

## اثر استفاده از گاز ازن بر ویژگی‌های میکروبی زیتون پرورده و مقایسه آن با اسید سوربیک

مهديه گل رو<sup>1</sup>، مریم فهیم دانش<sup>2</sup>، محمدرضا خانی<sup>3</sup>

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

2- نویسنده مسئول: گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: m.fahimdanesh@Qodsiau.ac.ir

3- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: 96/4/11

تاریخ دریافت: 96/1/20

### چکیده

**سابقه و هدف:** مولکول ازن با حمله به جداره سلول میکروارگانیسم‌ها و اکسید کردن گروه‌های سولفیدریل پروتئینی، موجب پارگی دیواره و غشاء خارجی و مرگ میکروارگانیسم می‌شود. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر افزودن گاز ازن بر ویژگی‌های میکروبی زیتون پرورده و مقایسه آن با اسید سوربیک انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش، گاز ازن در غلظت 2/5ppm به مدت (1، 2 و 4 دقیقه) و اسید سوربیک با غلظت 100ppm بکار برده شد. تأثیر ازن و اسید سوربیک به طور جداگانه بر ویژگی‌های میکروبی نظیر (باکتری‌های ترموفیل و مزوفیل هوازی مولد اسیدلاکتیک، کپک و مخمر) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های زیتون پرورده به مدت 75 روز در دمای 4°C نگهداری و متغیرهای مورد نظر در روزهای صفر، ده، بیست، سی، چهل و پنجاه و هفتاد و پنجاه‌اندازه‌گیری شدند. برای مقیاس میانگین تیمارها از روش LSD و آنالیز نتایج با نرم افزار SAS صورت گرفت.

**یافته‌ها:** به طور کلی افزودن ازن در زمان‌های مختلف و اسید سوربیک، باعث کاهش رشد باکتری‌های ترموفیل و مزوفیل هوازی مولد اسیدلاکتیک، کپک و مخمر در زیتون پرورده، نسبت به نمونه شاهد شد. زمان تزریق 4 دقیقه گاز ازن خواص بهتری را موجب شد و توانسته بود مشابه و در بعضی مواقع عملکرد بهتری نسبت به نمونه حاوی اسید سوربیک داشته باشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از گاز ازن می‌تواند جایگزین قابل قبولی برای اسید سوربیک در بسته‌بندی زیتون پرورده باشد.

**واژگان کلیدی:** زیتون پرورده، گاز ازن، اسید سوربیک

### • مقدمه

زیتون سنگی، گلوله و فیشی می‌باشد. زیتون رقم زرد طارم دارای درصد روغن پایین‌تر و بافت گوشتی بیشتری نسبت به دیگر ارقام زیتون می‌باشد به همین دلیل در تولید انواع کنسرو زیتون از رقم زرد استفاده می‌شود (3). فراورده‌های زیتون شامل: روغن زیتون، کنسرو زیتون (سیاه، سبز شکسته و سبز سالم)، زیتون شور و زیتون پرورده می‌باشد. بیش از 90 درصد زیتون جهان روغن‌گیری می‌شود و 10 درصد بصورت زیتون خوراکی مصرف می‌گردد. زیتون پرورده محصولی از ترکیب زیتون و سایر مواد مانند: سیر، گردو، رب انار، سبزی معطر (چوچاغ) و نمک می‌باشد و بیشتر در شمال ایران تهیه و

درخت زیتون یکی از قدیمی‌ترین درختان کشت شده در جهان است و در حقیقت پیش از تاریخ مکتوب کشف شده است (1). زیتون با نام علمی *Olea europaea* درختچه‌ای بسیار مقاوم، پر ثمر و همیشه سبز است و تقریباً 20 گونه درختان کوچک از خانواده اولئاسه وجود دارد که در حوضه دریای مدیترانه، شمال آفریقا، جنوب شرقی آسیا، شمال تا جنوب چین، اسکاتلند و شرق استرالیا پراکندگی گسترده‌ای دارند. در کشور ایران نیز زیتون در باغ‌های رودبار، منجیل، طارم و اخیراً در استان‌های مختلف کشور کشت می‌شود (2). برخی از ارقام زیتون ایران شامل: زرد، روغنی، ماری، سنگه یا

عنوان یک عامل مطابق با اصول بهداشتی در تماس مستقیم با مواد غذایی به رسمیت شناخته شد (10). تولید ازن در صنعت توسط ازن ژنراتور انجام می‌شود که متداول‌ترین روش تولید آن روش کرونا یا جرقه داغ می‌باشد (11). مزایای استفاده از گاز ازن شامل: تأثیر بر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، عدم تغییر طعم، مزه مواد غذایی، عدم تولید ترکیبات ثانویه مضر می‌باشد. در میوه‌های روغنی مانند زیتون، چون روغن به صورت ترکیب با سایر ترکیبات تشکیل دهنده میوه از جمله: رطوبت، فیبر، پروتئین و... می‌باشد در نتیجه ازن در تماس مستقیم با ذرات روغن موجود در میوه روغنی نمی‌باشد تا باعث ایجاد اثرات منفی گردد. معایب استفاده از گاز ازن، هزینه سرمایه گذاری و خرید تجهیزات بالا می‌باشد و از طرفی به دلیل ایجاد زنگ زدگی، دستگاه‌های در تماس با ازن باید از جنس فولاد ضد زنگ یا آلومینیوم باشد (12). DAS و همکاران (2006) به بررسی اثر ازن بر روی گوجه گیلاسی تلقیح شده با سالمونلا پرداختند و به این نتیجه رسیدند که سالمونلا تلقیح شده همگی پس از درمان توسط 10ppm گاز ازن به مدت 5 دقیقه از بین رفتند (13). Horvitz و همکاران (2010) به بررسی اثر ازن بر روی کیفیت میکروبی فلفل قرمز قبل بسته بندی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که درمان توسط 0/7 ppm گاز ازن به مدت 5 دقیقه قبل از بسته بندی باعث کاهش در تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی می‌گردد (14).

