

بررسی اثر پلاسمای سرد بر ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی زعفران

مریم اکبریان^۱، فخری شهیدی^{۲*}، محمد جواد وریدی^۳، آرش کوچکی^۲ و سحر روشنگر^۴

تاریخ پذیرش: ۲۴ اردیبهشت ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۸ دی ۱۳۹۶

اکبریان، م.، شهیدی، ف.، وریدی، م.ج.، کوچکی، آ.، و روشنگر، س. ۱۳۹۸. بررسی اثر پلاسمای سرد بر ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی زعفران. زراعت و فناوری زعفران، ۷(۴): ۴۲۵-۴۳۹.

چکیده

زعفران گران‌ترین محصول کشاورزی جهان می‌باشد و ایران بزرگترین تولیدکننده زعفران در جهان است، آلوده شدن زعفران در مراحل مختلف فرایند تولید، علاوه بر کاهش کیفیت منجر به کاهش اعتبار در بازار جهانی و صادرات می‌شود. لذا انتخاب یک روش مناسب جهت غیرفعال سازی فلور میکروبی زعفران ضرورت دارد. در بین روش‌های مختلفی که برای غیرفعال کردن میکروب‌ها استفاده می‌شوند، پلاسمای سرد به علت وجود مزایای بالقوه بی‌شمار از قبیل طبیعت غیرسمی، هزینه‌های عملیاتی پایین، کاهش قابل توجه مصرف آب طی فرایندهای ضد عفونی، و امکان کاربرد آن برای محصولات غذایی متنوع، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. پلاسمای سرد از گاز یونیزه شده شامل یون‌ها، الکترون، اشعه ماورابنفش و گونه‌های واکنش مانند رادیکال‌ها، اتم‌ها و مولکول‌های برانگیخته است که قادر به غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. در این پژوهش پلاسمای سرد با استفاده از دو نوع گاز شامل نیتروژن و هوا تولید و اثر تابش پلاسمای سرد در مدت زمان‌های صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دقیقه بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی (باکتری اشرشیاکلی، انتروکوکوس فکالیس، کپک و مخمر) زعفران بررسی گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد اثر میکروب کشی پلاسمای نیتروژن نسبت به پلاسمای هوا کمتر بوده و با افزایش زمان تابش پلاسمای سرد میزان غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت. حداکثر کاهش بار میکروبی در زمان ۱۲ دقیقه در ولتاژ ۱۸ کیلوولت مشاهده شد و جمعیت باکتری اشرشیاکلی، انتروکوکوس فکالیس، کپک و مخمر به ترتیب به میزان ۲/۶۹، ۲/۴۸، ۱/۹۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. نتایج همچنین نشان داد که افزایش زمان تابش پلاسمای سرد، میزان کروسین، پیکروکروسین و سافرانال را به طور معنی‌دار ($p < 0.05$) کاهش داد. میزان کاهش کروسین، سافرانال و پیکروکروسین در زمان ۱۲ دقیقه به ترتیب ۶/۰۱، ۴/۰۴، ۵/۴۴ درصد بود.

کلمات کلیدی: آلودگی میکروبی زعفران، پلاسمای سرد، پیکروکروسین، سافرانال، کروسین.

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲ - استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳ - دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴ - دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*نویسنده مسئول: fshahidi@um.ac.ir)

مقدمه

(Aghdaie).

در کدکس مواد غذایی زعفران به عنوان ادویه تعریف شده است، زعفران مانند سایر ادویه‌ها و گیاهان یک محصول کشاورزی است که به دلیل تماس مستقیم با خاک در معرض آلودگی میکروبی متناسب با فلور طبیعی آب و خاک می‌باشد. علاوه بر این باکتری‌های بیماری‌زا از طریق کارگران به زعفران منتقل می‌شود. اگر چه پس از خشک کردن زعفران به علت کاهش رطوبت، رشد میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه هنوز خشک‌کن‌های صنعتی در مناطق روستایی وارد نشده است (Ghoddusi & Glatz, 2003) و زعفران در ایران به روش سنتی و در شرایط محیط خشک می‌گردد، که این امر سبب می‌شود زعفران در این مرحله هم در معرض آلودگی میکروبی باشد (Torki-Harchegani et al., 2017). عاطفی و همکاران (Atefi et al., 2004) در بررسی اثر خشک کردن بر بار میکروبی زعفران نشان داد تعداد کلی فرم شمارش شده در نمونه کلاله تازه چندین برابر حد استاندارد بود که پس از خشک کردن به روش‌های مختلف کاهش یافته اما هنوز از حد استاندارد بالاتر بود. همچنین تعداد کپک و مخمر در خشک کردن سنتی افزایش یافت. آلوده شدن زعفران در مراحل مختلف برداشت، جمع‌آوری، انتقال و خشک کردن علاوه بر کاهش کیفیت منجر به کاهش اعتبار در بازار جهانی و صادرات می‌شود، لذا انتخاب یک روش مناسب جهت کاهش یا حذف آلودگی‌ها ضرورت دارد (Jouki et al., 2011). استفاده از روش‌های حرارتی جهت غیرفعال سازی فلور میکروبی زعفران به دلیل اثر بر رنگ، طعم و عطر زعفران پیشنهاد نمی‌شود. روش‌های میکروبی‌زدایی غیر حرارتی مانند اشعه گاما و فومیگاسون با اکسیداتیلن می‌تواند در غیرفعال سازی فلور میکروبی زعفران مفید باشد. اگر چه اخیراً کاهش گلیکوزیدهای زعفران و تخریب رنگدانه‌های زعفران در

گیاه زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) به عنوان ادویه به طور گسترده‌ای در جهان استفاده می‌شود. بر اساس پژوهش‌های انجام شده زعفران دارای خواص درمانی فراوان از جمله خاصیت ضد تشنج، ضد افسردگی، ضد التهاب، ضد تومور، کاهش کلسترول و سلامت قلب و عروق می‌باشد (Rodriguez-Ruiz al., et 2016). نام زعفران مشتق شده از کلمه عربی زرد منعکس کننده غلظت بالای رنگدانه‌های کارتینوئیدی است (Melnyk et al., 2010). سه ترکیب اصلی فعال شناخته شده در زعفران کروسین، پیکروکروسین و سافرانال هستند (et 2015). ترکیبات شیمیایی زعفران‌های مناطق مختلف تابع شرایط اقلیمی است (Melnyk et al., 2010). زعفران گیاهی است که در مناطق خشک و نیمه خشک مانند استان‌های خراسان شمالی، فارس، کرمان و یزد کشت می‌شود. با توجه به آب و هوای ایران، که آب در آن یک عامل محدود کننده در توسعه کشاورزی است، کشت زعفران می‌تواند یک مزیت باشد. تقریباً ۱۰۰ هزار خانواده در کاشت و برداشت زعفران در ایران دخیل هستند (Aghdaie et al., 2015). زعفران از نظر صادرات غیرنفتی ایران بسیار حائز اهمیت است و در میان گیاهان با توجه به مزایای شغلی و سودآوری آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است. زعفران یکی از رایج‌ترین و مهم‌ترین ادویه‌های مصرفی در صنایع غذایی می‌باشد. اغلب به فرم پودر برای بهبود رنگ، عطر و طعم غذا استفاده می‌شود. با وجود گران بودن، مصرف آن در صنایع دارویی در حال توسعه است. تولید سالانه زعفران در جهان ۱۹۰ تن می‌باشد که ۹۰ درصد از آن مربوط به ایران است (Jafari et al., 2018). اگر چه ایران بزرگترین تولید کننده زعفران در جهان است، ولی مشکلات زیادی در صادرات این گیاه با ارزش وجود دارد (et al., 2015).

