

ارزیابی تغییرات فیزیکوشیمیایی و میکروبی زعفران طی دوره‌ی نگهداری یکساله

رزیتا سالاری^{۱*}، محمدباقر حبیبی نجفی^۲، حجت کاراژیان^۳، بیتا وزیرزاده^۴

^۱ دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

کارشناس ارشد اداره نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی

^۲ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۳ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تربت حیدریه

^۴ کارشناس صنایع غذایی، مسئول کنترل کیفیت شرکت زعفران تسلی

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۱۵

چکیده

در این مطالعه، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی زعفران از زمان برداشت به مدت یک سال (۱۲ ماه) و به طور ماهانه مورد ارزیابی قرار گرفت. شرایط فرآوری و نگهداری زعفران، مطابق با شرایط عمومی موجود در سطح تولید، عرضه و مصرف زعفران شبیه سازی شد. زعفران از مزارع شهرستان تربت حیدریه برداشت و سپس کلاله‌ها توسط کارگران جدا گردید. نمونه‌ها بر روی الک توسط هیتر الکتریکی در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه (روش اسپانیایی) تا رسیدن به رطوبت مطلوب (مطابق با استاندارد ملی زعفران) خشک شد. سورت ثانویه بر روی نمونه‌ها صورت گرفت و نمونه‌ها پس از بسته‌بندی در پوشش‌های پلی اتیلنی، در دمای ۲۵-۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در آزمایشگاه نگهداری شدند. آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی شامل محتوای رطوبت، عصاره‌ی آبی، کروسین، پیکروکروسین، سافرانال، شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها، کلیفرم و کپک مطابق با روش‌های توصیه شده در استانداردهای ملی ایران بر روی آن‌ها انجام شد. نتایج، نشان داد که محتوای رطوبت، عصاره‌ی آبی، کروسین، پیکروکروسین و هم‌چنین کلیه‌ی ویژگی‌های میکروبی زعفران در طول دوره‌ی نگهداری کاهش یافته اما سافرانال، روند افزایشی از خود نشان داد. هم‌چنین آنالیز داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان تغییرات در خصوصیات بررسی شده، پس از گذشت هشت ماه (درمرداد ماه) از زمان برداشت (آذرماه) رخ داده است و پس از آن مدت، اختلاف معنی‌داری در میزان تغییرات (در سطح ۰.۵٪)، مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: زعفران، دوره‌ی نگهداری، کروسین، بار میکروبی.

۱- مقدمه

همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که زعفران ایران دارای بیش‌ترین میزان غلظت کروستین، پیکروکروسین و سافرانال می‌باشد (۱۵). حسینی‌نژاد (۲۰۰۰) تاثیر استفاده از مایکروویو را در خشک کردن زعفران بر میزان ترکیبات رنگی (کروسین)، طعمی (پیکروکروسین)، عطری (سافرانال) و بار میکروبی زعفران مورد بررسی قرار داده و نشان داد که میزان این ترکیبات در نمونه‌های زعفران خشک شده با مایکروویو نسبت به نمونه‌هایی که با روش سنتی خشک شده بودند، بالاتر بوده و بار میکروبی نمونه‌ها نیز در این روش کاهش بیش‌تری یافته بود (۱۹). شویاما (۲۰۰۲) نیز کاهش کروستین را در طول زمان، مورد مطالعه قرار داد (۲۱). آلونسو و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که با گذشت زمان، میزان قدرت رنگی (کروسین) و تلخی (پیکروکروسین) زعفران در طول دوره‌ی نگهداری تحت شرایط دمایی ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد، کاهش می‌یابد (۱۲). بلندی و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که مدت نگهداری و روش خشک کردن، تاثیر معنی‌داری بر روی خواص رنگی، عطری و طعمی زعفران دارد. هم‌چنین بیان کردند که در طول دوره‌ی نگهداری، میزان کروستین، کاهش و سافرانال افزایش می‌یابد. هم‌چنین نتیجه‌گیری کردند که میزان سافرانال در ابتدای دوره‌ی نگهداری افزایش یافته و لیکن پس از گذشت شش ماه تقریباً ثابت باقی می‌ماند (۱۳ و ۱۴). کوزانو و همکاران (۲۰۰۹) فلور میکروبی ۷۹ نمونه‌ی زعفران را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که سالمونلا در هیچ یک از نمونه‌ها، اشرشیاکلی تنها در پنج نمونه، انتروباکتریاسه در ۷۹ درصد از نمونه‌ها و باسیلوس سرئوس تنها در سه نمونه، یافت شد (۱۶). حسینی و همکاران (۱۳۸۰) بیان کردند که میزان آلودگی میکروارگانیسمی زعفران با گذشت زمان، کاهش می‌یابد (۱). رزاقی و همکاران (۱۳۸۲) عنوان کردند که از بین ترکیبات شاخص زعفران، تنها سافرانال دارای اثر بازدارندگی بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (۲).