مواد افزودنی از جمله موادی هستند که به طور عمدی در فرایند تولید مواد غذایی افزوده شده تا از تغییرات نامطلوب و فساد ناشی از میکروارگانیسم‌ها جلوگیری و باعث افزایش ماندگاری مواد غذایی شوند. به دلیل امکان آلودگی مواد غذایی، وجود نگهدارنده‌هایی مانند اسیدسوربیک که از دسته افزودنی‌های مواد غذایی به حساب می‌آید، برای کنترل رشد میکروبی و افزایش ماندگاری ضروری است. اسیدسوربیک به عنوان یک ماده نگهدارنده استفاده می‌شود که محلول در آب بوده و نمک‌های پتاسیم، کلسیم و سدیم آن به عنوان سوربات شناخته می‌شود (15). مزایای استفاده از اسید سوریبک در مواد غذایی شامل: عدم ایجاد تغییر در عطر و طعم مواد غذایی، عدم واکنش با ویتامین‌ها و مواد معدنی موجود در مواد غذایی، کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها از جمله کپک‌ها، مخمرها و باکتری‌ها و افزایش زمان ماندگاری. معایب استفاده از آن شامل: ایجاد آلرژی، ضعف سیستم ایمنی، تعوع و از دست دادن مواد مغذی (16). شارفی آبادی و همکاران (1393) تأثیر غلظت‌های مختلف سوربات پتاسیم و بنزوات

بصورت چاشنی در کنار غذای اصلی استفاده می‌شود (4). میوه زیتون برداشت شده جهت فراوری تا زمان ارسال به کارخانه به صورت توده کوچک درحاشیه باغات نگهداری می‌شود. از سوی دیگر به علت محدودیت ظرفیت کارخانجات در پذیرش محصول، ممکن است میوه‌های ارسال شده مدتی در انبار به صورت توده‌های بزرگ در انتظار فراوری بمانند که این امر موجب افزایش ضایعات، آلودگی میکروبی و کاهش کیفیت محصول فراوری شده می‌گردد. رطوبت زیاد در میوه زیتون محیط مناسبی برای عمل آنزیم و میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. این میکروارگانیسم‌ها شامل: کپک‌ها، مخمرها و باکتری‌ها که دارای خاصیت لیپولیتیک بوده و با نگهداری در شرایط محیطی و انبارها باعث ایجاد واکنش لیپولیز و تغییرات اسیدیته زیتون می‌گردد (5). میرنظامی (2001) به بررسی میوه زیتون در شرایط نگهداری نامناسب و فاصله زمانی بین برداشت و فراوری زیتون پرداخت و نتیجه نشان داد که شرایط نامطلوب نگهداری سبب ایجاد تغییرات آنزیمی - شیمیایی و فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌گردد که باعث افزایش اسیدیته میوه، ماندگاری کم محصول و طعم ماندگی و کپک زدگی در محصول می‌گردد (6). مرادی و همکاران (1394) به جداسازی باکتری‌های تولید کننده لیپاز از زیتون و بررسی اثر پارامترهای گوناگون بر تولید آنزیم در تخمیر حالت جامد پرداختند و توانستند باکتری باسیلوس، هوازی، مزوفیل، لیپولیتیک را از نمونه زیتون جدا کنند (7). Ertugru (2007) از دانه زیتون برای جداسازی باکتری تولید کننده آنزیم لیپاز استفاده کرد که از آن 17 سویه باکتری جداسازی شد که در میان این 17 سویه جداسازی شده، باسیلوس بیشترین فعالیت را از خود نشان داد (8).