پزشکی انجام شده است.

اخیرا پلاسما سرد در فشار اتمسفر به عنوان ضد عفونی کننده مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است (et al., 2011). از مزایای این روش نسبت به سایر روش‌ها جهت غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌های زعفران می‌توان به انجام فرایند در دمای پایین و عملیات در زمان کوتاه‌تر نسبت به سایر روش‌ها اشاره نمود (Min et al., 2017). عوامل مؤثر بر فعالیت ضد میکروبی پلاسما توسط نوع منبع پلاسما و ویژگی‌های پلاسما تعیین می‌شوند، که این ویژگی‌ها بسته به پارامترهای پلاسما، منجر به نتایج مختلف در میکروبی زدایی می‌شوند. پارامترهای مختلف پلاسما شامل ولتاژ مورد استفاده، چگونگی قرار گرفتن در معرض پلاسما، نوع گاز، زمان تیمار و رطوبت نسبی بر انواع گونه‌های واکنش‌گر تولید شده طی فرایند پلاسما، مؤثر هستند (Deng et al., 2006). حضور گونه‌های واکنش‌گر نیتروژن و اکسیژن در پلاسما سبب اکسیداسیون لیپیدهای غشایی، و اکسیداسیون اسیدهای آمینه و نوکلئیک اسید میکروارگانیسم‌ها می‌شود که این امر سبب غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها می‌گردد (Tappi et al., 2016). همچنین اشعه ماوراءبنفش سبب آسیب به تیمین و سیتوزین رشته DNA می‌شود که این امر مانع از تکثیر و همانندسازی باکتری‌ها می‌شود (Liao et al., 2017).

غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها توسط روش‌های غیر-حرارتی مانند ازون و اشعه ماوراءبنفش به ۶۰-۲۰ دقیقه زمان نیاز دارد. در حالی که ترکیب ازون و اشعه ماوراءبنفش موجود در پلاسما به طور قابل توجهی اثر گذاری بیشتری در غیرفعال-سازی میکروارگانیسم‌ها نسبت به استفاده هر یک به تنهایی دارد، که این نشان دهنده اثر سینرژتیک این دو با یکدیگر است (Lacombe et al., 2015).

پژوهش‌های انجام شده در رابطه با خاصیت میکروبی زدایی پلاسما سرد بر مواد غذایی بیشتر بر آلودگی زدایی آن متمرکز

طی میکروبی زدایی با اشعه گاما گزارش شده است (et 2013). همچنین استفاده از اکسید اتیلن در اتحادیه اروپا با توجه به اثر سرطان زایی آن ممنوع می‌باشد. با توجه به معایب مذکور، یک فرایند جایگزین لازم است (Hertwig al., 2015).

خطرات مرتبط با انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای ناشی از مواد غذایی، به یک مسئله نگران کننده جهانی در صنایع غذایی، تبدیل شده است. در سال ۲۰۱۱، اتحادیه اروپا به تنهایی در مجموع ۵۶۴۸ شیوع بیماری ناشی از مواد غذایی گزارش کرده است که از ۶۹۵۵۳ مورد، ۷۱۲۵ مورد به بستری شدن در بیمارستان، و ۹۳ مورد منجر به مرگ شده‌اند. شیوع بیماری‌های مرتبط با شرایط بهداشتی، که با مصرف محصولات غذایی در ارتباط هستند، نیازمند تحقیق و پژوهش برای دستیابی به تکنیک‌های آلودگی زدایی کارآمدتر می‌باشد (al., 2015).

در بین روش‌های میکروبی زدایی غیر حرارتی، پلاسما سرد به علت وجود مزایای بالقوه بی‌شمار مانند طبیعت غیرسمی، هزینه‌های عملیاتی پایین، کاهش قابل توجه مصرف آب طی فرایندهای ضد عفونی، و امکان استفاده آن برای طیف وسیعی از محصولات غذایی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Korachi et al., 2010). پلاسما توسط اعمال میدان الکتریکی به یک گاز خنثی تولید می‌شود و حالتی از گاز یونیزه شده شامل یون‌ها، الکترون، اشعه ماوراءبنفش و گونه‌های واکنش‌گر مانند رادیکال‌ها، اتم‌ها و مولکول‌های برانگیخته است که قادر به غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (et 2016). گونه‌های واکنش‌گر تولید شده اهداف سلولی متعددی را مورد حمله قرار می‌دهند که پلاسما سرد را جهت میکروبی زدایی بسیار مؤثر می‌سازد (Mogul et al., 2003). مطالعات زیادی با هدف بررسی خاصیت ضد میکروبی پلاسما سرد و پتانسیل کاربرد آن در صنایع غذایی، دارویی، زیست

است.

مواد و روش‌ها

تهیه زعفران

پودر زعفران مورد استفاده از شرکت زعفران کیان توس تهیه و میزان بار میکروبی آن تعیین گردید. لازم به توضیح است که عمداً از نمونه‌ای که آزمون کپک و مخمر آن مثبت بود استفاده شد. نتایج آزمون میکروبی نشان داد نمونه زعفران حاوی کپک و مخمر و فاقد میکروارگانیسم‌های شاخص *انتروکوکوس فکالیس* و *اشرشیا کلی* بود. نمونه‌های زعفران به دو گروه شاهد و نمونه‌های تحت تابش پلاسما تقسیم شدند. هر گروه از نمونه‌ها به دو گروه جهت انجام آزمایش‌های شیمیایی و آزمایش‌های میکروبی تقسیم گردید. سپس به منظور حفظ کیفیت پودر زعفران تا هنگام انجام آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی درون شیشه‌های تیره رنگ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی باکتری *اشرشیا کلی* و *انتروکوکوس فکالیس* و تلقیح آن

میکروارگانیسم‌های شاخص به کار رفته در این پژوهش *اشرشیاکلی* و *انتروکوکوس فکالیس* بودند. باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *انتروکوکوس فکالیس* به صورت لیوفیلیزه تهیه و به صورت خطی در محیط کشت اختصاصی کشت، و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. شرایط گرم‌خانه‌گذاری برای هر دو باکتری یکسان بود. سپس در دو دوره متوالی به طور جداگانه به محیط کشت نوترینت برات تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون انجام پذیرفت. محیط کشت نوترینت برات با سرعت ۴ هزار دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید (جهت جداسازی میکروارگانیسم‌های *اشرشیاکلی* و *انتروکوکوس فکالیس* از محیط کشت نوترینت

شده است، و پژوهش‌های انجام شده در رابطه با اثر پلاسما سرد بر کیفیت مواد غذایی محدود است (Pankaj et al., 2018). اثر پلاسما سرد بر فلور میکروبی سه نوع مختلف ادویه شامل دانه فلفل، پونه کوهی خرد شده و پودر فلفل در مدت ۹۰ دقیقه توسط هرتویگ و همکاران (Hertwig et al., 2015)، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد پلاسما سبب کاهش ۱/۶ سیکل لگاریتمی فلور میکروبی پونه کوهی و بیش از ۳ سیکل لگاریتمی فلور میکروبی دانه فلفل و پودر فلفل قرمز پس از ۶۰ دقیقه شد. سولیس-پاچکو و همکاران (Solís-Pacheco et al., 2013)، اثر پلاسما به مدت صفر، ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ دقیقه در ۷۵۰ و ۸۵۰ ولت بر میزان مخمرها و کپک‌ها در نمونه پودر دارچین و بابونه را بررسی کردند. نتایج نشان داد، فرایند پلاسما در ۸۵۰ ولت به مدت ۱۰ دقیقه میزان مخمرها و کپک‌های پودر دارچین و بابونه را به طور قابل توجهی کاهش داد. امینی و همکاران (Amini et al., 2016)، برای اولین بار اثر پلاسما سرد را در دو ولتاژ (۸ و ۱۲ کیلوولت) و سه نوع گاز (گاز آرگون، آرگون+۵٪ اکسیژن و آرگون+۱۰٪ اکسیژن) بر استرهای کروسین و اسانس فرار زعفران بررسی کردند. نتایج نشان داد افزایش ولتاژ ورودی و افزایش میزان اکسیژن اضافه شده به گاز آرگون سبب کاهش بیشتر استرهای کروسین و سافرانال شد.

