



## اثر پرتودهی گاما بر کیفیت میکروبی سبزیجات برگی تازه

### Effect of Gamma Irradiation on Microbial Quality of Fresh Leafy Vegetables

مرضیه احمدی‌روشن\*، سمیرا برنجی اردستانی، سارا شیخ نصیری، مونا سرابی، سپیده سادات جمالی

پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی ۵۱۱۱۳-۱۴۳۹۹

#### چکیده

مصرف میوه و سبزیجات تازه نقش مهمی در ارتقای سلامتی افراد جامعه و پیشگیری از بیماری‌های مختلف دارد. اگرچه این محصولات تازه و مفید می‌توانند یک ناقل مناسب برای انتقال باکتری‌ها، انگل‌ها و ویروس‌های بیماری‌زا به انسان باشند. از سوی دیگر ماندگاری این محصولات به صورت تازه بسیار محدود است و حداکثر پس از سه روز نگهداری در شرایط یخچالی قابلیت مصرف خود را از دست خواهند داد و به توده‌ای از ضایعات تبدیل می‌شوند. در جهت حل این مشکلات، پرتوتابی می‌تواند یک تیمار عملی برای اطمینان از ایمنی و افزایش زمان ماندگاری سبزیجات تازه باشد و حتی ایجاد امکان صادرات آن‌ها به بازارهای بین‌المللی را ایجاد کند. در این پژوهش اثرات دزهای مختلف پرتودهی ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ کیلوگری بر کیفیت میکروبی و ایمنی مصرف سبزیجات برگی تازه نگهداری شده در دمای محیط و  $4^{\circ}\text{C}$  بررسی شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که نمونه‌های نگهدارنده در دمای محیط به علت بار میکروبی بالا در همان دو روز اول از چرخه مطالعه حذف شدند. در نمونه‌های پرتودهی تا روز هشتم روند کاهش بار میکروبی وابسته به دز مشاهده شد. باکتری‌های بیماری‌زای غذایی *ایکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، هم فقط در نمونه‌های شاهد و ۰/۲۵ kGy حضور داشتند. بنابراین با توجه به نتایج قابل پذیرش از نظر ایمنی میکروبی و حسی و چشایی، در صنعت فرآوری سبزی، پرتودهی ۰/۵ کیلوگری همراه با نگهداری یخچالی می‌تواند در افزایش ماندگاری سبزی تازه در حدود ۱۰ روز و کاهش ضایعات مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پرتودهی گاما، سبزیجات برگی تازه، میکروب

#### ABSTRACT

The consumption of fresh fruits and vegetables plays an important role in promoting the health of the general public and preventing from various diseases. However, these fresh and useful foods can be a good carrier for the transmission of bacteria, parasites and pathogens to humans. On the other hand, the shelf life of these products is very limited and, after three days of storage under refrigerated conditions, they will lose their consumption and will change to the bulk of food waste. In order to solve these problems, irradiation can be a practical treatment to ensure safety and increase the shelf-life of fresh vegetables, and even create the possibility of exporting them to international markets. In this study, the effects of different irradiation doses at 0, 0.25, 0.5, 0.75 and 1 kGy on microbial quality and safety of fresh leafy vegetables preserved at



ambient temperature and 4 ° C were investigated. The results of this study showed that the samples which were stored at ambient temperature due to high microbial load in the first two days were removed of the study cycle. In irradiated samples, until the eighth day, a dose-dependent reduction of microbial load was observed. Foodborne pathogenic bacteria including *E.coli* and *Staphylococcus aureus* were present only in control and 0.25 kGy irradiated samples. Therefore, considering acceptable results in terms of microbial safety and sensory assays, in fresh leafy vegetables processing industry, gamma irradiation at dose of 0.5 kGy with keeping at 4 ° C, can enhance shelf life up to about 10 days and decrease wastes of vegetables including leek, parsley, dill and savory.