۲- مواد و روش‌ها

در این پژوهش، جهت به دست آوردن نمونه‌ی زعفران، مزرعه‌ای از حوالی شهرستان تربت حیدریه انتخاب و کل نمونه در یک روز جمع‌آوری شد. کلاله‌های زعفران به صورت زعفران رشته‌ای درجه یک از خامه جدا گردید و سپس به روش

ایران از نظر سطح زیر کشت و تولید زعفران، مقام اول را در جهان دارا می‌باشد؛ به طوری که بیش‌تر از ۹۰ درصد زعفران دنیا در ایران تولید می‌شود. استان خراسان با داشتن بیش‌تر از ۲۰ هزار هکتار سطح زیر کشت به عنوان قطب تولید این محصول در جهان مطرح است و حدود ۹۵ درصد زعفران کشور در جنوب خراسان تولید می‌شود. این گیاه به دلیل وجود رنگ، عطر و ترکیبات شناخته شده، در صنایع غذایی و دارویی مصارف زیادی دارد (۴).

انواع زعفران شامل زعفران رشته‌ای و زعفران رشته‌ای بریده است. زعفران رشته‌ای عبارت است از کلاله همراه با قسمتی از خامه‌ی مادگی گل گیاه زعفران زراعی ۱ از خانواده‌ی زنبقی‌ها ۲ که به روش‌های مختلف، خشک شده است و زعفران رشته‌ای بریده، عبارت است از کلاله‌ی خشک شده‌ی مادگی گل گیاه زعفران زراعی به رنگ قرمز مخصوص به خود که خامه کاملاً از آن جدا شده باشد (۷).

ترکیبات عمومی زعفران شامل کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، مواد ازته، املاح معدنی، ویتامین‌ها و... و ترکیبات اختصاصی زعفران شامل کروستین (عامل ایجاد رنگ زعفران C44H64O24)، پیکروکروسین (عامل طعم تلخ مخصوص زعفران C16H26Ov)، سافرانال (عامل اصلی ایجاد عطر و بوی زعفران C10H14O) می‌باشد (۳).

در تحقیقات انجام شده بر روی زعفران، مانینو و املئوتی (۱۹۷۷) نشان دادند که پایداری رنگدانه‌های زعفران در رطوبت نسبی پایین، بیشتر از رطوبت نسبی بالاست (۱۷). آلونسو و همکاران (۱۹۹۳) اظهارداشتند که افزایش دما باعث اکسیداسیون خودبه‌خودی کروستین و تجزیه پیکروکروسین می‌شود (۱۱). موریموتو (۱۹۹۴) گزارش کرده است که در طی مدت نگهداری زعفران، بسته به شرایط نگهداری، گلیکوزیل استرهای کروستین تحت تاثیر عوامل مختلف تجزیه شده و مقدار آن‌ها در زعفران کاهش می‌یابد (۱۸). رینا و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که نگهداری طولانی مدت زعفران، غلظت ترکیبات رنگی و طعمی را به میزان زیادی تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۰). کابالرو ارتگا و

