادویه را بالا می‌برد. ادویه‌هایی که مستقیماً و بدون حرارت دیدن به مصرف می‌رسند، ممکن است باعث بیماری شوند (برینگمن و همکاران ۱۹۵۴). از روش‌های متداول جهت

رفع آلودگی ادویه‌ها می‌توان به استفاده از روش گاز دهی با اکسید اتیلن و فرایند اشعه دهی ادویه‌ها اشاره نمود (کریم ۱۳۸۲). در سال‌های اخیر به دلیل نگرانی‌های مربوط به خطرات محصولات جانبی کلرینه‌ی تولید شده نظیر تری‌هالومتان‌ها، در صنعت غذا تمیزکننده‌های جایگزین برای ترکیبات ارزان قیمت کلری مورد توجه قرار گرفته‌اند. ازن یک واکنش‌دهنده قوی و بالقوه است که به عنوان تمیزکننده‌ی ضد میکروبی کارایی برای آب، غذا، سطوح فرآوری غذا و تجهیزات پیشنهاد شده است. اثر گاز ازن بر جمعیت میکروبی در پونه کوهی خشک نشان داد، تیمار با گاز ازن روش مناسبی برای کاهش بار میکروبی پونه کوهی خشک می‌باشد (تورلاک و همکاران ۲۰۱۳). در مطالعه دیگری تأثیر ازن بر آلودگی دانه‌های فلفل سیاه و محتوای روغن فرار بررسی شد و یافته‌ها حاکی از کاهش ۳ تا ۴ واحد لگاریتمی جمعیت میکروبی بودند، در حالی‌که ازن اثر معنی‌داری روی روغن فرار دانه‌های فلفل سیاه نداشت (زاهو و کرانستون ۱۹۹۵). پژوهشگران از غلظت‌های ۵ و ۱۰ ppm ازن به مدت ۳ و ۵ ساعت در انجیر خشک استفاده کردند. نتایج نشانگر کاهش معنی‌دار جمعیت کلی باکتری‌ها، کلی‌فرم‌ها، کپک‌ها و مخمرها و همچنین حذف کامل *اشرشیشیا کولای* بود (اوزتکین و همکاران ۲۰۰۶). زارع و همکاران ۱۳۹۴ نشان دادند که تیمار ازن می‌تواند میزان آفلاتوکسین را در زعفران آلوده شده کاهش دهد به طوری‌که با افزایش زمان ازن دهی تا ۱۵ دقیقه و افزایش زمان نگهداری، میزان سم ۳۶٪ کاهش می‌یابد. همچنین در پژوهشی اکبری و همکاران ۱۳۹۳ با اعمال ازن به میزان ۲ پی‌پی‌ام و به مدت ۲۰ دقیقه حدود ۸۴ درصد از لاروهای زنده را از بین برد. تحقیقات انجام شده در کشور ما در زمینه تأثیر گاز ازن در غلظت معین در طول زمان معین بر ادویه‌ها محدود بوده است، بنابراین هدف از این پژوهش استفاده از تیمار با گاز ازن

³ *Bacillus licheni formice*⁴ *Escherichia coli*¹ *Bacillus subtilis*² *Bacillus megaterium*

زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه با گاز ازن تیمار شدند. پس از اتمام زمان گازدهی نمونه‌های تیمار شده در محیط استریل به فالكون‌های استریل انتقال یافته و آنالیزهای میکروبی و شیمیایی مورد نظر بر روی آنها انجام شد.

جهت انجام آزمایشات شیمیایی عصاره آبی ادویه‌ها تهیه گردید. برای این منظور محلولی به نسبت ۱ به ۱۰ (نمونه به آب) تهیه شده و محلول مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت در شیکری با سرعت ۱۴۰ دور بر دقیقه در دمای آزمایشگاه هم زده شد. سپس محلول از صافی عبور داده شده و به دستگاه روتاری اوپراتور منتقل گردید و تا باقی ماندن ۱۰ میلی لیتر عصاره، عمل تبخیر در خلا ۲۳۴ میلی مترجیوه در دمای ۶۹ درجه سانتی گراد انجام شد. عصاره‌های تهیه شده تا انجام آزمایش‌ها در دمای یخچال نگهداری شدند.

بر روی ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی با به حداقل رساندن بار میکروبی توام با کمترین تغییرات در خواص فیزیکی و شیمیایی ادویجات می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

در این تحقیق، پوسته دارچین، ریشه زنجبیل و دانه میخک به عنوان مواد اولیه از بازار محلی به صورت خشک خریداری شد. دارچین و زنجبیل در آزمایشگاه به صورت پودر درآمده و ادویه میخک به صورت دانه مطالعه شد. آزمایشات فیزیکی و شیمیایی بر اساس پیش آزمایشات تعیین گردید بطوریکه پیش آزمایشات نشان داد که هیچگونه تغییری در رنگ تیمارها مشاهده نمی‌گردد و پس از گذشت زمان کوتاه از عمل ازن دهی بوی ازن کاملاً از تیمارها جدا می‌گردد.

مواد شیمیایی

کربنات سدیم، فولین، متانول، اسید گالیک، ۲ و ۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)، که همه ساخت شرکت مرک آلمان بود.