**Keywords:** Gamma irradiation, Fresh leafy vegetables, Microbial quality, Sensory properties, Shelf life.

#### مقدمه

ایران با مصرف سرانه ۱۵۸ کیلوگرم میوه و سبزی سالانه در رتبه یازدهم جهانی و بالاتر از کشورهای توسعه یافته اروپای غربی و آمریکای شمالی (۱۱۷ و ۱۱۲ کیلوگرم در سال) و نیز کشورهای دیگر خاورمیانه با سرانه مصرف ۸۹ کیلوگرم در سال می‌باشد، اما آمار جهاد کشاورزی ایران بیان می‌دارد که با وجود تولید و مصرف بالای میوه، ضایعات در کشور، بیش از ۲۷٪ تولید می‌باشد. از این رو، می‌توان با به‌کارگیری فرآوری مناسب، علاوه بر تامین میوه و سبزی در بازار داخل و کاهش ضایعات آن، در بازارهای بین‌المللی نیز حضور چشمگیری یافت [۱]. مصرف میوه و سبزی تازه به میزان توصیه شده (روزانه ۴۰۰ گرم) می‌تواند از ابتلا به برخی بیماری‌های مزمن، از جمله بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی از سرطان‌ها، چاقی، دیابت نوع دو و پرفشاری خون پیشگیری کند [۲] (توسلی و همکاران، ۱۳۹۲). این محصولات تازه و بدون فرآیند و یا با حداقل فرآیند، می‌توانند یک ناقل مناسب برای انتقال باکتری‌ها، انگل‌ها و ویروس‌های بیماری‌زا به انسان باشند [۳-۵]. برای مثال /شریشیاکلی [۴]. را از سبزیجات خام جدا کردند. این باکتری‌ها قادرند سبزی‌ها را در مراحل کاشت، داشت، برداشت، نگهداری، شستشو و توزیع آلوده کنند [۶]. عوامل بیماری‌زایی که اغلب با اپیدمی همراه هستند، شامل باکتری‌ها (سالمونلا، اشریشیاکلی، لیستریا منوسایتوزنز)، ویروس‌ها (نروویروس، ویروس هپاتیت A) و پارازیت‌ها (کریپتوسپوریدیوم و سیکلوسپورا) می‌شوند. به‌عنوان مثال در سال ۲۰۰۶ میلادی در آمریکا، ۲۰۰ نفر در اثر خوردن سبزی خام (اسفناج) آلوده به اشریشیاکلی O157:H7، دچار عفونت ادراری شدند که منجر به مرگ ۳ نفر شد [۷]. در میان پاتوژن‌های ناشی از مواد غذایی و محصولات تازه مانند سبزیجات، اشریشیاکلی O157:H7 به‌عنوان عامل حدود ۲۱ درصد از موارد شیوع بیماری‌ها شناخته شده است. در بسیاری از منابع موجود، فرآیندهای شستشوی بهداشتی، جمعیت میکروبی در سطح سبزیجات را تنها به میزان ۲ تا ۳ CFU/g کاهش می‌دهند. علاوه بر این، علی‌رغم وجود تفاوت اولیه در بار باکتریایی سبزیجات شسته شده با آب معمولی و یا یک محلول بهداشتی، تعداد نهایی میکروارگانیسم‌ها پس از ذخیره‌سازی در هر دو گروه مشابه است و این ترکیبات فاقد اثربخشی در جلوگیری از رشد میکروبی در طول مدت نگهداری محصول می‌باشند، زیرا هیچ باقی‌مانده‌ای در محصول ندارند [۸]. افزایش شیوع بیماری‌های مرتبط با مصرف میوه و سبزیجات تازه ثابت می‌کند که اقدامات



سستی برای از بین بردن عوامل بیماری‌زای آنها کافی نیست و تیمارهای آلودگی‌زدایی مناسب پس از برداشت برای کنترل جمعیت عوامل بیماری‌زای مواد غذایی در تولیدات خام مورد نیاز است [۹]. به‌عنوان مثال کلر و ترکیبات آن متداول‌ترین نوع گندزادای میوه و سبزیجات می‌باشد. مقدار مناسب کلر جهت گندزدایی و زمان تماس با اجرام بیماری‌زا، غالباً مورد چالش است. صرف نظر از مسایل اقتصادی، تأثیر نامطلوب بر کیفیت میوه و سبزیجات از نظر طراوت ظاهری، حذف رایحه مطلوب برخی از سبزیجات، افزایش مقدار کلر در محیط آبی و در نتیجه تشکیل ترکیبات جانبی کلره خطرناک مورد توجه می‌باشد [۱۰]. بنابراین، پرتوتابی می‌تواند یک تیمار جایگزین عملی برای اطمینان از ایمنی سبزیجات باشد. در اثر پرتودهی ارزش تغذیه‌ای غذاها تغییری نمی‌کند و خطرناک نمی‌شوند. در سطوح پرتودهی غذایی، مقادیر ویتامین تیامین کمی کاهش می‌یابد، اما به اندازه کافی برای نقص کمبود ویتامین نیست. تغییرات قابل توجهی در اسید آمینه، اسید چرب و یا ویتامین مواد غذایی ایجاد نمی‌شود. در حقیقت، تغییرات ناشی از پرتودهی آن‌قدر کم است، که به‌آسانی مشخص نیست که مواد غذایی پرتودهی شدند. مزیت بزرگ مواد غذایی پرتودهی شده این است که این یک فرایند غیر حرارتی و سرد بوده و غذا هنوز هم اساساً "خام" است. پرتودهی معادل پاستوریزاسیون برای غذاهای جامد است. پرتودهی ابزاری مهم در جنگ علیه بیماری و مرگ حاصل از بیماری‌های غذایی و موجب بهبود بهداشت مواد غذایی باشد. پرتودهی توسط پرتوهای گاما، ایکس و الکترون‌های شتاب‌دار تحت شرایط کنترل شده، مواد پرتوزا در مواد غذایی ایجاد نمی‌کند. نه پرتودهی و نه سایر تیمارهای مواد غذایی دیگر نمی‌تواند مواد غذایی فاسد را، قابل مصرف سازد. اگر غذا، ظاهر، بو، طعم یا هرگونه علائم فساد داشته باشد، نمی‌توان آن را با هیچ تیماری از جمله پرتودهی اصلاح کرد. در حال حاضر با روندی رو به رشد، سالانه، بیش از نیم میلیون تن از ۴۰ نوع ماده غذایی (معادل یک درصد از مواد غذایی مصرف شده سالانه) در سراسر جهان در بیش از ۴۰ کشور، پرتودهی می‌شود [۱۱].