مطابق با استاندارد ملی ایران ISIRI 5689 باکتری‌های *اشرشیاکلی*، *انتروکوک* و کپک‌ها از مهم‌ترین عوامل آلودگی زعفران به شمار می‌آیند. و طبق استاندارد باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *انتروکوک* نباید در زعفران وجود داشته و میزان کپک نیز باید کمتر از 10^3 باشد. لذا با توجه به اهمیت زعفران، هدف از این پژوهش بررسی اثر پلاسما سرد تولید شده با استفاده از دو نوع گاز متفاوت و اثر آن در مدت زمان‌های مختلف بر بار میکروبی و ویژگی‌های شیمیایی زعفران بوده

با ترازو با دقت $0/001$ وزن شده و نمونه داخل بالن ژوژه 1000 میلی لیتری پوشانده شده با فویل آلومینیوم قرار داده شد و حدود 900 میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. محلول زعفران حدود یک ساعت توسط همزن مغناطیسی دور از نور همزده شد. سپس بالن‌ها با آب مقطر به حجم رسانده و یکنواخت شدند. 20 میلی لیتر از محلول به وسیله پمپ به بالن ژوژه‌ی 200 میلی-لیتری پوشانده شده با فویل آلومینیوم انتقال داده شد و با آب مقطر تا خط نشانه به حجم رسانده شد. سپس تغییر جذب محلول صاف شده با استفاده از آب مقطر به عنوان مایع شاهد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. مقدار پیکروکروسین، سافرانال و کروسین با $E\%1$ به ترتیب در طول موج ماکزیم جذب 257 ، 330 و 440 نانومتر و با استفاده از فرمول محاسبه گردید:

$$(A \times 10000) / (0/5(100-H)) = E\%1 \quad (1)$$

A: میزان جذب هر یک از موارد ذکر شده

H: میزان رطوبت نمونه

آزمایش‌های میکروبی

به منظور تخمین بار میکروبی یک گرم پودر زعفران با 9 میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل مخلوط و رقت سازی انجام شد. جهت شمارش /اثرشیاکلی از محیط کشت EMB استفاده گردید، به این ترتیب که جهت کشت میکروبی از هر یک از رقت‌های تهیه شده مقدار $0/1$ میلی لیتر برداشته و به صورت سطحی کشت داده شد و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری انجام پذیرفت و پس از آن کلنی‌ها شمارش شدند. شمارش انتروکوک طبق روش استاندارد ISIRI 2198 در محیط کشت KF آگار حاوی تی تی سی 1 درصد انجام پذیرفت سپس پلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از گذشت $24-48$ ساعت کلنی‌های قرمز و صورتی شمارش گردید. تعداد معینی از کلنی‌های قرمز و

براث). رسوب باکتریایی حاصل در سه مرحله با آب پیتون ($0/1$ گرم پیتون در 100 میلی لیتر) شستشو و در نهایت با سرعت 4 هزار دور بر دقیقه به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شدند. تعداد باکتری از طریق سنجش و کدورت حاصل از آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 570 نانومتر به دست آمد؛ به طوری که جذب نوری $0/08$ الی $0/1$ تقریباً معادل 1×10^8 cfu/ml از هر باکتری به دست آید (Lee et al., 2015; Kim et al., 2017). جهت تلقیح، نمونه‌های پودر زعفران که قبلاً عدم وجود فلور میکروبی آن تأیید گردیده بود (بر اساس آزمایش‌های قبلی)، در ظروف پتری دیش‌های استریل قرار گرفتند و 150 میکرولیتر از هر یک از میکروارگانیزم‌های شاخص در شرایط کاملاً سترون و در زیر هود لامینار به پودر زعفران تلقیح گردید. پودر تلقیح شده به مدت یک ساعت در دمای $2 \pm 22^\circ C$ خشک شد.

تیمار با پلاسما سرد

نمونه‌های زعفران در دستگاه پلاسما سرد مدل mp516 ساخت شرکت نیک فناوران پلاسما کشور ایران قرار گرفت. پلاسما سرد به روش تخلیه سد دی الکتریک با ایجاد اختلاف پتانسیل و جریان گاز ایجاد شد. در این پژوهش ولتاژ به میزان 18 کیلوولت تنظیم شد و تابش پلاسما در مدت زمان‌های صفر، 3 ، 6 ، 9 و 12 دقیقه با استفاده از دو نوع گاز شامل نیتروژن و هوا انجام شد. جهت استفاده از نیتروژن به عنوان گاز ورودی دستگاه پلاسما سرد، جریان گاز نیتروژن به مدت سه دقیقه قبل از تابش دهی نمونه‌های زعفران در دستگاه ایجاد گردید.

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری مقدار کروسین، پیکروکروسین و سافرانال با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر طبق استاندارد جهانی زعفران ISO3632- 2 انجام گرفت. ابتدا میزان $0/5$ گرم پودر زعفران

سبب افزایش غیر فعال سازی میکروارگانیسم‌ها می‌شود (2017) (Wan et al., 2014). زایزینا و همکاران (Ziuzina et al., 2014) تأثیر افزایش مدت تابش پلاسما بر کاهش سالمونلا، اشرشیاکلی و لیستریا را بررسی نمودند نتایج نشان داد افزایش زمان فرایند منجر به افزایش اثرات ضد میکروبی پلاسمای سرد علیه سالمونلا، اشرشیاکلی و لیستریا می‌گردد. تأثیر افزایش مدت زمان تابش پلاسما بر مهار پنسیلیوم ایتالیکوم توسط وون و همکاران (Won et al., 2017) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد مهار پنسیلیوم ایتالیکوم با افزایش زمان تابش پلاسما افزایش یافت. محققان دیگر نیز به نتایج مشابهی دست یافتند که نشان داد افزایش زمان منجر به افزایش اثرات ضد میکروبی پلاسمای سرد می‌شود (Lee et al., 2016; Pasquali et al., 2015). اگر چه نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پلاسمای نیتروژن نسبت به هوا (هوا دارای ۸۰ درصد نیتروژن ۲۰+ درصد اکسیژن است) اثر میکروب‌کشی کمتری در طی زمان تابش دهی داشته است. یکی از پارامترهای مؤثر بر میزان غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها توسط پلاسمای سرد، نوع گاز است که می‌تواند به دلیل ایجاد تفاوت در ترکیب و غلظت گونه‌های واکنش‌گر تولید شده باشد (Calvo et al., 2016). ترکیب اکسیژن با گاز نیتروژن می‌تواند سبب افزایش قدرت میکروب‌کشی به دلیل افزایش تولید O₂ و ازون در پلاسمای سرد شود (Lee et al., 2011). بنابراین هوا (۸۰ درصد نیتروژن ۲۰+ درصد اکسیژن) به دلیل تولید بیشتر ازون و گونه‌های واکنش‌گر نیتروژن می‌تواند اثر بیشتری در غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها داشته باشد (Chiang et al., 2010). در پژوهشی اثر ترکیبات مختلف گاز پلاسما بر غیرفعال شدن سالمونلا اینتریدیس بر سطح بادام بررسی شد. نتایج نشان داد غیرفعال سازی بستگی به نوع گاز به دلیل تفاوت در ترکیب و شدت گونه‌های واکنش‌گر تولید شده دارد. در این پژوهش پس از ۱۵ دقیقه، گاز هوا و

صورتی جهت انجام آزمایش‌های تأییدی روی محیط کشت صفرا اسکولین آزاید آگار با دمای حدود ۴۴ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. جهت شمارش کپک و مخمر مطابق روش استاندارد ISO 7954 از محیط کشت YGC استفاده گردید. سپس پلیت‌های کشت‌شده به صورت وارونه در انکوباتور با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز قرار گرفتند و بعد از گذشت ۳-۵ روز، کلنی‌ها بررسی و شمارش شدند.