ازن به تازگی مورد توجه صنعت غذا و کشاورزی قرار گرفت اگرچه به طور مؤثر به عنوان ماده ضد عفونی کننده اولیه برای سالم سازی آب بطری و شهری از 100 سال پیش استفاده می‌شد. ازن شکلی از اکسیژن است که شامل 3 اتم اکسیژن در مقایسه با استاندارد 2 اتم اکسیژن در یک مولکول اکسیژن است. ازن گازی ناپایدار و دارای بوی مشخص می‌باشد که علاوه بر فعالیت ضد میکروبی خود در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، می‌تواند آفت کش‌ها و باقی مانده مواد شیمیایی را از بین ببرد (9). علاوه بر این با توجه به تجزیه سریع آن به اکسیژن و این واقعیت که بر روی مواد تحت تیمار اثری باقی نمی‌ماند، کاربرد آن را در فراوری مواد غذایی با استناد به گواهینامه‌ها، مجاز شناختند. در سال 2001 ازن به طور کامل توسط FDA (Food & Drug Administration) به

دستگاه هسته‌گیر زیتون، هسته از بافت گوشتی میوه جدا گردید و جهت تلخی زدایی زیتون به مدت 2 هفته در آب نمک 5% نگهداری شدند. سپس سیر، گردو، سبزی چوچاغ خرد شد و به همراه نمک و رب انار به زیتون تلخی زدایی شده اضافه گردید و پاستوریزاسیون در دمای 80°C به مدت 20 دقیقه انجام شد. با استفاده از دستگاه ازن انالایزر مقدار ازن که در این تحقیق غلظت 2/5ppm استفاده گردید اندازه‌گیری شد. برای تهیه نمونه‌های آزمایشی حاوی اسید سوربیک از غلظت 100ppm آن قبل از عمل پاستوریزاسیون و برای نمونه‌های حاوی ازن از گاز ازن در غلظت 2/5ppm به مدت 1، 2 و 4 دقیقه، پس از پاستوریزاسیون استفاده شد. همزمان با بسته بندی تزریق گاز و درب بندی صورت گرفت. تیمارها در دمای 4°C نگهداری آزمون‌ها در روزهای صفر، ده، بیست، سی، چهل و پنچ، شصت و هفتاد و پنج پس از تولید انجام شد.

**شمارش باکتری مزوفیل و ترموفیل هوازی مولد اسیدلاکتیک:** برای سنجش و شمارش باکتری‌های مزوفیل و ترموفیل هوازی مولد اسیدلاکتیک از استاندارد ملی شماره 2326 استفاده گردید که بر اساس این استاندارد، آزمون با استفاده از محیط کشت آگار حاوی سرم پرتقال OSA (Orange serum agar) و روش کشت آمیخته (Pour plate) انجام پذیرفت. باکتری‌های مزوفیل هوازی در دمای 37°C و ترموفیل‌های هوازی دمای 55°C همگی به مدت 3 تا 5 روز گرمخانه گذاری شدند.

**شمارش کپک و مخمر:** برای سنجش و شمارش پرگنه‌های کپک و مخمر از استاندارد ملی شماره 2326 استفاده گردید. با استفاده از محیط کشت YGC (Yeast extract glucose agar chloramphenicol) و روش کشت سطحی انجام پذیرفت. کپک و مخمر در دمای 25°C و همگی به مدت 3 تا 5 روز گرمخانه گذاری شدند.

**تجزیه و تحلیل آماری:** تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد و برای تجزیه تحلیل داده‌های بدست آمده از طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی (A randomized complete block) استفاده شد. اثر زمان به عنوان بلوک در نظر گرفته شده است. پس از آن تجزیه واریانس مقایسه میانگین‌ها به روش LSD و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS و رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد ( $p < 0/05$ ).

سدیم (300، 400 و 500 ppm) و دمای نگهداری (8، 22 و 37 درجه سانتی‌گراد) بر خصوصیات میکروبی (شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، کپک و مخمر) آلبالو خشک در طی 6 ماه نگهداری بررسی کردند. نتایج نشان داد، آلبالوی خشک تیمار شده طی 6 ماه نگهداری در بسته بندی و کیوم شده دچار فساد میکروبی نشد. مارین و همکاران (2002) تأثیرات نگهدارنده‌ها بر پایه اسید ضعیف (سوربات پتاسیم، بنزوات سدیم و پروپیونات کلسیم) در انواع فرآورده‌های قنادی بر محافظت از فساد آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فلاووس را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که سوربات پتاسیم به عنوان مؤثرترین عامل جلوگیری کننده از رشد عوامل فساد قارچی می‌باشد (17).

تولید صنعتی کنسرو زیتون پرورده در ایران به علت هزینه بالا، بسته‌بندی نامناسب و مدت زمان ماندگاری کوتاه به میزان محدود انجام می‌پذیرد. در حال حاضر مصرف آن جنبه لوکس و محلی داشته و تهیه و تولید صنعتی آن نسبت به سایر انواع کنسرو زیتون کم می‌باشد. از طرفی به دلیل عدم رعایت اصول بهداشتی در تهیه زیتون پرورده، میکروارگانیسم‌هایی از جمله: باکتری‌های مولد اسید لاکتیک، کپک‌ها و مخمرها می‌توانند با فعالیت خود باعث تولید اسید و نرم شدن بافت زیتون پرورده شوند. مصرف موادی نظیر: لیبیدها، اسیدهای آلی و پروتئین‌ها توسط میکروارگانیسم‌های مذکور، باعث ایجاد بو، طعم، تغییر رنگ نامطلوب، و کاهش زمان ماندگاری محصول می‌گردد. در نتیجه با توجه به مشکلات مذکور، ضرورت انجام این تحقیق برای مطالعه و بررسی بیشتر در استفاده از کاربرد ازن به عنوان ماده ضد میکروبی در زنجیره فرآوری زیتون پرورده جهت افزایش مدت زمان ماندگاری زیتون پرورده قابل درک می‌باشد.

