



Sci. and Tech. note
یادداشت علمی و فنی

کاستن آلودگی‌های میکروبی ادویه به وسیله پرتو دهی با باریکه الکترون ۱۰ MeV

اقدس مهدیزاده شاهی*، نیره فلاح نژاد تفتی

مرکز تحقیقات و کاربرد پرتو فرایند یزد، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۳۸۹-۸۹۱۷۵، یزد-ایران

واژه‌های کلیدی: ادویه، تابش دهی مواد غذایی، کاهش آلودگی میکروبی، باریکه الکترون

Microbial Decontaminations of Spices by 10 MeV E-BEAM

A. Mehdizadeh*, N. Fallahnejad

Yazd Radiation Processing Center, AEOL, P.O. Box: 89175 - 389, Yazd - Iran

Abstract: Spices are used significantly in food industries. These substances contain high microbial contamination that causes the spoilage of the products and it is also hazardous for the health of consumers. Irradiation is one of the most effective methods to decontaminate spices. In this research, the optimum dose of e-beams to reduce microbial contamination of spices is determined. Samples of spices such as: turmeric, black pepper, garlic powder, onion powder, oregano and spice, were packaged in 10 grams, and they were irradiated at the doses of 0 - 10 kGy by 10 MeV e-beams. After irradiation, the total microbial counts were determined by the pour plating method. The bacterial contamination of different spices was between 10^5 to 4.7×10^7 cfu/gr and the molds count was between 1.8×10^2 to 7.2×10^3 cfu/gr. The survival curve of the bacteria was drawn in terms of bioburden versus the radiation dose rates. By determining the D_{10} value, the minimum dose for reducing the spices microbial contamination up to the optimum limit, were identified.

Keywords: spices, food irradiation, microbial decontamination, electron beam

* e-mail: agh_mehdizadeh@yahoo.com



۱- مقدمه

کپکهای آلوده‌کننده ادویه، بیشتر از نوع آسپرژیلوس^(۴) و پنی‌سیلیوم^(۵) می‌باشند و در بعضی از موارد، کپکهای سمی هم مشاهده شده است [۱، ۲ و ۵].

ادویه به مقدار قابل توجهی روزانه در صنایع غذایی توسط عموم مردم مصرف می‌شوند و آلودگی میکروبی بالایی دارند [۱ و ۲]. این محصولات در مراحل برداشت، خشک کردن و حمل و نقل به ریزسازواره‌های زیادی آلوده می‌شوند که آنها علاوه بر ایجاد فساد در محصول، در مواد غذایی مانند سس‌ها، پودرهای سوپ فوری، ... که بطور مؤثری حرارت داده نمی‌شوند، سلامتی مصرف‌کنندگان را به خطر می‌اندازند [۲، ۴ و ۶]. پرتودهی یکی از مؤثرترین روشهای میکروب‌زدایی ادویه است [۱، ۳ و ۵]. در این کار پژوهشی برای کاهش بار میکروبی ادویه مختلف تا حد مطلوب، از پرتودهی با باریکه الکترون ۱۰ MeV استفاده شده و حداقل دُز لازم تعیین گردیده است. در کشورهای بلژیک، کانادا، برزیل، فنلاند، فرانسه و ... پرتودهی ادویه با دُزی حدود ۱۰ کیلوگری صورت می‌گیرد [۴ و ۵].

۲- روش کار

۲-۱ آماده‌سازی نمونه‌ها: نمونه‌های ادویه را در بسته‌های ۱۰ گرمی تحت شرایط استریل در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی کرده و با ۵ دُز مختلف، بین ۰ تا ۱۰ کیلوگری پرتو داده‌ایم. بسته‌بندی نمونه‌ها به نحوی بوده است که از آلودگی مجدد نمونه‌ها پس از پرتودهی جلوگیری شود. دُز صفر آلودگی اولیه این مواد را نشان می‌دهد که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده است. برای هر دُز تعداد ۴ نمونه و در مجموع برای هر ماده ۲۰ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت [۷]. تعداد کل نمونه‌های مورد آزمایش در این بررسی ۱۲۰ نمونه بود.