### مواد و روش‌ها

نمونه‌های سبزی بسته‌بندی شده در کیسه‌های پلاستیکی (پلیمر با درجه مواد غذایی) با دزهای ۰ kGy (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ پرتودهی می‌شوند. سپس آزمایش‌های زیر روی نمونه‌های شاهد و پرتو دیده در روزهای صفر، ۸ و ۱۵ در دو دمای یخچال (۴ °C) و محیط (۲۵ °C) انجام شده و با مقایسه نتایج حاصل، دز بهینه با توجه به میزان آلودگی نمونه‌ها، برای پرتو فرآوری انواع سبزی تعیین شده و اثرات این فرآوری بر کیفیت میکروبی ارزیابی می‌شود. بررسی‌های میکروبی شامل شمارش کلی میکروبی [۱۲ و ۱۳]، شمارش کلی کپک و مخمر [۱۴]، شمارش کلی فرم‌ها [۱۵]، /شرشیاکلی [۱۶] و /استافیلوکوکوس [۱۷] انجام می‌شوند.

### نتایج و بحث



### تجزیه واریانس کلی شمارش میکروبی

نتایج تجزیه واریانس شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی، اسپوردار، آنتروباکتریاسه و کپک و مخمر برای تمام انواع سبزی مورد بررسی نشان داد که حداقل بین میانگین دو تیمار از هر کدام از اثرات دز، دما و زمان و اثرات متقابل دوتایی دز\*زمان و زمان\*دما اختلاف معنی‌دار وجود دارد. اثر متقابل دز\*دما بر شمارش کپک و مخمر، در تمام سبزیجات مورد بررسی معنی‌دار نیست. اثر متقابل زمان\*دما\*دز در آزمون‌های میکروبی، در سبزیجات معنی‌دار نیست.

### مقایسه میانگین اثر دمای انبارمانی در شمارش میکروبی

مطابق جدول ۱، نتایج نشان داد که شمارش میکروبی در دمای نگهداری  $25^{\circ}\text{C}$  بیشترین مقدار و کمترین مقدار شمارش میکروبی مربوط به دمای نگهداری  $4^{\circ}\text{C}$  است. مقایسه میانگین، اثر دمای نگهداری بر شمارش میکروبی دو گروه را نشان می‌دهد. با توجه به بالا بودن شمارش میکروبی و عدم امکان استفاده از سبزیجات انبارمانی شده در دمای محیط ( $25^{\circ}\text{C}$ )، این داده‌ها حذف شده و آنالیز با داده‌های  $4^{\circ}\text{C}$  انجام شده است.

جدول ۱ مقایسه میانگین اثر دمای انبارمانی در شمارش میکروبی به روش دانکن

نوع سبزی	دما ( $^{\circ}\text{C}$ )	مزوفیل هوازی	اسپوردار	کپک و مخمر	آنتروباکتریاسه
بندپیاز	۴	$(12/57 \pm 4/3 \times 10^5)^{b*}$	$(2/78 \pm 0/25 \times 10^3)^{b}$	$(71/50 \pm 16/8 \times 10^3)^{a}$	$(771/37 \pm 205/4 \times 10^3)^{a}$
	۲۵	$(240/86 \pm 26/0 \times 10^7)^{a}$	$(5/37 \pm 0/3 \times 10^5)^{a}$	$(65/03 \pm 22/5 \times 10^5)^{b}$	$(284/25 \pm 58/0 \times 10^3)^{b}$
کرفس	۴	$(10/52 \pm 2/8 \times 10^5)^{b}$	$(2/44 \pm 0/1 \times 10^3)^{b}$	$(65/47 \pm 10/6 \times 10^3)^{a}$	$(740/95 \pm 355/3 \times 10^3)^{a}$
	۲۵	$(218/31 \pm 6/1 \times 10^7)^{a}$	$(4/97 \pm 0/16 \times 10^5)^{a}$	$(63/15 \pm 32/0 \times 10^5)^{b}$	$(270/71 \pm 91/2 \times 10^3)^{b}$
کدو سبز	۴	$(10/15 \pm 2/6 \times 10^5)^{b}$	$(2/13 \pm 0/1 \times 10^3)^{b}$	$(62/87 \pm 15/3 \times 10^3)^{a}$	$(723/43 \pm 336/5 \times 10^3)^{a}$
	۲۵	$(213/52 \pm 65/4 \times 10^7)^{a}$	$(447/47 \pm 86/3 \times 10^3)^{a}$	$(57/54 \pm 17/1 \times 10^5)^{b}$	$(249/41 \pm 63/4 \times 10^3)^{b}$
گریزه	۴	$(9/74 \pm 3/7 \times 10^5)^{b}$	$(1/93 \pm 0/6 \times 10^3)^{b}$	$(58/43 \pm 20/6 \times 10^3)^{a}$	$(651/53 \pm 96/7 \times 10^3)^{a}$
	۲۵	$(206/35 \pm 102/9 \times 10^7)^{a}$	$(412/74 \pm 102/1 \times 10^5)^{a}$	$(53/83 \pm 9/1 \times 10^5)^{b}$	$(213/43 \pm 45/6 \times 10^3)^{b}$

\*در تمام جداول حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰.۵٪ است.

### تجزیه واریانس شمارش میکروبی در دمای انبارمانی $4^{\circ}\text{C}$

نتایج تجزیه واریانس شمارش میکروبی در دمای انبارمانی  $4^{\circ}\text{C}$  برای انواع سبزی نشان داد که حداقل بین میانگین دو تیمار از هر کدام از اثرات دز و زمان و اثرات متقابل دوتایی دز\*زمان اختلاف معنی‌دار وجود دارد.