آنالیز آماری

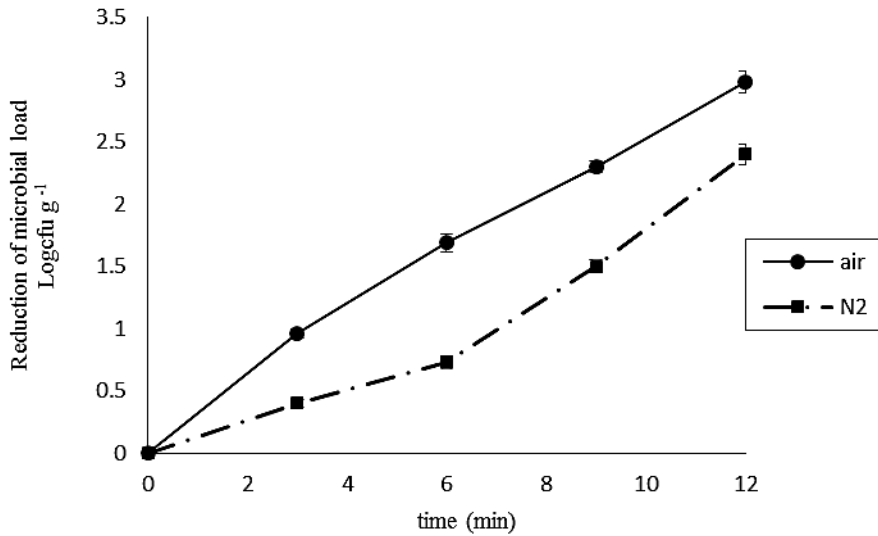
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS در سطح اطمینان ۹۵ درصد و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون دانکن انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسمای سرد بر شمارش اشرشیاکلی، انتروکوکوس فکالیس، کپک و مخمر
در (شکل ۱، ۲ و ۳) تأثیر نوع گاز (نیتروژن و هوا) و مدت زمان (صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دقیقه) تابش پلاسمای سرد بر کاهش لگاریتمی اشرشیاکلی، انتروکوکوس فکالیس، کپک و مخمر نمایش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان تابش دهی، اثر ضد میکروبی هر دو نوع گاز نیتروژن و هوا افزایش یافت ($p < 0.05$). بیشترین تأثیر تابش پلاسما بر کاهش بار میکروبی در مدت زمان ۱۲ دقیقه مشاهده گردید. گونه‌های واکنش‌گر پلاسما سبب پراکسیداسیون لیپید، غیرفعال سازی آنزیم و تجزیه DNA میکروارگانیسم شده که در نهایت منجر به غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها می‌شود (Pankaj et al., 2017). افزایش زمان تابش دهی منجر به افزایش سطح گونه‌های واکنش‌گر و افزایش زمان تماس بین میکروارگانیسم‌ها و گونه‌های واکنش‌پذیر می‌گردد. بنابراین افزایش زمان تابش دهی

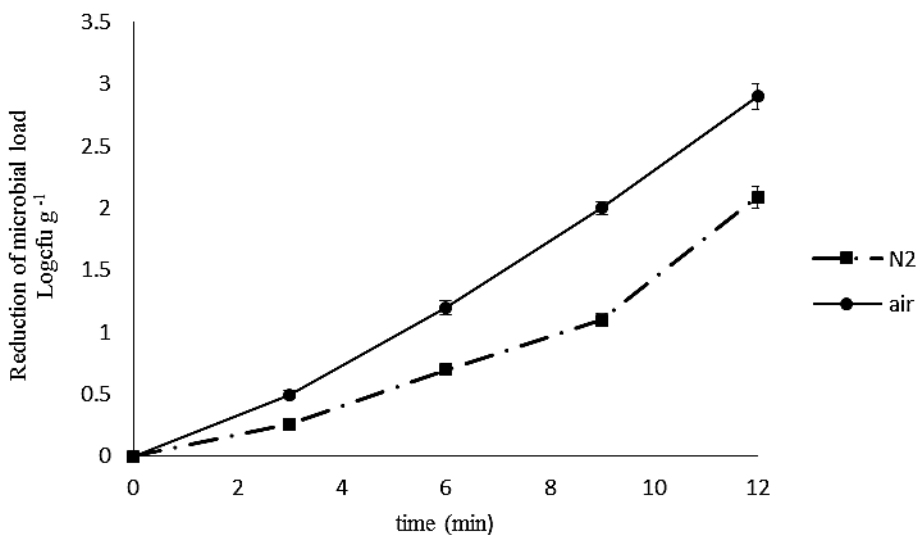
نتایج مشابهی دست یافتند نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که افزایش زمان سبب افزایش اثر هر دو نوع گاز شد و در طی زمان تابش دهی ترکیب نیتروژن با اکسیژن اثر میکروبی بیشتری نسبت به نیتروژن خالص نشان داد.

نیتروژن به ترتیب منجر به غیرفعال‌سازی بیش از ۵ و ۲ سیکل لگاریتمی بار میکروبی شد (Hertwig et al., 2017). سورش کومار و همکاران (Sureshkumar et al., 2010)، در بررسی اثر زمان با استفاده از دو نوع گاز شامل نیتروژن و ترکیب نیتروژن با اکسیژن بر غیرفعال‌سازی باکتری استافیلوکوکوس به



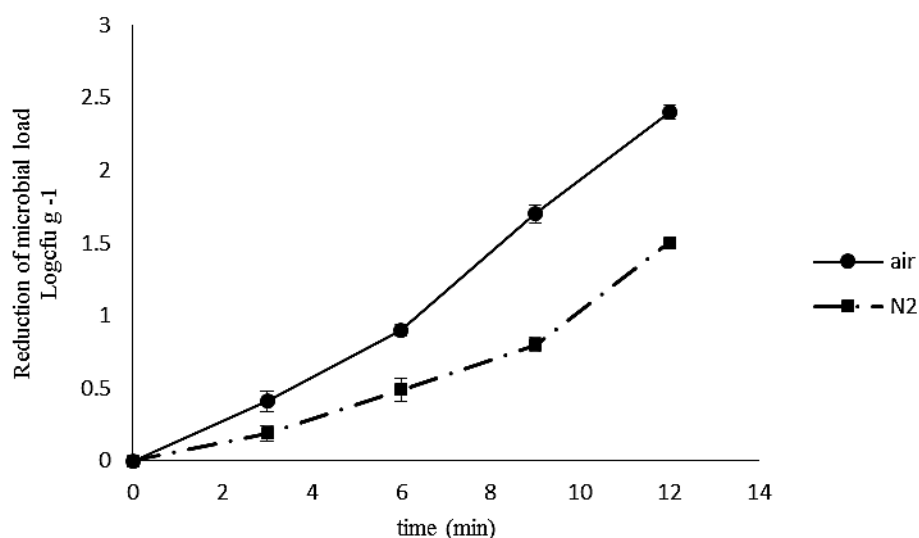
شکل ۱- تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسمای بر باکتری اشرشیاکلی

Figure 1- Effect of gas type and exposure of plasma irradiation on *Escherichia coli* bacteria.



