

تأثیر ازن بر کیفیت میکروبی و نابودی لاروهای زنده در زعفران

مزگان اکبری^۱، محمد مهدی نعمت شاهی^۲، محمد حسین حداد خداپرست^۳ و عیسی جاهد^{۴*}

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۲۷

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار

^۲ دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار

^۳ استاد گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۴ دانشجوی دکتری، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه

*مسئول مکاتبه: Email: Jahed65@gmail.com

چکیده

در حال حاضر ایران بزرگترین تولید کننده و صادرکننده زعفران در جهان است و بیش از ۶۵ درصد تولید جهانی این محصول گرانبها به ایران اختصاص دارد. زعفران مانند سایر ادویه‌ها، به علت تماس با خاک، بخصوص در ابتدای فصل برداشت بار میکروبی نسبتاً بالائی دارد و علاوه بر آن وجود لارو در زعفران، صادرات این محصول ارزشمند را با چالش مواجه نموده است. در تحقیق حاضر، ازن به عنوان یک ماده ضدعفونی کننده برای آلودگی زدائی زعفران استفاده شد. برای این منظور تیمار ازن در ۴ سطح شامل ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ ppm در مدت زمان تماس صفر، ۱، ۲ و ۳ ساعت بر روی نمونه‌های زعفران اعمال گردید. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد که با افزایش غلظت ازن و زمان تماس آن، شمارش کلی باکتری‌ها و کلیفرم‌ها کاهش یافته است. چنین روندی در مورد کپک‌ها و مخمرها نیز مشاهده شد با این تفاوت که میزان این کاهش برای باکتری‌ها و کلیفرم‌ها بیشتر ولی برای کپک‌ها و مخمرها با شیب کمتری صورت گرفت. بیشترین تاثیر تیمارها، در غلظت ۲ پی پی ام و زمان ۳ ساعت به دست آمد که جمعیت باکتری‌ها، کلیفرم‌ها، کپک‌ها و مخمرها را به ترتیب ۹۳/۳، ۹۹/۸، ۹۶/۹ و ۸۴/۵ درصد کاهش داد. نتایج آزمون‌های شیمیایی نیز نشان داد که گاز ازن در کنار تاثیر مثبتی که بر آلودگی زدائی و کاهش فلور میکروبی زعفران دارد، باعث کاهش در ویژگی‌های اصلی زعفران شامل کروسین، سافرانال و پیکروکروسین بترتیب به میزان ۱۴/۹٪، ۱۰/۴۶٪ و ۱۳/۸۵٪ شد. نتایج همچنین نشان داد ازن با غلظت ۲ ppm به مدت ۲۰ دقیقه حدود ۸۴ درصد از لاروهای زنده را از بین برد و با ادامه گازدهی تا ۴۰ دقیقه تقریباً هیچ لاروی باقی نماند.

واژگان کلیدی: زعفران، تیمار ازن، کلیفرم، سافرانال، پیکروکروسین

مقدمه

گیاه زعفران با نام علمی *Crocus Sativus* بومی مناطق ایران است و یکی از مهمترین اقلام صادراتی کشورمان را تشکیل می‌دهد. زعفران به عنوان گرانترین محصول کشاورزی و دارویی جهان جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد (حسینی ۱۳۷۹)، در حال حاضر ایران بزرگترین تولیدکننده و صادرکننده زعفران در جهان است و بیش از ۶۵ درصد تولید جهانی این محصول گرانبها به ایران اختصاص دارد (حسینی نژاد ۱۳۸۱). کاربردهای فراوان و گسترده زعفران، خواص ویژه این داروی با ارزش، نقش خاص آن در زندگی کشاورزان استانهای خراسان، فارس و هم‌چنین ارزش افزوده بالای آن، لزوم توجه ویژه به مسائل تولید، صادرات و بازاریابی زعفران را بیش از پیش روشن می‌نماید (حسینی نژاد ۱۳۸۱).

در بین محصولات صادراتی، زعفران از جایگاه خاصی برخوردار است به نحوی که ارزش صادراتی حدود ۱۲۱ تن زعفران در سال ۱۳۸۰ بالغ بر ۵۱ میلیون دلار بوده است و تقریباً ۹۲٪ تولید و ۹۸٪ سطح زیرکشت کشوری را استان خراسان به خود اختصاص داده است (کافی ۱۳۸۱).

کلاله زعفران که در واقع بخش اصلی زعفران تجاری را تشکیل می‌دهد علاوه بر دارا بودن ترکیبات عمومی نظیر کربوهیدرات، پروتئین، چربی، املاح معدنی و ویتامینها، حاوی ترکیبات اختصاصی است که میزان این ترکیبات تعیین‌کننده مرغوبیت و کیفیت زعفران می‌باشند (مهدوی ۱۳۸۵).