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

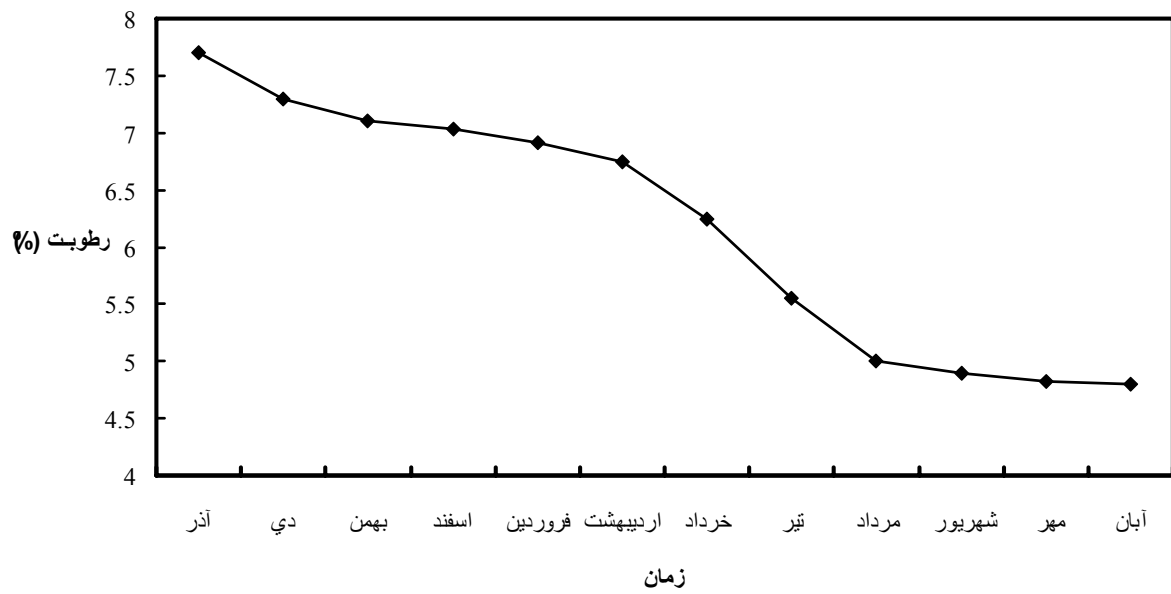
همان‌طور که در شکل‌های ۱ الی ۵ مشاهده می‌شود، از بین ویژگی‌های شیمیایی، محتوای رطوبت، عصاره‌ی آبی، کروسین و پیکروکروسین در طول دوره‌ی نگهداری کاهش یافت به صورتی که میزان رطوبت از ۷/۷٪ به ۴/۸٪، عصاره‌ی آبی از ۶۵٪ به ۵۸٪، حداکثر جذب کروسین از ۲۵۰/۲۶ به ۲۰۸/۵ و حداکثر جذب پیکروکروسین از ۱۱۲/۹ به ۷۵/۵ کاهش پیدا کرد. ولیکن سافرانال روند افزایشی از خود نشان داد و میزان حداکثر جذب آن از ۲۷/۲۴ به ۴۴/۶۲ افزایش پیدا کرد. نتایج به دست آمده با نتایج موریموتو (۱۹۹۴)، شویاما (۲۰۰۲)، رینا و همکاران (۱۹۹۹)، آلونسو و همکاران (۲۰۰۶) و بلندی و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد. بلندی و همکاران (۲۰۰۸) تاثیر درجه‌ی حرارت محیط (۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی محیط (۳۰-۲۰٪) را در طول دوره‌ی نگهداری بر روی ویژگی‌های کیفی زعفران مورد بررسی قرار دادند و نتیجه‌گیری کردند که با گذشت زمان میزان کروسین و پیکروکروسین در دمای محیط و رطوبت نسبی محیط کاهش و میزان سافرانال افزایش می‌یابد که با نتایج پژوهش حاصل، همخوانی دارد.

کاهش میزان کروسین به دلیل هیدرولیز آن و تبدیل آن به کروسین آزاد می‌باشد. سافرانال از گروه ترپن‌ها می‌باشد که در زعفران تازه به صورت پیکروکروسین غیرفرار است ولی در اثر گذشت زمان تجزیه شده و آلدئید فرار سافرانال آزاد می‌گردد. بنابراین، بین میزان پیکروکروسین و سافرانال، رابطه‌ی معکوس وجود دارد. با بررسی روند تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، مشاهده می‌شود که شیب منحنی تا مرداد ماه نسبتاً زیاد است و لیکن از این ماه به بعد شیب منحنی تغییر چندانی پیدا نکرده است.