شکل ۲- تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسمای بر باکتری اتروکوکوس فکالیس

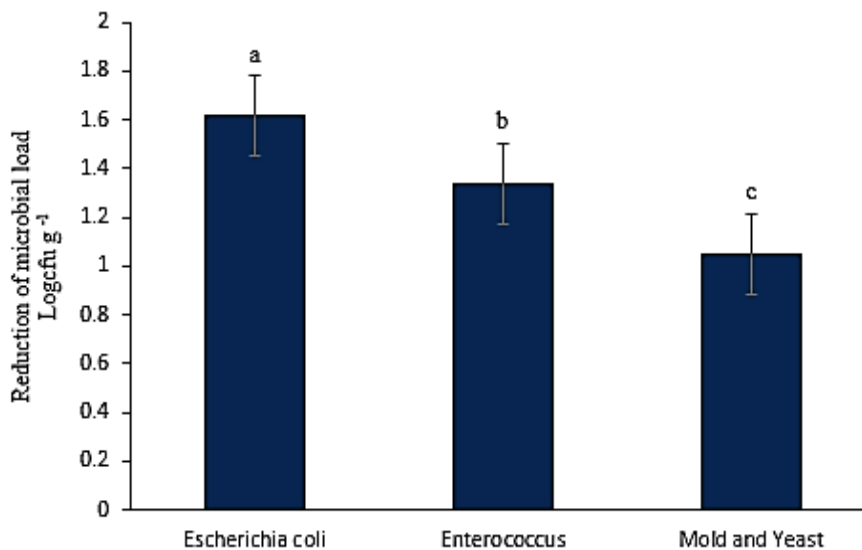
Figure 2- Effect of gas type and exposure of plasma irradiation on *Enterococcus faecalis* bacteria.



شکل ۳- تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسما بر کپک و مخمر
Figure 3- Effect of gas type and exposure of plasma irradiation on Mold and Yeast.

(Polata). پلاسمای سرد سبب تولید یون‌های واکنش‌گر مانند گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن، گونه‌های واکنش‌گر نیتروژن و اشعه ماوراءبنفش می‌شود. این ترکیبات از نظر شیمیایی و فیزیکی بافت و سطح سلول‌های باکتری و قارچ را تغییر می‌دهند. این گونه‌ها بر دیواره سلول و غشاء میکروارگانیسم اثر گذاشته و پس از تخریب دیواره سلولی، گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن به داخل سلول منتقل می‌شود و سبب اکسیداسیون، آسیب سلولی و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود. بنابراین تفاوت در ضخامت لایه پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم مثبت (۳۰-۲۰ نانومتر) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (۶ الی ۷ نانومتر) سبب اثر متفاوت پلاسما بر دیواره سلولی و در نتیجه تفاوت در سرعت غیرفعال‌سازی باکتری‌ها می‌شود (et al., 2014). اگر چه مقاومت میکروارگانیسم‌ها نه تنها به خواص ذاتی میکروارگانیسم‌ها، بلکه به سطح یا بستر ماده‌ی غذایی که فرایند بر آن اعمال می‌شود بستگی دارد. در محصول خشکی مانند زعفران به دلیل رطوبت پایین، مقاومت میکروارگانیسم‌ها ممکن است بالا باشد (Ghodusi & Glatz, 2003).

مقایسه تأثیر تابش پلاسما سرد بر باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی*، باکتری گرم مثبت *انتروکوکوس فکالیس*، کپک و مخمر
شکل ۴ اثر پلاسما سرد را بر شمارش باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی*، باکتری گرم مثبت *انتروکوکوس فکالیس*، کپک و مخمر نشان می‌دهد. بررسی میانگین داده‌ها نیز نشان داد، بیشترین مقاومت را کپک و مخمر نسبت به تابش پلاسما از خود نشان داد. قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها دارای دیواره‌ی سلولی ضخیم و سختی هستند که به میزان قابل توجهی به مقاومت آن‌ها در برابر تابش پلاسما کمک می‌کند (et al., 2017). همچنین در شکل ۴ مشاهده می‌شود، میزان کاهش باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* نسبت به باکتری گرم مثبت *انتروکوکوس فکالیس* در طی تابش دهی و با هر دو نوع گاز بیشتر بود. چنین حالتی می‌تواند به واکنش بیشتر ازون با پروتئین نسبت به لیپید مربوط باشد، بر اساس این فرضیه مقدار بیشتر پروتئین در دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی، سبب حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم منفی نسبت به تابش پلاسما در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت می‌شود (et al., 2015).



شکل ۴- مقایسه اثر پلاسما سرد بر کاهش باکتری اشرشیاکلی، انتروکوکوس، کپک و مخمر

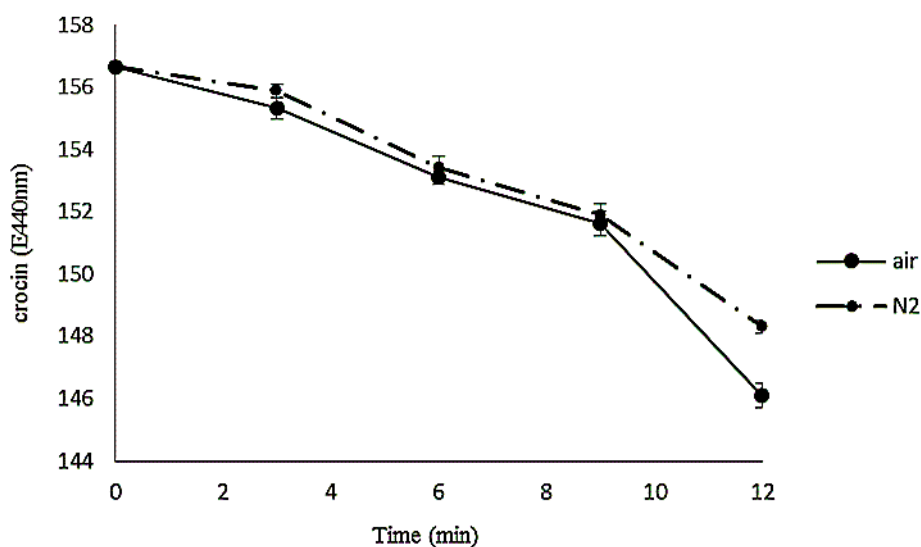
Figure 4- Comparison of the effect of cold plasma on the reduction of *Escherichia coli*, *Enterococcus* bacteria, Mold and Yeast.