محیط کشت میکروبی

محیط کشت^۱ VRB آگار، محیط کشت (YGC-Agar)، محیط کشت (PCA) که هر سه ساخت شرکت مرک آلمان بود.

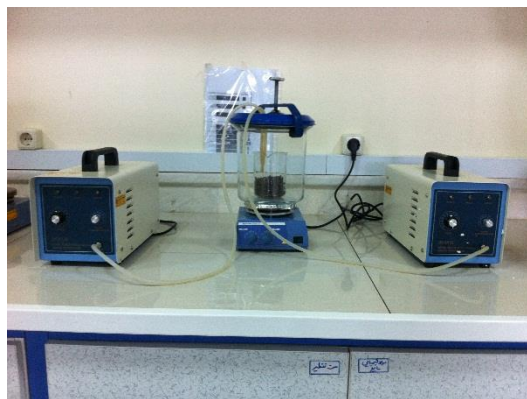
آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌های پودر شده دارچین، زنجبیل و دانه میخک به مقدار ۵۰ گرم توزین گردید و سپس در ظرف شیشه‌ای (جار) به حجم ۲ لیتر قرار گرفتند. بر روی درب ظرف، دو محفظه یکی برای ورود گاز و دیگری برای خروج گاز تعبیه شد (شکل ۱). جهت گاز دهی نمونه‌ها دو دستگاه تولید کننده گاز ازن مدل QJ-002 ساخت چین همزمان وارد عمل شدند، بدین ترتیب که در هر کدام خروج گاز با غلظت ۲ گرم بر ساعت تنظیم گردید. نمونه‌ها در مدت

³Plate Count Agar

¹Violet Red Bile Agar

²Yeast extract glucose chloramphenicol agar



شکل ۱ - دستگاه گاز ازن

آزمون‌های میکروبی

اندازه‌گیری شمارش میکروب‌های هوازی مزوفیل

۱۰ گرم از هر ادویه در داخل ارلن استریل ریخته و ۹۰ میلی لیتر محلول رینگر استریل شده (به عنوان رقیق کننده) برای انجام آزمایش‌های میکروبی از سوسپانسیون تهیه شده استفاده شد. برای اندازه‌گیری میکروارگانیزم‌های هوازی مزوفیل از محیط کشت PCA آگار، مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۵۴۸۶ استفاده شد. پلیت‌ها ی کشت داده شده در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ روز گرمخانه گذاری گردید. پس از پایان مدت گرمخانه‌گذاری، پلیت‌ها از نظر وجود باکتری های هوازی بررسی شدند. در صورت رشد کلونی روی این محیط کشت، شمارش انجام شد و بصورت میانگین دو پلیت ضربدر عکس رقت گزارش گردید. در صورت عدم رشد هر گونه کلونی نتایج بصورت "کمتر از ۱۰" گزارش شد (بی نام، ۱۳۹۳).

اندازه‌گیری کپک و مخمر

جهت تعیین مقدار کپک و مخمر مطابق استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۱۵۴ از محیط کشت-YGC Agar استفاده شد. پلیت‌های کشت داده شده به صورت هوازی، با درپوش بالا و ایستاده در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه ی سلسیوس به مدت ۳ تا ۵ روز گرمخانه گذاری شد. تعداد کپک و مخمر شمارش شده محاسبه و نتیجه بصورت توانی از ۱۰ گزارش شد. در صورتی که

هیچ کپک و مخمری رشد نکرده باشد و نمونه از نظر وجود کپک و مخمر منفی باشد کمتر از ده گزارش گردید (بی نام، ۱۳۸۷).

اندازه‌گیری کلی‌فرم‌ها

جهت تعیین مقدار کلی‌فرم (مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۵۴۸۶) از محیط کشت (VRBA) استفاده شد (بی نام، ۱۳۸۶).

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری رطوبت

میزان رطوبت با استفاده از روش خشک کردن در آون هوای گرم با دمای 105 ± 5 درجه سلسیوس تا حصول وزن ثابت انجام شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی

۰/۰۲ گرم از عصاره تهیه شده از هر ادویه توزین گردید و سپس ۲ میلی لیتر متانول به آن اضافه شد. در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری، ۱ میلی‌لیتر از محلول نمونه با ۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر فولین (۱۰٪) به مدت ۷ دقیقه مخلوط شده و سپس به حالت ساکن قرار گرفت و ۱۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲۰٪) اشباع به مخلوط تهیه شده، افزوده و با آب به حجم رسانیده شد. مخلوط حاصل ۶۰ دقیقه به حالت ساکن در محل تاریک قرار داده شد و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unico ساخت کشور امریکا در طول موج ۷۶۵ نانومتر بررسی و عدد مربوطه قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد

استفاده از آنالیز واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال $P \leq 0.05$ انجام شد و کلیه نمودارها توسط نرم افزار EXCEL 2010 رسم گردید.

