

بررسی اثر اشعه گاما بر کیفیت میکروبی و ویژگی حسی چهار رقم پسته در طول مدت نه ماه انبارداری در استان کرمان

سپیده خراسانی^۱، محمدحسین عزیزی^{۲*}، محسن برزگر^۳، زهره حمیدی اصفهانی^۴

۱- فارغ التحصیل دانشگاه تربیت مدرس، استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران

۴- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران

چکیده

آلودگی پسته به آفلاتوکسینیکی از معضلات تولیدکننده‌های پسته است و پسته در بین تمام محصولات کشاورزی، خطر بالای آلودگی به آفلاتوکسین را دارد. در ایران بیشینه سطح قابل قبول، به ترتیب برای آفلاتوکسین B1 و آفلاتوکسین کل ۸ و ۱۰ پیپی بی یا نانوگرم برگرم است. یکی از راه‌های جلوگیری از تولید این سم خطرناک، امکان عدم رشد قارچ‌های مولد آفلاتوکسین و به دنبال آن تولید نشدن سم آفلاتوکسین است. برای این منظور چهار رقم پسته استان کرمان از اداره استاندارد با تأییدیه عدم وجود آفلاتوکسین، تهیه و پس از آغشته شدن با غلظت مناسبی از اسپور قارچ آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس، بسته‌بندی و در سازمان انرژی اتمی ایران مورد پرتودهی گاما در دزهای ۳ و ۵ و ۹ کیلوگری قرار گرفتند. طبق نتایج به‌دست‌آمده، با افزایش دز پرتودهی، حذف اسپور قارچ‌های مولد آفلاتوکسین، افزایش یافت و در طول انبارداری تا ۹ ماه هم امکان رشد فراهم نشد به طوری که میزان آفلاتوکسین اندازه‌گیری شده صفر گزارش شد. در نمونه‌های شاهد علاوه بر رشد اسپور قارچ، که کاملاً از نظر ظاهری قابل مشاهده بود، میزان تولید آفلاتوکسین هم به میزان خیلی زیادی گزارش شد، که از حد استاندارد خارج بود. ارزیابی حسی نشان داد که تا دز ۵ کیلوگری تغییر غیرقابل قبولی در طعم پسته‌ها ایجاد نشد و بین تیمار شاهد و تیمارهای پرتو دیده تا ۵ کیلوگری هیچ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p < 0/05$). می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میزان دز مناسب پرتو گاما برای حذف اسپور قارچ‌های مولد آفلاتوکسین و طعم مناسب پسته ۵ کیلوگری است.

کلید واژگان: پرتوگاما، ارقام پسته تجاری، آفلاتوکسین، قارچ‌های مولد سم آفلاتوکسین و ارزیابی حسی

۱- مقدمه

پسته محصول اصلی مناطقی مانند ایران، آمریکا، سوریه، ترکیه، یونان و ایتالیا است و یکی از مهم‌ترین اقلامی است که در دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. این محصول به صورت نمک زده، برشته شده در قنادی‌ها و غذاهای اسنک و یا به‌عنوان یک جزء اصلی در دسرها در سوریه و ترکیه استفاده می‌شود [۱]. جانسون در سال ۲۰۰۴ به این نتیجه رسید که در مرحله قبل از برداشت، مغزها مورد حمله آفات و حشرات قرار می‌گیرند و کیفیت آن‌ها کاهش می‌یابد [۲]. صدمه‌ای که این حشرات ایجاد می‌کنند باعث ورود کپک‌ها به داخل دانه‌های پسته و تولید آفلاتوکسین می‌گردد [۳]. ریز و همکاران در سال ۲۰۱۲ به این نتیجه رسیدند که یکی از مهم‌ترین عوامل تولید آفلاتوکسین در اکثر محصولات کشاورزی، صدمه‌ای است که توسط حشرات و آفات ایجاد می‌شود [۴ و ۵]. یکی از مهم‌ترین راه‌ها جهت ضدعفونی کردن محصولات کشاورزی، استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده و پرتودهی است. بعضی از مواد ضد عفونی‌کننده اثر غیر قابل قبولی بر روی محصولات کشاورزی می‌گذارند. گاز متیل بروماید یکی از مواد ضدعفونی‌کننده شایع است [۶]. براساس پروتکل مونترال، کشورهای توسعه یافته در سال‌های ۲۰۰۵ و ۲۰۱۵ مجبور به حذف، آن بوده زیرا خواص مخرب لایه ازن را دارد [۶]. پرتودهی گاما در حذف حشرات و آفات، یک فناوری مؤثر است [۷] و از بیوستر میکوتوکسین در طی انبارداری [۸] جلوگیری می‌نماید. برطبق این موضوع، پرتودهی گاما یک روش مناسب و عملی برای حذف حشرات و جوندگان است [۹]. پرتو افکنی یک راه مؤثر در فرآیند و حفاظت مواد غذایی و غیرفعال کردن پاتوژن‌های موجود در غذا است [۱۰]. این روش به‌منزله فرآیندی برای حفاظت مواد غذایی نظیر استریلیزاسیون از طریق حرارت تلقی می‌شود. انرژی تابشی می‌تواند از منابع مختلفی به دست آید، مناسب‌ترین منبع برای تابش‌دهی مواد غذایی، منبعی است که دارای قدرت نفوذ خوبی باشد تا بتواند میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها را علاوه بر سطح، در عمق ماده غذایی نیز عقیم سازد، اما در عین حال نباید ماده غذایی را به‌صورت رادیواکتیو درآورد. از این جهت است که تابش نوترونی علی‌رغم نفوذ زیاد نامناسب می‌باشد و به‌طور کلی پرتوهای گاما و بتا برای این منظور مورد

