J. of Nucl Sci. and Tech.
76, 2016, 16-25

مجله‌ی علوم و فنون هسته‌ای
۷۶، ۱۳۹۵، ۱۶-۲۵

بررسی اثرات پرتو گاما بر ترکیبات زیست فعال، رنگ و بار میکروبی زعفران

مرضیه سیحون[۱]، محسن برزگر*[۲]، محمدعلی سحری[۲]

۱. پژوهشکده‌ی کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۳۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران ـ ایران
۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی: ۳۳۶-۱۴۱۱۵، تهران ـ ایران

چکیده: در این پژوهش، اثرات پرتو گاما بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی زعفران ایرانی (*Crocus sativus L.*) مانند کروسین (عامل مؤثر در رنگ زعفران)، کامفرول (از ترکیبات زیست فعال پلی‌فنولی) و سافرانال (جزء اصلی مواد فرار معطر زعفران)، رنگ شامل نمایه‌های *a، *b، *L و ΔE_h و بار میکروبی نمونه‌های زعفران بررسی شده‌اند. نمونه‌های زعفران در گاماسل ۲۲۰ تا دزهای ۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و kGy ۶ پرتودهی شدند. سپس ترکیبات مؤثر آنها استخراج و میزان تغییر آن و نیز بار میکروبی نمونه‌های زعفران بررسی شدند. نتایج حاصل نشان می‌دهد که ضمن کاهش بار میکروبی زعفران، میان ۲۱ ترکیب زیست فعّال جدا شده به وسیله‌ی HPLC، مقدار کروسین، کامفرول و سافرانال در سه منطقه‌ی این مطالعه، تحت تأثیر تابش‌دهی گاما قرار گرفتند. به طور کلی نتایج نشان می‌دهند که پرتودهی زعفران تا دز kGy ۶، بدون تأثیر نامطلوب در ترکیبات مؤثر زعفران، باعث کاهش چشم‌گیر بار میکروبی می‌شود. هم‌چنین تیمار کردن زعفران با پرتو ۴ و kGy ۶، منجر به افزایش چشم‌گیر ($p<۰/۰۱$) یا عدم تغییر رنگ و ترکیبات زیست فعّال می‌شوند.

***کلیدواژه‌ها:* زعفران، پرتودهی، ترکیبات زیست فعال، بار میکروبی، کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا، هانترلب**

A Study into the Effects of Gamma-Irradiation on Bioactivie Compounds, Color and Microbial Load of Saffron

M. Seyhoon[1], M. Barzegar*[2], M.A. Sahari[2]
1. Radiation Applications Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 11365-3486, Tehran – Iran
2. Department of Food Science and Technology, Tarbit Modares University, P.O.Box: 14115-336, Tehran – Iran

Abstract: In this study, the effects of γ-radiation on physicochemical properties of Iranian saffron (Crocus sativus L.) such as crocin (saffron color factor), kaempferol (polyphenol bioactive compounds) and safranal (the main component of volatile aromatic saffron), color paramerters a*, b*, L* and ΔEh indices and the microbial load were investigated. The saffron samples were irradiated at dosages of 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 kGy by a Gammacell 220. Then, the efficient compounds were extracted and the composition and microbial load of saffron extracts were determined before and after the γ- irradiation. The results showed that in addition to decreasing the microbial content of saffron, among the 21 bioactivie compounds separated by HPLC, crocin, kaempferol and safranal content in three regions of this study were affected by the gamma irradiation. Pre- treatment of saffron with 4 and 6 kGy radiation also results in a significant ($p<0.01$) increase, without changes in color and bioactivie compounds. These data may suggest that irradiation of saffron without unfavorable changes on the effective componeents results in a significant decrease in the microbial content of this product.

