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 وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران
۳- استاد گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران
٤- دانشیار گروه علوم وصنایع 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 کل۸ و ۱۰پیپی 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 تأیید یه 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 گزارش‌شد. در نمونه‌های شاهد علاوه بر رشد اسپور قارچ، که کاملاًاز نظر ظاهری قابل مشاهده بود، میزان تولید آفلاتوکسین هم به میزان خیلی زیادی گزارش‌شد، 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

*مسئول مکاتبات: azizit_m@modares.ac.ir

۱- مقدمه

پسته محصول اصلی مناطقی مانند ایران، آمریکا، سوریه ، ترکیه، یونان و ایتالیا است ویکی 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 دردسرها در سوریه و ترکیه استفاده می‌شود [۱]. جانسون در سال ۲۰۰٤ 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 آفلاتوکسینمی‌گردد [۳]. ریز و همکاران در سال ۲۰۱۲ به این نتیجه رسیدند که یکی از مهم‌ترین عوامل تولید آفلاتوکسین در اکثر محصولات کشاورزی، صدمه‌ای‌است که توسط حشرات و آفات ایجاد می‌شود[٤ و ٥]. 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 [۲]. براساس پروتکل مونترال، کشورهای توسعه یافته در سال‌های ۲۰۰۵ و ۲۰۱۵ مجبور به حذف، آن بوده زیرا خواص مخرب لایه ازن را دارد [٦]. پرتودهی گاما در حذف حشرات وآفات،یک فنّاوریمؤثر است [۷] و از بیوسنتز 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 وغیرفعال کردن پاتوژن های موجود در غذا است [۱۰]. این روشبه‌منزله 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 به طور کلی پرتوهای گاما وبتا 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 موردنیاز و قابل‌استفاده‌است. پرتودهی برای افزایش طول عمر مواد غذایی وحفظ 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 برروی 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 پرتوافکنی 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. ازکان 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 میکوتوکسین ها 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 داماست. 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 وروش‌ها

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 پلی‌استر قابل انعطاف، از شرکت ۱۱۰ واقع در تهران خریداری شد. میکروارگانیسم *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوسپارازیتیکوس* از سازمان عملی پژوهشی ایران تهیه شد. مواد شیمیایی مرک ازشرکت‌های معتبر خریداری شد. ستون‌های ایمونو افینیتی واستاندارد 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 *آسپرژیلوس فلاووس* با کد PTCC5004 و قارچ *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* با کد PTCC5286 خریداری‌شده 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 وبعد از چهار روز قابل‌استفاده 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 شمارش‌شده × ۵۰= (تعداد اسپور در mm^3) × ۱۰۰۰ = 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 ۵۰۰گرمی در بشقاب‌های یک بار مصرف، مورد اسپور پاشی با قارچ‌های مولد سم آفلاتوکسین به غلظت معینی ($۱۰^{۸}$×۱cfu/ml) قرار گرفتند. بعد از به تعادل رسیدن رطوبت، پسته‌ها در پلاستیک پلی استر–پلی اتیلن قابل انعطاف۵۰×۷۰ 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 کیلو گری و نمونه‌های پرتودهی شده با دز ۹ کیلوگری. در هر قسمت، چهار نوع پسته بسته‌بندی‌شده، 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 پسته‌هاوپرتودهی، کمتر از ٢٤ ساعت زمان بود که اسپور ها به مرحله جوانه‌زنی نرسند. مدل دستگاه، گاماسل ۲۲۰به نام GC220 ساخت کشور کانادا و شرکت نوردیون است. میزان دز ۳کیلوگری با زمان ۲۲دقیقه و۸ صدم ثانیه، ۵ کیلوگری با زمان ٣٦ دقیقه و ۵۵ صدم ثانیه و میزان دز ۹ کیلوگرمی با زمان یک ساعت و ٦ دقیقه و ۲۹ صدم ثانیه انجام شد. بسته‌ها برای مدت‌زمان ۹ ماه در شرایط انبار معمول، دمای ۱ درجه سانتی‌گراد رطوبت نسبی حداکثر ٤٣ درصد نگهداری شدند.پس از هر سه ماه نمونه‌ها مورد ارزیابی آفلاتوکسین و ارزیابی طعم قرار گرفتند.