استفاده قرار می‌گیرند. البته پرتوهای اخیر نیز چنانچه در سطح بالایی از انرژی به کار گرفته شوند می‌توانند ماده غذایی را رادیواکتیو سازند، اما چنین سطحی از انرژی به‌مراتب بیشتر از آن است که در تابش‌دهی مواد غذایی مورد نیاز و قابل استفاده است. پرتودهی برای افزایش طول عمر مواد غذایی و حفظ کیفیت غذاها، توسط کاهش بار میکروبی که عمدتاً عامل فساد هستند، بسیار مناسب است. این روش برای کاهش بار میکروبی غلات، ادویه‌ها، میوه‌جات خشک شده و دانه‌ها استفاده می‌شود [۹]. اهمیت فرآیند پرتودهی نه فقط برای کاهش میکروارگانیسم‌های غیر دلخواه و افزایش مدت‌زمان نگهداری است، بلکه بر روی خصوصیات فیزیکی - شیمیایی، تغذیه‌ای و بیولوژیکی غذاها هم مؤثر است [۱۱]. یک اثر نامطلوب این روش، تشکیل لیپیدهای اکسیدشده در اثر واکنش بین چربی غشاء سلولی و چربی‌های موجود در غذا با رادیکال اکسیژن تولیدشده توسط پرتو افکنی گاما است و می‌تواند در ایجاد طعم نامطلوب مؤثر باشد [۱۲]. با توجه به اهمیت سلامت محصولات پرتودهی شده، اشعه یونیزه کننده (ionizing radiation) غالباً برای گروه بزرگی از غذاها استفاده می‌شود. از کان در سال ۲۰۰۹ نشان داد که دز تا ۱۰ کیلوگری خطرات سمیت و مشکلات تغذیه‌ای و میکروبیولوژی ندارد. استفاده از پرتودهی گاما در کنترل رشد کپک‌ها و تولید میکوتوکسین بسیار مفید است [۱۳]. فائو، تخمین زده است که حدود ۲۵ درصد محصولات کشاورزی دنیا، به میکوتوکسین‌ها آلوده هستند، که منجر به ضررهای اقتصادی معنی‌داری می‌گردد. ممانعت از آلودگی به آفلاتوکسین، قبل از برداشت یا در طی برداشت و انبارداری همیشه امکان‌پذیر نیست و نیازمند ضدعفونی هم در مواد غذایی و هم در خوراک دام است. چالش‌هایی که بشر در علوم و مهندسی در قرن بیست و یکم با آن مواجه است، امنیت غذا و سلامت مواد غذایی است و سازمان بهداشت جهانی اشاره کرده است که علاوه بر اهمیت مواد غذایی، سالم بودن آن نیز بسیار مهم است. استفاده از دزهای مناسب پرتودهی گاما، راهی برای رسیدن به این امر مهم است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. ارقام پسته شامل کله قوچی - اکبری - اوحدی و احمدآقایی از اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی رفسنجان با تأییدیه عدم وجود آفلاتوکسین، خریداری گردید. پلاستیک پلی آمیدو پلی استر قابل انعطاف، از شرکت ۱۱۰ واقع در تهران خریداری شد. میکروارگانسیم اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوسپارازیتیکوس از سازمان عملی پژوهشی ایران تهیه شد. مواد شیمیایی مرک از شرکت‌های معتبر خریداری شد. ستون‌های ایمونو افینیتی و استاندارد این سموم از شرکت مرجعان خاتم تهران خریداری شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تهیه جدایه قارچ و کشت آن در محیط کشت

در این پژوهش جدایه ی از قارچ اسپرژیلوس فلاووس با کد PTCC5004 و قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس با کد PTCC5286 خریداری شده از سازمان علمی پژوهش‌های صنعتی ایران، استفاده شد. سپس برای کشت از محیط‌های Potato Dextrose Agar (PDA) استفاده شد. این کشت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت و بعد از چهار روز قابل استفاده برای تهیه اسپور با غلظت مناسب بود.

۲-۲-۲- شمارش اسپورهای زنده قارچ برای رسیدن به

سوسپانسیون به غلظت مناسب

برای این منظور از لام نئوبار یا هموسایتومتر استفاده شد. برای به دست آوردن غلظت مناسب اسپور از فرمول‌های زیر استفاده گردید. تعداد اسپورهای شمارش شده $\times 50 =$ (تعداد اسپور در mm^3) $\times 1000 =$ تعداد اسپور در میلی‌متر برای تهیه رقتی از یک سوسپانسیون اسپور از فرمول زیر استفاده شد.

غلظتی که میخواهید / غلظتی که دارید = ضریب رقت

۲-۲-۳- آغشته کردن پسته‌ها با اسپور قارچ

ابتدا پسته‌های تهیه شده درجه بندی و سپس به وزن‌های پانصد گرمی توزین گردیدند. پسته‌ها پس از توزین در وزن‌های ۵۰۰ گرمی در بشقاب‌های یک بار مصرف، مورد اسپور پاشی با

قارچ‌های مولد سم آفلاتوکسین به غلظت معینی ($10^8 \times \text{cfu/ml}$) قرار گرفتند. بعد از به تعادل رسیدن رطوبت، پسته‌ها در پلاستیک پلی استر-پلی اتیلن قابل انعطاف 70×50 سانتیمتر و ضخامت ۹۰ میکرون که نسبت به نفوذ گاز و رطوبت بسیار مقاوم است با دوخت حرارتی بسته‌بندی شدند. پسته‌ها به چهار قسمت مساوی تقسیم و بر روی آن‌ها کدگذاری صورت گرفت. این چهار قسمت عبارت بودند از نمونه‌های شاهد، نمونه‌های پرتودهی شده با دز ۳ کیلوگری، نمونه‌های پرتودهی شده با دز ۵ کیلوگری و نمونه‌های پرتودهی شده با دز ۹ کیلوگری. در هر قسمت، چهار نوع پسته بسته‌بندی شده، شامل ارقام مذکور وجود داشت. همه بسته‌ها به جز نمونه شاهد در سازمان انرژی اتمی ایران مورد تابش پرتوگاما در دز مناسب قرار گرفتند. البته بین اسپور پاشی بر روی پسته‌ها و پرتودهی، کمتر از ۲۴ ساعت زمان بود که اسپور ها به مرحله جوانه‌زنی نرسند. مدل دستگاه، گاماسل ۲۲۰ به نام GC220 ساخت کشور کانادا و شرکت نوردیون است. میزان دز ۳ کیلوگری با زمان ۲۲ دقیقه و ۸ صدم ثانیه، ۵ کیلوگری با زمان ۳۶ دقیقه و ۵۵ صدم ثانیه و میزان دز ۹ کیلوگری با زمان یک ساعت و ۶ دقیقه و ۲۹ صدم ثانیه انجام شد. بسته‌ها برای مدت زمان ۹ ماه در شرایط انبار معمول، دمای ۱ درجه سانتی‌گراد رطوبت نسبی حداکثر ۴۳ درصد نگهداری شدند. پس از هر سه ماه نمونه‌ها مورد ارزیابی آفلاتوکسین و ارزیابی طعم قرار گرفتند.

۲-۲-۴- اندازه‌گیری آفلاتوکسین های گروه B و G به

طریق کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص سازی با

ستون ایمونو افینیتی

ابتدا نمونه برداری از پسته و آماده‌سازی آن بر اساس استاندارد ملی ایران ۵۱۹۷ سال ۱۳۷۸ انجام شد [۱۴]. با استفاده از حلال متانول - آب (8:2) عصاره استخراج گردید. عصاره به دست آمده با حجم مشخصی از آب تا رسیدن به یک غلظت معین رقیق گردید.