زعفران مانند سایر ادویه جات، هنگام رویش در تماس با خاک می‌باشد و به این علت و هم‌چنین به علت عدم رعایت نکات بهداشتی زعفران تازه بدست آمده در ابتدای فصل برداشت، معمولاً مقدار آلودگی بالاتری از حد مجاز استاندارد را دارد و این مسئله یکی از مشکلات صادرات زعفران بخصوص به بازارهای

اروپائی است. هر چند در طی نگهداری بعدی به علت وجود سافرانال، مقدار بارمیکروبی آن کاهش می‌یابد ولی هم‌زمان با این مسئله ترکیبات اصلی زعفران شامل کروسین، پیکروکروسین و سافرانال نیز کاهش می‌یابد و علاوه بر آن وجود سافرانال بر روی رشد و نمو لارو آفات اثر بازدارنده ندارد.

روش‌های مختلفی برای آلودگی زدائی از زعفران پیشنهاد شده است که از جمله می‌توان پرتوهای یون ساز، مایکروویو و فومیگاسیون را نام برد (بانسی و همکاران ۱۹۹۶). از آنجا که روش استفاده از پرتوهای یون ساز، در بسیاری از کشورها از جمله کشورهای اروپائی غیرمجاز می‌باشد، روشی که ضمن پائین آوردن بار میکروبی، باعث نابودی لاروهای موجود در آن شود، می‌تواند یک مزیت رقابتی برای آلودگی زدائی از زعفران محسوب شود. در این تحقیق از ازن برای این منظور استفاده شده و سعی شده است اثرات این گاز بر سایر ویژگی‌های کیفی زعفران نیز بررسی شود. در تحقیقی دوست خواه (۲۰۰۶) از ازن به عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده برای خرماهایی که توسط آفات و میکروارگانیسم‌های گوناگون مورد هجوم قرار می‌گیرند، استفاده کرد. نتایج نشان داد میزان کپک و مخمر، شمارش کلی میکروبی و هم‌چنین کلی فرم و استافیلوکوکوس اورئوس بطور معنی داری کاهش یافت. گوزل سدیم (۱۹۹۶) اثر ازن را بر روی فاضلاب ساختمانی لبنیات مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند تیمار ازن BOD فاضلاب لبنیات را تا ۱۵٪ کاهش داد. رادگرز و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند لیستریا مونوسیژنوزنز تلقیح شده به کاهو وقتی تحت تیمار ppm ۳ آب ازن به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت تا حدود سه سیکل لگاریتمی کاهش یافت. نیل و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند با استفاده از آب ازن به مدت ۳۰ دقیقه توانستند تنها حدود یک سیکل لگاریتمی از جمعیت باکتری‌های اش‌ریشیاکلی O157:H7 و سالمونارا کاهش

باکتری در پودر پسته بدون داشتن هیچ تغییری در خواص فیزیکوشیمیایی آنها، مناسب باشد. بر طبق بررسی های به عمل آمده مشخص شد که تاکنون از ازن برای آلودگی زدائی و کاهش بار میکروبی زعفران استفاده نشده است. بنابراین در تحقیق حاضر ازن بعنوان یک ماده ضدعفونی کننده برای زعفران که توسط آفات و میکروارگانیسم های گوناگون مورد هجوم قرار می گیرد، استفاده شده است. هدف حذف و یا کاهش جمعیت آفات و میکروارگانیسم هاست بدون اینکه به رنگ، طعم و عطر زعفران، آسیب قابل توجهی وارد شود.

مواد و روش ها

مواد

زعفران نوع رشته ای کامل (دسته) که از شرکت نوین زعفران تهیه شد.

دستگاه ازن ژنراتور تولید شرکت مهندسی افراشید پرداز که قادر به تولید ۵ لیتر در ساعت گاز ازن می باشد. ملحقات آن شامل کپسول اکسیژن و مانومتر مدرج ۱۰-۰ لیتر بر دقیقه بود.

مواد مورد نیاز برای کشت میکروبی شامل محیط کشت پلیت کانت آگار (برای آزمون میکروبی شمارش کلی باکتری ها) با شماره آرت ۱/۰۵۴۶۳/۰۵۰۰، محیط کشت YGC حاوی کلرآمنیکل (برای آزمون میکروبی شمارش کپک و مخمر) با شماره آرت ۱/۱۶۰۰۰/۰۵۰۰، محیط کشت ویولت رد بایل آگار (برای آزمون میکروبی شمارش کلی فرم) با شماره آرت ۱/۰۱۴۰۶/۰۵۰۰، قرص رینگر بود که از شرکت مرک تهیه گردید.

روش ها

آماده سازی نمونه اولیه

ابتدا زعفران خریداری شده توسط قیچی به رشته های تقریباً ۲ میلیمتری بریده شد، از آنجا که زعفران بریده شده حاصل کاملاً یکنواخت نمی باشد، زعفران توسط

دهند. این تفاوت ها بخاطر این است که اثر ازن تحت تاثیر فاکتورهای متعددی قرار می گیرد. نوع وارپته کاهو، میکروب های مورد بررسی، غلظت اولیه باکتری تلقیح شده، حالت های فیزیولوژیکی سلول های باکتریایی و روش های تولید ازن از جمله فاکتورهای مهمی هستند که باعث تفاوت در تاثیر تیمار می شوند. دو فاکتور غلظت ازن و زمان تماس نیز تاثیر زیادی بر روی خواص ظاهری و حسی نمونه محصول تحت تیمار دارند.