۲-۲ کشت و شمارش میکروبی

تهیه سوسپانسیون و رقت‌های اولیه: مقدار ۱۰ گرم نمونه بسته‌بندی شده را در کیسه‌های جداگانه با ۹۰ میلی‌لیتر آب پیتون‌دار^(۶) ۱ درصد به عنوان محلول رقیق‌کننده، مخلوط کرده‌ایم؛ بدین ترتیب رقت^(۷) ۱۰ بدست آمده است. برای شمارش دقیق میکروبی، معمولاً نمونه‌ها را به رقت^(۸) ۱۰^۶ می‌رسانند [۸].

اهمیت ریزسازواره‌ها در مواد غذایی کم و بیش آشکار است. میکروبها با اثرگذاری کمی و کیفی بر مواد غذایی، سودمندی و قابل استفاده بودن آنها را تغییر می‌دهند. مناسب بودن مواد غذایی برای رشد میکروبها می‌تواند امکان فساد این مواد توسط ریزسازواره‌ها را فراهم آورد. مواد غذایی همچنین ممکن است ناقل عوامل بیماریزا باشند و موجب انتقال و گسترش بیماریها شوند [۱]. میکروبهای متعددی نیز وجود دارند که رشد آنها در مواد غذایی منجر به تولید سم و ایجاد مسمومیت می‌شود. مسأله مورد توجه در میکروب‌شناسی غذایی، چگونگی کنترل میکروبها در مواد غذایی است [۲ و ۳].

مواد غذایی معمولاً به روشهای خشک کردن، نمک سود کردن، پختن، ضد عفونی کردن با گاز، کنسرو کردن، مایکروویو و روشهای شیمیایی نگهداری می‌شوند [۲].

برای میکروب‌زدایی از ادویه روشهای تیمار حرارتی، ضد عفونی با گاز اتیلن اکسید و متیل بروماید و مایکروویو مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند که اکنون نامناسب شناخته شده‌اند. این روشها باعث از بین رفتن رنگ، طعم و عطر ادویه می‌شود [۱، ۲، ۴ و ۵].

تا مدتی قبل، گسترده‌ترین روش میکروب‌زدایی ادویه استفاده از گاز اتیلن اکسید بود؛ اما به علت باقی ماندن آن در مواد غذایی و سرطانزا بودن، استفاده از آن از سال ۱۹۹۰ (۱۳۶۸) ممنوع شده است و روش پرتودهی جایگزین مناسب روشهای پیشین برای میکروب‌زدایی از ادویه خواهد بود [۱، ۲ و ۴].

این روش مزایای زیادی دارد، از جمله: عدم افزایش درجه حرارت در ماده غذایی، عدم تغییر طعم و عطر و رنگ ادویه، از بین رفتن باکتریهای گرمادوست، کپکها و حشرات در دُزهای بین ۳ تا ۱۰ کیلوگری، تغییر نکردن ترکیب شیمیایی و خواص پاد اکسیدان ادویه، قابل قبول بودن بسته‌بندی‌های رایج آنها برای پرتودهی [۶]، دوام بیشتر ادویه پرتودهی شده در شرایط انبار، بی‌خطر بودن ادویه پرتودهی شده برای سلامت انسان [۲ و ۴].

بیشترین جمعیت میکروبی ادویه را باکتریهای مزوفیل هوازی اسپوردار^(۹) تشکیل می‌دهند که منشأ خاکی دارند. باکتریهای بیماریزا در ادویه شامل باسیلوس سرنوس^(۱۰) و سالمونلا^(۱۱) می‌باشند. باکتریهای غیرهوازی اجباری در ادویه نسبتاً اندکند.



طشتک‌های حاوی ساپورو دکستروز آگار، درون گرمخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

شمارش میکروبی: شمارش باکتریها پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت و شمارش قارچها پس از یک هفته و دو هفته انجام گرفت.

۳- یافته‌ها و نتایج

نتایج شمارش باکتریها و کپکها در نمونه‌های مختلف در هر دُز پرتودهی در جدولهای ۱ تا ۶ درج شده‌اند.