عصاره رقیق شده از ستون‌های ایمونو افینیتی که داری آنتی‌بادی ویژه آفلاتوکسین های B و G هستند عبور داده شد. با عبور عصاره رقیق شده از ستون، سم موجود در عصاره (آنتی‌ژن) به آنتی‌بادی‌های درون ستون متصل گردید. سم متصل شده به

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آفلاتوکسین کل

بیشترین مقدار آفلاتوکسین کل در رقم کله قوچی تیمار شاهد و در پایان دوره ۹ ماه انبارداری معادل ۶۴۵۲,۷ پی پی بی بود. با افزایش دوره انبارداری در تمامی تیمارها و ارقام مورد مطالعه آفلاتوکسین افزایش یافت (نمودار و جدول ۱). استفاده از تیمارهای ۵ و ۹ کیلوگری، پرتودهی گاما بر روی ارقام پسته در تمامی دوره‌های انبارداری منجر به کاهش صد در صد آفلاتوکسین گردید. در حقیقت با این میزان پرتوگاما حذف کامل اسپور قارچ‌های مولد سم آفلاتوکسین انجام شد که عدم رشد آن‌ها، عدم تولید آفلاتوکسین در بردارد. از بین ارقام مورد مطالعه، رقم کله قوچی بیشترین میزان توکسین را دارد و کمترین میزان توکسین مربوط به رقم اوحدی است، شاید این بهترین دلیل افزایش صادرات این رقم در استان کرمان باشد، ضمن آنکه تعداد دانه پسته در انس این رقم زیاد است. بعد از رقم کله قوچی، رقم احمدآقایی، اکبری و در پایان رقم اوحدی از نظر میزان تولید آفلاتوکسین قرار دارند. با افزایش دز پرتوگاما میزان آفلاتوکسین کاهش یافت با افزایش دوره انبارداری میزان آفلاتوکسین در تیمارهای شاهد و تیمار سه کیلوگری پرتوگاما افزایش نشان داد. در تیمار ۳ کیلوگری پرتوگاما میزان آفلاتوکسین نسبت به شاهد کاهش چشمگیری داشته است اما در بعضی از ارقام میزان این سم از حد استاندارد خارج بود که با افزایش دوره انبارداری افزایش داشت. پژوهش آلبشیر در سال ۲۰۱۴ این نتایج را تأیید می‌کند. او تحقیقی بر روی تأثیر اشعه گاما بر بار میکروبی پسته‌های وارسته هالی (Halebi) در سوریه انجام داد و به این نتیجه رسید که اشعه به‌طور معنی‌داری کیفیت میکروبی پسته را بهبود می‌دهد ($p < 0/05$). کیفیت پسته با کاهش و یا حذف بار باکتری‌ها و کلاسپور قارچ‌های مولد آفلاتوکسین پسته افزایش یافت. نمونه‌های پسته با دزهای ۱,۲ و ۳ کیلوگری پرتودهی و به مدت ۱۲ ماه در انبار پسته نگهداری شدند. بلافاصله بعد از پرتودهی و بعد از ۱۲ ماه انبارداری، مورد آزمایش شمارش

آنتی‌بادی در درون ستون توسط عبور متانول از داخل ستون، شسته و درون ویال جمع‌آوری و با آب رقیق گردید. تعیین مقدار و نوع آفلاتوکسین، با استفاده از روش فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا که مجهز به مشتق ساز پس ستون، است انجام گرفت. مشتق ساز پس ستون، آفلاتوکسین های B_1 و G_1 را بر مبنه نموده و آن‌ها را به ترتیب به دو ترکیب B_{2a} و G_{2a} تبدیل می‌کند که این دو ترکیب شدت فلورسانس بیشتری را نسبت به سموم B_1 و G_1 دارا بوده، لذا پیک‌ها قابل رؤیت می‌گردند. دکتور فلورسانس با طول موج برانگیختن ۳۶۲ نانومتر و طول موج نشر آفلاتوکسین B_1, B_2 ۴۲۶ نانومتر و آفلاتوکسین G_1, G_2 ۴۶۵ نانومتر است. درجه حرارت ستون، ۴۰ درجه سانتی‌گراد است. تعیین مقدار آفلاتوکسین، از مقایسه سطح زیر منحنی و یا ارتفاع منحنی‌های استاندارد با نمونه مجهول با احتساب ضریب رقت محاسبه شد [۱۵].

۲-۲-۵- ارزیابی حسی پسته‌ها

برای انجام این کار، سی نفر (پانزده نفر زن و مابقی مرد) در سن‌های بیست و چهار تا چهل سال انتخاب شدند. سپس به هر نفر بیست گرم پسته از هر تیمار داده شد و از آن‌ها خواسته شد که بر اساس طعم و مزه، امتیاز بدهند. بعد از مصرف هر نمونه، باکمی آب، مزه پسته قبلی را پاک نمودند. شرایط اندازه‌گیری از نظر دما و نور مطابق استاندارد بود. به ارزیاب گفته شده بود که از بین اعداد زیر برای بیان نظر خود انتخاب نماید، به طوری که عدد یک غیر قابل قبول، عدد ۲ ضعیف، عدد ۳ نسبتاً مناسب، عدد ۴ خوب و عدد ۵ عالی بود [۱۶].

۲-۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

بررسی داده‌های حاصل از تحقیق با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) با کمک تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند.

۲-۳- آفلاتوکسین B

بیشترین مقدار آفلاتوکسین B1, B2 مربوط به رقم کله قوچی تیمار شاهد و در دوره ۹ انبارداری (۳۵۸۴,۹ppb) است. با افزایش دوره انبارداری در تمامی تیمارها و ارقام مورد مطالعه، آفلاتوکسین افزایش یافت. استفاده از تیمارهای ۵ و ۹ کیلوگری پرتو دهی گاما بر روی ارقام پسته در تمامی دوره‌های انبارداری منجر به کاهش صد در صد آفلاتوکسین گردید (نمودار ۳). قارچ‌ها بسته به نوع آن‌ها در تولید نوع آفلاتوکسین اهمیت دارند و آفلاتوکسین نوع B که خطرناک‌ترین سم است، توسط قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تولید می‌شود. استفاده از پرتو گاما در کاهش بار میکروبی مؤثر است و به دنبال از بین رفتن میکروارگانیسم‌های مولد آفلاتوکسین، میزان آفلاتوکسین اندازه‌گیری شده به صفر رسید، که با نتایج آلبشیر در سال ۲۰۱۴ مطابقت دارد [۱۷]. پسته‌های قابل صدور به اتحادیه اروپا از نظر میزان آفلاتوکسین کل باید حداکثر ۱۰ppb و میزان آفلاتوکسین B1 حداکثر ۸ ppb باشد.