اوزتکین و همکاران (۲۰۰۶) برای غیرفعال کردن بار میکروبی انجیر خشک، از ازن به شکل گاز بمدت ۳ و ۵ ساعت به میزان ۵ و ۱۰ پی پی ام استفاده کردند و کاهش معنی داری در شمارش کلی باکتری ها، کلیفرم و کپک و مخمر ($p < 0.05$) بدست آوردند به طوریکه اشرشیا کلی روی نمونه ها پیدا نشد. نتایج نشان داد که برای حداکثر کاهش تعداد میکروارگانیسم ها تیمار ۳ ساعت با غلظت ۲ پی پی ام ازن مورد نیاز است.

ازمیر و یسیل سایمن (۲۰۰۶) موثر بودن ازن برای آلودگی زدائی از اشرشیا کلی و باسیلوس سرئوس در مغز پسته، پسته پوست گرفته و پودر پسته را مورد ارزیابی قرار دادند. پسته ها با غلظت های مشخص اشرشیاکلی و باسیلوس سرئوس تلقیح شد. ازن زنی نمونه های پسته با غلظت های متفاوت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ پی پی ام گاز ازن برای زمان های متفاوت صفر الی ۳۶۰ دقیقه در ۲۰ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۷۰٪ انجام شد. موثر بودن ازن در برابر اشرشیاکلی و باسیلوس سرئوس با افزایش زمان تماس و غلظت ازن، افزایش یافت. خواص فیزیکوشیمیائی پسته بعد از تیمار ازن، بجز عدد پراکسید بطور معنی داری تغییر نکرد. نتایج نشان داد که غلظت ازن به مقدار ۱ ppm در کاهش شمارش اشرشیا کلی و باسیلوس سرئوس در مغز پسته و پسته پوست گرفته موثر بود و غلظت ازن به مقدار ۰/۱ ppm توانست در کاهش تعداد هر دو

طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده ها

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری فاکتوریل به روش کاملاً تصادفی استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۱/۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال آلفا برابر با ۰/۰۵ با همین نرم افزار انجام گردید. متغیرهای فرآیند شامل غلظت ازن بکار رفته با چهار سطح (صفر، ۱، ۲ و ۳ ppm) و زمان تماس در چهار سطح (صفر، ۱، ۲ و ۳ ساعت) در سه تکرار انجام شد. نتایج بصورت اثر ازن و اثر زمان تماس و هم چنین اثر متقابل مقدار ازن و زمان تماس بر شاخص های اندازه گیری شده مورد بررسی و تحلیل قرار گرفتند. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار اکسل استفاده گردید.

نتایج و بحث

بررسی اثر غلظت ازن و زمان تماس آن بر شمارش

کلی باکتری ها، کلیفرم ها، کپک ها و مخمرها

نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت ازن و زمان تماس آن، شمارش کلی باکتری ها و کلیفرم ها کاهش یافته است. چنین روندی در مورد کپک ها و مخمرها نیز مشاهده شد به طوری که با افزایش غلظت گاز ازن و افزایش مدت زمان تماس نمونه های زعفران با این گاز، این میکروارگانیسم ها نیز کاهش یافتند با این تفاوت که میزان این کاهش برای باکتری ها و کلیفرم ها بیشتر ولی برای کپک ها و مخمرها با شیب کمتری صورت گرفت (شکل ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین شمارش کلی باکتری ها در زمان ها و غلظت های مختلف نشان داد که تاثیر غلظت های مختلف ازن و مدت زمان تماس آن با نمونه ها نسبت به نمونه شاهد (زمان صفر و بدون ازن زنی) و نسبت به سطوح دیگر و همچنین اثر متقابل غلظت و زمان، از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0.05$)، به طوری که بیشترین تاثیر تیمارها

الک با مش ۲۰ الک شده و رشته های درشت تر از اندازه مورد نظر جدا گردید. سپس این رشته ها مجدداً توسط قیچی به اندازه مورد نظر بریده شد. در نهایت زعفران بریده شده توسط الک با مش ۵۰ الک گردید تا زعفران پودری که اندازه کوچکتر از مقدار مورد نظر داشتند، جدا گردد. ۲۴ گرم از زعفرانی که با روش فوق یکنواخت گردیده بود، توسط ترازوی دیجیتالی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم، به دقت توزین گردید و به بطری های شیشه ای تیره یک لیتری منتقل شد.

روش ازن زنی: بطری های شیشه ای تیره حاوی زعفران با ۰/۵، ۱، ۲ پی پی ام گاز ازن و زمان های تماس ۱، ۲ و ۳ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. در طی زمان تزریق ازن به داخل بطری، هر ۱۵ دقیقه یکبار، محتوای بطری کاملاً تکان داده شد تا از رسیدن گاز ازن به تمام قسمت های زعفران وزن شده داخل بطری، اطمینان حاصل گردد. بعد از طی زمان مورد نظر، ژنراتور خاموش شده و شیر کپسول اکسیژن نیز بسته شد.