برای تعیین دُز پرتودهی لازم، سه عامل مورد نیاز است:

- بار میکروبی اولیه ماده غذایی
- ارزش D_{10}
- حد مجاز آلودگی میکروبی ماده خاص

کشت نمونه‌های رقیق تهیه شده: در این تحقیق، طشتک شمارش آگار^(۷) برای شمارش باکتریهای مزوفیل هوازی و «ساپورو دکستروز آگار»^(۸) برای شمارش قارچها (کپکها و مخمرها) به عنوان محیط کشت بکار رفته‌اند. روش کشت و شمارش میکروبی، مخلوط کردن نمونه با محیط کشت است.

در چهار ظرف کشت میکروب ۱ میلی‌لیتر از هر رقت تهیه شده (10^{-1} تا 10^{-6}) را با پیت استریل شده منتقل کرده و به دو ظرف، محیط کشت طشتک شمارش آگار استریل شده و به دو ظرف دیگر محیط کشت ساپورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکول ۰/۵ درصد^(۹) استریل شده اضافه شد (اضافه کردن کلرامفنیکول، به منظور جلوگیری از رشد باکتریها در این محیط کشت است). طشتک‌های حاوی محیط کشت طشتک شمارش آگار، درون گرمخانه (انکوباتور) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و

جدول ۱- تعداد باکتریها و کپکها در هر گرم نمونه فلفل پرتودهی شده.

۱۰		۸		۶		۳		۰		دُز (KGy)	تکرار
کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری		
-	۵۰	-	$6/6 \times 10^2$	-	$9/6 \times 10^3$	۱۰۰	$9/8 \times 10^5$	7×10^3	$5/2 \times 10^7$	۱	
-	۱۰۰	-	10^3	-	10^4	۵۰	$9/6 \times 10^5$	$7/2 \times 10^3$	$4/9 \times 10^7$	۲	
-	۷۰	-	$8/4 \times 10^2$	-	2×10^4	۱۰۰	$9/7 \times 10^5$	$7/4 \times 10^3$	$4/6 \times 10^7$	۳	
-	۶۰	-	3×10^2	-	$8/4 \times 10^3$	۷۰	$1/2 \times 10^6$	$7/1 \times 10^3$	$3/9 \times 10^7$	۴	
-	۷۰	-	7×10^2	-	10^4	۸۰	$9/9 \times 10^5$	$7/2 \times 10^3$	$4/7 \times 10^7$	میانگین	

جدول ۲- تعداد باکتریها و کپکها در هر گرم نمونه پودر سیر پرتودهی شده.

۱۰		۸		۶		۳		۰		دُز (KGy)	تکرار
کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری		
-	-	-	۸۰	-	10^3	۱۰	$2/6 \times 10^3$	$1/5 \times 10^3$	3×10^6	۱	
-	-	-	۲۰	-	$2/1 \times 10^2$	۱۰	$4/2 \times 10^3$	$2/9 \times 10^3$	9×10^5	۲	
-	-	-	۴۵	-	8×10^2	۱۰	$1/8 \times 10^3$	2×10^3	$1/9 \times 10^6$	۳	
-	-	-	۵۵	-	$5/5 \times 10^2$	-	$3/4 \times 10^3$	$9/5 \times 10^2$	$1/8 \times 10^6$	۴	
-	-	-	۵۰	-	$6/4 \times 10^2$	۱۰	3×10^3	$1/8 \times 10^3$	$1/9 \times 10^6$	میانگین	



جدول ۳- تعداد باکتریها و کپکها در هر گرم نمونه بودر نیاز پرتو دهی شده.

۱۰		۸		۶		۳		۰		تکرار
کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	
-	-	-	۵۰	-	$1/8 \times 10^2$	۲۰	6×10^3	$3/7 \times 10^3$	$9/2 \times 10^5$	۱
-	-	-	۱۰	-	$7/3 \times 10^2$	۶۰	$6/2 \times 10^3$	$6/4 \times 10^3$	$7/9 \times 10^5$	۲
-	-	-	-	-	$9/1 \times 10^3$	۵۰	$5/2 \times 10^3$	$5/4 \times 10^3$	$1/6 \times 10^6$	۳
-	-	-	۲۰	-	10^3	۷۰	$3/8 \times 10^3$	$6/5 \times 10^3$	$1/5 \times 10^6$	۴
-	-	-	۲۰	-	7×10^3	۵۰	$4/8 \times 10^3$	$5/5 \times 10^3$	$1/2 \times 10^6$	میانگین

جدول ۴- تعداد باکتریها و کپکها در هر گرم نمونه بودر آویشن پرتو دهی شده.