مقایسه میانگین اثر دز در شمارش میکروبی سبزیجات در دمای انبارمانی ۴ °C

مطابق جدول ۲، شمارش تمام انواع در تیمار شاهد پرتو دهی تمام سبزیجات، بیشترین مقدار را دارد. کمترین مقدار شمارش مربوط به دز پرتو دهی ۱ kGy و در شمارش دز ۰/۲۵ kGy به طور معنی داری کاهش مشاهده می‌شود. با افزایش دز پرتو دهی تا ۱ kGy، شاهد کاهش تعداد کلنی می‌باشیم. در شمارش کپک و مخمر افزایش دز پرتو دهی تا ۰/۲۵ kGy موجب کاهش تعداد کلنی، در ۰/۵ kGy شاهد افزایش مجدد تعداد کلنی و پس از آن شاهد کاهش مجدد می‌باشیم. باکتری‌های ایکلی و استافیلوکوکوس اورئوس، فقط در نمونه‌های شاهد و ۰/۲۵ kGy حضور داشتند.

جدول ۲ مقایسه میانگین اثر دز پرتو دهی در شمارش باکتری به روش دانکن در ۴ °C

نوع سبزی	دز (کیلوگری)	مزوفیل هوازی	اسپوردار	کپک و مخمر	آنتروباکتریاسه	ایکلی	استافیلوکوکوس اورئوس
کدو	۰	(۶۱/۱۵ ± ۱/۲ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>a</sup>	(۱۱/۹۱ ± ۱/۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۳۲۰/۱۷ ± ۲/۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۳۷۷۸/۸۳ ± ۲۲/۳ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	+	+
	۰/۲۵	(۱/۴۹ ± ۰/۰۴ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>b</sup>	(۰/۹۶ ± ۰/۰۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۱۱/۷۷ ± ۲/۱۵ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۷۵/۰۸ ± ۹/۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	+	+
	۰/۵	(۰/۱۴ ± ۰/۰۴ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۶۳ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۱۵/۷۱ ± ۱/۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۳/۱۲ ± ۰/۳۸ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	-	-
	۰/۷۵	(۰/۰۳ ± ۰/۰۲ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۲۵ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۷/۶۵ ± ۰/۰۹ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۳۳ ± ۰/۰۶ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	-	-
	۱	(۰/۰۰۳ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>e</sup>	(۰/۱۵ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	(۲/۲۲ ± ۰/۰۸ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۰۲ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	-	-
کرفس	۰	(۵۱/۱۶ ± ۲/۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>a</sup>	(۱۰/۴۸ ± ۱/۸ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۲۹۴/۵ ± ۳/۶ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۳۳۳۱/۶۷ ± ۳۱/۳ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	+	+
	۰/۲۵	(۱/۲۸ ± ۰/۰۸ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>b</sup>	(۰/۸۲ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۱۰/۴۱ ± ۱/۸۳ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۶۹/۷۵ ± ۷/۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	+	+
	۰/۵	(۰/۱۱ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۵۶ ± ۰/۰۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۱۳/۶۹ ± ۲/۴ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۳/۰۳ ± ۰/۲۴ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	-	-
	۰/۷۵	(۰/۰۳ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۲۱ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۶/۶۵ ± ۱/۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۱۹ ± ۰/۰۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	-	-
	۱	(۰/۰۰۶ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>e</sup>	(۰/۱۳ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	(۲/۰۹ ± ۰/۰۶ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۰۲ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	-	-
کلم	۰	(۴۹/۳۹ ± ۶/۴ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>a</sup>	(۹/۱۵ ± ۱/۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۲۸۳/۵ ± ۱۵/۷ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۳۵۴۸/۳۳ ± ۹۱/۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	+	+
	۰/۲۵	(۱/۲۱ ± ۰/۰۲ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>b</sup>	(۰/۷۴ ± ۰/۰۳ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۹/۶۷ ± ۲/۰۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۶۵/۷۵ ± ۸/۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	+	+
	۰/۵	(۰/۱۱ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۴۹ ± ۰/۰۴ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۱۳/۲۵ ± ۳/۴ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۲/۸۰ ± ۰/۲۵ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	-	-
	۰/۷۵	(۰/۰۳ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۱۹ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۵/۹۲ ± ۰/۶ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۲۷ ± ۰/۰۴ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	-	-
	۱	(۰/۰۰۶ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>e</sup>	(۰/۱۲ ± ۰/۰۰۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	(۲/۰۱ ± ۰/۰۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۰۱۷ ± ۰/۰۰۲ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	-	-
کرتبه	۰	(۴۷/۱۵ ± ۳/۶ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>a</sup>	(۸/۲۶ ± ۲/۰ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۲۶۶/۱۷ ± ۹/۸ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	(۳۱۹۵/۰ ± ۲۵/۹ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>a</sup>	+	+
	۰/۲۵	(۱/۱۷ ± ۰/۱۵ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>b</sup>	(۰/۶۵ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۸/۲۱ ± ۱/۱۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۵۹/۸۲ ± ۷/۵ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	+	+
	۰/۵	(۰/۱۰ ± ۰/۰۲ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۴۶ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۱۱/۱۱ ± ۳/۰ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>b</sup>	(۲/۵۶ ± ۰/۰۸ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	-	-
	۰/۷۵	(۰/۰۲ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۱۸ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۵/۰۶ ± ۱/۳ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>c</sup>	(۰/۲۴ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	-	-
	۱	(۰/۰۰۵ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> ) <sup>e</sup>	(۰/۰۹ ± ۰/۰۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	(۱/۶۵ ± ۰/۰۳ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>d</sup>	(۰/۰۱۵ ± ۰/۰۱ × ۱۰ <sup>۳</sup> ) <sup>e</sup>	-	-