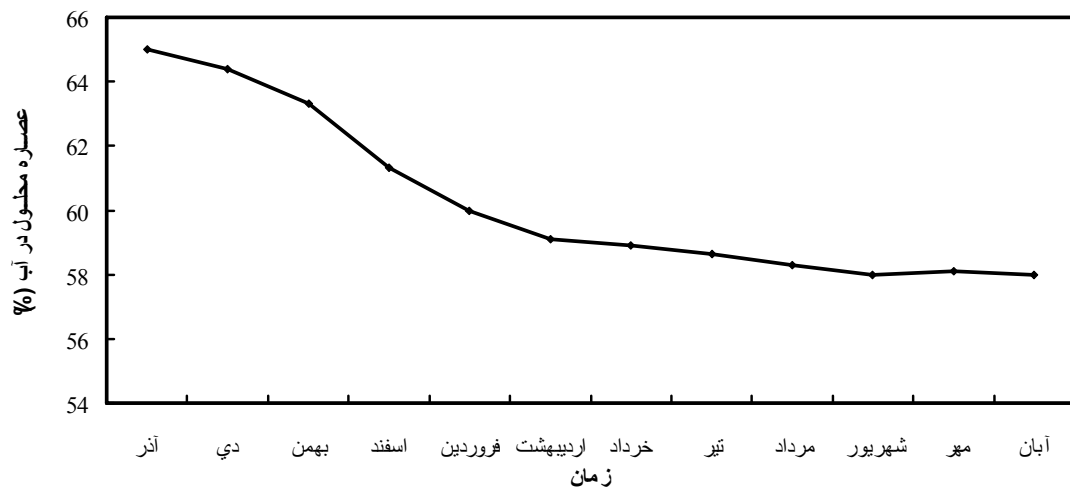
اسپانیایی با حرارت ۵۵ درجه‌ی سلسیوس در مدت ۴۵ دقیقه تا رسیدن به رطوبت استاندارد خشک شد. محصول اخیر به صورت دستی سورت و در پوشش‌های پلی اتیلنی بسته‌بندی شده و در نهایت به محل آزمایشگاه جهت نگهداری نمونه و انجام آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی طی دوره‌ی نگهداری یکساله با فواصل زمانی یک ماهه منتقل گردید.

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی شامل محتوای رطوبت، عصاره‌ی محلول در آب سرد، روسین (رنگ)، پیکروکروسین (طعم)، سافرانال (عطر)، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، کلیفرم و کپک، مطابق با استاندارد ملی زعفران - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون (۱-۲۵۹ و ۲-۲۵۹) بر روی نمونه‌ها انجام شد (۷ و ۶). ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی زعفران با استفاده از روش اسپکتروفتومتری مطابق با استاندارد ملی ۲-۲۵۹ اندازه‌گیری شد. بدین صورت که از اسپکتروفتومتر مدل JENWAY 6305 uv/vis به ترتیب در طول موج‌های ۴۴۰ - ۳۳۰ - ۲۵۷ نانو متر جهت اندازه‌گیری میزان کروسین، سافرانال و پیکروکروسین استفاده شد (۷). اندازه‌گیری رطوبت زعفران طبق استاندارد ملی ۲-۲۵۹ با استفاده از آون الکتریکی در دمای ۱۰۵-۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت (۷) و اندازه‌گیری عصاره‌ی آبی آن مطابق با استاندارد ملی ۱۶۱۹ انجام شد (۵). هم‌چنین به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های میکروبی زعفران، تعداد کل میکروارگانیسم‌ها طبق روش توصیه شده در استاندارد ملی ایران به شماره‌ی ۱-۸۹۲۳، کپک و مخمر طبق روش توصیه شده در استاندارد ملی ایران به شماره‌ی ۲-۱۰۸۹۹ و جست‌وجو و شمارش کلی فرم‌ها طبق روش توصیه شده در استاندارد ملی ایران به شماره‌ی ۹۲۶۳ مورد ارزیابی قرار گرفتند (۸، ۹ و ۱۰).

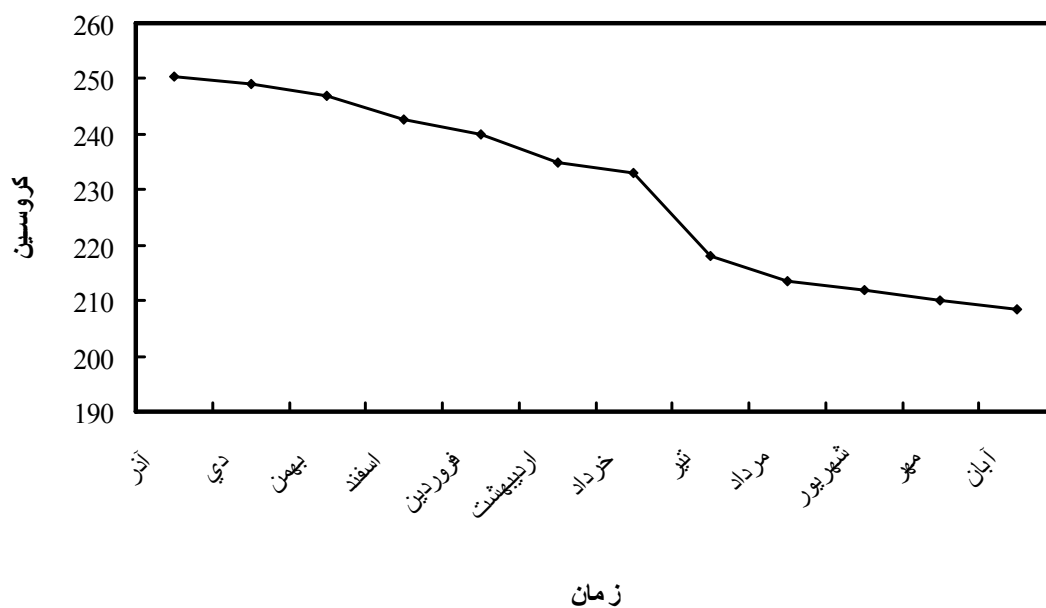
نتایج، توسط نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. کلیه‌ی آزمون‌ها با سه تکرار انجام شد و در پایان نیز پس از آنالیز داده‌ها و بررسی نتایج، روند و زمان بروز حداکثر تغییرات در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی زعفران تعیین گردید.