۱۰		۸		۶		۳		۰		تکرار
کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	
-	-	-	-	-	$2/1 \times 10^2$	-	$2/7 \times 10^3$	4×10^2	$7/4 \times 10^4$	۱
-	-	-	-	-	$3/9 \times 10^2$	-	10^3	10^2	$6/2 \times 10^4$	۲
-	-	-	۱۰	-	10^2	-	$3/2 \times 10^3$	$5/5 \times 10^2$	$1/2 \times 10^5$	۳
-	-	-	۱۰	-	5×10^2	-	$1/9 \times 10^3$	$1/5 \times 10^2$	$1/4 \times 10^5$	۴
-	-	-	۱۰	-	3×10^2	-	$2/2 \times 10^3$	3×10^2	10^5	میانگین

جدول ۵- تعداد باکتریها و کپکها در هر گرم نمونه ادویه پرتو دهی شده.

۱۰		۸		۶		۳		۰		تکرار
کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	
-	۲۰	-	$1/2 \times 10^2$	-	$4/7 \times 10^3$	۱۰۰	$4/3 \times 10^4$	$9/8 \times 10^4$	10^7	۱
-	۸۰	-	10^2	۱۰	2×10^3	۱۶۰	8×10^4	$8/2 \times 10^4$	2×10^7	۲
-	۵۰	-	2×10^2	-	4×10^3	۶۰	$5/1 \times 10^4$	6×10^4	$9/1 \times 10^6$	۳
-	۱۰	-	$1/4 \times 10^2$	۱۰	$1/3 \times 10^3$	۸۰	$7/5 \times 10^4$	$4/9 \times 10^4$	6×10^6	۴
-	۴۰	-	$1/4 \times 10^2$	۱۰	3×10^3	۱۰۰	$6/2 \times 10^4$	$7/2 \times 10^4$	$1/1 \times 10^7$	میانگین

جدول ۶- تعداد باکتریها و کپکها در هر گرم نمونه زردچوبه پرتو دهی شده.

۱۰		۸		۶		۳		۰		تکرار
کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	کپک	باکتری	
-	۵۰	-	$2/7 \times 10^2$	-	$5/3 \times 10^3$	-	3×10^4	۱۰۰	$1/2 \times 10^7$	۱
-	۱۰۰	-	3×10^2	-	$5/3 \times 10^3$	-	$5/2 \times 10^4$	۳۰۰	2×10^7	۲
-	۱۵	-	$3/5 \times 10^2$	-	3×10^3	-	$5/2 \times 10^4$	۱۰۰	$1/6 \times 10^7$	۳
-	۵۲/۵	-	$1/8 \times 10^2$	-	$5/5 \times 10^3$	-	$8/5 \times 10^4$	۲۰۰	2×10^7	۴
-	۵۴/۴	-	$2/8 \times 10^2$	-	$4/8 \times 10^3$	-	$5/5 \times 10^4$	۱۷۵	$1/7 \times 10^7$	میانگین

- تعیین ارزش D_{10}

جدول ۷- حداقل دُز لازم برای کاهش بار میکروبی ادویه.

نمونه‌ها	آلودگی اولیه (تعداد باکتریها و کپکها)	D_{10} (KGy)	حداقل دُز لازم (KGy)
زردچوبه	$1/7 \times 10^7$	1/9	8
فلفل	$4/7 \times 10^7$	1/7	7/7
پودرسیر	$1/9 \times 10^6$	1/9	6/1
پودریباز	$1/2 \times 10^6$	1/8	5/6
آویشن	10^5	2/1	4/2
ادویه	$1/1 \times 10^7$	1/8	7/4

جدول ۸- مقدار آلودگی میکروبی ادویه پرتودهی شده با حداقل دُز لازم.