۳-۳- آفلاتوکسین G1, G2

بیشترین مقدار آفلاتوکسین G1, G2 مربوط به رقم کله قوچی تیمار شاهد و در دوره ۹ ماه انبارداری (۲۸۶۷,۸ppb) است. با افزایش دوره انبارداری در تمامی تیمارها و ارقام مورد مطالعه آفلاتوکسین افزایش داشت (نمودار ۲). استفاده از دز ۵ و ۹ کیلوگری می‌تواند به میزان صدر صد باعث حذف اسپور قارچ‌های مولد آفلاتوکسین شده و از تولید این نوع آفلاتوکسین جلوگیری نماید. در حقیقت میزان آفلاتوکسین کل از مجموع آفلاتوکسین B, G است و در استاندارد جهانی، میزان آفلاتوکسین کل و نوع B به خاطر سمیت آن اهمیت دارد.

میکروبی (قارچ و باکتری) قرار گرفتند. تعداد میکروب‌ها در تمام نمونه‌های پرتو دهی شده به کمتر از یک عدد در هر گرم پسته گزارش شد که نشان دهنده، تأثیر پرتو گاما بر کاهش بار میکروبی است [۱۷]. کاهش بار میکروبی (قارچ و باکتری) توسط باهاتی و همکاران در سال ۲۰۱۳ که بر روی بادام انجام شد این نتایج را تصدیق می‌نماید [۱۸]. براگینی و همکارانش در سال ۲۰۰۹ به تأثیر پرتو گاما در کاهش بار میکروبی غلات پی برد [۱۹]. کلبه و او هم در سال ۲۰۰۸ همین نتایج را بر روی دانه کاج به‌دست آورد [۲۰]. این نتایج با پژوهش‌های عزیز و محروس در سال ۲۰۰۴ بر روی دانه‌های کشاورزی [۲۱] و محروس و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی دانه غلات، مطابقت دارد [۲۲]. سیلوا و همکاران در سال ۱۹۸۷ نیز پیشنهاد کردند که استفاده از پرتو گاما با دز سه کیلوگری در کاهش بار میکروبی گردو آمریکایی مؤثر است. این اشعه مستقیماً با صدمه رساندن به DNA میکروارگانیسم و یا به طور غیرمستقیم با ایجاد رادیکال‌های آزاد در از بین بردن میکروب‌ها مؤثر است [۲۳]. از کاندلر سال ۲۰۰۹ نشان داد که دز تا ۱۰ کیلوگری خطرات سمیت و مشکلات تغذیه‌ای و میکروبیولوژی‌ای ندارد و استفاده از پرتو دهی گاما در کنترل رشد کپک‌ها و عدم تولید میکوتوکسین بسیار مفید است [۱۳]. هوشمند و همکاران گزارش کردند که دزهای ۱۵، ۲۰، ۳۰ کیلوگری پرتو گاما باعث تخریب ۵۵ تا ۶۴ درصد آفلاتوکسین B1 در نمونه‌های بادام زمینی شده است. در یک مطالعه، پرتو ۱۰ کیلوگری در ذرت باعث ۸۰ درصد کاهش آفلاتوکسین شده است. که این اختلاف را می‌توان به مقدار آفلاتوکسین B1 ابتدایی در نمونه‌ها قبل از پرتو دهی ارتباط داد [۲۴]. این نتایج با بررسی‌های دادخواه و همکاران در سال ۱۳۸۸ که اثر پرتو گاما را بر روی بار میکروبی زیره سیاه مورد بررسی قرار دادند مطابقت دارد [۲۵]. با افزایش دز پرتو دهی بار میکروبی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و در دز ۲۵ کیلوگری شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها خصوصاً باکتری‌های اسپور دار به صفر می‌رسد [۹].

Table 1 The interaction of different dose rates of gamma rays on pistachio cultivars stored at different times on pistachio quality factors

Cultivar	Treatment(kGy)	Months	Total of aflatoxin ppb	aflatoxinB ppb	aflatoxinG ppb
Ohadi	control	3	68.2 k	51.8 k	16.3 m
		6	100.2 i	88.2 h	12.0 n
		9	184.1 h	110.1 f	74.1 h
	3	3	0.2 u	0.2 st	0 p
		6	8.2 s	8.2 r	0 p
		9	30.8 n	19.6 n	11.2 o
	5	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
	9	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
Kalleh-	control	3	1023.7 c	637.7 c	386.0 c
		6	3226.8 b	1827.3 b	1399.5 b
		9	6452.7 a	3584.9 a	2867.8 a
	3	3	0.2 u	0.2 st	0 p
		6	19.1 p	19.1 o	0 p
		9	19.9 o	19.6 n	0.1p
	5	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
	9	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
Ahmadaghae	control	3	142.8 hi	68.8 i	73.9 j
		6	272.8 f	117.8 e	155 e
		9	384.6 d	204.5 d	180.1 d
	3	3	0.5 t	0.5 s	0 p
		6	12.4 r	12.2 q	0.2 p
		9	54.5 l	35.1 l	19.4 l
	5	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
	9	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
Akbari	control	3	98.2 j	59.1 j	39.1 j
		6	200.1 g	100.2 g	100 g
		9	352.4 e	204.7 d	147.7 f
	3	3	0.5 t	0.5 s	0 p
		6	17.1 r	17.0 p	0.1 p
		9	49.8 m	26.3 m	23.5 k
	5	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
	9	3	0 u	0 t	0 p
		6	0 u	0 t	0 p
		9	0 u	0 t	0 p
0 p	0 t	0 u	6		
0 p	0 t	0 u	9	9	

Numbers with the same letters do not differ statistically.