Keywords: ***Saffron, Gamma Irradiation, Bioactive Compounds, Microbial Load, High Performance Liquid Chromatography System (HPLC), Hunter Lab***

*email: mbb@tmu.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۲/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۲/۸

۱. مقدمه

زعفران (Crocus) متعلق به خانواده‌ی زنبق (Iridaceae)، تکه‌لپه‌ای با نام علمی (*Crocus sativus L.*)، گیاهی چند ساله، علفی، بدون ساقه با برگ‌های باریک سوزنی شکل است. زعفران در نقاط مختلف دنیا مانند اسپانیا، اتریش، هندوستان، چین، یونان، ایتالیا، مصر، ترکیه، ایران و آذربایجان کشت می‌شود. زعفران ایران از کیفیت خاصی برخوردار است. این گران‌ترین ادویه‌ی جهان، علاوه بر استفاده در صنایع غذایی و داروسازی، در صنعت نساجی نیز به صورت یک رنگ طبیعی برتر برای پارچه‌های گران‌قیمت به خصوص ابریشم کاربرد دارد [۱]. تولید سالانه‌ی زعفران در جهان ۲۵۰ t تخمین زده می‌شود و میزان تولید زعفران در ایران حدود ۲۳۰ t است که ایران با تولید سالانه بیش از ۹۰٪ زعفران جهان، مقام اول را از نظر کمیت و کیفیت به خود اختصاص داده است [۲]. امروزه، توسعه‌ی صادرات غیرنفتی نقش یک راهکار مهم را در رشد و حتی توسعه‌ی اقتصادی ایفاد می‌کند و صرفاً به افزایش درآمد ارزی از طریق توسعه‌ی صادرات انواع کالاها و خدمات محدود نمی‌شود. صادرات کالاها و خدمات، باعث بالا رفتن سطح اشتغال، تحرک واحدهای تولیدی و افزایش درآمد ملی می‌شود و منابع ارزی لازم را نیز برای کشور فراهم می‌کند [۳].

کلاله‌ی گیاه زعفران دارای ترکیبات شیمیایی گوناگونی از جمله کربوهیدرات، مواد معدنی، ویتامین‌ها و رنگ‌دانه‌هایی مانند کاروتن و فلاونوئیدها است. به علاوه، حاوی سه ترکیب اصلی کروسین (رنگیزه‌های کاروتنوئیدی محلول در آب)، کامفرول (ترکیب پلی‌فنلی) و سافرانال (جزء اصلی مواد فرار معطر زعفران) می‌باشد. بوی زعفران نتیجه‌ی آرومای برخی روغن‌های فرار و اسانس‌های مخصوصی است که در این ماده وجود دارد. سافرانال ماده‌ی معطر اصلی زعفران است و حدود ۶۰٪ از ترکیبات فرار زعفران را تشکیل می‌دهد. کروسین که از ترکیبات کاروتنوئیدی زعفران است به عنوان ترکیبی ضد سرطان، از رشد سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند [۴]. ارزش اقتصادی و کیفیت زعفران وابسته به محتوای ترکیبات کروسین، کامفرول و سافرانال آن است.

ادویه از جمله زعفران غالباً آلودگی شدیدی به ریزنده‌ها دارند، زیرا ادویه در محیط کشاورزی رشد می‌کند. منشأ آلودگی می‌تواند گیاه، خاک، فضولات پرندگان، جوندگان و حشرات باشد. این بار میکروبی در طول عملیات برداشت، حمل‌ونقل، نگه‌داری، فرآوری غیربهداشتی (مثلاً استفاده از آب آلوده) و خشکاندن نامناسب افزایش می‌یابد. تغییرات میکروبی نامطلوب در زعفران (رشد کپک و باکتری) باعث کاهش کیفیت محصول می‌شود. این موضوع در محموله‌های صادراتی حتی موجب برگشت آنها می‌شود. بنابراین جهت کاهش بار میکروبی، از روش‌های آلودگی‌زدایی مانند پرتودهی استفاده می‌شود [۵، ۶]. پرتودهی مواد غذایی که "پاستوریزه کردن سرد" نامیده می‌شود، می‌تواند به منظور کنترل و حذف حشرات یا ریزنده‌های عامل فساد و بیماری‌زا از قبیل باکتری‌ها، کپک‌ها، مخمرها و ویروس‌ها استفاده شود، و در نتیجه زمان ماندگاری فرآورده‌های غذایی افزایش یابد [۷]. سازمان‌های بین‌المللی از قبیل FAO و WHO، با بررسی همه پژوهش‌های انجام شده در این زمینه، پرتودهی مواد غذایی را ایمن و مفید دانسته‌اند. ایمنی مواد غذایی پرتودهی شده از چهار جنبه‌ی ایمنی پرتوی، سم‌شناسی و میکروبی و حفظ ارزش تغذیه‌ای قابل توجه می‌باشند. کمیته‌ی پرتودهی مواد غذایی در سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا تأیید کرده است که بیش از ۹۰٪ ترکیبات رادیولیتیک مواد غذایی پرتودهی شده، مشابه آنهایی هستند که در حرارت‌دهی، خشک کردن و انجماد مواد غذایی یافت شده‌اند. در غذاهای مرطوب، رادیکال‌های آزاد در کسری از ثانیه ناپدید می‌شوند، ولی در غذاهای خشک، بسیار پایدارتر هستند و به سرعت ناپدید نمی‌شوند [۸]. پرتودهی گاما می‌تواند فعالیت‌های زیستی فرآورده‌های طبیعی را با افزایش کارآیی استخراج، بهبود رنگ و فعالیت ضداکسایشی برخی از فرآورده‌های غذایی افزایش دهد [۹]. کاهش خطر آلودگی به ریزنده‌های بیماری‌زا، در کنار حفظ ویژگی‌های طعمی، عطر و رنگ با استفاده از این فن‌آوری، روشی مناسب برای حفظ و نگه‌داری این محصول با ارزش به شمار می‌رود [۱۰].