۲-۲-٤-اندازه‌گیریآفلاتوکسین های گروه B و G به طریق کروماتوگرافی مایع با کاراییبالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوافینیتی

ابتدا نمونه برداری از پسته و آماده‌سازی آن بر اساس استاندارد ملی ایران ۵۱۹۷ سال ۱۳۷۸ انجام شد[١٤]. با استفاده از حلال متانول – آب (8:2) عصاره استخراج گردید. عصاره به‌دست‌آمده با حجم مشخصی از آب تا رسیدن به یک غلظت معین رقیق گردید.

عصاره رقیق‌شده از ستون‌های ایمونوافینیتی که داری آنتی‌بادی ویژه آفلاتوکسین های B و Gهستند عبور داده شد. با عبور عصاره رقیق‌شده از ستون، سم موجود در عصاره (آنتی‌ژن) به آنتی‌بادی‌های درون ستون متصل گردید. سم متصل شده به

آنتی‌بادی در درون ستون توسط عبور متانول از داخل ستون، شسته و درون ویال جمع‌آوری و با آب رقیق گردید.

تعیین مقدارونوع آفلاتوکسین، با استفاده از روش فازمعکوس 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 برمینه 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. دتکتور فلورسانس با طول موج برانگیختن ۳۶۲ نانومتر و طول موج نشر آفلاتوکسین B1, B2 ٤٢٦ نانومتر وآفلاتوکسین G1,G2 ٤٦٥ نانومتر است. درجه حرارت ستون، ٤٠ درجه سانتی‌گراداست. تعیین مقدار آفلاتوکسین، از مقایسه سطح زیر منحنی و یا ارتفاع منحنی‌های استاندارد با نمونه مجهول با احتساب ضریب رقت محاسبه شد[١٥].

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 وازآن‌ها خواسته شد که بر اساس طعم ومزه، امتیاز بدهند. بعد از مصرف هر نمونه، باکمی آب، مزه پسته قبلی را پاک نمودند. شرایط اندازه‌گیری از نظر دما ونور مطابق استاندارد بود.

به ارزیاب گفته شده بود که از بین اعداد زیر برای بیان نظر خود انتخاب نماید، به‌طوری‌که عدد یک غیر قابل قبول، عدد ۲ ضعیف، عدد ۳ نسبتاً مناسب، عدد ٤ خوب و عدد ٥ عالی بود[١٦].

۲-۲-٦-تجزیه و تحلیل آماری

بررسی داده‌های حاصل از تحقیق با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه‌ی20) با کمک تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ٥ درصد انجام گرفت. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-آفلاتوکسین کل

بیشترین مقدار آفلاتوکسین کل دررقم کله قوچی تیمار شاهد و در پایان دوره ۹ ماه انبارداری معادل ٦٤٥٢,٧ پی پی بی بود. با افزایش دوره انبارداری در تمامی تیمارها و ارقام مورد مطالعه آفلاتوکسین افزایش یافت (نمودار۱و جدول ۱). استفاده از تیمارهای ٥ 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 آفلاتوکسینرا در بردارد. از بین ارقام مورد مطالعه، رقم کله قوچی بیشترین میزان توکسین را دارد وکمترین 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 ودر پایان رقم اوحدی ازنظرمیزان 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 بودکه با افزایش دوره انبارداری افزایش داشت. پژوهش آلبشیر در سال ٢٠١٤ این نتایج را تائید می‌کند. او تحقیقی بر روی تأثیر اشعه گاما بر بار میکروبی پسته‌های واریته هالبی(Halebi) در سوریه انجام داد وبه این نتیجه رسید که اشعه به‌طورمعنی‌داری کیفیت میکروبی پسته را بهبود می‌دهد ($p<0/05$). کیفیت پسته با کاهش ویا حذف بار باکتری‌ها و کلاسپور قارچ‌های مولد آفلاتوکسین پسته افزایش یافت. نمونه‌های پسته با دزهای ۱،۲ و۳ کیلوگری پرتودهی وبه مدت ۱۲ ماه در انبار پسته نگهداری شدند. بلافاصله بعد از پرتودهی و بعد از ۱۲ ماه انبارداری، مورد آزمایش شمارش