شده و مقدار آن‌ها کاهش می‌یابد (Rajabi et al., 2015). اکبری و همکاران (Akbari et al., 2009)، اثر گاز ازون را بر بار میکروبی، رنگ، طعم و آرومای زعفران بررسی کردند. نتایج نشان داد گاز ازون میزان کروسین، سافرانال و پیکروکروسین را به ترتیب ۱۴/۹٪، ۱۰/۴۶٪ و ۱۳/۸۵٪ کاهش داد. اگر چه در پژوهش ما میزان کاهش کروسین، سافرانال و پیکروکروسین به ترتیب ۶/۰۱، ۴/۰۴، ۵/۴۴ درصد بوده است که دلیل آن را می‌توان به میزان کمتر ازون موجود در پلاسما نسبت به ازون خالص نسبت داد. ازون اکسیدکننده‌ای قوی است و باعث اکسیداسیون کروسین، سافرانال و پیکروکروسین می‌گردد. امینی و همکاران (Amini et al., 2017)، در بررسی اثر پلاسما سرد بر کروسین و سافرانال زعفران، علت کاهش کروسین را تخریب پیوندهای گلیکوزید کروسین توسط رادیکال‌های آزاد تولید شده و افزایش اکسیداسیون سافرانال توسط پلاسما و در نتیجه تجزیه آن دانستند. بنابراین ممکن است اشعه UV، ازون، گونه‌های واکنش‌گر و رادیکال‌های تولید شده توسط پلاسما

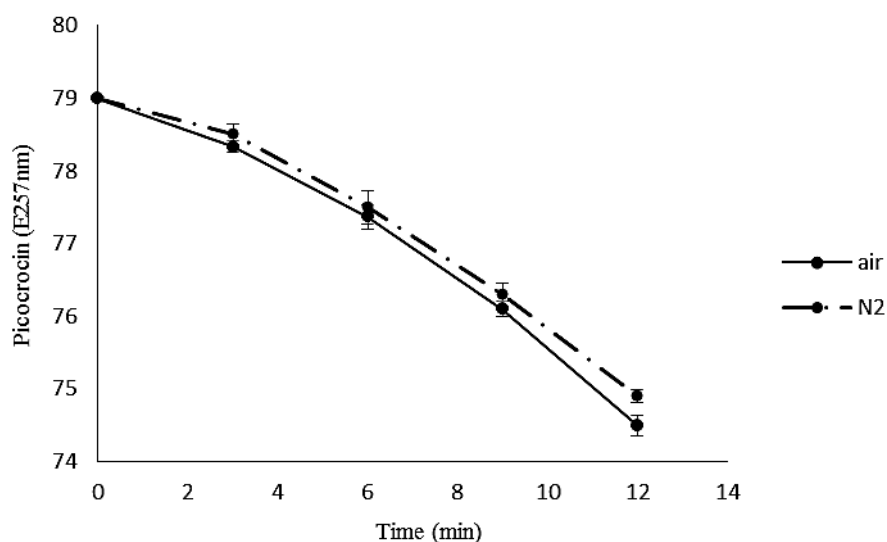
تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسما سرد بر میزان کروسین، پیکروکروسین و سافرانال
تأثیر نوع گاز (نیتروژن و هوا) و مدت زمان (صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دقیقه) تابش پلاسما سرد بر میزان کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در (شکل ۵، ۶ و ۷) نمایش داده شده است. بررسی میانگین داده‌ها نیز نشان داد که با افزایش زمان میزان ترکیبات کروسین، پیکروکروسین و سافرانال کاهش یافت ($p < 0.05$). پژوهش‌های مربوط به اثر پلاسما سرد بر ویژگی‌های شیمیایی مواد غذایی نادر است (Kovačević et al., 2016). یکی از مکانیسم‌های غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها توسط پلاسما اشعه UV تولید شده در طول موج ۲۰۰-۳۰۰ نانومتر است که سبب آسیب به DNA میکروارگانیسم‌ها می‌گردد (Fernández & Thompson, 2012). از طرفی ترکیبات کروسین، پیکروکروسین و سافرانال نسبت به نور حساس هستند، و هنگامی که در معرض نور و اشعه ماوراء بنفش قرار می‌گیرند تخریب می‌شوند. علاوه بر اشعه ماوراء بنفش، این ترکیبات در حضور اکسیژن اکسیده

است افزایش سطح گونه‌های واکنش‌گر با افزایش زمان نقش مهمی در تخریب کروسین، پیکروکروسین و سافرانال داشته باشند.

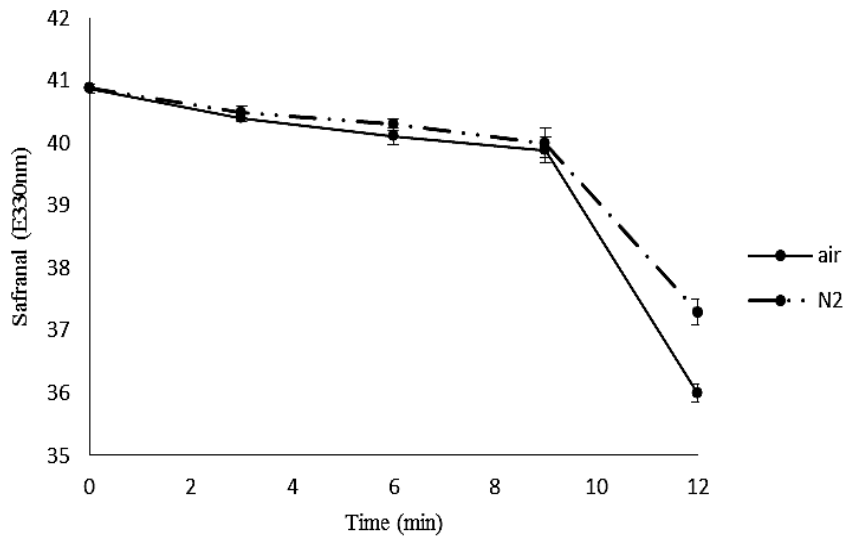
نقش مهمی در تخریب کروسین، پیکروکروسین و سافرانال داشته باشند. همچنین با توجه به اینکه غلظت تولید گونه‌های واکنش‌گر پلاسما در اثر افزایش مدت زمان تابش پلاسما افزایش می‌یابد (Rodríguez et al., 2017). بنابراین ممکن



شکل ۵- تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسما بر میزان کروسین
Figure 5- Effect of gas type and exposure of plasma irradiation on Crocin.



شکل ۶- تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسما بر میزان پیکروکروسین
Figure 6- Effect of gas type and exposure of plasma irradiation on Picocrocin.



شکل ۷- تأثیر نوع گاز و مدت زمان تابش پلاسمای بر میزان سافراناال
Figure 7- Effect of gas type and exposure of plasma irradiation on safranal.

انتروکوکوس فکالیس، کپک و مخمر) و شیمیایی (کروسین، پیکروکروسین و سافراناال) زعفران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد پلاسمای سرد قادر به کاهش میکروارگانیسم‌ها بود. اگر چه اثر تابش پلاسمای سرد بر کاهش میکروارگانیسم‌ها یکسان نبوده و باکتری گرم منفی ائرشیاکلی بیشترین حساسیت و کپک‌ها و مخمرها کمترین حساسیت را نسبت به تابش پلاسمای نشان دادند. استفاده از هوا به عنوان گاز ورودی نسبت به گاز نیتروژن در طی تابش دهی بر کاهش باریکروبی مؤثرتر بوده است. افزایش زمان موجب کاهش بیشتر بار میکروبی شد، به طوری که در مدت زمان ۱۲ دقیقه بیشترین کاهش بار میکروبی مشاهده شد. اگر چه افزایش زمان، اثر منفی بر ترکیبات فعال زعفران داشت. به طوری که حداکثر کاهش میزان کروسین، پیکروکروسین و سافراناال در زمان ۱۲ دقیقه مشاهده شد. پلاسمای نیتروژن مقدار کروسین، پیکروکروسین و سافراناال بیشتری نسبت به پلاسمای تولید شده با گاز هوا داشت، هر چند این تفاوت به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. لذا با توجه به حساس بودن ترکیبات مؤثر زعفران پیشنهاد می‌شود قبل از استفاده از دستگاه پلاسمای سرد ابتدا بار