نتایج و بحث

مقادیر رطوبت اولیه دارچین در مقایسه با زنجبیل و میخک قبل از اعمال گاز ازن حدود ۶٪ بالا بود. با توجه به نتایج بدست آمده از آنالیزهای میکروبی و کاهش میکروارگانیزم‌ها در زمان ۶۰ دقیقه عمل ازن زنی، بهمین منظور آزمایشات شیمیایی نمونه‌های تیمار شده در دو زمان صفر و ۶۰ دقیقه اندازه گیری شد. میزان رطوبت نمونه زنجبیل بعد از ۶۰ دقیقه تیمار با گاز ازن در مقایسه با نمونه کنترل تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) نداشت و دارای کمترین میزان رطوبت بود. نتیجه ای کاملاً مشابه اما با بیشترین میزان رطوبت، مربوط به نمونه دارچین کنترل و تیمار شده با گاز ازن بدست آمد. علت این امر را می‌توان به خصوصیات هیگروسکوپی ادویجات مختلف و اندازه ذرات، ارتباط سطح به حجم ماده نسبت داد. نمونه تیمار شده میخک نیز افزایش ۲٪ رطوبت را نشان داد که در سطح احتمال ($P < 0.05$) معنی دار بود (جدول ۱). یشیلچیمین و همکاران در سال ۲۰۰۶ به بررسی تاثیر ازن در نابودی آفلاتوکسین و تغییرات شیمیایی موجود در مغز و آرد پسته پرداختند. نتایج آنها هیچگونه تغییر معنی‌داری در pH، رنگ، رطوبت و اسیدهای چرب دونه نمونه قبل و بعد از ازن‌دهی نشان نداد و ویژگی‌های طعم، ظاهر، رانسیدیتیه در مغز پسته غیر معنی‌دار و در آرد پسته (به غیر از رانسیدیتیه) معنی‌دار بود.

نتایج تاثیر گاز ازن بر روی مقدار ترکیبات فنولی

ادویجات

مقایسه میانگین سه ادویه مورد بررسی با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد که در دو نمونه شاهد و تیمار شده با ۶۰ دقیقه ازن زنی ادویه دارچین با مقدار ۱۵۷۷ و ۷۵۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای بیشترین

غلظت ترکیبات فنول موجود در نمونه محاسبه گردید (آسیمی و همکاران ۲۰۱۳).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از محلول ۲ و ۲ دی فنیل ۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH)، انجام گردید. اساس این روش احیا شدن رادیکال DPPH بنفش رنگ توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. واکنش احیا، بر اساس روش رزونانس و بی‌رنگ کردن استوار است که تغییرات بی‌رنگ شدن و میزان جذب نور، با اندازه‌گیری توسط روش اسپکتروفتومتری صورت می‌گیرد.

روش آزمایش DPPH

در داخل یک لوله‌ی آزمایش، ۶۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH ریخته و ۶۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده از ادویه‌ها اضافه گردید و مقادیر ۵/۳۴ میلی‌لیتر متانول به لوله افزوده شد (لوله شماره ۱). لوله‌ی دیگری به عنوان لوله شاهد که حاوی ۶۰۰ میکرولیتر محلول DPPH می‌باشد در نظر گرفته شد که این لوله با میزان ۵/۹۴ متانول به حجم ۶ میلی‌لیتر رسانده شد (لوله شاهد). پس از گذشت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک، مقدار جذب هر دو لوله آزمایش توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر، با به صفر رساندن دستگاه با حلال متانول، قرائت شد. مقادیر درصد بازدارندگی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (ایستراتی و همکاران ۲۰۱۴).

$$\% \text{بازدارندگی} = \frac{A_{DPPH} - A_{\text{عصاره}}}{A_{DPPH}} \times 100$$

A: میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از ۳۰ تیمار (نوع ماده (۳)، زمان (۵) و تکرارها (۲)) = $30 = 3 \times 5 \times 2$ از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۳ استفاده شد. تمامی آزمون‌ها در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با

مقایسه میانگین‌های درصد به دام اندازی (بازدارندگی) رادیکال DPPH برای سه ادویه در زمان صفر (نمونه شاهد) و بعد از ۶۰ دقیقه تیمار با گاز ازن نشان می‌دهد که دارچین، میخک و زنجبیل به ترتیب دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. درصد بازدارندگی DPPH در ادویه‌های دارچین و میخک قبل و بعد از تیماردهی (نمونه شاهد و نمونه با ۶۰ دقیقه ازن‌دهی) کاهش جزئی نشان داده است که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P > 0.05$). ولی در مورد زنجبیل بعد از ۶۰ دقیقه اعمال ازن فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری از ۴۸ به ۲۵ درصد کاهش یافت، بدین معنی که تیمار با ازن باعث کاهش ۴۷ درصدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی زنجبیل شده است (جدول ۱).

ترکیبات فنولی و زنجبیل با مقدار ۱۳ و ۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای کمترین مقدار می‌باشد. مقدار ترکیبات فنولی اندازه‌گیری شده در ادویه میخک نیز قبل و بعد از تیمار با گاز ازن به ترتیب برابر ۲۰۰ و ۱۹۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که مقدار این ترکیبات در سه ادویه به طور معنی‌داری با هم متفاوت بود. اعمال گاز ازن تا ۶۰ دقیقه تاثیر چندانی در ترکیبات فنولی نمونه ادویه‌های میخک و زنجبیل نشان نداد ($P < 0.05$) و تنها کاهش اندکی را باعث شد، ولی در مورد دارچین تیماردهی باعث کاهش ۵۲ درصدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ادویه شده است (جدول ۱).