میکروبی (قارچ و باکتری) قرار گرفتند. تعداد میکروب‌ها در تمام نمونه‌های پرتودهی 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]. کلجه و اوا هم در سال ۲۰۰۸ همین نتایج را برروی دانه کاج بهدست آورد[۲۰]. این نتایج با پژوهش‌های عزیز و محروس در سال ۲۰۰٤بر 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 پرتوگاما 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 کاندر سال ۲۰۰۹ نشان داد که دز تا ۱۰ کیلوگری خطرات سمیت و مشکلات تغذیه‌ای و میکروبیولوژی‌ای ندارد و استفاده از پرتودهی گاما در کنترل رشد کپک‌ها و عدم تولید میکوتوکسین بسیار مفید است[۱۳]. هوشمند و همکاران گزارش کردند که دزهای ۱۵، ۲۰، ۳۰ کیلوگری پرتوگاما باعث تخریب ۵۵ تا ٦٤ درصد افلاتوکسین B1 در نمونه‌های بادام‌زمینی شده است. در یک مطالعه، پرتو۱۰ کیلوگری در ذرت باعث ۸۰ درصد کاهش افلاتوکسین شده است. که این اختلاف را می‌توان به مقدار افلاتوکسین B1 ابتدایی در نمونه‌ها قبل از پرتودهی ارتباط داد[۲٤]. این نتایج با بررسی‌های دادخواه و همکاران در سال ۱۳۸۸ که اثر پرتو گاما را بر روی بار میکروبی زیره سیاه مورد بررسی قراردادند مطابقت دارد [۲۵]. با افزایش دز پرتودهی بار میکروبی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و در دز ۲۵ کیلو گری شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها خصوصاً باکتری‌های اسپور دار به صفر می‌رسد[۹].

۳-۲-آفلاتوکسین B

بیشترین مقدار آفلاتوکسینB1,B2 مربوط به رقم کله قوچی تیمار شاهد و در دوره ۹ انبارداری(۳۵۸٤,۹ppb)است. با افزایش دوره انبارداری در تمامی تیمارها و ارقام موردمطالعه، آفلاتوکسین افزایش یافت.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 (نمودار۳). قارچ‌ها بسته به نوع آن ها در تولید نوع آفلاتوکسین اهمیت دارند و آفلاتوکسین نوعB 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 ازبین رفتن میکروارگانیسم‌های مولد آفلاتوکسین، میزان آفلاتوکسین اندازه‌گیری شده به صفر رسید، که با نتایج آلبشیر در سال۲۰۱٤ مطابقت دارد[۱۷]. پسته‌های قابل صدور به اتحادیه اروپا ازنظر میزان آفلاتوکسین کل باید حداکثر ۱۰ppbو میزان آفلاتوکسین B1 حداکثر ppb ۸ باشد.

۳-۳-آفلاتوکسین G1,G2

بیشترین مقدار آفلاتوکسین جی مربوط به رقم کله قوچی تیمار شاهد و در دوره ۹ ماه انبارداری (۲۸٦۷,۸ppb) است. با افزایش دوره انبارداری در تمامی تیمارها و ارقام مورد مطالعه آفلاتوکسین افزایش داشت (نمودار۲).

استفاده از دز ۵ و۹ کیلو گری 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.

Table1 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	17.1r	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

Numbers with the same letters do not differ statistically.