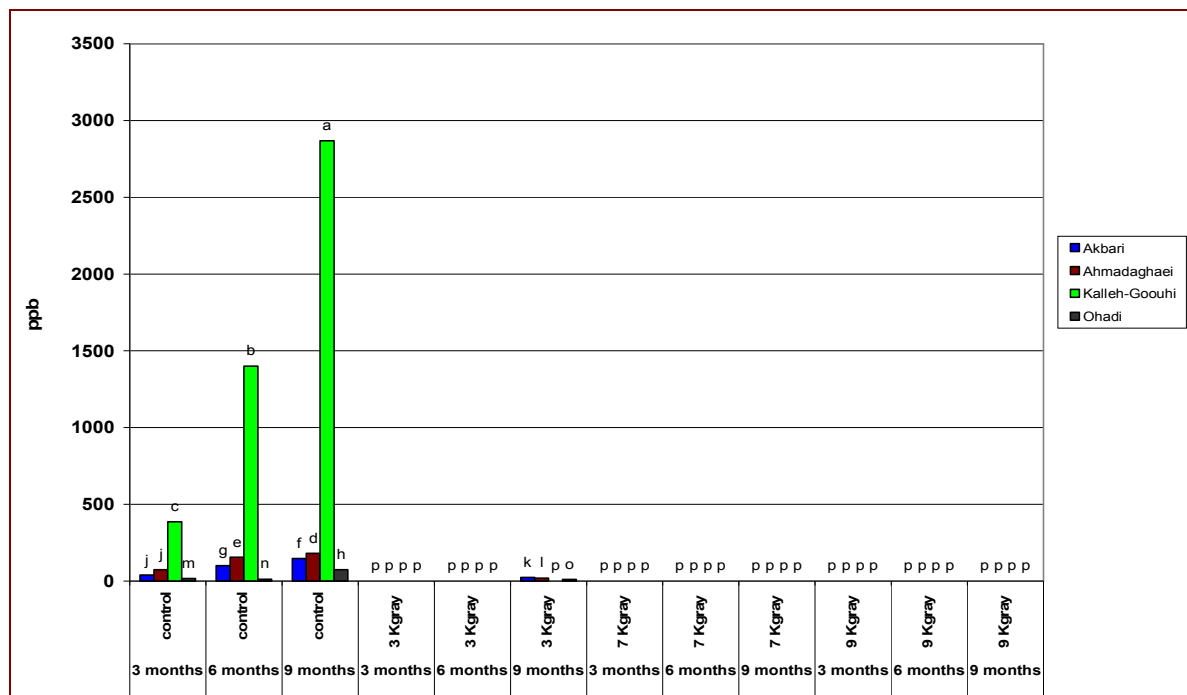


Fig 1 The effect of gamma irradiation on much of aflatoxin G1, 2 in packed pistachios

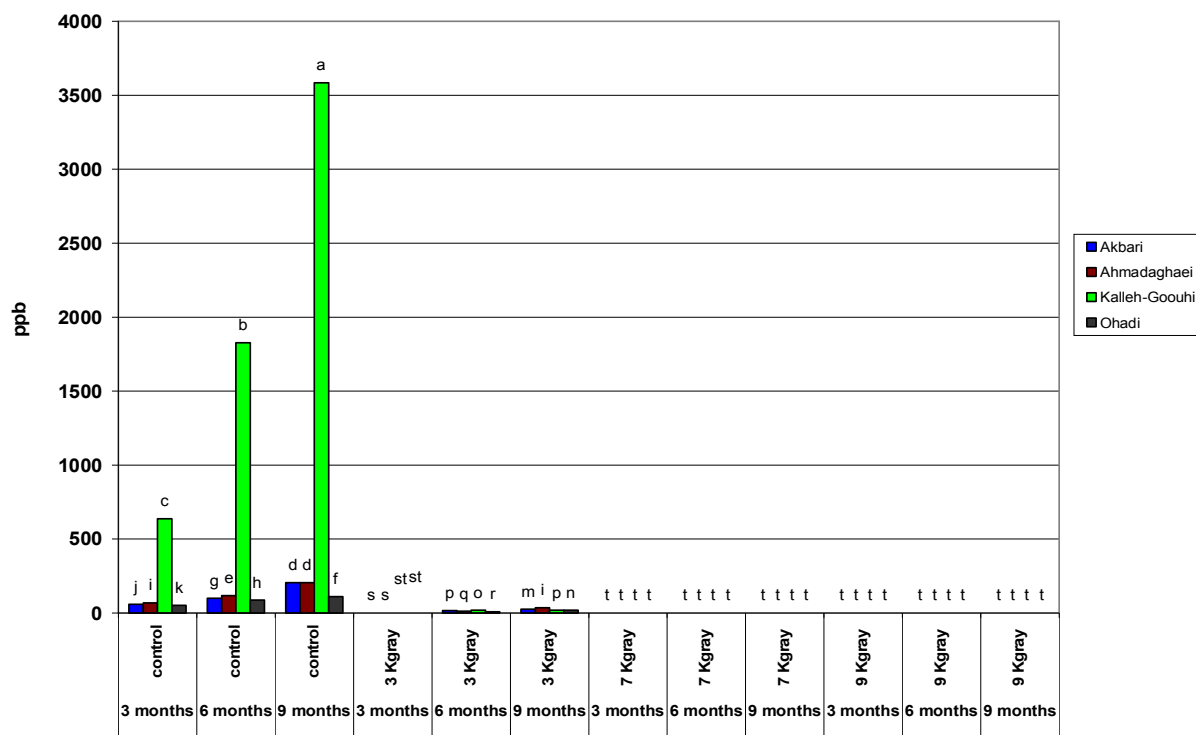


Fig 2 The effect of gamma irradiation on much of aflatoxin B1, 2 in packed pistachios

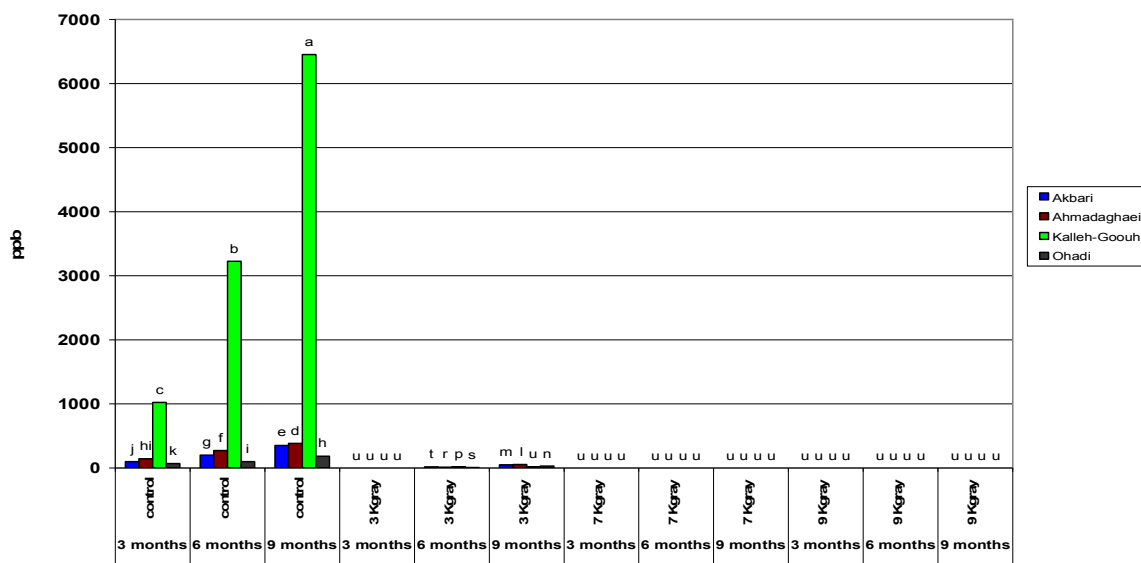


Fig 3 The effect of gamma irradiation on much of total aflatoxin in packed pistachios

ارگانولپتیک قابل پذیرش بوده و اختلاف معنی داری با شاهد وجود ندارد [۲۷].