آزمون های شیمیائی

آزمونهای شیمیائی انجام شده بر روی زعفران شامل آزمون اندازه گیری رطوبت و آزمون اندازه گیری ویژگیهای اصلی شامل سافرانال، کروستین و پیکروکروسین می باشد که آزمونها بر طبق استاندارد ملی ۲۵۹-۲ انجام گردید.

آزمون های میکروبی

آزمونهای میکروبی انجام شده بر روی نمونه های تحت تیمار ازن قرار گرفته، آزمونهای شمارش کلی، شمارش کلی فرم ها و کپک و مخمر می باشد که طبق استاندارد ملی ۵۶۸۹ انجام گردید. در نهایت علاوه بر این آزمون های شیمیایی و میکروبی، نمونه ها ضدعفونی شده از نظر وجود یا عدم وجود لاروهای زنده نیز پس از اعمال ۲ پی پی ام گاز ازن و مدت زمان تماس ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند.

دهند. سلما و همکارانش (۲۰۰۷) نیز نشان دادند تیمار کاهو خرد شده با ۵ پی پی ام آب ازن به مدت ۵ دقیقه باعث کاهش ۱/۸ سیکل لگاریتمی جمعیت شیگلاسونی تلقیح شده می شود.

ازن را به دو فرم گازی و محلول در آب می توان استفاده کرد. استفاده از آب ازن به عنوان یک جایگزین مناسب برای ضدعفونی کننده های قدیمی پیشنهاد شده است، چون در غلظت کم تاثیر می گذارد و زمان تماسش کوتاه است و در انتها نیز به ترکیبات غیر سمی شکسته می شود. تاثیر ازن به میزان حلالیت آن در آب بستگی دارد و با کاهش دما افزایش می یابد (سلویرا و همکاران ۲۰۰۷). بررسی منابع نشان می دهد در بیشتر تحقیقاتی که از ازن به عنوان یک ماده ضدعفونی کننده استفاده شده است، از محلول ازن در آب استفاده شده است (آب ازن)، زیرا در حالت محلول تاثیر ازن و قدرت اکسیدکنندگی آن بسیار بیشتر از حالت گازی می باشد. اما در این تحقیق چون نمونه ما زعفران بود امکان استفاده از آب ازن وجود نداشت و از ازن زنی به روش گازی استفاده شد که نتایج به دست آمده حاکی از موثر بودن این روش می باشد.

افزایش غلظت گاز ازن در طول زمان بر کاهش کپکها نیز به طور چشمگیری موثر بود به طوری که با افزایش غلظت ازن از ۰/۵ تا ۲ پی پی ام، جمعیت کپکها روند نزولی داشت که بیشترین تاثیر مربوط به غلظت ۲ پی پی ام و مدت زما ۳ ساعت بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها نشان داد سطوح مورد استفاده ازن و زمان تماس و هم چنین اثر متقابل این دو از نظر آماری هم با یک دیگر و هم با نمونه شاهد اختلاف معنی دار دارند (شکل ۳). در آزمون میکروبی شمارش کپکها، میزان کاهش ۹۶/۹٪ بود. یعنی تعداد کپک نمونه ای که تحت اثر ۲ پی پی ام ازن و زمان تماس ۳ ساعت قرار گرفته است به ۳/۰۷٪ تعداد کپک موجود در نمونه شاهد رسیده است.

(بیشترین کاهش باکتری ها) در غلظت ۲ پی پی ام و زمان ۳ ساعت به دست آمد که موجب کاهش ۹۳/۳ درصد از جمعیت باکتری ها نسبت به نمونه اولیه شد (شکل ۱).

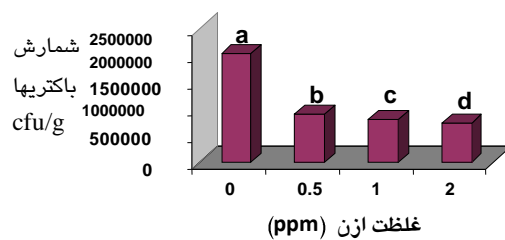
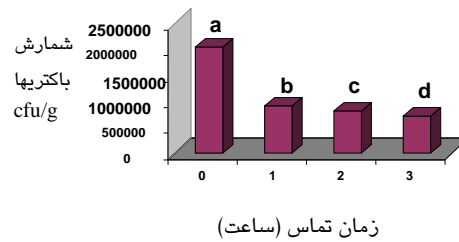
ازن بر روی طیف وسیعی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی و اسپورها اثر ضد میکروبی دارد. ازن با اکسیداسیون تصاعدی ترکیبات حیاتی، سلول میکروب ها را تخریب می کند و از رشد آنها جلوگیری می کند و زمان ماندگاری میوه ها و سبزیجات را افزایش می دهد و به همین خاطر استفاده از آن در صنعت رو به افزایش است (پاریش و همکاران ۲۰۰۳).