در پژوهشی، نمونه‌ی زعفران از منطقه تربت حیدریه برداشت شده است و نمونه‌های زعفران به صورت شاهد و پرتودیده در دزهای ۱، ۲، ۳ و ۴ kGy پرتودهی، و پارامترهای کیفی شامل پیکروکروسین، کروسین و سافرانال با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۷۵، ۳۰۰ و ۴۴۲ nm اندازه‌گیری شده است. نتایج

به دست آمده نشان می‌دهند که با به‌کارگیری تکنیک پرتو فرآوری و دز ۳ kGy، زمان انبارمانی زعفران افزایش می‌یابد [۱۱].

در مطالعه‌ی دیگری، نمونه‌های زعفران از ۱۱ منطقه‌ی استان خراسان شامل طبس، تربت حیدریه، قائن، فردوس، بیرجند، گنبد، بردسکن، ششتمد، خور، بیجورد، کاشمر، سبزوار و باجستان برداشت، و روی ترکیبات پیکروکروسین، کروسین و سافرنال با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج‌های ۱۲۵، ۲۵۵ و ۴۴۰ nm اندازه‌گیری شده است. حداکثر جذب با اسپکتروفتومتری برای ترکیبات پیکروکروسین و کروسین ۱٫۹۲۸ و ۲٫۷۶۰ در منطقه‌ی تربت حیدریه، و برای سافرنال ۱٫۰۰۸ در منطقه‌ی ششتمد سبزوار گزارش شده است [۱۲].

ترکیب دو روش پرتودهی گاما در دزهای ۱، ۲، ۳ و ۴ kGy در روز اول و پس از ۳۰ d، و بسته‌بندی با نانو نقره با روش طیف‌سنجی، میزان سافرانال و کروسین زعفران را افزایش داده است [۱۳].

پژوهشی در جهت افزایش و توسعه‌ی طعمی زعفران انجام شد. این مطالعه در مورد تکامل تدریجی ترکیبات فرار و غیرفرار تولید شده طی عمل‌آوری کلاله‌های زعفران بوده است و نشان می‌دهد که در مراحل اولیه، افزایش ترکیبات بیش‌تر از مراحل نهایی است [۱۴].

پژوهش دیگری با هدف تعیین کیفیت زعفران (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) در شرایط مختلف آب و هوایی انجام گرفت. برای این کار از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC)[1] استفاده شد. نتایج نشان داد که کروسین و پیکروکروسین ثابت بوده‌اند و تغییرات عمده‌ای در سافرانال مشاهده شده است [۱۵].

پژوهشی روی ترکیبات فرار پوشال و گل زعفران به وسیله‌ی دستگاه (GC-O-MS) انجام شده است. نتایج نشان داد که ترکیبات nonanal، 2(5H)-furanone، phenylacetaldehyde، safranal، 1-octen-3-ol، (E)-2-methyl-2-butenal در کلاله‌ی زعفران شدت بیش‌تری دارد [۱۶].