نمونه‌ها	شاهد (پرتودهی نشده)	پرتودهی شده
زردچوبه	باکتری	$1/7 \times 10^7$
	کپک	10^3
فلفل	باکتری	$4/7 \times 10^7$
	کپک	$7/2 \times 10^3$
پودرسیر	باکتری	$1/9 \times 10^6$
	کپک	$1/8 \times 10^3$
پودریباز	باکتری	$1/2 \times 10^6$
	کپک	$5/5 \times 10^3$
آویشن	باکتری	10^5
	کپک	3×10^2
ادویه	باکتری	$1/1 \times 10^7$
	کپک	$7/2 \times 10^4$

ارزش $D_{10}^{(11)}$ دُزی است که تعداد ریزسازواره‌ها را یک سیکل لگاریتمی کاهش می‌دهد. ارزش D_{10} را می‌توان با رسم نمودار دُز- پایدنگی ریزسازواره‌ها حساب کرد [۹ و ۱۰].

با استفاده از داده‌های به دست آمده مندرج در جدولها، نمودارهای کاهش تعداد ریزسازواره‌ها بر حسب دُز پرتودهی برای هر ماده ترسیم شده‌اند (شکل‌های ۱ تا ۶).

با استفاده از معادله حاصل از برازش منحنی، مقادیر دُز (محور افقی) را در سیکل‌های لگاریتمی متوالی حساب کرده و از تفاضل دو دُز متوالی مقدار میانگین را معین کرده‌ایم. مقدار حساب شده D_{10} باکتریهای مزوفیل هوازی در مورد زردچوبه معادل ۱/۹، فلفل سیاه ۱/۷، پودرسیر ۱/۹، پودریباز ۱/۸، آویشن ۲/۱ و ادویه ۱/۸ کیلوگری بدست آمد. بالا بودن مقدار D_{10} ، نشانه مقاومت بیشتر ریزسازواره‌ها در مقابل پرتودهی است.

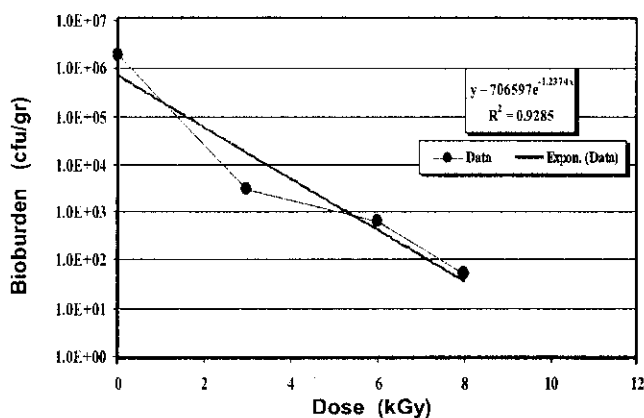
- تعیین دُز پرتودهی

با توجه به آلودگی اولیه مواد مختلف و با فرض اینکه حد مطلوب آلودگی میکروبی ادویه 10^3 باکتری در هر گرم ماده (بر اساس پیشنهاد شرکت‌های استفاده‌کننده ادویه) باشد، بار میکروبی زردچوبه باید به میزان ۴/۲، فلفل سیاه ۴/۵، پودر سیر ۳/۲، پودریباز ۳/۱۲، آویشن ۲ و ادویه ۴/۱۱ سیکل لگاریتمی کاهش یابد. با در نظر گرفتن ارزش D_{10} حساب شده برای هر ماده، حداقل دُز لازم برای کاهش بار میکروبی مواد مختلف بدست آمد (جدول ۷).

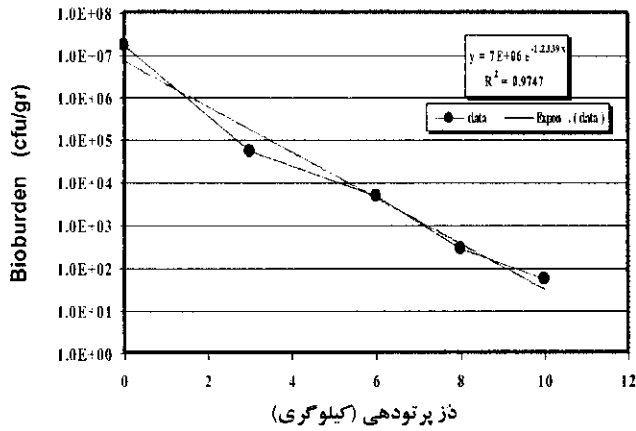
پس از پرتودهی ادویه با حداقل دُز لازم برای هر نمونه، مقدار آلودگی میکروبی قبل و بعد از پرتودهی با هم مقایسه شد و مناسب بودن این دُز مورد تأیید قرار گرفت. نتایج این بررسی در جدول ۸ درج شده است.