نتایج بررسی اثر تیمار با گاز ازن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ادویه‌ها

جدول ۱- مقایسه میانگین ترکیبات شیمیایی مورد مطالعه بر روی ادویه‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن

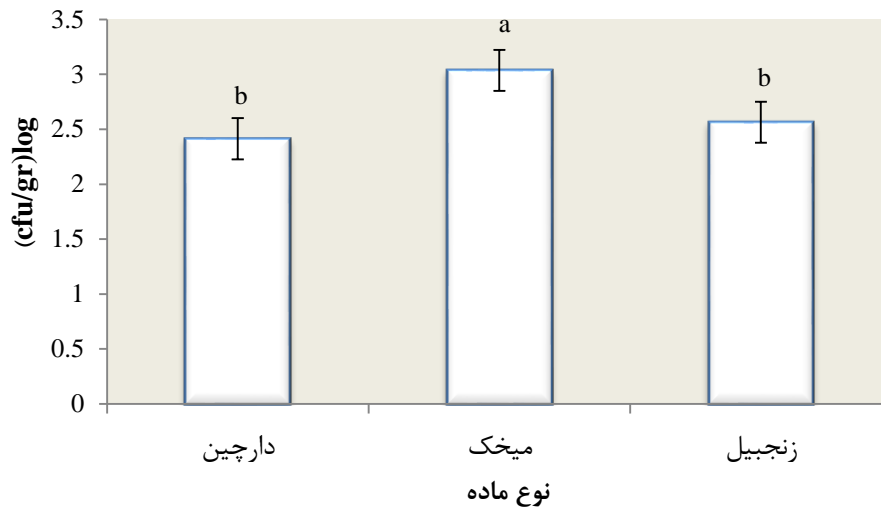
	%بازدارندگی		mg/kg ترکیبات فنلی		%زطوبت		
	۶۰ دقیقه	۰ دقیقه	۶۰ دقیقه	۰ دقیقه	۶۰ دقیقه	۰ دقیقه	
زنجبیل	۲۵ ^d	۴۸ ^c	۷ ^d	۱۳ ^d	۲/۸۶ ^d	۳/۷۸ ^d	
میخک	۷۳ ^b	۸۳ ^b	۱۹۳ ^c	۲۰۰ ^c	۶/۲۴ ^b	۴/۸۴ ^c	
دارچین	۹۵ ^a	۹۵ ^a	۷۵۲ ^b	۱۵۷۷ ^a	۱۰/۴۵ ^a	۱۰/۶۱ ^a	

۲۰ دقیقه ازن‌زنی تغییری در تعداد میکروارگانیسم‌های میخک را نشان نداد در صورتی‌که در ادویه زنجبیل و دارچین تا ۲۰ دقیقه اول، شیب ملایمی در کاهش میکروارگانیسم‌ها مشاهده گردید بعد از زمان ۲۰ دقیقه در هر سه ادویه میزان مرگ سرعت گرفت بطوریکه در زنجبیل در فاصله زمانی بین ۲۰ تا ۴۰ دقیقه شدت مرگ بسیار زیاده‌تر بود بطوریکه پس از ۴۰ دقیقه تعداد میکروارگانیسم‌های هوازی مزوفیل به صفر رسید در حالیکه در دو ادویه دیگر بعد از زمان ۶۰ دقیقه، نتایج مشابه بدست آمد (شکل ۲ و ۳).

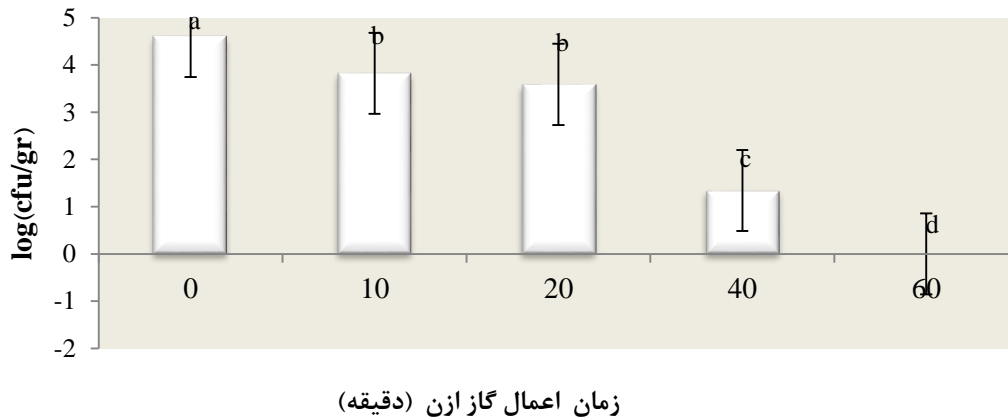
نتایج بررسی اثر تیمار با گاز ازن بر شمارش