همانطور که در (شکل ۵، ۶ و ۷) مشاهده می‌گردد، روند کاهش در نمونه‌های تحت تابش با پلاسمای نیتروژن نسبت به نمونه‌های تحت تابش با پلاسمای هوا (هوا دارای ۸۰ درصد نیتروژن +۲۰ درصد اکسیژن است) به میزان جزئی کمتر بود، ولی این تفاوت به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). امینی و همکاران (Amini et al., 2017)، در بررسی پلاسمای سرد و اثر افزودن ۵ و ۱۰ درصد اکسیژن به گاز آرگون بر میزان کروسین و سافراناال زعفران مشاهده نمودند که ترکیب گازی حاوی بیشترین میزان اکسیژن سبب تخریب بیشتر پیوندهای گلیکوزید کروسین، افزایش اکسیداتیو سافراناال و کاهش بیشتر کروسین و سافراناال می‌گردد. احتمالاً کاهش بیشتر کروسین، سافراناال و پیکروکروسین نمونه‌های تحت تابش با پلاسمای هوا نسبت به پلاسمای نیتروژن به درصد بیشتر اکسیژن موجود در آن مرتبط است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر دو نوع گاز نیتروژن و هوا در زمان‌های مختلف بر ویژگی‌های میکروبی (باکتری/ائرشیاکلی،

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی شرکت زعفران کیان توس انجام پذیرفت. بدین وسیله از مدیرعامل محترم این شرکت جناب آقای مهندس مسعود صباغ زاده و نیز مدیر داخلی سرکار خانم مهندس رویا رضایی سپاسگزاری می‌شود.

میکروبی زعفران مشخص گردد و با توجه به بار میکروبی زعفران و با در نظر گرفتن کاهش ترکیبات زعفران، زمان مورد نیاز جهت غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌های زعفران توسط پلاسما سرد تنظیم گردد.

منابع

- Aghdaie, S.F.A., and Roshan, J. 2015. Investigating effective factors on Iran's saffron exportation. *International Review of Management and Business Research* 4 (2): 590-600.
- Akbari, M., Haddad Khadaparast, M.H., and Hemati Kakhki, A. 2009. Effects of ozone treatment on microflora of dried saffron and its living larvae. In *III International Symposium on Saffron: Forthcoming Challenges in Cultivation. Research and Economics* 850: 231-234.
- Amini, M., and Ghoranneviss, M. 2016. Effects of cold plasma treatment on antioxidants activity, phenolic contents and shelf life of fresh and dried walnut (*Juglans regia* L.) cultivars during storage. *LWT-Food Science and Technology* 73: 178-184.
- Amini, M., Ghoranneviss, M., and Abdijadid, S. 2017. Effect of cold plasma on crocin esters and volatile compounds of saffron. *Food Chemistry* 235: 290-293.
- Atefi, M., Taslimi, A., Hassas, M.R., and Mazloumi, M.T. 2004. Effects of freeze-drying processes on the qualitative characteristics of Iranian saffron. *Iranian Journal of Food Sciences Technology* 1 (2): 41-49.
- Cahill, C., Claro, T., O'Connor, N.A., Cafolla, A.T., Stevens, N., Daniels, S., and Humphreys, H. 2014. Cold air plasma to decontaminate inanimate surfaces of the hospital environment. *Applied and Environmental Microbiology* 80 (6): 2004-2010.
- Calvo, T., Álvarez-Ordóñez, A., Prieto, M., González-Raurich, M., and López, M. 2016. Influence of processing parameters and stress adaptation on the inactivation of *Listeria monocytogenes* by Non-Thermal Atmospheric Plasma (NTAP). *Food Research International* 89: 631-637.
- Chiang, M.H., Wu, J.Y., Li, Y.H., Wu, J.S., Chen, S.H., and Chang, C.L. 2010. Inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* by a parallel-plate dielectric barrier discharge jet. *Surface and Coatings Technology* 204 (21): 3729-3737.
- Deng, X.T., Shi, J.J., and Kong, M.G. 2006. Physical mechanisms of inactivation of *Bacillus subtilis* spores using cold atmospheric plasmas. *Plasma Science* 34 (4): 1310-1316.
- Fernández, A., and Thompson, A. 2012. The inactivation of *Salmonella* by cold atmospheric plasma treatment. *Food Research International* 45 (2): 678-684.
- Ghoddusi, H.B., and Glatz, B. 2003. Decontamination of saffron (*Crocus sativus* L.) by electron beam irradiation. In *I International Symposium on Saffron Biology and Biotechnology* 650: 339-344.
- Gohari, A.R., Saeidnia, S., and Mahmoodabadi, M.K. 2013. An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. *Pharmacognosy Reviews* 7 (13): 61-67.

- Hertwig, C., Leslie, A., Meneses, N., Reineke, K., Rauh, C., and Schlüter, O. 2017. Inactivation of *Salmonella enteritidis* PT30 on the surface of unpeeled almonds by cold plasma. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 44: 242-248.
- Hertwig, C., Reineke, K., Ehlbeck, J., Erdoğan, B., Rauh, C., and Schlüter, O. 2015. Impact of remote plasma treatment on natural microbial load and quality parameters of selected herbs and spices. *Journal of Food Engineering* 167: 12-17.
- ISO 7954, 1987. Microbiology- General guidance for enumeration of yeasts and moulds- Colony count technique at 25 °C. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO. 2010. Spices-saffron (*Crocus sativus* L.), ISO 3632-2, Part 2: Test methods, International Organization for Standardization.
- Jafari, S.M., Bahrami, I., Dehnad, D., and Shahidi, S.A. 2018. The influence of nanocellulose coating on saffron quality during storage. *Carbohydrate Polymers* 181: 536-542.
- Jayasena, D.D., Kim, H.J., Yong, H.I., Park, S., Kim, K., Choe, W., and Jo, C. 2015. Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. *Food Microbiology* 46: 51-57.
- Jouki, M., Khazaei, N., Kalbasi, A., Tavakolipour, H., Rajabifar, S., Sedeh, F.M., and Jouki, A. 2011. Study of γ irradiation and storage time on microbial load and chemical quality of persian saffron. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 53 (7): 1154-1157.
- Kim, J.E., Oh, Y.J., Won, M.Y., Lee, K.S., and Min, S.C. 2017. Microbial decontamination of onion powder using microwave-powered cold plasma treatments. *Food Microbiology* 62: 112-123.
- Korachi, M., Gurol, C., and Aslan, N. 2010. Atmospheric plasma discharge sterilization effects on whole cell fatty acid profiles of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Electrostatics* 68 (6): 508-512.
- Kovačević, D.B., Putnik, P., Dragović-Uzelac, V., Pedisić, S., Jambak, A.R., and Herceg, Z. 2016. Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. *Food Chemistry* 190: 317-323.
- Lacombe, A., Niemira, B.A., Gurtler, J.B., Fan, X., Sites, J., Boyd, G., and Chen, H. 2015. Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. *Food Microbiology* 46: 479-484.
- Lee, H.J., Jung, H., Choe, W., Ham, J.S., Lee, J.H., and Jo, C. 2011. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on agar and processed meat surfaces by atmospheric pressure plasma jets. *Food Microbiology* 28 (8): 1468-1471.
- Lee, H., Kim, J.E., Chung, M.S., and Min, S.C. 2015. Cold plasma treatment for the microbiological safety of cabbage, lettuce, and dried figs. *Food Microbiology* 51:74-80.
- Liao, X., Liu, D., Xiang, Q., Ahn, J., Chen, S., Ye, X., and Ding, T. 2017. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review. *Food Control* 75: 83-91.
- Melnyk, J.P., Wang, S., and Marcone, M.F. 2010. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International* 43 (8): 1981-1989.
- Min, S.C., Roh, S.H., Niemira, B.A., Boyd, G., Sites, J.E., Uknalis, J., and Fan, X. 2017. In-package inhibition of *E. coli* O157: H7 on bulk Romaine lettuce using cold plasma. *Food Microbiology* 65: 1-6.
- Misra, N.N., Tiwari, B.K., Raghavarao, K.S.M.S., and Cullen, P.J. 2011. Nonthermal plasma inactivation of food-borne pathogens. *Food Engineering Reviews* 3 (3-4): 159-170.