مقایسه میانگین اثر زمان در شمارش باکتری در ۴ °C



مطابق جدول ۳، شمارش میکروبی در روزهای ۱۵ انبارمانی بیشترین مقدار را دارد. کمترین مقدار شمارش میکروبی مربوط به روز صفر می‌باشد. مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری بر باکتری‌های مزوفیل هوازی و کپک و مخمر دو گروه مختلف را نشان می‌دهد که مبین عدم وجود تفاوت معنی‌دار آماری بین روزهای انبارمانی ۰ و ۸ می‌باشد. شمارش آنتروباکتریاسه و باکتری‌های اسپوردار سه گروه مختلف را نشان می‌دهد که دلیل بر وجود تفاوت معنی‌دار آماری بین هر سه زمان انبارمانی است. تعداد کلنی به ترتیب در روزهای ۰، ۸ و ۱۵ افزایش نشان می‌دهد.

جدول ۳ مقایسه میانگین اثر زمان انبارمانی (روز) در شمارش در  $4^{\circ}\text{C}$  به روش دانکن

نوع سبزی	زمان نگهداری (روز)	مزوفیل هوازی	اسپوردار	کپک و مخمر	آنتروباکتریاسه
کدو	۰	$(4/47 \pm 1/1 \times 10^6)^a$	$(0/41 \pm 0/7 \times 10^6)^a$	$(14/39 \pm 2/3 \times 10^6)^a$	$(327/40 \pm 82/4 \times 10^3)^a$
	۸	$(9/87 \pm 2/24 \times 10^6)^a$	$(0/74 \pm 0/1 \times 10^6)^b$	$(25/69 \pm 1/42 \times 10^6)^a$	$(365/43 \pm 16/6 \times 10^3)^b$
	۱۵	$(23/35 \pm 4/6 \times 10^6)^b$	$(7/19 \pm 0/24 \times 10^6)^c$	$(174/43 \pm 35/2 \times 10^6)^b$	$(162/13 \pm 54/17 \times 10^3)^c$
اسفناج	۰	$(3/83 \pm 0/5 \times 10^6)^a$	$(0/37 \pm 0/2 \times 10^6)^a$	$(12/68 \pm 2/8 \times 10^6)^a$	$(313/20 \pm 10/2 \times 10^3)^a$
	۸	$(8/42 \pm 2/0 \times 10^6)^a$	$(0/65 \pm 0/1 \times 10^6)^b$	$(22/77 \pm 6/14 \times 10^6)^a$	$(350/42 \pm 66/2 \times 10^3)^b$
	۱۵	$(19/30 \pm 2/07 \times 10^6)^b$	$(6/31 \pm 0/29 \times 10^6)^c$	$(160/95 \pm 46/2 \times 10^6)^b$	$(1559/23 \pm 130/2 \times 10^3)^c$
کدو	۰	$(3/68 \pm 0/8 \times 10^6)^a$	$(0/34 \pm 0/1 \times 10^6)^a$	$(12/09 \pm 3/0 \times 10^6)^a$	$(300/80 \pm 86/5 \times 10^3)^a$
	۸	$(7/67 \pm 0/64 \times 10^6)^a$	$(0/58 \pm 0/2 \times 10^6)^b$	$(22/35 \pm 4/10 \times 10^6)^a$	$(341/41 \pm 10/2 \times 10^3)^b$
	۱۵	$(19/10 \pm 1/4 \times 10^6)^b$	$(5/49 \pm 0/17 \times 10^6)^c$	$(154/17 \pm 28/4 \times 10^6)^b$	$(1528/09 \pm 78/4 \times 10^3)^c$
کدو	۰	$(3/43 \pm 0/7 \times 10^6)^a$	$(0/31 \pm 0/05 \times 10^6)^a$	$(10/64 \pm 1/8 \times 10^6)^a$	$(262/64 \pm 36/7 \times 10^3)^a$
	۸	$(7/38 \pm 1/10 \times 10^6)^a$	$(0/53 \pm 0/2 \times 10^6)^b$	$(20/61 \pm 4/21 \times 10^6)^a$	$(306/20 \pm 55/3 \times 10^3)^b$
	۱۵	$(18/41 \pm 3/9 \times 10^6)^b$	$(4/94 \pm 1/75 \times 10^6)^c$	$(144/07 \pm 62/1 \times 10^6)^b$	$(1385/73 \pm 250/6 \times 10^3)^c$

در پژوهشی‌هایی با موضوع مشابه پژوهش حاضر نتایج زیر مشاهده شده‌اند؛ شمارش اولیه باکتری و کپک‌ها در برگ گشنیز، به ترتیب،  $10^6$  تا  $10^8$  CFU/g و  $10^2$  -  $10^4$  بوده‌است. تعداد کل باکتری‌ها با افزایش دز پرتودهی کاهش می‌یابد. پایین‌ترین دز ۱ kGy، باعث کاهش سه سیکل لگاریتمی باکتری‌ها، ۱ سیکل لگاریتمی مرگ مخمر و کپک و کاهش میزان کلی فرم‌ها به  $43$  CFU/g شد. پس از یک هفته انبارش در دمای  $8-10^{\circ}\text{C}$ ، نمونه‌های پرتودهی نشده، افزایش در تعداد کل باکتری‌ها، کپک و مخمر را نشان دادند. دز پایین پرتودهی ۱ kGy، در کاهش کلی فرم‌ها بدون شواهدی از حضور مجدد در طول انبارش تا دو هفته موثر بود. همچنین مطالعات با تلقیح مصنوعی برگ گشنیز نشان داد که پرتودهی با دز ۱ kGy در دمای یخچال برای حذف  $10^3$  CFU/g کافی است [۱۸]. پرتودهی نعنای تازه، در تمام دزهای آزمایشی ۰/۲، ۰/۶، ۱ و ۲ روی *E. coli O157: H7* اثر معنی‌داری داشت ( $P < 0.01$ ). کاهش در جمعیت باکتریایی وابسته به