میکروارگانیسم‌های هوازی مزوفیل ادویه‌ها

بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، مقایسه میانگین شمارش کلونی‌های قابل رویت بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار در نمونه‌های مختلف ادویه نشان داد که باقی مانده میکروب‌های زنده در میخک تا رسیدن به زمان یک ساعت در تمامی زمان‌های مورد بررسی بیشتر از دو نوع دیگر بود، در صورتی‌که تعداد میکروارگانیسم‌های هوازی مزوفیل موجود در میخک قبل از ازن‌دهی کمتر از دو نمونه دیگر می‌باشد. اعمال



شکل ۲- مقایسه میانگین جمعیت میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی در تمامی زمان‌های ازن‌زنی



شکل ۳- مقایسه میانگین تاثیر زمان فرآوری میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی

۳ ساعت و ۵ ppm از غلظت گاز ازن بود. که با پژوهش حاضر در خصوص کاهش بار میکروبی مطابقت دارد. نتایج بررسی اثر تیمار با گاز ازن بر شمارش کپک و مخمر

بررسی تاثیر زمان‌های مختلف اعمال گاز ازن بر روی میزان کاهش کپک و مخمر تاثیر معنی‌داری نشان داد به طوریکه با افزایش زمان فرآوری کاهش تعداد کلونی‌های شمارش شده بر محیط کشت اختصاصی DG18 به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). که بیشترین اثر ضد میکروبی گاز ازن بر کپک و مخمر در زمان ۶۰ دقیقه ازن‌زنی مشاهده شد که تعداد کلونی‌های شمارش شده بطور میانگین در نمونه‌ها در زمان صفر از حدود

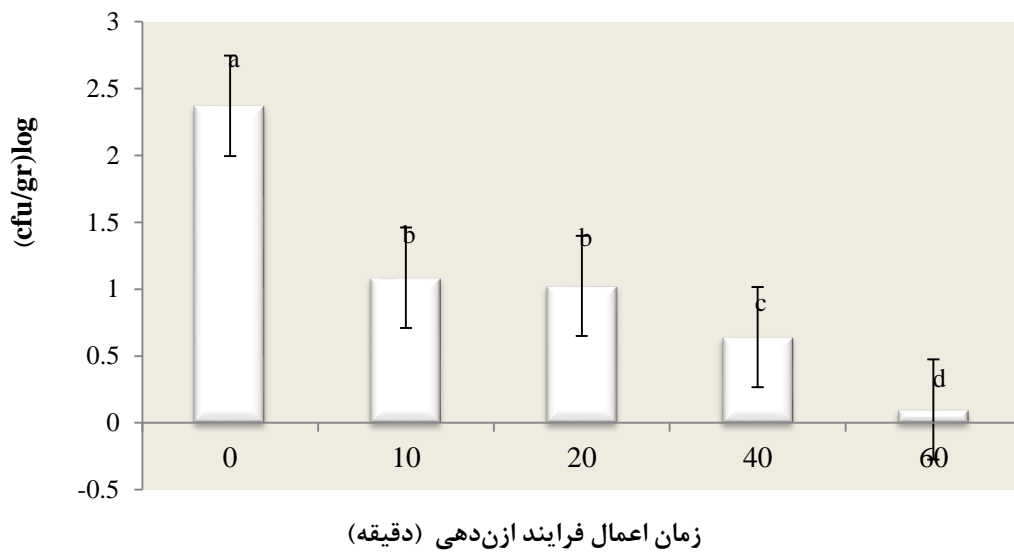
مطابق با استاندارد شماره ۳۶۷۷ ملی ایران میزان میکروارگانیسم‌های هوازی مزوفیل برای انواع ادویه‌ها، حداکثر 10^5 کلونی می‌باشد که این میزان در مورد هر سه ادویه از همان ابتدا در محدوده استاندارد قرار داشت. اوزتکین و همکاران در سال ۲۰۰۶ برای غیر فعال کردن بار میکروبی انجیر خشک، از ازن به شکل گاز به مدت ۳ و ۵ ساعت به غلظت ۵ ppm و ۱۰ استفاده کردند. ایشان ملاحظه کردند که شمارش کلی باکتری‌ها، بصورت معنی‌دار کاهش یافت و اثرشیا کلی بطور کامل از بین رفت. جمعیت میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی به میزان ۳۸٪ کاهش، بهترین زمان و غلظت برای ازن‌زدن جمعیت میکروارگانیسم‌ها در این پژوهش به ترتیب

حاضر در محلول‌های آلی و جذب اکسیژن توسط آن‌ها کاهش نیابد، ۷-۵ سیکل لگاریتمی کاهش در سلول‌های زنده مشاهده می‌شود. بدون در نظر گرفتن کفایت پتانسیل غیرفعال سازی ازن نسبت به یک میکروارگانیزم خاص (غیر فعال سازی کامل در ۷ سیکل لگاریتمی cfu/ml در آب است)، آن میکروارگانیزم زمانی که به محصول غذایی وصل شود نسبت به اکسید شدن توسط ازن محافظت می‌شود. تیمار باکتری‌ها با ازن در محصولات غذایی به طور غیر مؤثری، اندازه‌گیری زنده مانی را در مقایسه با شرایط تیمار نشده، حدود یک سیکل لگاریتمی می‌کاهد (گری ۲۰۱۴). فرج زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعات خود بر روی خرما به این نکته پی بردند که ازناسیون با غلظت ۵ g/h به مدت ۳ و ۵ ساعت و ازناسیون با ۱۰ g/h به مدت ۳ و ۵ ساعت به ترتیب منجر به کاهش ۲۵٪، ۲۵٪، ۵۳٪ و ۴۶٪ در مقدار کپک و مخمر شد. همچنین بیان کردند که ازناسیون یک روش مناسب برای کاهش بار میکروبی و افزایش مدت زمان ماندگاری خرما می‌باشد.