## • مواد و روش‌ها

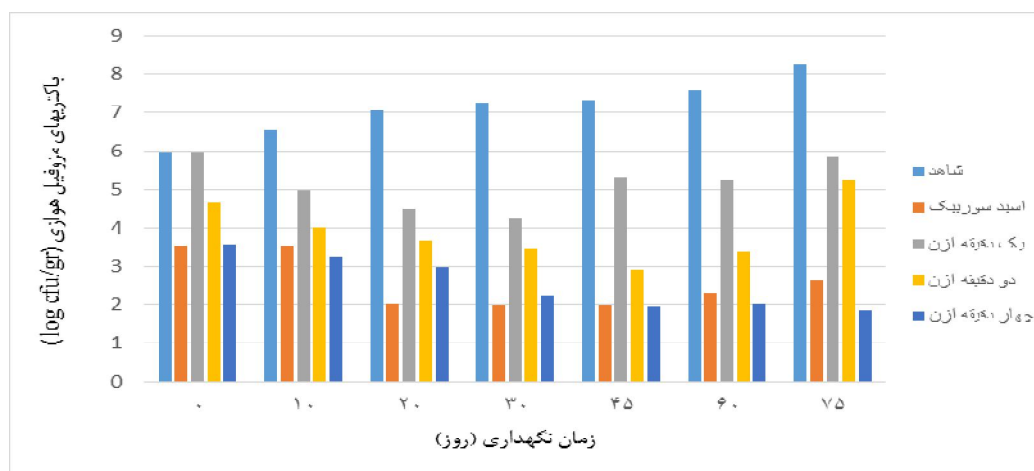
**مواد:** زیتون رقم زیتون زرد (باغات زیتون شهرستان طارم استان زنجان)، گردو (شهرستان تویسرکان استان همدان)، سبزی چوچاغ (شهرستان تنکابن در غرب استان مازندران)، سیر سفید (شهرستان رشت مرکز استان گیلان)، رب انار (رب انار خانگی تهیه شده از انار گونه ملس شیرین شهرستان ساوه استان مرکزی)، نمک (نمک یددار تصفیه شده با برند تجاری گل‌ها) و اسید سوربیک (Sigma- Aldrich، کشور آلمان) تهیه شد و برای آماده سازی نمونه‌ها استفاده گردید.

**روش تهیه نمونه‌های زیتون پرورده:** برای تهیه نمونه زیتون پرورده شاهد، جهت سهولت مصرف، زیتون تازه توسط

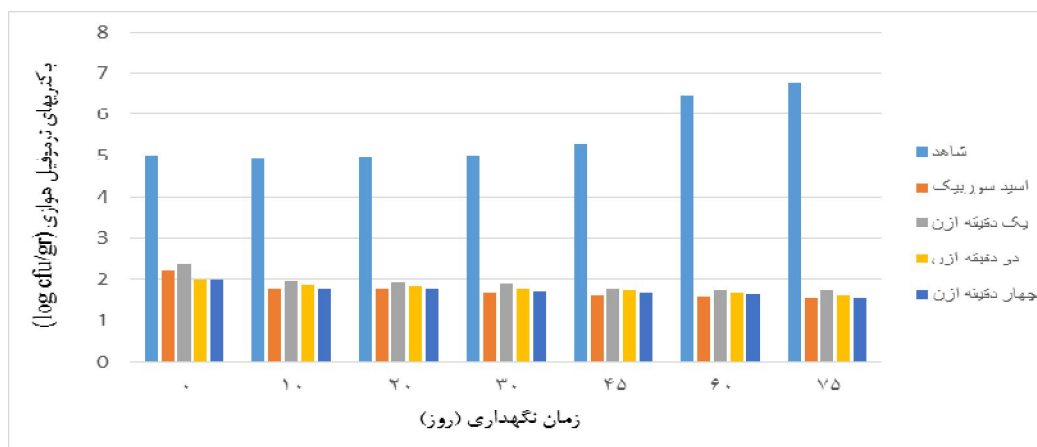
## • یافته‌ها

**شمارش باکتری ترموفیل هوازی مولد اسیدلاکتیک:** بر اساس نتایج آماری نمودار 2، در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C بین تیمارهای مختلف از نظر شمار باکتری‌های ترموفیل هوازی مولد اسید لاکتیک تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). به طوری که زیتون پرورده تیمار شده توسط گاز ازن با غلظت 2/5 ppm در زمان تزریق 4 دقیقه بیشترین کاهش رشد لگاریتمی بر حسب (log cfu/gr) را در طول زمان نگهداری نسبت به شاهد نشان داد. بین تیمارهای تحت درمان با گاز ازن، تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 1 و 2 دقیقه با تیمار تحت درمان به مدت 4 دقیقه، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). بین تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 1 و 2 دقیقه با تیمار حاوی 100 ppm اسیدسوربیک اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0/05$ ) در حالی که بین تیمار تحت درمان به مدت 4 دقیقه با تیمار حاوی 100 ppm اسیدسوربیک اختلاف آماری معنی‌دار وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