دز بود. یک روز پس از پرتودهی، کاهش جمعیت *E. coli O157: H7* بر روی نمونه‌های پرتودهی شده در ۰/۲۵ kGy و ۰/۶۰ به ترتیب  $\log$  ۲/۳۹ و ۳/۶۲ بود. با استفاده از دز ۱ kGy و ۲ کاهش *E. coli O157: H7* تقریباً  $\log$  CFU/g ۵/۸ بوده‌است. در دز ۰/۶ kGy، *E. coli O157: H7* در روز ۶ و بعد از آن قابل یافتن نبود. در سال ۱۹۹۸ Lucht و همکاران، وقتی که *E. coli O157: H7* در یک بافر فسفات در دمای ۰ درجه سانتی‌گراد پرتودهی شد، مقدار  $D_{10}$  ۰/۱۲ کیلوگری را گزارش دادند. نتایج نشان داد که بعد از پرتودهی اولیه کاهش ۲ سیکل لگاریتمی در دز ۰/۶ کیلوگری در طی مدت ۱۲ روز انبارش مشاهده شد. باکتری به طور کامل توسط دز ۲ kGy از بین رفته و در طی دوره ذخیره سازی هیچ بازگشتی مشاهده نشد. آسیب‌های غیرکشنده و کشنده تیمارهای فرآوری مواد غذایی مانند پرتودهی به پاتوژن‌های غذا شناخته شده‌است. میزان این آسیب‌ها به دز پرتودهی و میکروارگانیسم بستگی دارد. در سال ۲۰۰۴ Foley و همکاران کاهش ۶/۷ لگاریتمی *E. coli O157: H7* در گشنیز پرتودهی شده با دز ۱/۵ kGy را گزارش کردند. همچنین Niemira در سال ۲۰۰۷، کاهش کمتر از ۵ سیکل لگاریتمی *E. coli O157: H7* در اسفناج پرتودهی شده با دز ۱/۵ kGy را مشاهده کرده‌است [۱۹]. کمترین دز پرتودهی ۰/۵ kGy تعداد باکتری *E. coli O15: H7* و شمارش کل باکتری‌های هوازی اسفناج تازه را به  $10^3 \times 6/1$  و  $10^5 \times 2/5$  کاهش داده، درحالی‌که، دزهای ۱ kGy، ۱/۵ و ۲ این مقادیر را به کمتر از ۱۰ کاهش می‌دهد. پرتودهی برگ تازه اسفناج با دزهای مختلف گاما شمارش کپک و مخمر را به کمتر از ۱۰ کاهش می‌دهد. کاهش بیشتر در شمارش کل باکتری‌های هوازی نمونه اسفناج، ممکن است به علت اثر مستقیم پرتو و نیز اثر غیر مستقیم ناشی از پرتوکافت باشد که در نمونه‌های تازه بیشتر از پرتودهی شده است. پرتودهی در دزهای ۱ kGy و ۲ روشی کارا برای رسیدن به کاهش ۵ سیکل لگاریتمی باکتری‌های بیماری‌زا و طولانی شدن عمر مفید محصول تازه بدون به خطر انداختن ویژگی‌های حسی آن یافت شده است. اسفناج نیاز به دز بیش از ۱/۰۶ kGy برای رسیدن به سطوح غیر قابل ردیابی *E. coli O15: H7* دارد اما، مقادیر آسکوربیک اسید (ویتامین C) در دز ۱ kGy بلافاصله تا ۲۵٪، کاهش می‌یابد. پرتودهی برای بهبود ایمنی میکروبی غذاها استفاده می‌شود. پرتودهی نشان داد که یک فرآیند قابل قبول است، زیرا دزهای لازم برای اطمینان از کیفیت مطلوب میکروبیولوژیکی کیفیت کلی سبزیجات و میوه‌ها را تغییر نمی‌دهد [۲۰]. اختلاف معنی‌داری در شمارش کلی هوازی بین نمونه‌های پرتودهی شده و شاهد گشنیز در دزهای ۰/۵ kGy، ۱ و ۱/۵ وجود داشت (P < 0.05). پرتودهی جمعیت میکروبی اولیه را ۳ تا ۳/۵ سیکل لگاریتمی کاهش داد. میکروارگانیسم‌های هوازی کل تا ۴ روز انبارش (کمتر از ۲/۵ CFU/g) غیر قابل تشخیص بود. در طول انبارش، شمارش کلی هوازی در تمام دزها به تدریج افزایش یافت. البته نمونه‌های تیمار شده با دز ۱/۵ kGy، در تمام زمان نگهداری قابل شناسایی نبودند ( $2 \log$  CFU/g). محققان دیگر گزارش دادند که گشنیز پرتودهی شده با دز ۲ kGy و ۳، ۲ سیکل لگاریتمی کاهش در شمارش کلی میکروبی و مهار رشد باکتری در طی ۱۴ روز نگهداری، داشته‌است [۲۱]. پرتودهی برگ‌های اسفناج در دز ۲ کیلوگری موجب کاهش  $10^2 \times 5$  سیکل لگاریتمی بار میکروبی اولیه شد و دز ۰/۵ kGy بار میکروبی اولیه را به یک پنجم آن کاهش داد. همچنین دز ۲ kGy یک سیکل لگاریتمی جمعیت باکتری‌های هوازی را کاهش و ماندگاری را افزایش داده درحالی‌که دز ۰/۵ kGy