این روند در مورد کلیفرم ها اندکی متفاوت بود، به طوری که کاهش کلیفرم ها با افزایش غلظت گاز ازن و مدت زمان تماس نسبت به نمونه شاهد کاهش چشمگیر و معنی داری داشت و جمعیت کلیفرم ها را به میزان ۹۹/۸ درصد کاهش داد، ولی بین سطوح و همچنین اثر متقابل غلظت و زمان اختلاف معنی دار نبود ($P>0.05$). به این معنی که افزایش غلظت گاز ازن و مدت زمان تماس تاثیری بر کاهش جمعیت کلیفرم ها نداشت و شمارش کلیفرم ها در غلظت ۰/۵ پی پی ام و زمان ۱ ساعت با جمعیت کلیفرم ها در زمان ۲ ساعت و غلظت ۲ ppm، اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۲).

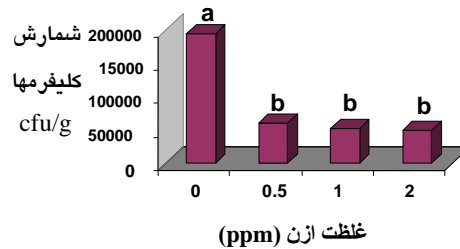
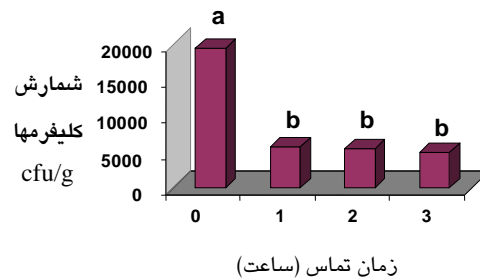
طبق نتایج بدست آمده توسط بحرینی و همکاران (۱۳۹۰) که تاثیر آب زنه را بر روی فلور میکروبی کاهو بررسی کردند، باکتری های کلی فرمی به آب ازن حساس تر بودند و نسبت به سایر باکتری ها کاهش بیشتری پیدا کردند به طوری که حداکثر کاهش جمعیت کلیفرمی در غلظت ۲ پی پی ام در مدت ۱۰ دقیقه ۱/۹۴ سیکل لگاریتمی بود.

کیم و همکارانش (۱۹۹۹) توانستند با استفاده از آب ازن به غلظت ۱/۵ پی پی ام (در دمای ۲۵°C و pH=۶) میزان باکتری های بیماریزا از جمله اشریشیاکلی O157:H7 را در سطح کاهو بین ۱/۵ الی ۵ سیکل لگاریتمی کاهش

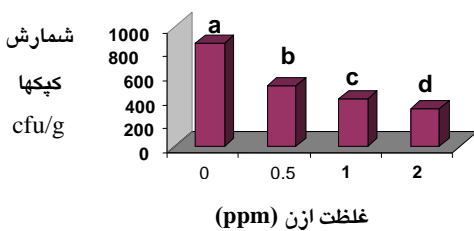
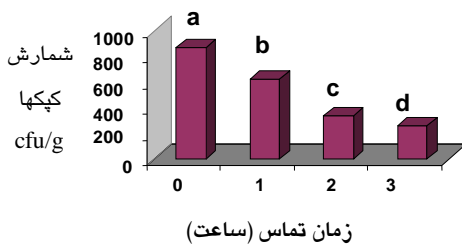
بر کاهش جمعیت مخمرها نداشت ولی پس از آن با افزایش غلظت تا ۲ ppm اختلاف معنی دار شد. روندی مشابه نیز در مورد مدت زمان تماس مشاهده شد بطوریکه زمان ۲ ساعت اختلاف معنی داری با زمان ۱ و ۳ ساعت نداشت، ولی هر سه سطح با شاهد اختلاف معنی دار نشان دادند (شکل ۴). در بالاترین سطوح تیمار اعمال شده یعنی غلظت ۲ پی پی ام ازن و مدت زمان ۳ ساعت، شمارش کلی مخمرها در نمونه به ۱۵/۴۵٪ در نمونه شاهد کاهش یافت. نتایج آماری نشان دهنده این بود که دو عامل غلظت ازن و زمان تماس به طور جداگانه تاثیر معنی داری بر کاهش جمعیت مخمرها دارند ($p < 0.05$) ولی اثر متقابل این دو تفاوت معنی دار نشان نمی دهد ($p > 0.05$). نتایج با تحقیقات بحرینی و همکاران (۱۳۹۰) و سلما و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد، آن‌ها گزارش دادند که تاثیر آب ازنه بر روی جمعیت کپک و مخمر سطح کاهو و طالبی بسیار کم بود و در بهترین شرایط کمتر از یک سیکل لگاریتمی جمعیت کپک و مخمر را کاهش داد و هر چه غلظت آب ازنه و زمان تیمار افزایش می یافت میزان کاهش جمعیت کپک و مخمر افزایش پیدا می کرد ولی تاثیر آن خیلی زیاد نبود و باکتری‌های بیماریزا حساسیت بیشتری به ازن داشتند.