در پژوهشی در منطقه‌ی تربت حیدریه‌ی استان خراسان، چهار شیوه‌ی مختلف نمونه‌برداری به صورت، نمونه‌برداری زعفران تازه از زمان برداشت به وسیله‌ی فورسپس، نمونه‌برداری زعفران به وسیله‌ی دست، نمونه‌برداری زعفران تازه در سایه به وسیله‌ی هوای گرم خشک و نمونه‌برداری تازه و خشک شده به وسیله‌ی خشک‌کن انجام شده است. نمونه‌ها در تیوب استریل نگه‌داری، و برای آزمایش میکروبی (شمارش کلی، کپک و مخمر، کلیفرم، اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس) در دزهای مختلف (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ kGy) پرتو دهی شده‌اند [۱۷].

با آزمایش بر روی نمونه‌های زعفران جمع‌آوری شده از ۱۶ ناحیه‌ی زعفران‌خیز استان خراسان، انواع مختلفی از باکتری‌های استافیل کوکوس، باسیلوس‌های اسپوردار، کوکو باسیل‌های گرم منفی، کپک و مخمر مشاهده شده‌اند. بار میکروبی با افزایش دز به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. بیش‌ترین کاهش در دز ۶ kGy بوده، و در دز ۷ kGy میزان بار میکروبی به صفر رسیده است [۱۸].

با توجه به پژوهش‌هایی که در گذشته انجام شده است، آثار پرتو فرآوری بر روی نمایه‌های رنگ a*، b*، L* و ΔE به وسیله‌ی دستگاه هانترلب، و مقدار کروسین، کامفرول و سافرانال نمونه‌های زعفران با استفاده از دستگاه HPLC بررسی نشده‌اند. بنابراین در این پژوهش این جنبه‌ها مطالعه شده‌اند.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲ مواد اولیه

نمونه‌های تازه‌ی زعفران از سه منطقه‌ی استان خراسان (قائنات، تربت حیدریه و کلات) هر کدام به وزن ۵۰ g خریداری شد. استاندارد کامفرول، کروسین، سافرنال و استاندارد داخلی ۲- نیتروآنیلین از شرکت سیگمای آمریکا، استونیتریل و متانول از شرکت مرک آلمان تهیه شد. محیط کشت پلیت کانت آگار، ویولت رد بایل آگار، دی کلران‌گلیسرول آگار و آگار اندو از شرکت مرک، آلمان خریداری شد.

۲.۲ آماده‌سازی نمونه

پس از جمع‌آوری نمونه‌ها از استان خراسان، کلاله گل‌ها جدا شده و درون گرمخانه در دمای ۵۰ °C حدود ۲۴ h خشک شدند. تمام نمونه‌ها به دو دسته‌ی شاهد و تیمار پرتودیده (۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ kGy) تقسیم شدند. هر دسته از نمونه‌ها به سه بخش مساوی

برای انجام آزمایش‌های شیمیایی، رنگ‌سنجی و میکروبی تقسیم شدند. سپس کلاله‌ها به صورت پودر تا هنگام آزمایش شیمیایی و میکروبی درون شیشه‌های تیره‌رنگ و در دمای ۴°C نگه‌داری شدند [۱۹].

۳.۲ پرتودهی

نمونه‌ها در بسته‌های پلی‌اتیلنی با درجه‌ی مواد غذایی[۲] به وزن ۱ g بسته‌بندی و در گاماسل Nordion GC-220 تا دزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ kGy با نرخ دز ۲٫۵۶ Gy/s و قدرت منبع ۶۶۶ TBq در دمای محیط پرتودهی شدند [۲۰].

۴.۲ تعیین ترکیبات زیست فعال

به منظور تعیین ترکیبات زیست فعال در اندازه‌گیری مهم‌ترین ترکیبات زعفران شامل کروسین، سافرانال و کامفرول، از دستگاه HPLC استفاده شد [۲۱].