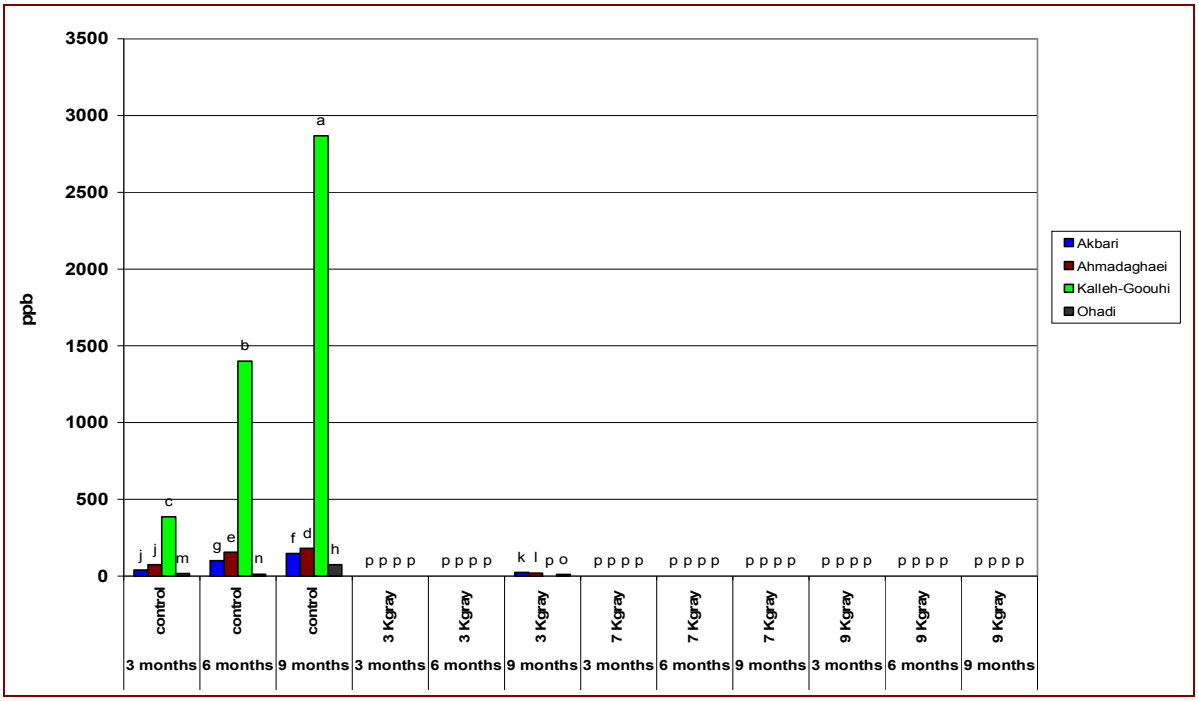

Fig 1 The effect of gamma irradiation on much of aflatoxin G1, 2 in packed pistachios

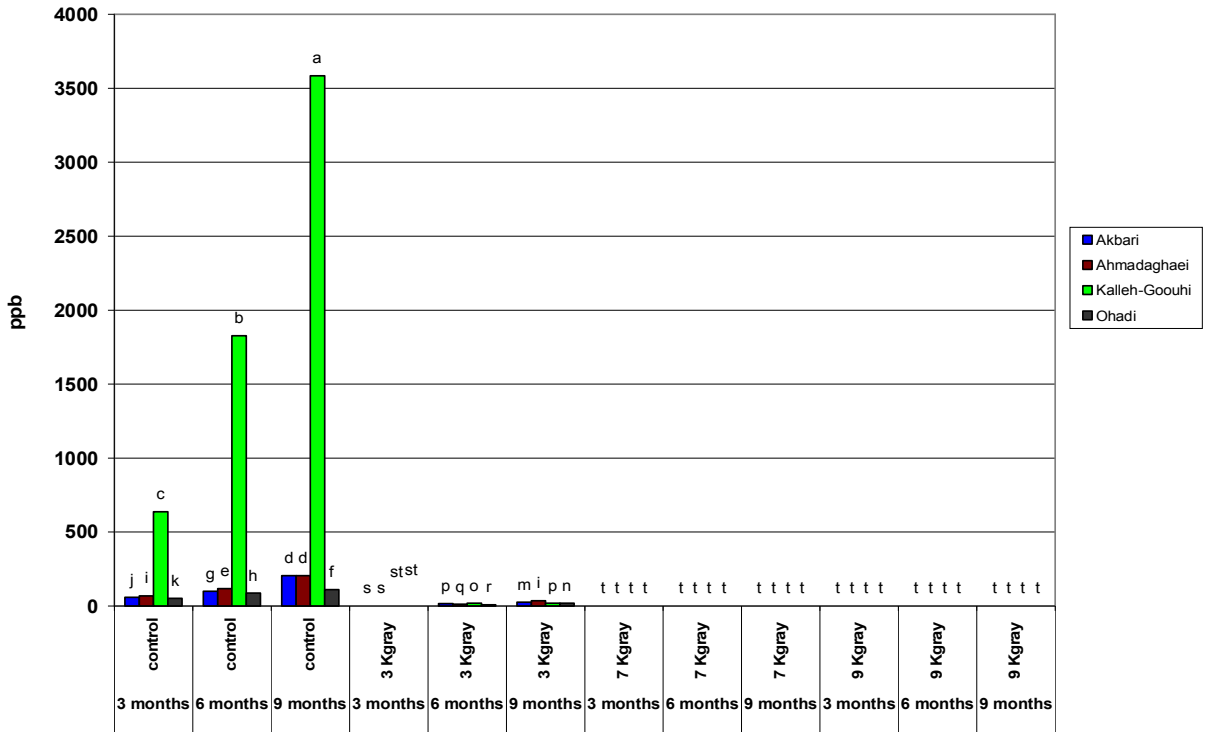

Fig 2 The effect of gamma irradiation on much of aflatoxin B1, 2 in packed pistachios