اعداد مندرج در جدول ۸ نشان می‌دهد که آلودگی میکروبی نمونه‌ها پس از پرتودهی با دُزهای تعیین شده، به زیر حد مطلوب مورد نظر رسیده است.

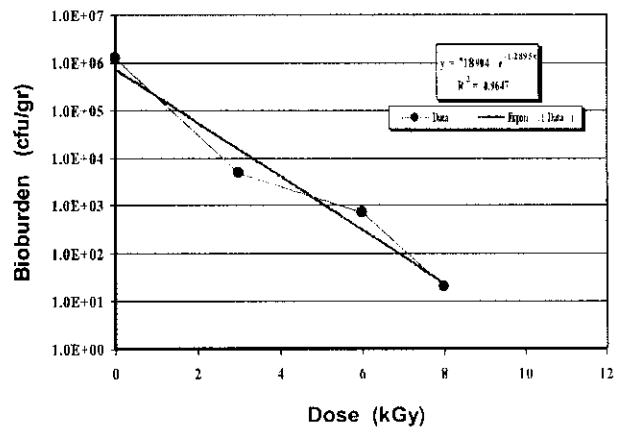
در بعضی از نمونه‌های ادویه قبل از پرتودهی میکروبهایی از قبیل اشرشیاکلی^(۱۱)، همچنین سایر کلیرمهای^(۱۲) مدفوعی موجود بود، اما پس از پرتودهی با دُز بهینه، این میکروبها در نمونه‌های مورد آزمایش مشاهده نشد [۱۱ و ۱۲].



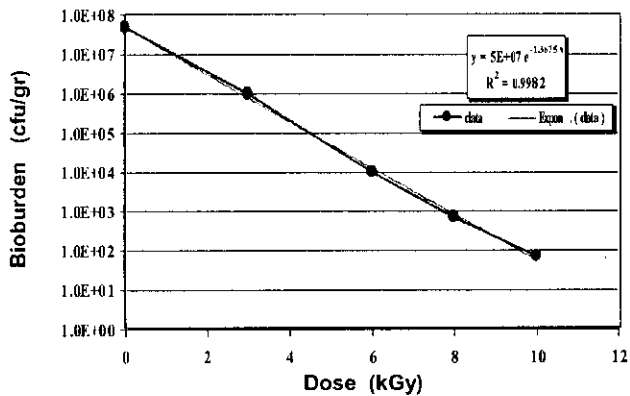
شکل ۱- نمودار دُز- پایدنگی ریزسازواره‌های پودر سیر پس از پرتودهی با باریکه الکترون.



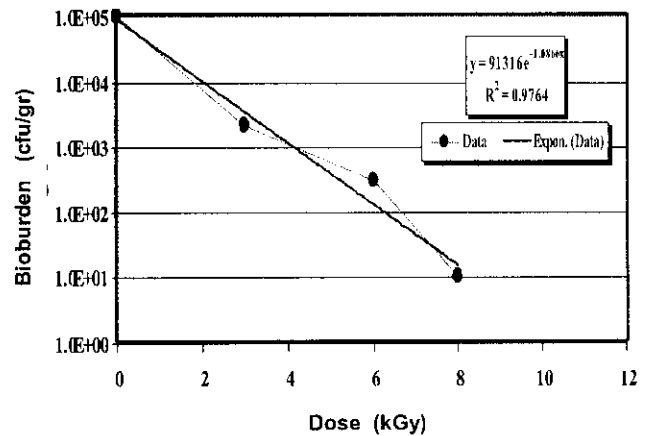
شکل ۵- نمودار دز- پایدگی ریزسازواره‌های زردچوبه پس از پرتودهی با باریکه الکترون.