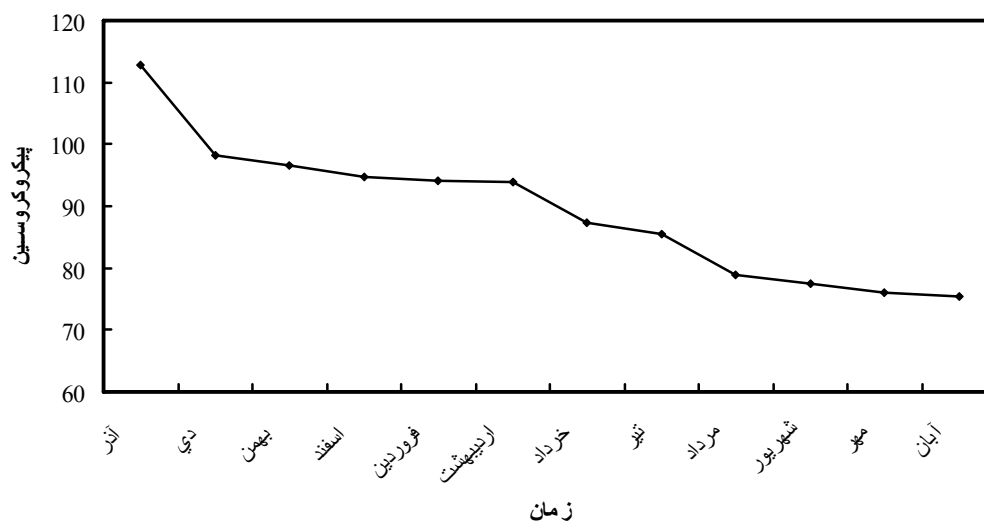
شکل ۱- تغییرات درصد رطوبت در طی یک سال نگه داری



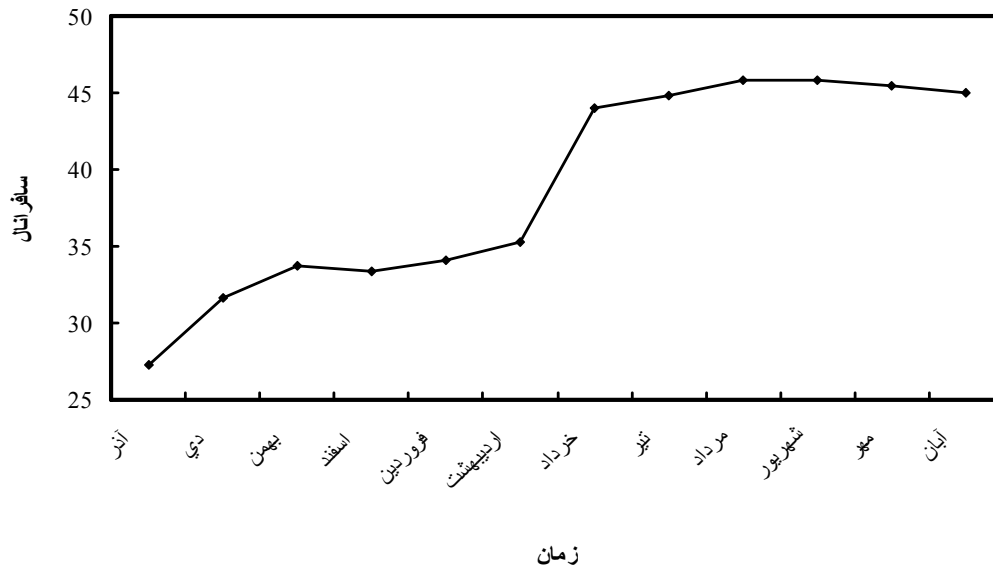
شکل ۲- تغییرات درصد عصاره‌ی محلول در آب در طی یک سال نگه داری