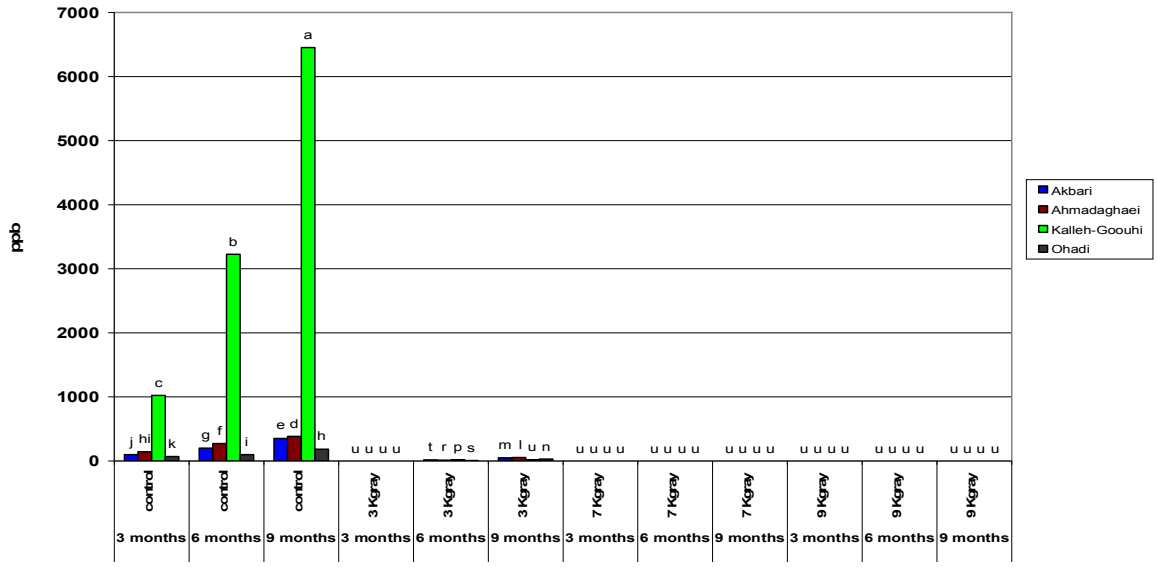

Fig 3 The effect of gamma irradiation on much of total aflatoxin in packed pistachios

۳-٤-تحلیل آماری نتایج آزمون حسی

با توجه به جدول شماره ۲ در مورد تیمارهایی که مورد تابش پرتوگاما قرارگرفته‌اند، می‌توان به این نتیجه رسید که طعم نمونه‌های پسته تا دز ۵ کیلو گری که شامل نمونه‌های شاهد، ۳ و ۵ کیلو گری می‌باشند در یک گروه و تیمار با ۹ کیلو گری درگروه دوم قرار دارد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند($p<0.05$). بر این اساس آلبشیردر سال ۲۰۱٤ و ۲۰۰٤ طبق تحقیقی که در این زمینه انجام داد به این نتیجه رسید که نمونه‌های پسته و گردو تابش داده‌شده با اشعه‌ی گاما تا ۳ کیلو گری هیچ‌گونه تغییری ازنظر طعم و مزه با نمونه‌های شاهد ندارند[۱۷و ۲٦].

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 بادام‌زمینی تابش دیده با دز کمتر از ۳ کیلو گری انجام‌شد، نشان داد که ازنظر ارگانولپتیک قابل پذیرش بوده و اختلاف معنی‌داری با شاهد وجود ندارد [۲۷].

در سال ۱۹۸٤کاشانی و والادن به این نتیجه رسید که استفاده از پرتوگاما بادز ۱کیلوگری هیچ طعم نامطلوبی در پسته ایجاد نمی‌کند[۲۸]. همچنین در سال ۲۰۰٤ آلبشیر گردو را تحت تأثیر پرتو گاما با دزهای ۰/۵، ۱و ۱/۵ کیلوگریقرارداد و بلافاصله بعد از پرتودهی، ارزیابی حسی را برروی تیمارهای شاهد و پرتو دیده شده انجام داد و به این نتیجه رسید که بین تیمارها وشاهد هیچ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد($p<0/05$) [۲٦].