در سال ۱۹۸۴ اکاشانی و والادن به این نتیجه رسید که استفاده از پرتوگاما با دوز ۱ کیلوگری هیچ طعم نامطلوبی در پسته ایجاد نمی کند [۲۸]. همچنین در سال ۲۰۰۴ آلبشیر گردو را تحت تأثیر پرتوگاما با دزهای ۰/۵، ۱/۵ و ۳ کیلوگری قرار داد و بلافاصله بعد از پرتودهی، ارزیابی حسی را بر روی تیمارهای شاهد و پرتو دیده شده انجام داد و به این نتیجه رسید که بین تیمارها و شاهد هیچ اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p < 0/05$) [۲۶].

در مورد واریته ها و زمان هم مطابق با جدول ۳ و ۴ می توان نتیجه گرفت که بهترین طعم را واریته های احمد آقایی و اکبری دارند و بعد از آن اوحدی و کله قوچی قرار داشته که با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند ($p < 0/05$).

Table 3 The mean values of different varieties of pistachios on flavor value

Flavor value	Treatments
3.66±0.18b*	Ohadi
3.25±0.15a	Kalleh-Gooouhi
3.87±0.15c	Ahmadaghaei
3.83±0.16c	akbari

*Numbers with the same letters do not differ statistically

در ضمن با افزایش زمان تغییر طعم کاملاً محسوس است به طوری که بعد از گذشت ۹ ماه، مشخص می باشند.

۳-۴-تحلیل آماری نتایج آزمون حسی

با توجه به جدول شماره ۲ در مورد تیمارهایی که مورد تابش پرتوگاما قرار گرفته اند، می توان به این نتیجه رسید که طعم نمونه های پسته تا دوز ۵ کیلوگری که شامل نمونه های شاهد، ۳ و ۵ کیلوگری می باشند در یک گروه و تیمار با ۹ کیلوگری در گروه دوم قرار دارد که با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند ($p < 0.05$). بر این اساس آلبشیر در سال ۲۰۱۴ و ۲۰۰۴ طبق تحقیقی که در این زمینه انجام داد به این نتیجه رسید که نمونه های پسته و گردو تابش داده شده با اشعه گاما تا ۳ کیلوگری هیچ گونه تغییری از نظر طعم و مزه با نمونه های شاهد ندارند [۱۷ و ۲۶].

Table 2 The mean values of different dose of irradiation on flavor value

Flavor value	Treatments
4.25±0.16b*	Control
4.25±0.15b	3
4.28±0.16b	5
3.20±0.15a	9

*Numbers with the same letters do not differ statistically

همچنین مطالعات دیگری که در مورد مغز بادام زمینی تابش دیده با دز کمتر از ۳ کیلوگری انجام شد، نشان داد که از نظر

کشت ارقام اکبری واحمدآقایی پسته بسیار کم بوده ولی از بازارپسندی بالایی برخوردارند. از طرفی بیشترین صادرات مربوط به رقم اوحدی است، بعدازآن رقم کله قوچی قرار دارد و رقم های اکبری واحمدآقایی، میزان صادرات بسیار کمی دارند. در استان های پسته خیز، بعد از برداشت پسته، آن ها را به مدتی در انبارهای مناسب نگهداری می کنند تا صادر و یا به فروش برسند. با افزایش زمان نگهداری طعم و مزه پسته تغییر می کند.

Table 4 The mean values of different preservation time of pistachios on flavor value

Flavor value	Treatments
4.18±0.07b*	Time1
4.18±0.07b	Time2
2.50±0.09a	Time3

*Numbers with the same letters do not differ statistically

بیشترین سطح زیر کشت پسته استان کرمان مربوط به وارپته اوحدی است بعدازاین وارپته، رقم کله قوچی قرار دارد. سطح زیر

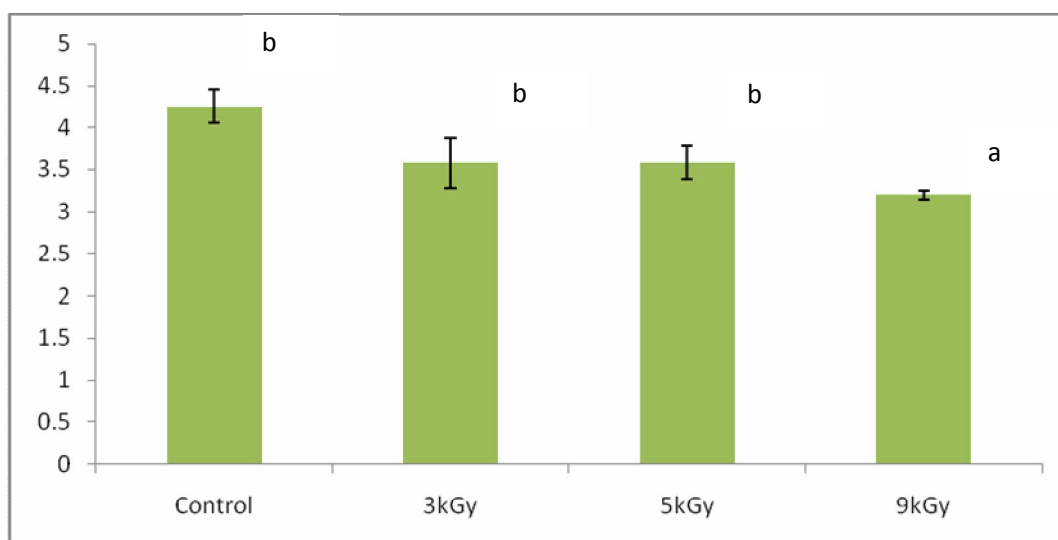


Fig 4 The effect of radiation on the taste of packaged pistachios.