شکل ۲- نمودار دز- پایدگی ریزسازواره‌های پودر پیاز پس از پرتودهی با باریکه الکترون.



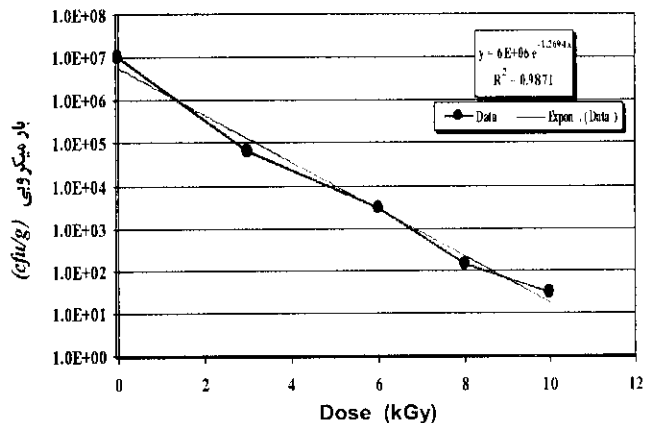
شکل ۶- نمودار دز- پایدگی ریزسازواره‌های فلفل سیاه پس از پرتودهی با باریکه الکترون.



شکل ۳- نمودار دز- پایدگی ریزسازواره‌های آویشن پس از پرتودهی با باریکه الکترون.

پی نوشت‌ها:

- ۱- Sporeforming Aeromesophilic Bacteria
- ۲- Bacillus Cereus
- ۳- Salmonella
- ۴- Aspergillus
- ۵- Penicillium
- ۶- Pepton Water
- ۷- Plate Count Agar
- ۸- Sabouraud Dextrose Agar
- ۹- Chloramphenicol 0.5 %
- ۱۰- D₁₀ Value
- ۱۱- E. Coli
- ۱۲- Coliform



شکل ۴- نمودار دز- پایدگی ریزسازواره‌های ادویه پس از پرتودهی با باریکه الکترون.



References:

- 1- D.W. Thayer and E.S. jansephson, "Radiation pasteurization of food," CAST, The Science Source for Food, Agricultural and Environmental Issues, Issue Paper No. 7 (April 1996).
- 2- W. Stachowicz, "Irradiation of spices and herbs," Institut of Nuclear Chemistry and Technology (1997).
- 3- K. M. Shea, "Technical report: Irradiation of food," Pediatrics **106(6)**, 1505-1510 (Dec 2000).
- 4- M. Marcotte, "Effect of irradiation on spices , herbs and seasonings-comparison with ethylen oxide fumigation,"
www.food-irradiation.com
- 5- J. Wolf, "Flavoring healthful diets-spices continue to show steady gain in popularity," Focus No. **54** (March 1995).
- 6- O. Bennett Wood, MPH, RD, Ch. M. Bruhn, PhD, "Food irradiation," American Dietic Association, **100**, 246-253 (2000).
- 7- "میکروبیولوژی - آئین کاربرد روشهای عمومی آزمایشهای میکروبیولوژی،" استاندارد ملی ایران، شماره ۲۳۲۵ (مهرماه ۱۳۸۰).
- 8- "Sterilization of medical devices microbiological methods-Part 1: Estimation of population of microorganisms on product," ISO 11737-1, First edition (1995).
- 9- "سترونی محصولات پزشکی - شناساگرهای زنده - قسمت اول: کلیات،" استاندارد ملی ایران، شماره ۵۶۱۰-۱ (شهریور ماه ۱۳۸۰).
- 10- Y. Tabata and Y. Ito, "Food Irradiation," CRC Handbook of Radiation Chemistry., 820 - 827 (1991).
- 11- "روش جستجو و شمارش بیشترین تعداد احتمالی اشرفیاکلی در مواد غذایی،" استاندارد ملی ایران، شماره ۲۹۴۶ (شهریور ۱۳۷۳).
- 12- "روش جداسازی، شناسایی و شمارش کلی فرمها،" استاندارد ملی ایران، شماره ۴۳۷ (آذر ۱۳۶۸).