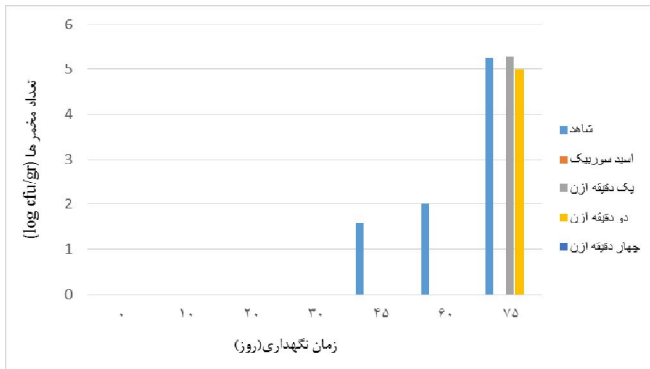
**شمارش باکتری مزوفیل هوازی مولد اسیدلاکتیک:** بر اساس نتایج آماری نمودار 1، در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C بین تیمارهای مختلف از نظر شمار باکتری‌های مزوفیل هوازی مولد اسید لاکتیک تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). زیتون پرورده تیمار شده توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه بیشترین کاهش رشد لگاریتمی بر حسب (log cfu/gr) ( Colony formmy ) را در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد نشان داد. بین تیمارهای تحت درمان با گاز ازن، تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 1 و 2 دقیقه با تیمار تحت درمان به مدت 4 دقیقه، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). بین تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 1 و 2 دقیقه با تیمار حاوی 100 ppm اسیدسوربیک اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0/05$ ) اما بین تیمار تحت درمان به مدت 4 دقیقه با تیمار حاوی 100 ppm اسیدسوربیک اختلاف آماری معنی‌دار وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).



**نمودار 1.** بررسی میانگین لگاریتمی شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی مولد اسید لاکتیک در زیتون پرورده در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C



**نمودار 2.** مقایسه میانگین لگاریتمی شمارش باکتری‌های ترموفیل هوازی مولد اسید لاکتیک در زیتون پرورده در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C

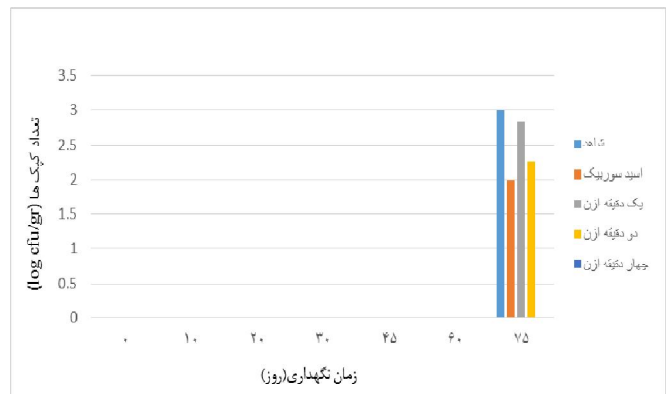


نمودار 4. مقایسه میانگین لگاریتمی شمارش مخمرها در زیتون پرورده در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C

### • بحث

در نمونه شاهد جمعیت مزوفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک در طول زمان نگهداری افزایش یافت به طوری که لگاریتم شمارش باکتری از 5/99 در روز صفر به 8/25 (log cfu/gr) در روز هفتاد و پنج رسید. در تمامی نمونه‌ها رشد مزوفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک نسبت به نمونه شاهد در بازه‌های زمانی مورد بررسی کمتر از شاهد بوده است. با افزایش زمان تزریق ازن سرعت رشد مزوفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک نسبت به شاهد، کاهش بیشتری یافت به طوری که زیتون پرورده که توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه بیشترین و زیتون پرورده که توسط گاز ازن در زمان تزریق 1 دقیقه کمترین کاهش رشد لگاریتمی (log cfu/gr) در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد را نشان داد. سرعت رشد مزوفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک در نمونه تیمار شده توسط 100 ppm اسید سوربیک در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد کاهش یافت. نمونه تیمار شده توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه نسبت به نمونه تیمار شده توسط 100 ppm اسید سوربیک در طی 75 روز نگهداری، عملکرد بهتری در کاهش رشد لگاریتمی (log cfu/gr) باکتری‌های مزوفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک داشت. یکی از دلایل این کاهش از بین رفتن میکروارگانیسم به دلیل واکنش ازن با اجزای سلول به ویژه آنان که در ساختارشان پیوند دوگانه، گروه سولفیدریل و حلقه فنلی دارند، می‌باشد. بنابراین فسفولیپیدهای غشاء، آنزیم‌های درون سلولی و مواد ژنومی توسط ازن هدف قرار می‌گیرند و در نتیجه این واکنش آسیب سلولی و مرگ میکروارگانیسم‌ها را سبب می‌شود (18). این نتیجه با تحقیقاتی که Oztekin و همکاران (2006) بر روی انجیر خشک تحت درمان توسط 1، 5 و 10 ppm گاز ازن به مدت 3 و 5 ساعت در 20°C انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که کل مزوفیل‌های هوازی مولد اسید