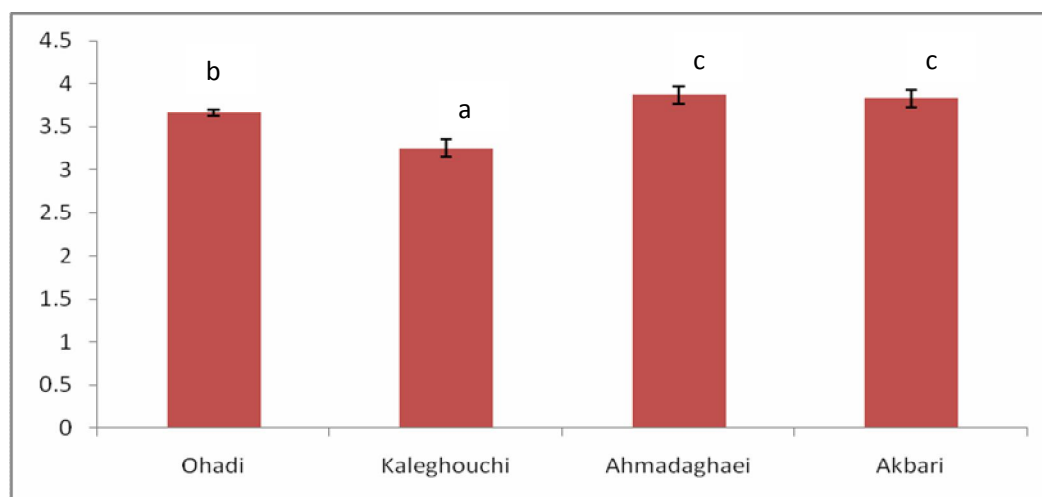


Fig 5 The effect of varieties on the taste of packaged pistachios.

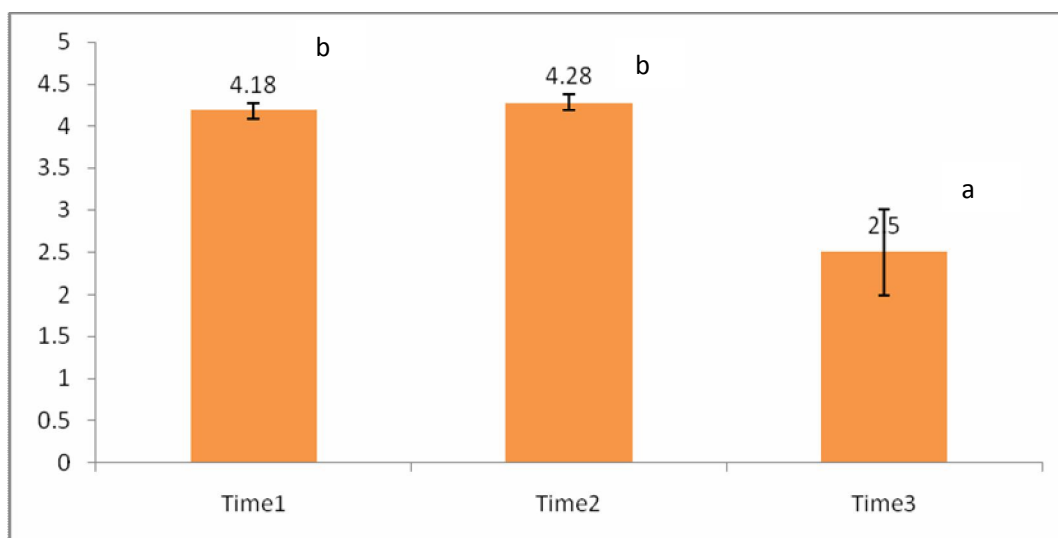


Fig 6 Reduces the taste of pistachios over time.

۴- نتیجه گیری

براساس نتایج این پژوهش به وضوح مشخص گردید که پرتوگاما در کاهش بار میکروبیوموثر است. نتایج حاکی از آن است که از بین این سه دز جهت پرتودهی، مناسبترین دز ۵ کیلوگری به بالا است که در طول مدت نه ماه انبارداری تمامی ارقام پسته، امکان رشد قارچهای مولد آفلاتوکسین فراهم نشد و میزان آن صفر گزارش گردید. البته در دز سه کیلوگری، نتیجه به دست آمده در ارقام مختلف پسته متفاوت است که یکی از دلایل آن مربوط به ساختمان فیزیکی و متفاوت بودن ترکیبات آنهاست. میزان آفلاتوکسین کل رقم واحدی پرتودهی شده با دز ۳ کیلوگری در پایان شش ماه انبارداری کمتر از ۱۰ ppb گزارش شده است. استفاده از دز سه کیلوگری برای ارقام کله قوچی، اکبری و احمدآقایی فقط به مدت سه ماه توصیه می شود به طوری که بعد از شش ماه انبارداری میزان آفلاتوکسین کل از حد استاندارد کشور خارج است. لذا برای حفظ کیفیت پسته و امکان صادرات به کشورهای اروپایی استفاده از دزهای بالاتر از ۵ کیلوگری مناسب است. به دلیل آنکه بهترین طعم مربوط به پستههای پرتودیده با دزهای ۳ و ۵ کیلوگری است بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که دز ۵ کیلوگرینه تنها از رشد میکروارگانیسمها جلوگیری می نماید بلکه از نظر فاکتور طعم هم تغییری بر روی طعم پسته ایجاد نمی کند.

۵- منابع

- [1] Faruk Gamli, O., Hayoglu, I. 2007. The effect of different packaging and storage conditions on the quality of pistachio Nut past. *Journal of Food Engineering*, 78, 443-448.
- [2] Johnson, J.A. 2012. Dried fruit and nuts: United States of America. In: *Crop Post-Harvest Science and Technology*, Vol.2: Durables, K Hodges and G. Farrell (Eds.), Oxford, U.K.: Blackwell Science, 226-235.
- [3] Campbell, B.E., Molyneux, R.J., Schatzki, T.F. 2003. Current research on reducing pre- and postharvest aflatoxin contamination of US almond, pistachio, and walnut. *Journal of Toxicology-Toxin Review*, 22, 225-226.
- [4] Fernane, F., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., Marin, S., Ramos, A.J. 2010. Aflatoxins and ochratoxin A in pistachios sampled in Spain: Occurrence and presence of mycotoxigenic fungi. *Food Additives & Contaminants B*, 3, 185-192.
- [5] Reis, T.A., Oliveria, T.D., Baquiao, A.C., Goncalves, S.S., Zorzete, P., Correa, B. 2012. Mycobiota and mycotoxins in Brazil nut samples from different states of the Brazilian Amazon region. *International Journal of Food Microbiology*, 159, 61-68.
- [6] UNEP (United Nations Environmental Programme). 2006. Handbook for the Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer, 7th ed., UNEP Ozone Secretariate, Nairobi, Kenya. Handbook.
- [7] Sirisoontarak, P., Noomhorm, A. 2006. Changes to physicochemical properties