کاهش ۴ برابری در این جمعیت موجب شده است. دز  $0.5 \text{ kGy}$  به سطح بهینه پرتودهی برای از بین بردن باکتری‌ها و افزایش طول عمر مفید، با حفظ ویژگی‌های حسی خوب و مطلوب برگ‌های اسفناج، نزدیک می‌باشد [۲۲]. اسفناج، گشنیز و شنبلیله با دزهای  $0$ ،  $1$ ،  $1/5$  و  $2$  گاما تیمار شدند. پس از پرتودهی، برگ‌ها در دمای  $28^\circ\text{C}$ ،  $10$  و  $4$  نگهداری شدند. برگ‌های پرتودهی شده در  $2 \text{ kGy}$  و نگهداری شده در دمای  $4^\circ\text{C}$ ، دارای تازگی و پذیرش تا  $30$  روز بودند. تیمار پرتودهی گاما با دز صحیح، جایگزین خوبی برای سترون کردن یا ضد عفونی کردن محصول قبل از توزیع به مصرف کنندگان است. نمونه‌های بدون بسته‌بندی در دمای محیط، ماندگاری بسیار کوتاه به مدت سه روز داشته است. به طور کلی، پرتودهی در دزهای  $1$  و  $2 \text{ kGy}$  می‌تواند برای افزایش ایمنی میکروبی (شمارش کلی هوازی، بی‌هوازی و کپک و مخمر) اسفناج تازه با حفظ کیفیت استفاده شود [۲۳]. هنگامی که میکروب‌های موجود در غذا پرتودهی می‌شوند، انرژی حاصل از پرتو، پیوندها در مولکول‌های DNA را می‌شکند و باعث نقص در دستورالعمل‌های ژنتیکی می‌شود. اگر این آسیب قابل تعمیر نباشد، ارگانیسم می‌میرد یا قادر به تولید مثل نخواهد بود. منجمد یا تازه بودن غذا مهم است، زیرا دز پرتودهی بیشتری برای کشتن میکروب‌ها در غذاهای منجمد مورد نیاز است. اثربخشی این فرآیند به حساسیت ارگانیسم به پرتو، سرعتی که می‌تواند DNA آسیب دیده را ترمیم کرده و به ویژه به مقدار DNA در موجود هدف بستگی دارد. انگل‌ها و حشرات آفت که محتوای DNA بیشتری دارند، به سرعت توسط یک دز بسیار کم پرتودهی، کشته می‌شوند. برای کشتن باکتری‌ها، پرتودهی بیشتری لازم است زیرا DNA کمتری دارند. ویروس‌ها کوچکترین پاتوژن‌های دارای اسید نوکلئیک هستند و به طور کلی در برابر پرتو در دزهای مجاز برای غذا مقاوم می‌باشند. اگر غذا هنوز سلول‌های زنده داشته باشد، آن‌ها فقط به عنوان میکروب‌ها، آسیب دیده یا کشته می‌شوند. این یک اثر مفید است، می‌توان آن را برای افزایش عمر مفید میوه‌ها و سبزیجات استفاده کرد، زیرا مانع از جوانه زدن و تاخیر رسیدن می‌شود [۲۴].

### نتیجه‌گیری کلی

بین نمونه شاهد و تمام دزها برای تمام سبزی‌ها در انواع شمارش میکروبی، تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. شمارش میکروبی در کمترین ( $0/25 \text{ kGy}$ ) تا بیشترین ( $1 \text{ kGy}$ ) دز، روند کاهشی وابسته به دز وجود داشت. برای تمام سبزی‌ها در انواع شمارش میکروبی تیمارها بین نتایج روز صفر و پس از  $8$  روز انبارش تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده نشد اما در روز  $15$  افزایش معنی‌دار نشان داد. باکتری‌های *ایکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، فقط در نمونه‌های شاهد و  $0/25 \text{ kGy}$  حضور داشتند. همچنین با توجه به بالا بودن شمارش میکروبی و عدم امکان استفاده از سبزیجات انبارمانی شده در دمای محیط ( $25^\circ\text{C}$ )، تنها کیفیت انبارمانی نمونه‌های نگهداری شده در یخچال بررسی شدند. با توجه به همه جوانب و نتایج حاصل می‌توان گفت با استفاده از پرتودهی گاما در دز  $0.5 \text{ kGy}$  سبزی‌های برگی تازه شامل تره، جعفری، شوید و مرزه در دمای یخچال تا  $8$  روز با حفظ کیفیت کاملاً مطلوب قابل نگهداری هستند. البته در نظر دارد در فاصله  $8$  تا  $15$  روز هم بررسی‌های میکروبی در بازه‌های زمانی کوتاه‌تر انجام شود، زیرا ممکن است تا  $10$  روز یا بیشتر هم این قابلیت نگهداری افزایش یابد.