شمارش کپک: بر اساس نتایج آماری نمودار 3، در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C بین تیمارهای مختلف از نظر شمار پرگنه‌های کپک تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). به طوری که زیتون پرورده تیمار شده توسط گاز ازن با غلظت 2/5 ppm در زمان تزریق 4 دقیقه بیشترین کاهش (توقف رشد کپک‌ها) رشد لگاریتمی بر حسب (log cfu/gr) در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد نشان داد و در آن هیچ کپکی رشد نکرد. بین تیمارهای تحت درمان با گاز ازن، تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 1 و 2 دقیقه با تیمار تحت درمان به مدت 4 دقیقه، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). بین تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 4 دقیقه با تیمار حاوی ppm 100 اسیدسوربیک اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0/05$ ).



نمودار 3. مقایسه میانگین لگاریتمی شمارش کپک‌ها در زیتون پرورده در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C

شمارش مخمر: بر اساس نتایج آماری نمودار 4، در طی 75 روز نگهداری در دمای 4°C بین تیمارهای مختلف از نظر شمار مخمرها تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). زیتون پرورده تیمار شده توسط گاز ازن با غلظت 2/5 ppm در زمان تزریق 4 دقیقه بیشترین کاهش (توقف رشد مخمرها) رشد لگاریتمی بر حسب (log cfu/gr) در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد نشان داد. بین تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 1 و 2 دقیقه با تیمار تحت درمان به مدت 4 دقیقه، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). بین تیمارهای تحت درمان توسط گاز ازن به مدت 1 و 2 دقیقه با تیمار حاوی 100 ppm اسیدسوربیک اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0/05$ ), اما بین تیمار تحت درمان به مدت 4 دقیقه با تیمار حاوی 100 ppm اسیدسوربیک اختلاف آماری معنی‌دار وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

روی زعفران با استفاده از غلظت 3، 4، 5 و 10 ppm در مدت زمان 1، 3، 4، 6 و 8 ساعت انجام داد و بهترین نتیجه در مورد کاهش جمعیت کپک‌ها مربوط به غلظت 4/5 ppm به مدت 3 ساعت بود، مطابقت داشت. Gibson و همکاران (1960) به بررسی برروی پنیر چدار که توسط 3 و 5 ppm گاز ازن تیمار شد پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تیمار توسط ازن باعث توقف رشد کپک گردید. palou و همکاران (2002) به بررسی بر روی لیمو تحت درمان توسط 0/3 ppm گاز ازن به مدت سه هفته پرداختند که این تیمار باعث کاهش رشد کپک گردید. Whangchain و همکاران (2010) به بررسی بر روی نارنگی تحت درمان توسط 200 ppm گاز ازن به مدت دو ساعت طی 28 روز پرداختند که تیمار مذکور باعث کاهش رشد کپک شد که نتایج تحقیقات انجام شده توسط محققین با نتایج تحقیق در این مقاله مطابقت داشت (21-24).

در نمونه شاهد جمعیت مخمرها در طی 75 روز نگهداری تا روز سی ام، صفر و از روز چهل و پنجم افزایش یافت. به طوری که لگاریتم شمارش باکتری از 1/59 در روز چهل و پنجم به 5/25 (log cfu/gr) در روز هفتاد و پنج رسید. در تمامی نمونه‌ها رشد مخمرها تا روز شصتم صفر بود. در روز هفتاد و پنجم با افزایش زمان تزریق ازن سرعت رشد مخمرها نسبت به شاهد کاهش بیشتری یافت به طوری که زیتون پرورده که توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه بیشترین کاهش رشد لگاریتمی (log cfu/gr) در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد را نشان داد. رشد مخمرها در نمونه تیمار شده توسط 100 ppm اسید سوربیک در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد صفر و این نتیجه مشابه نمونه تیمار شده توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه گزارش شد. این نتیجه با نتیجه تحقیقی که اکبری (2015) بر روی زعفران با استفاده از غلظت 3، 4، 5، 7 و 10 ppm گاز ازن در مدت زمان 1، 3، 4، 6 و 8 ساعت انجام داد و بیان کردند که بهترین نتیجه مربوط به غلظت 4/5 ppm گاز ازن به مدت 3 ساعت بود، مطابقت داشت و همچنین این تحقیق با نتیجه تحقیقی که Oztekin و همکاران (2006) بر روی انجیر خشک تحت درمان توسط 1، 5 و 10 ppm گاز ازن به مدت 3 و 5 ساعت در 20°C قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که مخمرها نسبت به نمونه شاهد با افزایش غلظت تزریق گاز ازن کاهش می‌یابد، مطابقت داشت (14، 10).

به طور کلی نتایج آزمون‌ها نشان داد که استفاده از گاز ازن به غلظت 2/5 ppm به مدت 4 دقیقه بیشترین تأثیر مثبت را بر خصوصیات مورد آزمایش داشته که منجر به کاهش فساد در طی 75 روز نگهداری زیتون پرورده شد. به طوری که با

لاکتیک نسبت به نمونه شاهد با افزایش غلظت کاهش یافت، مطابقت داشت. همچنین Cantalejo & Horvitz (2010) به بررسی فلفل دلمه‌ای قرمز، تحت درمان 0/7 ppm ازن به مدت 1، 3 و 5 دقیقه قبل بسته‌بندی پرداخت که ازن باعث کاهش در تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در فلفل دلمه‌ای قرمز گردید که با نتیجه تحقیق انجام شده در این مقاله مطابقت داشت (19، 14).