شکل ۱- اثر غلظت ازن و زمان تماس آن بر کاهش باکتری‌ها



شکل ۲- اثر غلظت ازن و زمان تماس آن بر کاهش کلیفرمها



شکل ۳- اثر غلظت ازن و زمان تماس آن بر کاهش کپکها

در مورد مخمرها مقدار کاهش ۸۴/۵٪ بود که نسبت به بقیه آزمون‌های میکروبی مورد بررسی، کاهش کمتری مشاهده شد. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می شود افزایش غلظت ازن از ۰/۵ تا ۱ پی پی ام تاثیر معنی داری

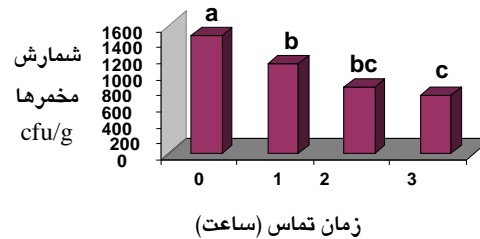
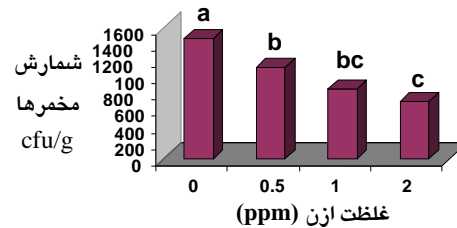
نسبت به اکسیداسیون می باشد. کمترین درصد کاهش مربوط به سافرانال می باشد که احتمالاً به علت تجزیه پیکروکروسین به سافرانال در حین عملیات فومیگاسیون می باشد، به عبارت دیگر در اثر عملیات فومیگاسیون، مقداری از پیکروکروسین به سافرانال تبدیل می شود و سافرانال بوجود آمده جایگزین سافرانال اکسید شده در نتیجه عمل فومیگاسیون با ازن می گردد (نورم ۲۰۰۰).

در مورد این سه ترکیب، نتایج آماری نشان دهنده این واقعیت بود که هم اثر دو تیمار زمان و ازن و هم اثر متقابل آن ها معنی دار بود و هرچه غلظت گاز ازن و یا زمان تماس افزایش یافت، مقدار ویژگیهای اصلی زعفران کاهش بیشتری نشان دادند ($P < 0.05$) و از این رو هنگام تعیین سطح ازن مورد استفاده برای فومیگاسیون، بایستی درصد کاهش ویژگیهای اصلی زعفران و همچنین میزان بار اولیه میکروبی آن را مدنظر داشت و بعد اقدام به ضدعفونی نمود.

کاهش مقدار کروسین موجود در زعفران با میزان اکسیداسیون آن توسط ازن مرتبط می باشد. ازن اکسیدکننده ای قوی است و باعث اکسیداسیون کروسین، سافرانال و پیکروکروسین می گردد که در نتیجه آن به ترتیب ب کروستین، ترکیبات ایزوفورون و سافرانال بدست می آید (اورفانو و تسیمیدو ۱۹۹۵).

بررسی اثر ازن بر تعداد لاروهای زنده

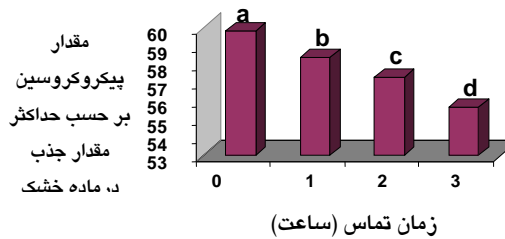
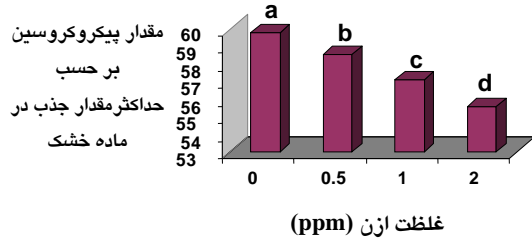
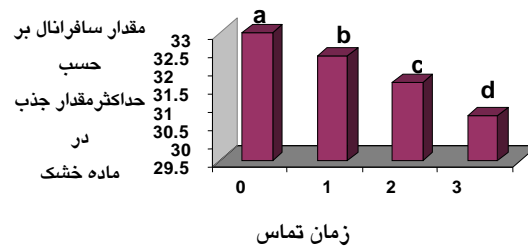
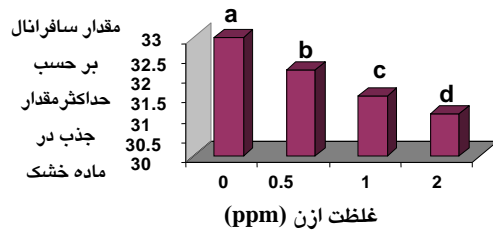
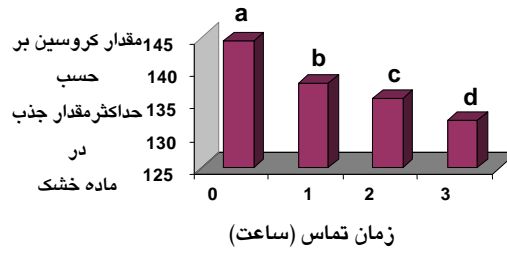
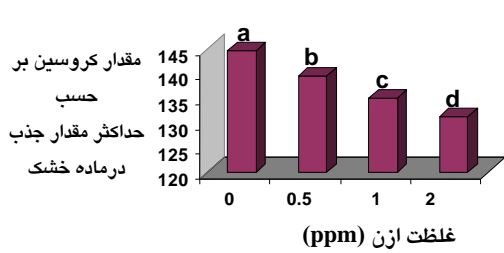
در نهایت نمونه های زعفران از نظر وجود یا عدم وجود لاروهای زنده پس از اعمال ۲ پی پی ام گاز ازن و مدت زمان تماس ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد ازن با غلظت ppm ۲ به مدت ۲۰ دقیقه حدود ۸۴ درصد از لاروهای زنده را از بین برد و با ادامه گازدهی تا ۴۰ دقیقه تقریباً هیچ لاروی باقی نماند (شکل ۶).