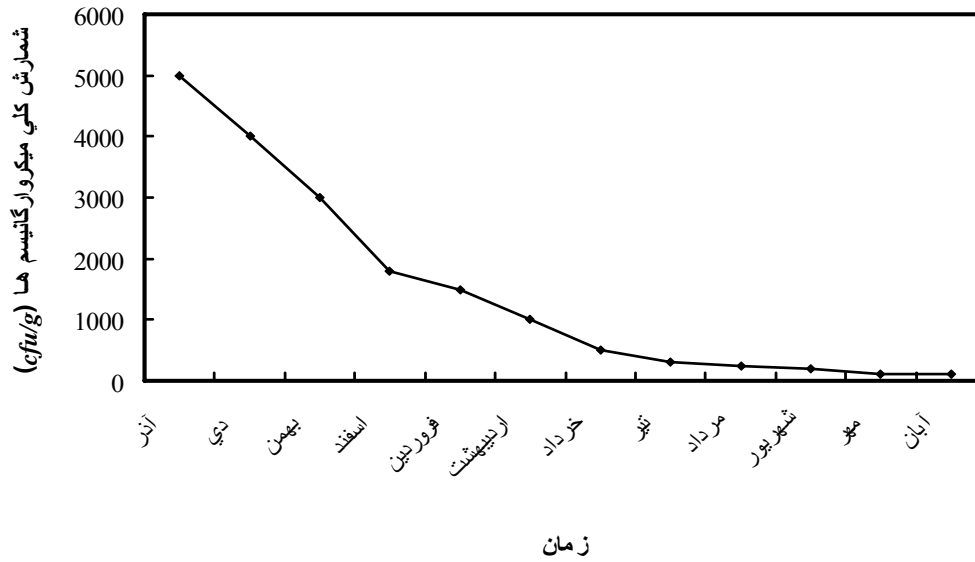
شکل ۳- تغییرات کروسین در طی یک سال نگهداری



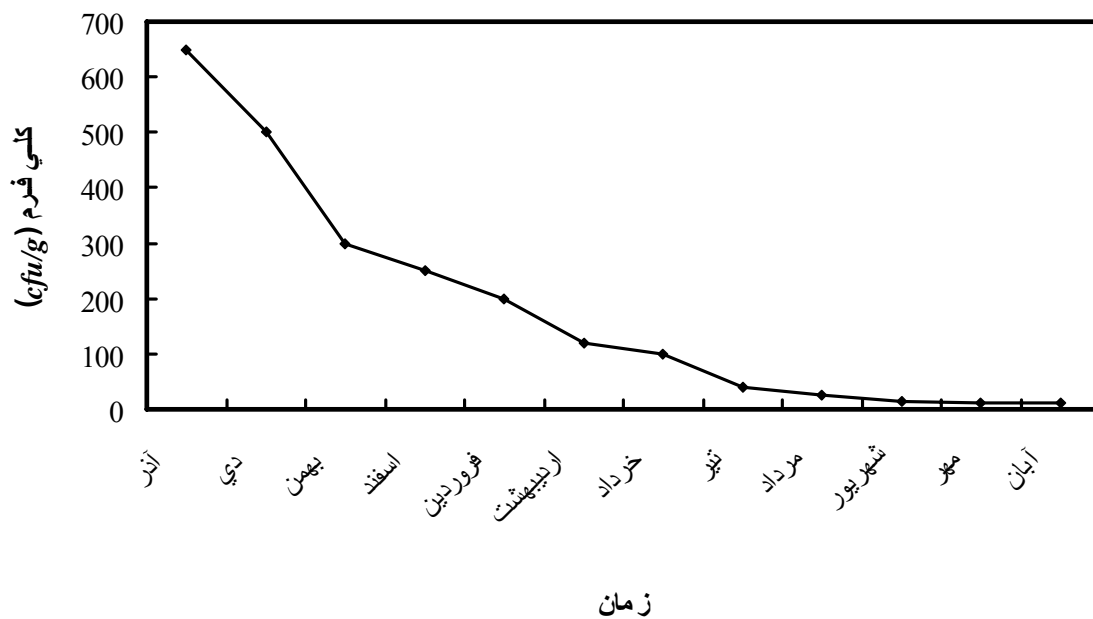
شکل ۴- تغییرات پیکروکروسین در طی یک سال نگهداری