- microbiological safty evaluation of oils extracted from gamma irradiated almond (*Prunusdulcis* Mill.)seeds.*Grasas Y Aceites*,64(1), 68-76.
- [19] Braghini, R., Pozzi, C.R., Aquino, S., Rocha, L., O., Correa,B.2009.Effects of gamma radiation on the fungus *Alternaria alternate* in artificially inoculated cereal sampels.*Applied Radiation and Isotopes*, 67, 1622-1628.
- [20] Golge, E., Ova,G. 2008. The effects of food irradiation on quality of pine nut kernels.*Radiation Physics and Chemistry*. 77, 365-369.
- [21] Aziz, N.H., Mahrous, S.R.2004. Effect of gamma irradiation on aflatoxin B1 production by *Aspergillus Xavus* and chemical composition of three crop seeds. *Nahrung/Food*. 48.234-238.
- [22]Mahrous, S.R., Aziz, N.H., Shahin, A.A.2003. Influence of gamma irradiation on the occurrence of pathogenic microorganisms and nutritive value of some cereal grain. *Isotope and Radiation Research*, 34(3), 551-568.
- [23] Silva, J.L., Tyagaraj, C.S., Matta, F.B.1987. The use of ionizing radiation and an antioxidant in retail packed pecan halves. *Northern Nut Growers Association Annual Report*, 78,63-67.
- [24] Hooshmand, H., Klopfenstein, C.F.1995. Effects of gamma irradiation on mycotoxin disappearance and amino acid contents of corn, wheat,and soybean with different moisture contents. *Journal of Plants Foods Human Nutrition*.
- [25] Dadkhah A, Khalafi H, Rajae R, Allameh A, Rezaei MB, Seyhoon M, 2009, Study ofthe Effects of Gamma-Irradiation on Microbial Load and Efficient Extracts of Caraway Seeds, *J. of Nuclear Sci. and Tech*, 49: 27-43[in persian].
- [26] Al-Bachir, M.2004. Effect of gamma irradiation on fungal load, chemical and sensory characteristics of Walnut (*Juglans regia* L.),*Journal of Stored Production Research*, 40: 353-362.
- [27] Mexis, S.F., Kontominas, M.G. 2009.Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of cashew nuts (*Anocardium occidentale* L), *LWT-Food Science Technology*, 42, 1501-1507.
- [28]Kashani, G.G., Valadon, L.R.G.1984. Effects of gamma irradiation on the lipids, carbohydrates and proteins of Iranian pistachio Kernels. *Journal of Food Technology*, 19, 631.
- and aroma of irradiated rice. *Journal of Stored Products Research*, 42, 264-276.
- [8] Kabak, B., Dobson, A., 2006.Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46,593-619.
- [9] Al-Bachir, M., 2004. Effect of gamma irradiation on fungal load, chemical and sensory characteristics of Walnut (*Juglansregia* L.). *J. Stored Prod. Res*.40, 353-362.
- [10] Gumus, T., Gecgel, U., Demirci, A.S., Arici, M., 2008.Effects of gamma irradiation on two heat resistant moulds:*Aspergillusfumigatus* and *PaecilomycesVariotii* isolated from margarine. *Radiation Physics and Chemistry*.77, 680-683.
- [11] Afify, A. M. R., Rashed, M. M., Ebtesam, A. M., &El-Beltagi, H. S.2013.Effect of gamma radiation on the lipid profiles of soybean,peanut and sesame seed oils. *Grasas y aceites*.64,356-368.
- [12] Nam, K. C., &Ahn, D.U., 2003. Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw and cooked turkey breast. *Meat Science* 63.389-395.
- [13] Ozcan, M. M.2009.Some nutritional characteristics of fruit and oil of walnut (*Juglansregia* L.).*Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 28, 57-62.
- [14] Institute of Standard and Industrial Research of Iran. (ISIRI).2002. Maximum tolerated limits of mycotoxins in foods and feeds, National Standard No, ۵۱۹۷.
- [15] Ruadrew, S., Craft, J., Aidoo, K. 2013. Occurrence of toxigenic *Aspergillus* spp. And aflatoxins in selected food commodities of Asian origin sourced in the West of Scotland. *Food and Chemical Toxicology*. 55, 653-658.
- [16] Al-Bachir, M. 2014.Microbiological, sensorial and chemical quality of gamma irradiated pistachio nut (*Pistacia vera* L.), *Food Technology*, 32(2): 57-68.
- [17]Tsantili, E., Takidelli, C., Christopoulos, M.V., Lambrinea, E., Rouskas, D. and Roussos, P.A.2010. Physical, compositional and sensory differences in nuts among pistachio (*Pistachia vera*L.) varieties,*Scientia Horticulturae*, 125, 562-568.
- [18] Bhatti, I.A., Iqbal, M.,Anwar, F., Shahid, S.A, Shahid,M.2013.Quality characteristics and

The effects of gamma irradiation on microbial quality and sensory characteristics of four pistachio cultivars during nine months of storage at Kerman

Khorasani, S.¹, Azizi, M. H.^{1*}, Barzegar, M.¹, Hamidi, Z.¹

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

(Received: 2017/06/10 Accepted: 2018/01/13)

Aflatoxin contamination is one of the main problems for producers, and when compared with other farm produce, pistachio has the highest risk of aflatoxin contamination. In Iran, the maximum acceptable levels of aflatoxin B1 and total aflatoxin are 8 and 10 ppb or nanograms per grams respectively. One way to prevent this dangerous poison is to provide a situation in which there is no possibility for aflatoxin generator fungi to grow. To this end, four aflatoxin-free pistachio cultivars, grown in Kerman, Iran, were taken from the Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Following the impregnation with the *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* fungal spores were packed and gamma irradiated in 3, 5, and 9-kilogray doses at the Atomic Energy Organization of Iran. The results revealed that the increase in radiation dose resulted in removal of aflatoxin generator fungi, and there was no possibility for their growth during the 9-month storage period, thus the aflatoxin production was reported to be zero. In the control sample, however, the fungal spore increased, and the aflatoxin production was reported to be higher than the standard. Sensory evaluation revealed that there was no marked change in the pistachios' taste up to the 5-kilogray dose, and there was no significant difference between the control sample and up to the 5-kilogray irradiated treatments ($p < 0/05$). It is concluded that the proper amount of gamma radiation dose to remove aflatoxin generator fungal spore, and yet let the nuts maintain a proper taste, needs to be 5 kilogray.

Key words: Gamma irradiation, Commercial pistachio, Aflatoxin, Aflatoxin producing fungi and sensory analysis

* Corresponding Author E-Mail Address: azizit_m@modares.ac.ir