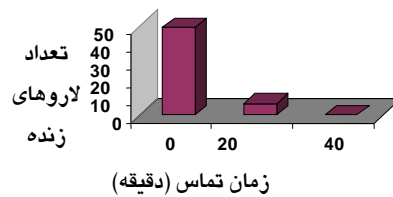
شکل ۴- اثر غلظت ازن و زمان تماس آن بر کاهش مخمرها

بررسی اثر غلظت ازن و زمان تماس آن بر تغییرات کروسین، سافرانال و پیکروکروسین

نتایج نشان داد که گاز ازن در کنار تاثیر مثبتی که بر آلودگی زدائی و کاهش فلور میکروبی زعفران دارد، باعث تغییراتی در ویژگی های اصلی زعفران نیز می شود. همان طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، افزایش غلظت گاز ازن در طول مدت زمان باعث کاهش ویژگی های اصلی زعفران شامل کروسین، سافرانال و پیکروکروسین شد. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که افزایش غلظت گاز ازن تا ۲ پی پی ام و مدت زمان تماس تا ۳ ساعت، در تمامی سطوح تاثیر معنی داری بر تغییرات پارامترهای کیفی زعفران گذاشته است ($P < 0.05$) به طوری که در مورد آزمون های شیمیائی، در سطح ۲ پی پی ام ازن و زمان تماس ۳ ساعت، مقدار کاهش برای کروسین، سافرانال و پیکروکروسین به ترتیب ۱۴/۹٪، ۱۰/۴۶٪ و ۱۳/۸۵٪ بود. همانطور که ملاحظه می شود درصد کاهش در مقدار کروسین نسبت به مقدار سافرانال و پیکروکروسین بیشتر است که این امر ناشی از مقاومت کم کروسین



شکل ۵- اثر غلظت ازن و زمان تماس بر تغییرات الف) کروسین، ب) سافرانال و ج) پیکروکروسین



شکل ۶- تاثیر زمان تماس ازن بر تعداد لاروهای زنده

نتیجه گیری کلی

نشان داد که افزایش غلظت گاز ازن تا ۲ پی پی ام و مدت زمان تماس تا ۳ ساعت که بیشترین تاثیر را بر کاهش فلور میکروبی داشت، در تمامی سطوح تاثیر معنی داری بر تغییرات پارامترهای کیفی زعفران داشت ($P < 0.05$) به طوری که در مورد آزمون های شیمیائی، در این شرایط مقدار کاهش برای کروسین، سافرانال و پیکروکروسین به ترتیب $14/9\%$ ، $10/46\%$ و $13/85\%$ بود. از این رو هنگام تعیین سطح ازن مورد استفاده برای فومیگاسیون، بایستی درصد کاهش ویژگیهای اصلی زعفران و همچنین میزان بار اولیه میکروبی آن را مد نظر داشت و بعد اقدام به ضدعفونی نمود.

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایشات میکروبی که شامل شمارش کلی باکتری ها، کلیفرم ها، کپک ها و مخمرها بود، مشاهده شد که استفاده از ازن به طور موثری منجر به کاهش فلور میکروبی موجود در زعفران شد و این اثر در مورد شمارش کلی باکتری ها، کلی فرم ها و کپک ها بیشتر و در مورد مخمرها کمتر بود. نتایج آزمون های شیمیائی نیز نشان داد که ازن باعث کاهش مقدار ویژگیهای اصلی زعفران شد که مقدار این کاهش برای کروسین و پیکروکروسین بیشتر و برای سافرانال کمتر بود. نتایج مقایسه میانگین ها