در نمونه شاهد جمعیت ترموفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک در طول زمان نگهداری افزایش یافت به طوری که لگاریتم شمارش باکتری از 4/98 در روز صفر به 6/77 (log cfu/gr) در روز هفتاد و پنج رسید. با افزایش زمان تزریق ازن سرعت رشد ترموفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک نسبت به شاهد کاهش بیشتری یافت به طوری که زیتون پرورده که توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه تیمار شد، بیشترین و زیتون پرورده که توسط گاز ازن در زمانهای تزریق 1 دقیقه تیمار شد، کمترین کاهش رشد لگاریتمی (log cfu/gr) در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد را نشان داد. سرعت رشد ترموفیل‌های هوازی مولد اسید لاکتیک در نمونه تیمار شده توسط 100 ppm اسید سوربیک در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد کاهش یافت و این کاهش مشابه نمونه تیمار شده توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه بود. نتیجه این مطالعه با تحقیقاتی که Akbas & Ozdemir (2008) بر روی پسته و انجیر خشک تلقیح شده توسط باسیلوس سرئوس و Ecoli انجام مطابقت داشت. این محققین دریافتند که افزایش غلظت و زمان قرار گرفتن در برابر گاز ازن باعث کاهش جمعیت میکروبی هر دو نوع باکتری می‌شود (20).

در نمونه شاهد جمعیت کپک‌ها در طی 75 روز نگهداری، تا روز شصتم، صفر و در روز هفتاد و پنجم رشد یافت. به طوری که لگاریتم شمارش باکتری از صفر در روز شصتم به 2/99 (log cfu/gr) در روز هفتاد و پنج رسید. در تمامی نمونه‌ها رشد کپک‌ها تا روز شصتم صفر بود. در روز هفتاد و پنجم با افزایش زمان تزریق ازن، سرعت رشد کپک‌ها نسبت به شاهد کاهش بیشتری یافت به طوری که زیتون پرورده که توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه بیشترین کاهش رشد لگاریتمی (توقف رشد کپک‌ها) بر حسب (log cfu/gr) در طی 75 روز نگهداری نسبت به شاهد را نشان داد و در آن هیچ کپکی رشد نکرد. سرعت رشد کپک‌ها در نمونه تیمار شده توسط 100 ppm اسید سوربیک در طول نگهداری نسبت به شاهد کاهش اندکی یافت و در مقایسه با نمونه تیمار شده توسط گاز ازن در زمان تزریق 4 دقیقه، عملکرد ضعیف تری را نشان داد. نتیجه این تحقیق با تحقیقی که اکبری (2015) بر

دارای عملکرد بهتری بود. بنابراین به نظر می‌رسد جایگزین نمودن گاز ازن به عنوان یک عامل مهار کننده رشد میکروارگانیسم‌ها با توجه به عدم تأثیر منفی بر محصول به جای افزودنی‌های معمول از جمله اسید سوربیک، در تهیه زیتون پرورده می‌تواند مورد توجه صنعتگران قرار گیرد.

توجه به آزمون‌هایی که توسط ارزیابان حسی انجام پذیرفت، از نظر ارزیابان حسی زیتون پرورده تا ماه سوم قابل مصرف بود. این تیمار درمقایسه با تیمار حاوی 100 ppm اسید سوربیک دارای نتایجی مشابه بوده و در بسیاری موارد مانند شمارش باکتری‌های ترموفیل و مزوفیل مولد اسیدلاکتیک و کپک