10^2 (نمونه شاهد) به صفر در نمونه‌های تیمار شده با ازن به مدت ۶۰ دقیقه رسید (شکل ۴ و ۵). ادویه زنجبیل تهیه شده فاقد کپک و مخمر بود. در مورد دارچین اعمال زمان تیماردهی بعد از ۱۰ دقیقه تعداد اولیه در نمونه شاهد را به صفر رساند ($P < 0.05$). در مورد میخک که دارای بیشترین میزان آلودگی در بین سه نمونه ادویه بوده است (احتمالاً به دلیل تفاوت در حالت در ادویه‌ها (پودری و دانه‌ای) و نسبت سطح به حجم آنها بوده است)، با ازن‌زنی به مدت ۶۰ دقیقه ۵ سیکل لگاریتمی در میزان کپک و مخمر مشاهده شد. بر اساس استاندارد ملی ایران (شماره ۳۶۷۷) حداکثر میزان کپک و مخمر شمارش شده برای انواع ادویه‌ها 5×10^2 کلونی می‌باشد که این میزان در مورد زنجبیل و دارچین از همان ابتدا با مقادیر کمتر از حد استاندارد رعایت شده است. قدرت ازبین بردن قارچ‌ها با ازن در درجه اول به دلیل قدرت ترکیب آن با اجزاء چربی موجود در غشاء سلول قارچ می‌باشد. ازن میکروارگانیزم‌ها را بواسطه واکنش اکسیداسیون غیر فعال می‌سازد (برینگمان، ۱۹۵۴). عموماً اگر سطح ازن به دلیل وجود مواد مغذی آلی



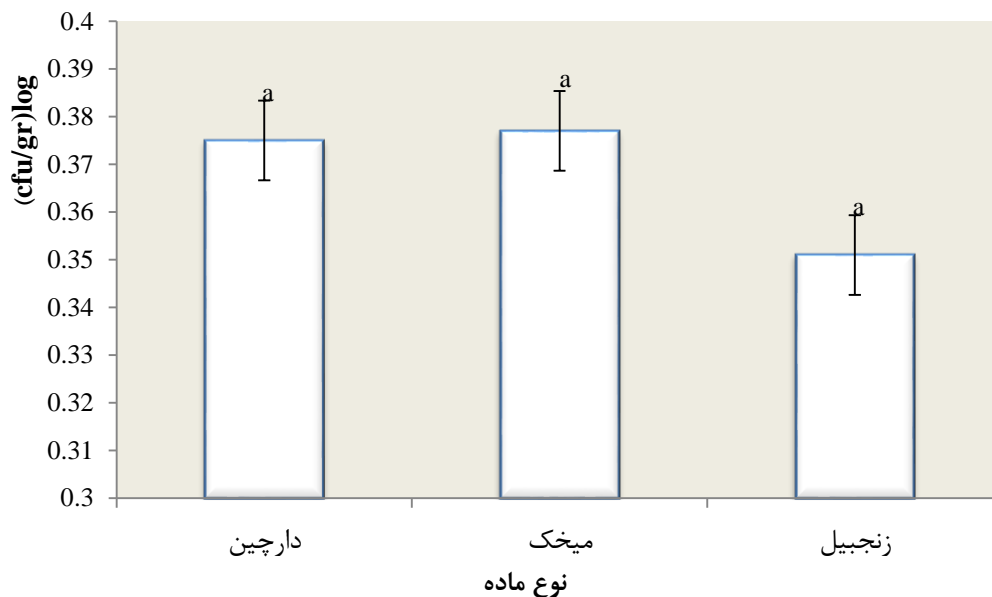
شکل ۴- مقایسه میانگین جمعیت کپک و مخمر در تمامی زمان‌های ازن‌زنی



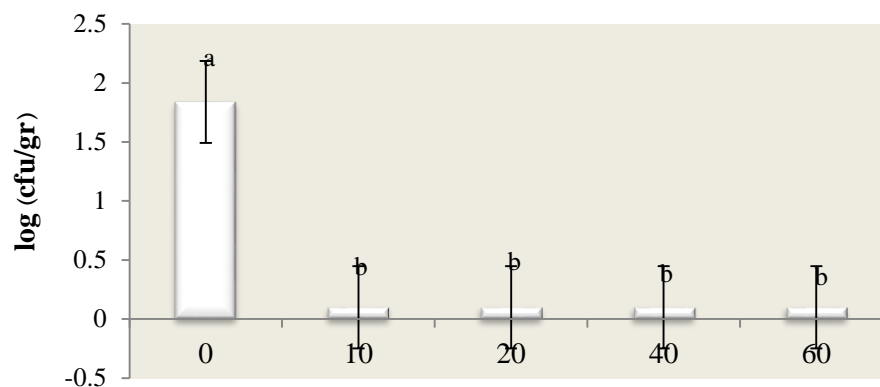
شکل ۵- مقایسه میانگین تاثیر زمان فرآوری بر شمارش کپک و مخمر