- Mogul, R., Bol'shakov, A.A., Chan, S.L., Stevens, R.M., Khare, B.N., Meyyappan, M., and Trent, J.D. 2003. Impact of low-temperature plasmas on *Deinococcus radiodurans* and biomolecules. *Biotechnol* 19 (3): 776–783.
- Nishime, T.M.C., Borges, A.C., Koga-Ito, C.Y., Machida, M., Hein, L.R.O., and Kostov, K.G. 2017. Non-thermal atmospheric pressure plasma jet applied to inactivation of different microorganisms. *Surface and Coatings Technology* 312: 19-24.
- Pankaj, S.K., Wan, Z., and Keener, K.M. 2018. Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review. *Foods* 7 (1): 4-21.
- Pankaj, S.K., Wan, Z., Colonna, W., and Keener, K.M. 2017. Effect of high voltage atmospheric cold plasma on white grape juice quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97 (12): 4016-4021.
- Pasquali, F., Stratakos, A.C., Koidis, A., Berardinelli, A., Cevoli, C., Ragni, L., Mancusi, R., Manfreda, G., and Trevisani, M. 2016. Atmospheric cold plasma process for vegetable leaf decontamination: A feasibility study on radicchio (red chicory, *Cichorium intybus* L.). *Food Control* 60: 552-559.
- Polata, A., Motrescu, I., Nastuta, A., Creanga, D., and Popa, G. 2015. Plasma Jet impact on bacterial cultures. *Romanian Journal of Biophysics* 25 (4): 259-265.
- Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S.M., Mahoonak, A.S., and Rajabzadeh, G. 2015. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. *Food Hydrocolloids* 51: 327-337.
- Rodríguez, Ó., Gomes, W.F., Rodrigues, S., and Fernandes, F.A. 2017. Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). *LWT-Food Science and Technology* 84: 457-463.
- Rodriguez-Ruiz, V., Barzegari, A., Zuluaga, M., Zunooni-Vahed, S., Rahbar-Saadat, Y., Letourneur, D., and Pavon-Djavid, G. 2016. Potential of aqueous extract of saffron (*Crocus sativus* L.) in blocking the oxidative stress by modulation of signal transduction in human vascular endothelial cells. *Journal of Functional Foods* 26: 123-134.
- Solís-Pacheco, J.R., Villanueva-Tiburcio, J.E., Peña-Eguiluz, R., González-Reynoso, O., Cabrera-Díaz, E., González-Álvarez, V., and Aguilar-Uscanga, B.R. 2013. Effect of plasma energy on the antioxidant activity, total polyphenols and fungal viability in chamomile (*Matricaria chamomilla*) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*). *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 2 (5): 2318 -2322.
- Sureshkumar, A., Sankar, R., Mandal, M., and Neogi, S. 2010. Effective bacterial inactivation using low temperature radio frequency plasma. *International Journal of Pharmaceutics* 396 (1): 17-22.
- Tappi, S., Gozzi, G., Vannini, L., Berardinelli, A., Romani, S., Ragni, L., and Rocculi, P. 2016. Cold plasma treatment for fresh-cut melon stabilization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 33: 225-233.
- Torki-Harchegani, M., Ghanbarian, D., Maghsoodi, V., and Moheb, A. 2017. Infrared thin layer drying of saffron (*Crocus sativus* L.) stigmas: Mass transfer parameters and quality assessment. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 25 (4): 426-432.
- Wan, Z., Chen, Y., Pankaj, S.K., and Keener, K.M. 2017. High voltage atmospheric cold plasma treatment of refrigerated chicken eggs for control of *Salmonella enteritidis* contamination on egg shell. *LWT-Food Science and Technology* 76 (A): 124-130.
- Won, M.Y., Lee, S.J., and Min, S.C. 2017. Mandarin preservation by microwave-powered cold plasma treatment. *Innovative Food*

Science and Emerging Technologies 39: 25-32.
Ziuzina, D., Patil, S., Cullen, P.J., Keener, K.M.,
and Bourke, P. 2014. Atmospheric cold plasma
inactivation of *Escherichia coli*, *Salmonella*

enterica serovar Typhimurium and *Listeria*
monocytogenes inoculated on fresh produce.
Food Microbiology 42: 109-116.

Effect of Cold Plasma on Microbial and Chemical Properties of Saffron

Maryam Akbarian¹, Fakhri Shahidi^{2*}, Mohammad Javad varidi³, Arash Koocheki² and Sahar Roshanak⁴

Submitted: 29 December 2017

Accepted: 14 May 2019

Akbarian, M., Shahidi, F., Varidi, M.J., Koocheki, A., Roshanak, S. 2020. Effect of Cold Plasma on Microbial and Chemical Properties of Saffron. *Saffron Agronomy & Technology*, 7(4): 425-439.

Abstract

Saffron is the most expensive agricultural product in the world and Iran is the largest saffron producer in the world. Saffron contamination in different stages of its production process leads to loss of credibility in export and the global market in addition to loss of quality. Therefore, it is necessary to select an appropriate method for inactivation of the microbial flora of saffron. Among the common methods that are used for inactivation of microorganisms, cold plasma has attracted much attention due to potential benefits such as its non-toxic nature, low operational costs, significant reduction in water consumption for decontamination, and possibility of its use for a variety of food products. Plasma is a state of ionized gas including ions, electrons, ultraviolet rays, and reactive species such as radicals, atoms and molecules which can ignite and inactivate microorganisms. In this research study, cold plasma was produced using two types of gas including nitrogen and air, and the effect of plasma radiation at 0, 3, 6, 9 and 12 minutes on the chemical and microbial (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, Mold and Yeast) properties of saffron were investigated. The results of this study showed that germicidal effects of nitrogen plasma is lower than air plasma and exposure time to plasma has a significant effect on reduction of microbial load. It was also seen that inactivation of microorganisms increases with increased time of exposure to plasma exposure. Maximum microbial reduction was observed in 12 minutes. Maximum reduction in microbial load was observed at 12 minutes and 18 kilovolt voltage, which reduced the population of *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, mold and yeast by 2.69, 2.48, and 1.95 log cycles, respectively. However, with increasing radiation time, the amount of crocin, picocrocin and safranal decreased ($p < 0.05$). Reduction of crocin, safranal and picocrocin in 12 minutes was 6.01, 4.04, and 5.44%, respectively.

Keywords: Microbial contamination of saffron, cold plasma, picocrocin, safranal, crocin.

1 - MSc Student, Department of Food Science & Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2 - Professor, Department of Food Science & Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3 - Associate Professor, Department of Food Science & Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4 - Ph.D Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

(* - Corresponding author. Email: fshahidi@um.ac.ir)

DOI: 10.22048/jsat.2019.112244.1276