## منابع

- [۱] مهدویان مهر، ح.، اثنی عشری، م.، صداقت، ن. (۱۳۹۲). روش‌های نوین بسته‌بندی میوه و سبزیجات برش خورده، فصلنامه علمی-ترویجی علوم و فنون بسته‌بندی، ۱۳: ۳۰-۴۳.
- [۲] توسلی، ا.، ریسی، م.، جوادزاده، ه.، مظاهری، م.، قارلی‌پور، ذ.ا.، قاسمی، س.، شکوری، ث. (۱۳۹۲). تاثیر آموزش مبتنی بر الگوی اعتقاد بهداشتی و ارتقای مصرف میوه و سبزیجات به منظور پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی: یک مطالعه مداخله‌ای، فصلنامه بهداشت در عرصه، ۱ (۲): ۲۹-۳۵.
- [۳] بحرینی، م.، حبیبی نجفی، م.ب.، باسامی، م.ر.، عباس‌زادگان، م.، بهرامی، ا.ر.، اجتهادی، ح.ر. (۱۳۹۰). ارزیابی بار میکروبی سبزیجات تازه طی مراحل فرآوری با روش حداقل فرآیند در یک واحد بسته‌بندی، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۷ (۳): ۲۳۵-۲۴۲.
- [4] Nguyen-the, C., Carlin, F. (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. Critical reviews in food science and nutrition, 34: 371-401.
- [5] Beuchat, L. R. (1996). Pathogenic microorganism associated with fresh product. Journal of Food Protection, 59: 204-216.
- [6] Mukherjee, A., Speh, D., Jones, A. T., Buesing, K. M., Diez-Gonzalez, F., (2006). Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the upper Midves. Journal of Food Protection, 69: 1928-1936.
- [7] FDA (Food and Drug Administration, USA), (2006). Spinach and *E. coli* outbreaks. URL: <[http:// www.fda.gov/oc/opacom hottopics spinach.html](http://www.fda.gov/oc/opacom hottopics spinach.html). > (accessed 06.02. 2009).
- [۸] عزیزخانی، م.، الیزاکویویل، پ. (۱۳۹۴). تاثیر اسانس‌های گیاهی بر میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا در سبزیجات برگی، مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور، ۲: ۱۸-۳۱.
- [9] A.K., Kilonzo-Nthenge. (2012). Gamma Irradiation for Fresh Produce. Gamma Radiation, 2012 - intechopen.com.
- [۱۰] الماسی، ع. (۱۳۹۰). ضرورت بازنگری دستورالعمل بهداشتی گندزدایی میوه و سبزیجات با استفاده از کلر. دو ماهنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ۳: ۲۳۱ و ۲۳۲.
- [11] <https://uwfood-irradiation.engr.wisc.edu/Facts.html>, 2016
- [۱۲] استاندارد ملی ایران شماره ۷۲۵۲-۱. (۱۳۹۳). میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانیزم‌ها - قسمت ۱ - شمارش کلنی در ۳۰ درجه سانتی گراد با استفاده از روش کشت آمیخته.
- [۱۳] استاندارد ملی ایران شماره ۷۲۵۲-۲. (۱۳۹۳). میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانیزم‌ها - قسمت ۲ - شمارش کلنی در ۳۰ درجه سانتی گراد با استفاده از روش کشت سطحی
- [۱۴] استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۸۹۹-۱. (۱۳۸۷). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت اول - روش شمارش کلنی در فرآورده‌های با فعالیت آبی (AW) بیشتر از ۰/۹۵



- [۱۵] استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶ (۱۳۸۷). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شناسایی و شمارش کلی فرمها
- [۱۶] استاندارد ملی ایران شماره ۲۹۴۶ (۱۳۸۴). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جستجو و شمارش اشریشیاکلی با استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی
- [۱۷] استاندارد ملی ایران شماره ۶۸۰۶-۱ (۱۳۸۴). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - شمارش استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس /رئوس و سایر گونه ها) - روش آزمون - قسمت اول: روش استفاده از محیط کشت برد - پارکراگار
- [18] Kamat, A., Pingulkar, K., Bhushan, B., Gholap, A., Thomas, P. (2003). Potential application of low dose gamma irradiation to improve the microbiological safety of fresh coriander leaves, Food Control, 14: 529-537.
- [19] Hsu, W.Y., Simonne, A., Jitareerat, P., Marshal, M.R. (2010). Low-Dose Irradiation Improves Microbial Quality and Shelf Life of Fresh Mint (*Mentha piperita* L.) without Compromising Visual Quality, Journal of Food Science, 75(4): M222-230.
- [20] Al-Suhaibani, A.M., Al-Kuraieef, A.N. (2016). The effects of Gamma irradiation on the Microbiological quality, Sensory evaluation and Antioxidant activity of Spinach. International Journal of ChemTech Research, 9(6): 39-47.
- [21] Kim, H.J., Feng, H., Toshkov, S.A., Fan, X. (2005). Effect of Sequential Treatment of Warm Water Dip and Low-dose Gamma Irradiation on the Quality of Fresh-cut Green Onions. Journal of Food Science, 70(3): M179-185.
- [22] Matossian, M. (2008). Gamma Irradiation Studies of Spinach Leaves. California State Science Fair 2008 Project Summary. Project Number: S1412.
- [23] Jadhav, p., Chappalwar, V.M., Bhojar, A.F., Chappalwar, A.M. (2013). Study the Shelf Life Extension of Leafy vegetables by Ionizing Radiation International Journal of Engineering Research & Technology (IJERT), 2(10): 817-826.
- [24] <https://uwfood-irradiation.engr.wisc.edu/Facts.html>, 2016.