داد که در سطح ازن ppm ۴/۷ و زمان تماس ۳ ساعت تعداد شمارش کلی باکتری‌ها، کلیفرم‌ها، کپک‌ها و مخمرها به ترتیب به میزان ۹۳/۳٪، ۹۹/۸٪، ۹۶/۹٪، ۸۴/۵٪ کاهش یافتند. نتایج بدست آمده در مورد اندازه گیری کروسین، سافرانال و چپروکروسین بیانگر مقدار کاهش به میزان ۱۴/۹٪، ۱۰/۴۶٪ و ۱۳،۸۵٪ می‌باشند.

نتایج بررسی اثر تیمار با گاز ازن بر شمارش کلی فرم زمان فرآوری با گاز ازن بر میزان کلی فرم‌های ادویه‌های مورد بررسی نشان داد که تنها ۱۰ دقیقه اعمال گاز ازن بر روی شمارش کلی فرم‌ها تاثیر معنی‌دار داشته و میزان این باکتری‌ها را تا صفر کاهش داده است که این کاهش معادل حدود ۲ سیکل لگاریتمی (۹۰ درصدی) در میزان این میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (شکل ۶ و ۷). میزان آلودگی به کلی فرم در هر سه ادویه قبل از ازن‌زنی مشابه هم بوده و شدت گاز ازن بر هر سه ادویه مساوی هم می‌باشد بطوریکه در هر سه نوع ادویه بعد از ۱۰ دقیقه اثری از کلی فرم دیده نشده است با توجه به این که میزان شمارش کلی فرم‌ها برای ادویه‌ها حداکثر ۱۰۳ کلونی می‌باشد (بی نام، ۱۳۸۷)، این میزان در مورد هر سه ادویه مورد بررسی از همان ابتدا (در نمونه شاهد) در رنج استاندارد و قابل قبول قرار داشت نتایج بدست آمده اکبری و همکاران در سال ۱۳۹۳ (استفاده از ازن به عنوان ماده ضد عفونی کننده برای زعفران) نیز نشان داد که جمعیت آفات و میکروارگانیسم‌ها به طور معنی داری کاهش یافت بدون اینکه به رنگ، طعم و عطر زعفران آسیبی وارد گردد. نتایج تحقیق این پژوهشگران نشان



شکل ۶- مقایسه میانگین جمعیت کلی فرم در تمامی زمان‌های ازن‌زنی



زمان اعمال ازن (دقیقه)

شکل ۷- مقایسه میانگین تاثیر زمان فرآوری بر شمارش کلی فرم

شمارش کلی فرم‌ها نشان داد که با اعمال ۱۰ دقیقه ازن زنی در همه انواع ادویه (زنجبیل، دارچین و میخک) این میزان را تا صفر کاهش یافته است میزان رطوبت در نمونه‌های زنجبیل و دارچین بعد از دادن ۶۰ دقیقه گاز ازن با نمونه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت اما در مورد میخک بعد از ازن‌زنی میزان رطوبت افزایش داشت. همچنین مقدار ترکیبات فنولی در نمونه دارچین شاهد دارای بیشترین ترکیبات فنولی و زنجبیل تیمار شده به

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل بیانگر این مطلب است که در هر سه نوع ادویه مورد بررسی با افزایش زمان تیماردهی از ۰ تا ۶۰ دقیقه میزان شمارش کلی باکتری‌ها، کپک و مخمر و کلی فرم کاهش می‌یابد. از میان ادویه‌های مورد بررسی، در میخک میکروارگانیزم‌های مزوفیل‌هوازی و کپک و مخمر بیشترین مقاومت را به ازن زنی و در زنجبیل کمترین مقاومت به ازن زنی را نشان دادند. بررسی

مدت ۶۰ دقیقه دارای کمترین مقدار می‌باشد. درصد به دام اندازی (بازدارندگی) رادیکال DPPH برای سه ادویه در زمان صفر (نمونه شاهد) و بعد از ۶۰ دقیقه تیمار با گاز ازن نشان می‌دهد که دارچین، میخک و زنجبیل به ترتیب دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند.