منابع مورد استفاده

- استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۰، زعفران- ویژگیهای میکروبی و روشهای آزمون ۵۶۸۹، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۳، زعفران- روشهای آزمون ۲-۲۵۹، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- بحرینی م، حبیبی نجفی م، باسامی م ر، عباس زادگان م، ۱۳۹۰، غربالگری، جداسازی و شناسایی باکتری ها و ویروس های شاخص آلودگی مدفوعی از سبزیجات آماده مصرف در شهر مشهد، پایان نامه برای دریافت دکتری صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- حسینی نژاد م، ۱۳۸۱، بررسی و تعیین شرایط آلودگی زدائی و خشکانیدن زعفران به روش مایکروویو، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران- مرکز خراسان.
- حسینی م، ۱۳۷۹، مطالعه و ارزیابی اثرات اجتماعی و اقتصادی ده ساله زعفران، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران- مرکز خراسان.
- دوست خواه و، ۱۳۸۵، بررسی اثر ازن بر روی فلور میکروبی خرما، پایان نامه برای دریافت کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی سبزوار.
- کافی م، ۱۳۸۱، زعفران، فناوری، تولید و فرآوری، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه های ۲۰۹-۲۱.
- مهدوی م، ۱۳۸۵، مقایسه کمی و کیفی نمونه های زعفران مناطق مختلف ایران، پایان نامه برای دریافت دکترای داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.
- Bansi L R, Agarwal S, Bhatia A, 1996. Changes in pigments and volatiles of saffron during processing and storage. *Agricultural and Food Science* 71: 27-32.
- Kim J G, Yousef A E, Chism G W, 1999. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. *Journal Food Safety* 19:17-34.
- Neal J A, Marquez-Gonzalez M, Cabrera-Diaz E, Lucia L M, O'Bryan C A, Crandall P H, Ricke S C, Castillo A, 2011. Comparison of multiple chemical sanitizers for reducing Salmonella and Escherichia coli O157:H7 on spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. *Food Research International* 45: 1-6.
- Francaise N, 2000. Saffron (*Crocus sativus*), Partie 1: Specification, Association Francaise de Normalization (AFNOR) 32-120.

- Orfanou O, Tsimidou M, 1995. Evaluation of colouring strength of saffron spice by UV-VIS spectrometry, *Food Chemistry* 57: 463-469.
- Oztekin S, Zorlugenc B, Kiroglu Z F, 2006. Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. *Journal of Food Engineering* 75: 396-399.
- Parish M E, Beuchat L R, Suslow T V, Harris L J, Garret E H, Farber J N, Busta F F, 2003. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2: 161-173.
- Rodgers S T, Cash J N, Siddiq M, Ryser E T, 2004. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries and cantaloupe. *Journal Food Protection* 7:721-731.
- Selma M, Beltrán D, Allende A, Gil M, 2007. Elimination by ozone of *Shigella sonnei* in shredded lettuce and water. *Food Microbiology* 24: 492-499.
- Selma M V, Ibañez A M, Cantwell M, Suslow T, 2008. Reduction by gaseous ozone of *Salmonella* and microbial flora associated with fresh-cut cantaloupe. *Food Microbiology* 25: 558- 565.
- Silveira A, Aguayo E, Leglise A, Artés F, 2007. Emerging sanitizers and clean room improved the microbial quality of fresh-cut 'Galia' melon. CIGR 3rd International Symposium. Food and Agricultural Products: Processing and Innovations. Naples, Italy, September: 24-26.
- Yesilcimen Akbas M, Ozdemir M, 2006. Effectiveness of ozone for inactivation of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* in pistachios, *International Journal of Food Science and Technology* 41: 513.
- Zeynep B, Guzel S, Annel K, Greene A, Seydim C, 2004. Use of ozone in food industry. *LWT - Food Science and Technology* 37: 453-460.

Efficacy evaluation of ozon on microbial quality and annihilate of larvae on saffron

M Akbari¹, M M Nemat shahi¹, M H Haddad Khodaparast² and E Jahed^{*3}

Received: June 23, 2013 Accepted: April 16, 2014

¹MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Sabzevaar, Iran

²Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

³PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author: E mail: Jahed65@gmail.com

Abstract

Iran has first place producing and exportation of the saffron in the world and more than 65% of the word production of this expensive product is related to Iran. This expensive product of our country, because of the contact with soil, has a high microbial contamination that especially at the beginning of the season its amount is higher than permitted standard. In addition to that, existence of larvae in saffron causes difficulties in exporting of this worthy product. In this research, ozone was used as a disinfectant for the saffron which was attacked by the pest and microorganisms. For the purpose of inactivating of microbiological contamination of saffron, 4 levels of ozones include (0, 0.5, 1 and 2 ppm) and contact times include (0, 1, 2 and 3 hours) were used. After using these conditions microbiological tests were done including total count of bacteria, coliform, mold and yeast and chemical analyses of main characteristic of saffron. The results of this research showed that at level 2 ppm of ozone and during 3 hours contact time of saffron with ozone, decrease in the total count of bacteria, coliforms, mold and yeast were found to be 93.3%, 99.8%, 96.9% and 84.5%, respectively. At this condition, results of measurement of crocine, saffranal and picrocrocine also showed a decrease of 14.9%, 10.46% and 13.85%, respectively. The results of investigation for the presence of the living larvae, after using 2 ppm dosage of ozone, showed after 20 minutes annihilated almost 84% of larvae and by continuing ozonation for 40 minutes nearly no larvae remained alive.

Key words: Coliforms, Ozone treatment, Picrocrocine, Saffron, Saffranal