## • References

1. Malik D. Edible vegetable fats and oils and processing features. Diffusion of culture and pens. press; 2001. p. 96-102 [in Persian].
2. Borcakil M, Ozay G, Alperden L. Fermentation of Turkish olive traditional and aerated systems In Food flavours, ingredients, and composition. Elsevier Science Publisher. B.V. Charalambous 1993. p. 265-277.
3. Mirnezami Zia Bari H. The healing properties of olive. Knowledge Publications journalist. Press; 1999. p. 137 [in Persian].
4. Maghsudi SH. Olive technology and its products. Publication of Agricultural Sciences. Press; 2006. p. 50-10 [in Persian]
5. Macvandi M. The effect of calcium chloride on 1-MCP and extend the storage life of ripe fruit cultivars were olive green. Journal of Horticultural Science (Agricultural Science and Technology) 2014; 27(4):494-488 [in Persian].
6. Mirnezami H. Oil technology and processing. Agricultural Science. Press; 2001. p. 129-160 [in Persian].
7. Moradi S, Razavi H, Mousavi M. Olive bacteria producing lipase and the effect of various parameters on enzyme production in solid state fermentation. Iranian Journal of Biosystems Engineering 2015; 46(3):315-325 [in Persian].
8. Ertugrul S, Donmez G, Takac S. Isolation of lipase producing Bacillus sp. From olive and improving its enzyme activity. Journal of Hazardous Materials 2007; 140(3): 720-724.
9. Rodgers SL, Cash JN, Siddiq M, Ryser ET. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. J. Food Protect 2004; 67:721-731.
10. Tzortzakis N, Singleton I, Barnes J. Impact of low-level atmospheric ozone-enrichment on black spot and anthracnose rot of tomato fruit. Postharvest Biology and Technol 2008; 47:1-9.
11. Pirani S. Application of ozone in food industries. Doctoral Program in Animal Nutrition and Food Safety. Università degli Studi di Milano. Press; 2010. p. 146-158 [in Persian].
12. Maktabi S. Evaluation usage of ozone gas as a method of Non-thermal for control of food microorganism and equipment. 16th national congress of Iran food industry on security, waste reduction, Innovation; 2006 Feb 8-9; Gorgan, Iran. [in Persian].
13. Das E, Candan-Gurakan G, Bayındırlı A. Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of Salmonella enteritidis on cherry tomatoes. Food Microbiology 2006; 23: 430-438.
14. Horvitz S, Cantalejo MJ. Effects of aqueous ozone on quality of minimally processed red bell pepper. Acta Hort 2010a; 58:329-333.
15. Lino CM, Pena A. Occurrence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment. Food Chem 2010; 121(2):503-8.
16. Gholipour M, Babai Z, Mohammadi Z, Karimzadeh L, Esfahani Zadeh MH, Abedi S. Validation method and determination of potassium sorbate in dough with HPLC. Journal of Medicine Science Mazandaran University 2014; 24(109):37-44 [in Persian].
17. Sharefi abadi E, Shahhosseiny MH, Salehifar M. effects of different concentration of potassium sorbate and sodium benzoate and storage temperature on microbial characteristics of dried sour cherry during storage. J Food Sci Technol 2016; 13(58) [in Persian].
18. Nickasa A, Rahimzadeh A. The use of ozone in the food industry, agriculture related industries. Publishing Amid. Press; 2011. p. 129-136 [in Persian].
19. Oztekin S, Zorlugenc B, Zorlugenc FK. Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. J. Food Eng 2006; 75:396-399.
20. Akbas MY, Ozdemir M. Application of gaseous ozone to control populations of Escherichia coli, Bacillus cereus and Bacillus cereus spores in dried figs. Food Microbiol 2008a; 25:386-391.
21. Akbari M. The impact of ozone on quality and destruction of microorganisms live larvae in saffron. Research Journal of Food Science 2015; 24(3) [in Persian].
22. Gibson CA, Elliott JA, Beckett DC. "Ozone for controlling mold on cheddar cheese", Canadian Dairy and Ice Cream Journal 1960. p. 24-28.
23. Palou L, Crisosto CH, Smilanick JL, Adaskaveg JE, Zoffoli JP. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. Postharvest Biol Technol 2002; 24:39-48.
24. Whangchai K, Saengnil K, Singkamanee C, Uthaibutra J. Effect of electrolyzed oxidizing water and continuous ozone exposure on the control of Penicillium digitatum on tangerine cv. 'Sai Nam Pung' during storage. Crop. Prot 2010; 29:386-389.

## Effect of Ozone Technology on Microbial Characteristics of the Processed Olive and its Comparison with Sorbic Acid

Golroo M<sup>1</sup>, Fahimdanesh M<sup>\*2</sup>, Khani M<sup>3</sup>

1- MSc student Department of Food Science & Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- \*Corresponding author: Department of Food Science & Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: m.fahimdanesh@Qodsiau.ac.ir

3- Department of Food Science & Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received 9 Apr, 2017

Accepted 2 Jul, 2017

**Background and Objectives:** Ozone molecules have antimicrobial activity through attacking the cell wall of microorganisms and oxidizing sulfhydryl groups of proteins, resulting in rupturing of the wall and outer membrane followed by inactivation of microorganisms. In this study, effect of ozone technology on microbial characteristics of the processed olives and its comparison with sorbic acid were investigated.

**Materials & Methods:** In this study, ozone and sorbic acid were used at concentrations of 2.5 ppm and 100 ppm, respectively. Samples were treated for 1, 2 and 4 minutes. The effect of ozone and sorbic acid was studied separately on thermophilic and mesophilic aerobic bacteria with producing lactic acid activity, mold and yeast. Microbiological characteristics of processed olive samples were measured for 75 days at 4 °C on day zero, ten, twenty, thirty, forty-five, sixty and seventy-five. The least significant difference (LSD) method was used to compare differences between treatments and the data analysis was performed by SAS software.

**Results:** In general, ozone treatment at different times and also sorbic acid reduced molds, yeasts and lactic acid-producing bacteria (thermophilic and mesophilic aerobics) populations in the processed olives compared to the control sample. Ozone injection time of 4 min had better properties and also resulted in similar efficiency of antimicrobial activity and sometimes higher than the samples containing sorbic acid.

**Conclusion:** The results of the present study showed that the use of ozone can be an acceptable alternative to sorbic acid as an antimicrobial agent in packaged processed olives.

**Keywords:** Processed olives, Ozone, Sorbic acid