منابع مورد استفاده

- بی نام، ۱۳۹۳، میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم‌ها، قسمت ۱- شمارش کلنی در ۳۰ درجه سانتی گراد با استفاده از روش کشت آمیخته، استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۵۲۷۲، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- بی نام، ۱۳۸۷، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها، قسمت دوم روش شمارش کلنی در فراورده‌های با فعالیت آبی (aw) مساوی یا کمتر از ۰/۹۵، استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۱۰۸۹۹، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- بی نام، ۱۳۸۶، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کلی فرم‌ها - روش شمارش کلونی، استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲۶۳، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- اکبری م، حداد خداپرست م، جاهد ع، شاهی م، ۱۳۹۳، تاثیر ازن بر کیفیت میکروبی و نابودی لاروهای زنده در زعفران، پایان نامه برای دریافت کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشگاه آزاد سبزه وار.
- کریم گ، ۱۳۸۲، آزمون‌های میکروبی مواد غذایی، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران.
- جمشیدی م، ۱۳۹۰، اثر پرتو دهی گاما بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دارچین، زوفا و سرخارگل، پایان‌نامه‌ی دوره کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس.
- خبازف، عباسی ا، غیبی ن، سیرتی ثابت م، ۱۳۸۷، اثر عصاره بابونه، میخک و سیربرگلیکوزیلاسیون غیرآزمی آلومین در شرایط آزمایشگاهی، مجله ارمنان دانش، ۱۴، ۱.
- شریفی فر ف، مصحفی م ح، دهقان غ، عامری ع، علیشاهی ف، ۱۳۸۸، بررسی سمیت سلولی اسانس عصاره‌های مختلف گیاهان ادویه ای دارچین و زنجبیل با آزمون سمیت لارومیگویی آبشور، فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۱۰، ۳۰-۹۶-۱۱۹.
- زارع ر، غیاثوند ر، ۱۳۹۴، اثر متقابل زمان ازن‌دهی و زمان نگهداری بر کاهش آفلاتوکسین زعفران، بیست و سومین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی.

- Asimi OA, Sahu NP and Pal AK, 2013. Antioxidant activity and antimicrobial property of some Indian spices. International Journal of Scientific and Research Publications 3: 1-8.
- Burt S, 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food-a review. International Journal of Food Microbiology 3: 223-253.
- Bringman G, 1954. Determination of the lethal activity of chlorine on ozone on E.coli. Journal of Poultry Science 26: 391-393.
- Farajzadeh D, Qorbanpoor A, Rafati H and Isfeedvajani MS, 2013. Reduction of date microbial load with ozone. Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences 18(4): 330-334.
- Fazeli MR, Amin G, Ahmadian MM, Ashtiani H and Samadi N, 2007. Antimicrobial activities of Iranian sumac and a avishan-e Shirazi (Zataria multiflora) against some food-borne bacteria food control 18(1): 646-649.
- Gray NF, 2014. Ozone Disinfection. Ch. 33, In: Microbiology of waterborne diseases. University of Dublin, Ireland.

- Istrati D, Constantin O, Vizireanu C and Dinca RM, .2001. The study of antioxidant and antimicrobial activity of extracts for meat marinade. *Romanian Biotechnological Letters* 5: 9687-9698.
- Joseph LS, Carlos C and Franka M, 1999. Postharvest use of ozone on fresh fruit. University of California Kearney Agricultural Center2.
- Kim YJ, Kim MH and Song KB, 2009. Efficacy of aqueous chlorine dioxide and fumaric acid for inactivating pre-existing microorganisms and *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on broccoli sprouts *Food Control* 20 (11): 1002-1005.
- Murphy PT, White ST, Leandro LF, Bern CJ and Beattie SE, 2013. Mycoflora of high-moisture maize treated with ozone. *Journal of Stored Products Research* 55: 84-89
- Ozteken S, Zorlugenc B and Kiroglu F, 2006. Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. *Journal of Food Engineering*. 75: 396-399.
- Torlak E, Sert D and Ulca P, 2013. Efficacy of gaseous ozone against *Salmonella* and microbial population on dried oregano. *International Journal of Food Microbiology* 165: 276–280.
- yesilcimen A and Mand Murat O, 2006. Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 13: 2099-2104.
- Zhao J and Cranston P M, 1995. Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1: 11-18.

Effect of ozone gas on some chemical and microbial properties of Cinnamon, Clove, Ginger spices

H Ghanberi ¹, N Asefi ^{2*} and Sh Hanifian²

Received: December 20, 2016 Accepted: April 4, 2017

¹MSc Student, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

²Assistant Professor, Department of Food Sciences and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author: Email: n.asefi@iaut.ac.ir

Abstract:

Herbs are natural substances with antioxidant properties that are effective preservatives in raw and unprocessed food which are susceptible to contamination by bacteria(vegetative and spore forms), yeasts and mold. at this study , treatment of spices ,cinnamon, ginger and cloves was carried out with ozone gas at a concentration of 4 g/hr in 0,10,20,40,60 minutes and chemical and microbial properties were evaluated. The results showed that the type of spices and treatment time and the interaction of two factors had a significant impact ($P < 0.05$) on the level of microbial contamination of spices, as cloves had highest and ginger showed the least microbial contamination. Also increasing the time of ozonation result in significant decrease in the level of microbial contamination. so the total count and mold and yeast count after 60 minutes and cloiform after 10 minutes ozonation was zero. Study of chemical properties also showed that by applying the ozon for 60 minutes there was no significant changes in moisture content, except in the case of cloves that increased after the treatment. Cinnamon had the highest and ginger had the lowest moisture content. Phenolic compounds in cinnamon, cloves and ginger were lower respectively. This amount of decrease (52%) in cinnamon samples after treatment was significant. Radical inhibition percent in three spices, was corresponding to the amount of phenolic compounds and ozonation on ginger reduced its antioxidant activity (47%).

Key words: Cinnamon, Cloves, Ginger, Microbial load, Ozone