در مورد واریته ها و زمانهم مطابق با جداول ۳ و ٤ می‌توان نتیجه گرفت که بهترین طعم را واریته های احمد آقایی واکبری دارند و بعدازآن اوحدی و کله قوچی قرار داشته که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری 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-Goouhi
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 به‌طوری‌که بعد از گذشت ۹ ماه،مشخص می‌باشند.

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

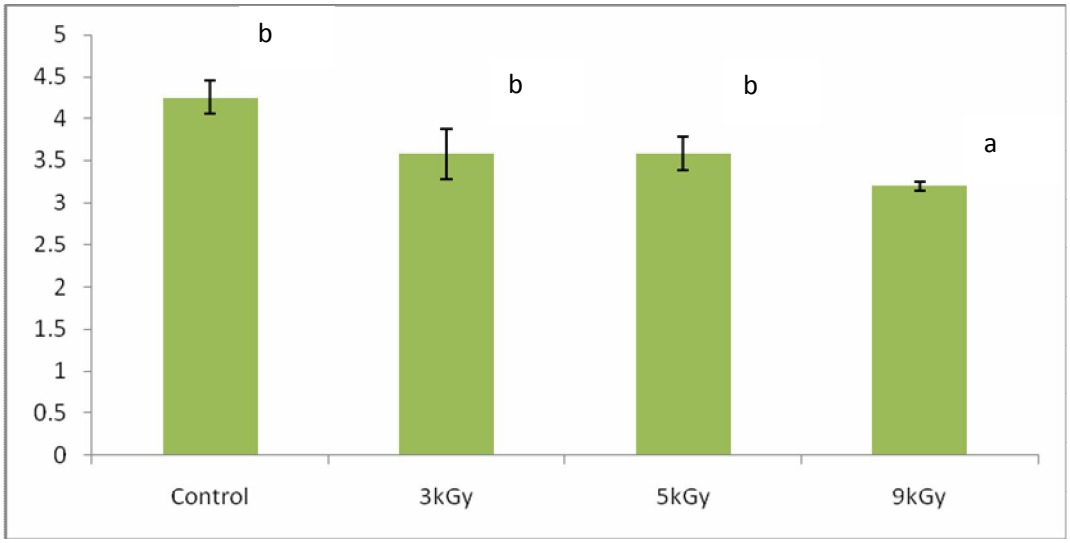

Fig 4 The effect of radiation on the taste of packaged pistachios.

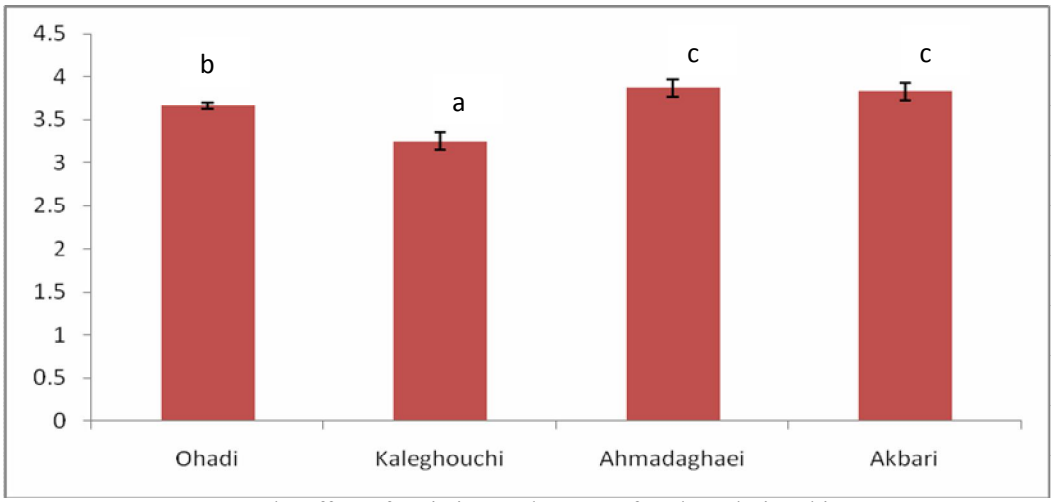

Fig 5 The effect of varieties on the taste of packaged pistachios.