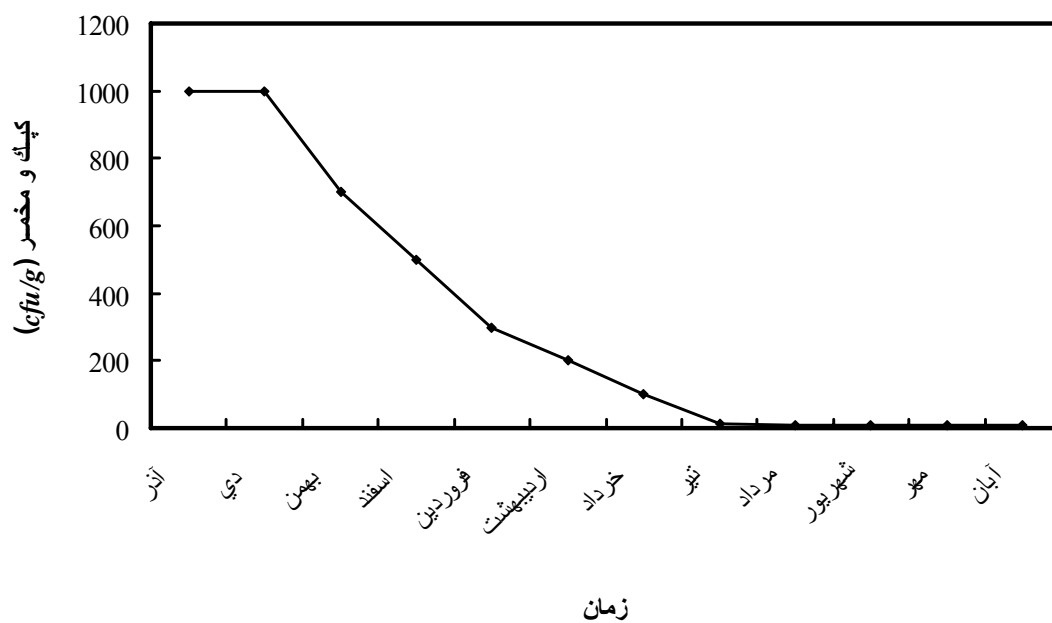
شکل ۵- تغییرات سافرانال در طی یک سال ننگه داری



شکل ۶- تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در طی یک سال ننگه داری



شکل ۷- تغییرات کلیفرم در طی یک سال نگهداری



شکل ۸- تغییرات کپک و مخمر در طی یک سال نگهداری

۳-۲- ویژگی‌های میکروبی

همان گونه که در شکل‌های ۸-۶ مشاهده می‌شود کلیه‌ی ویژگی‌های میکروبی شامل میزان کپک، کلیفرم و شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها نیز در طول دوره‌ی نگهداری کاهش می‌یابد به صورتی که شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها از 5.000 cfu/g به 100 cfu/g ، کلیفرم‌ها از 650 cfu/g به 10 cfu/g و کپک و مخمر از 1000 cfu/g به 10 cfu/g کاهش پیدا کرد. نتایج به دست آمده با نتایج حسینی و همکاران (۱۳۸۰) و رزاقی و همکاران (۱۳۸۲) مطابقت دارد. سافرانال دارای اثر بازدارندگی بر روی رشد میکروارگانیزم‌ها می‌باشد. بنابراین، بین میزان سافرانال و بار میکروبی زعفران رابطه‌ی معکوس وجود دارد. با بررسی روند تغییرات ویژگی‌های میکروبی، مشاهده می‌شود که شیب منحنی تا مرداد ماه نسبتاً زیاد است ولیکن از این ماه به بعد شیب منحنی تغییر چندانی پیدا نکرده است.

۴- نتیجه گیری

نتایج نشان داد که محتوای رطوبت، عصاره‌ی آبی، کروسین، پیکروکروسین، شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها، کلیفرم و کپک در طول دوره‌ی نگهداری کاهش یافت ولیکن سافرانال روند افزایشی از خود نشان داد. هم‌چنین آنالیز داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان تغییرات در خصوصیات بررسی شده در طی یک سال، پس از گذشت هشت ماه (در مرداد ماه) از زمان شروع برداشت (آذرماه) رخ داده است و پس از آن مدت، اختلاف معنی داری در میزان تغییرات (در سطح ۰.۵٪) مشاهده نشد. در واقع، میزان تغییرات هر یک از ویژگی‌ها در طی هشت ماه اول با سرعت بیش‌تری رخ داد و پس از آن نسبتاً ثابت باقی ماند.