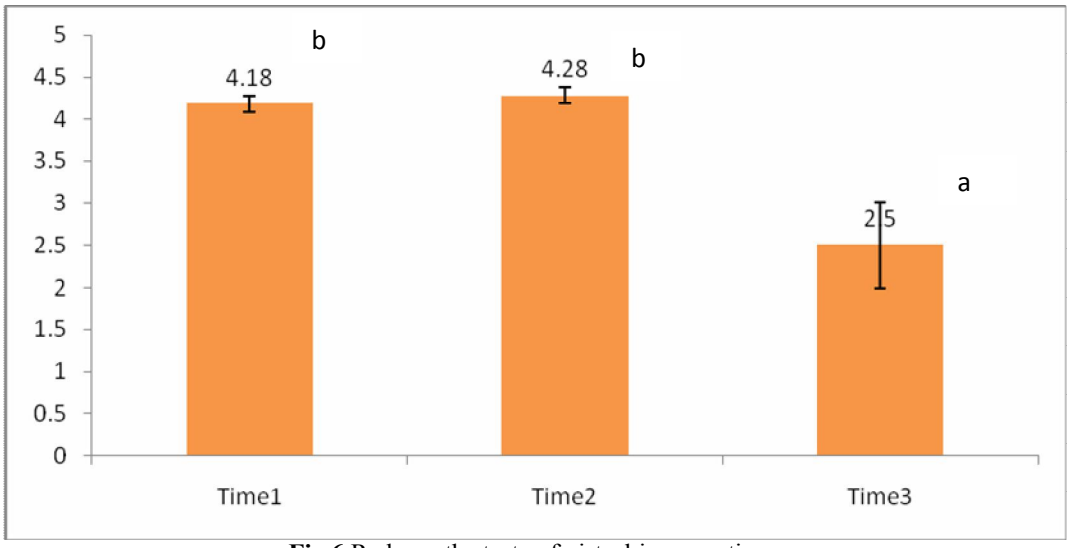

Fig 6 Reduces the taste of pistachios over time.

٤- نتیجه‌گیری

براساس نتایج این پژوهش به‌وضوح مشخص گردید که پرتوگاما در کاهش بارمیکروبیمؤثر است. نتایج حاکی از آن است که از بین این سه دز جهت پرتودهی، مناسب‌ترین دز ٥ کیلو گری به بالا است که در طول مدت نه ماه انبارداری تمامی ارقام پسته، امکان رشد قارچ‌های مولد آفلاتوکسین فراهم نشد ومیزان آن صفر گزارش گردید. البته در دز سه کیلو گری، نتیجه به‌دست‌آمده در ارقام مختلف پسته متفاوت است که یکی از دلایل آن مربوط به ساختمان فیزیکی ومتفاوت بودن ترکیبات آن‌هااست. میزان آفلاتوکسین کل رقم اوحدی پرتودهی شده با دز ٣ کیلوگری در پایان شش ماه انبارداری کمتر از ١٠ ppb گزارش‌شده است. استفاده از دز سه کیلوگری برای ارقام کله قوچی، اکبری و احمدآقایی فقط به مدت سه ماه توصیه می‌شودبه‌طوری‌که بعد از شش ماه انبارداری میزان آفلاتوکسین کل از حد استاندارد کشور خارج است.لذا برای حفظ کیفیت پسته وامکان صادرات به کشورهای اروپایی استفاده از دزهای بالاتر از ٥ کیلوگری مناسب است. به دلیل آنکه بهترین طعم مربوط به پسته‌های پرتودیده با دزهای ٣ و٥ کیلوگری است بنابراین می‌توانتیجه‌گیری کرد که دز ٥ کیلوگرینه‌تنها از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌نماید بلکه ازنظرفاکتورطعم هم تغییری بر روی طعم پسته ایجاد نمی کند.

٥- منابع

[1] FarukGamli,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.Aflatoins and ochratoxin A in pistachios sampled in Spain:Occurrence and presence of mycotoxigenicfungi.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] Sirisoontaralak, P., Noomhorm, A.2006.Changes to physicochemical properties

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 veraL.) varieties,*Scientia Horticulturae*, 125, 562-568.

[18] Bhatti, I.A., Iqbal, M.,Anwar, F., Shahid, S.A, Shahid,M.2013.Quality characteristics and 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, Rajaee 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.

The effects ofgamma irradiationonmicrobialqualityandsensory characteristicof four pistachio cultivarsduringnine months ofstorage atKerman

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: Gammairradiation, Commercialpistachio, Aflatoxin, Aflatoxinproducingfungiand sensory analysis

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