۵- منابع

۱- حسینی، م. ۱۳۸۰. بررسی تاثیر نوع، زمان و نحوه‌ی کوددهی در تعیین میزان آلودگی میکروارگانیزمی زعفران. مجموعه مقالات دومین همایش ملی زعفران ایران، مشهد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. صفحات: ۲۲۷-۲۳۱.

۲- رزاقی، ر.، نوربخش، ر. ۱۳۸۲. بررسی اثرات ضد میکروبی ترکیبات کلاله زعفران. مجموعه مقالات سومین همایش ملی زعفران ایران، مشهد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. صفحات: ۲۴۴-۲۳۹.

۳- عاطفی، م. ۱۳۸۵. زعفران: شیمی، کنترل کیفیت و فناوری. چاپ اول، انتشارات بین‌النهرین.

۴- کافی، م. و همکاران. ۱۳۸۱. زعفران: تولید و فناوری. چاپ اول، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۵- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۱، ادویه و چاشنی- اندازه‌گیری عصاره محلول در آب سرد، استاندارد ملی ایران، شماره ۱۶۱۹، تجدید نظر اول.

۶- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۳، زعفران- روش‌های آزمون، استاندارد ملی ایران، شماره ۲۵۹-۲، چاپ اول.

۷- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۵، زعفران- ویژگی‌ها، استاندارد ملی ایران، شماره ۱-۲۵۹، تجدید نظر.

۸- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۶، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- آماده‌سازی آزمایش برای آزمون‌های میکروبی، استاندارد ملی ایران، شماره ۱-۸۹۲۳، چاپ اول.

۹- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۶، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جامع برای شمارش کلیفرم‌ها، استاندارد ملی ایران، شماره ۹۲۶۳، چاپ اول.

۱۰- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۷، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها، استاندارد ملی ایران، شماره ۲-۱۰۸۹۹، چاپ اول.

11- Alonso, G.L., Varon, r., Salinas, M.R. and Navaro, F. 1993. Auto-oxidation of crocin and picrocroc in saffron under different storage conditions. *Boll. Chim. Farm.* 132: 116-120

12- Alonso, G.L., Varon, R., Navarro, F. and Salinas, M.R. 2006. Auto-oxidation in saffron at 40°C and 75% relative humidity. *Journal of food science*, volume 55 issue 2, Pages 595 – 596.

13- Bolandi, M. and Ghodduji, H.B. 2006. Flavour and colour changes during processing and storage

of saffron (*Crocus sativus* L.). *Development in food science*, volume 43, Pages 323-326.

14- Bolandi, M., Shahidi, F., Sedaghat, N., Farhoush, R. and Mousavi-Nik, H. 2008. Shelf-life determination of saffron stigma: water activity and temperature studies. *World Applied Sciences Journal* . 5 (2): 132-136.

15 - Caballero-Ortega, H., Pereda-Miranda, R., Riverón-Negrete, L., Hernández, J.M., Medécigo-Ríos, M., Castillo-Villanueva, A. and Abdullaev, F.I. 2000. Chemical composition of saffron (*CROCUS SATIVUS* L.) from four countries. *ISHS Acta Horticulturae*. 650: International Symposium on Saffron Biology and Biotechnology.

16- Cosano, I., Pintado, C., Acevedo, O. and Novella, J. 2009. Microbiological quality of saffron from the main producer countries. *Journal of Food Protection*, Vol. 72, No. 10, Pages 2217–2220

17 – Mannio, S. and Amelotti, G. 1977. Determination of optimum humidity for storage of saffron. *Riv. Soc. Ital. Sci. Aliment.* 6. (2). (95).1977.F.S.T.A. 10T, 599.

18- Morimoto, S. 1994. Postharvest degradation of carotenoid glucose ester in saffron. *Plant med.*, 60: 738-440

19 - Nejad, M.H. 2000. Evaluation of quality characteristics and microbial contamination of saffron samples dried by microwave. *ISHS Acta Horticulturae*. 650: International Symposium on Saffron Biology and Biotechnology.

20- Raina, L., Agarwal, G., Bhatia, K. And Gaur, S. 1999. Changes in pigments and volatiles of saffron (*Crocus sativus* L.) during processing and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, volume 71 issue 1, Pages 27 – 32.

21- Shoyama, Y. 2002. Study on stability of red color component, crocin. The san-Ei gen foundation for food. *Chemical research*. Research reports no.8