نمونه‌های زعفران پرتودیده به همراه شاهد ۰٫۱ g انتخاب و سپس ۱۰ ml حلال متانول– آب (۵۰٪ حجمی) به آن اضافه شد و در ۴ °C، در تاریکی با همزن به مدت ۲۴ h، هم‌زده شد. سپس همه‌ی نمونه‌ها به مدت ۲۰ min در ۳۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. به این ترتیب، بخش محلول و نامحلول زعفران از یک‌دیگر جدا شد. سپس نمونه‌ها با صافی آکرودیسک ۱۳، ۰٫۴۵ μ صاف شد. فاز متحرک از دو جزء A محلول ۱۵٪ استونیتریل در آب و B اتانول تشکیل شد. از روش حلال متغیر[۳] برای تجزیه‌ی نمونه استفاده شد. ترکیب ۲- نیتروآنیلین به عنوان استاندارد داخلی در غلظت ۲ ppm برای هر یک از ترکیبات مورد نظر به کار رفت. منحنی درجه‌بندی استاندارد ترکیبات کامفرول، کروسین و سافرانال با غلظت‌های ۱، ۲، ۵ و ۱۰ ppm رسم شد. طول موج‌های مورد استفاده برای تجزیه‌ی ترکیبات کامفرول ۲۵۰، سافرانال ۳۱۰ و کروسین ۴۴۰ nm بود [۲۲]. اندازه‌گیری کمّی براساس میلی‌گرم در گرم (mg/g) نمونه‌های زعفران محاسبه می‌شود [۱۷].

۵.۲ بررسی تغییر رنگ نمونه‌های زعفران به وسیله‌ی هانترلب

رنگ نمونه‌های زعفران، قبل و بعد از فرآوری، با استفاده از دستگاه هانترلب (Colorflex ،Virginia ،USA) بررسی، و شاخص‌های *L جهت سنجش تقریبی روشنایی، *a برای قرمزی و *b برای زردی محاسبه شد تا بتوان براساس این عوامل، شاخص اختلاف رنگ کلی[۴] (ΔE) را بر مبنای رابطه‌ی $\Delta E=[(\Delta L)^2+(\Delta a)^2+(\Delta b)^2]^{1/2}$ برآورد کرد [۱۵، ۱۷، ۲۱- ۲۶].

۶.۲ تجزیه‌ی میکروبی

برای تهیه رقت، از محیط کشت مایع آب پپتونه[۵] استفاده شد. مقدار ۱ g از زعفران با ۹ ml آب پپتونه مخلوط (۱:۱۰) و پس از هم‌زدن، معلقه‌ی حاصل به منظور رقت 10^{-2} به کار گرفته شد. رقت‌های به دست آمده با محیط‌های کشت متفاوت به صورت پور پلیت[۶] آمیخته شد. در نمونه‌های شاهد و پرتودیده، از محیط‌های کشت آگار پلیت کانت[۷] برای شمارش کلی با رقت‌های 10^{-1} و 10^{-2}، از دی‌کلران گلیسرول آگار[۸] برای شمارش قارچ‌ها (مخمرها وکپک‌ها) با رقت‌های 10^{-2} و 10^{-3}، از آگار ویولت رد بایل آگار[۹] برای شناسایی و شمارش کلی‌فرم با رقت‌های 10^{-1} و 10^{-2}، از محیط کشت مایع ایی‌سی[۱۰] برای شناسایی آنتروباکتری‌های مولد گاز رقت 10^{-1}، و در صورت مثبت بودن محیط کشت مذکور، برای شناسایی ایشرشیاکلی[۱۱] از محیط کشت آگار اِندو[۱۲] استفاده شد. پس از کشت، پلیت‌های VRB و PCA به ترتیب بعد از ۲۴ و ۷۲ h نگه‌داری در دمای ۳۰°C، از نظر احتمال وجود کلنی بررسی شدند. پلیت‌های DG_{18} به دمای ۲۵°C انتقال یافته و پس از ۷ d شمارش نهایی شد [۲۷].

۷.۲ تجزیه آماری

این پژوهش توسط آزمایش فاکتوریل (۲ فاکتور منطقه و زمان هر یک در ۳ سطح) و در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی با ۳ تکرار، تجزیه‌ی آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS17 و Minitab16، و مقایسه‌ی میانگین توسط آزمون LSD و در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شدند.

۳. نتایج و بحث

۱.۳ تأثیر تابش گاما بر ترکیبات زیست فعال

از آن جایی که HPLC یکی از دقیق‌ترین و بهترین روش‌های جداسازی و شناسایی ترکیبات است و امروزه از این روش برای

اندازه‌گیری کمّی و کیفی مواد شیمیایی، زیستی، دارویی و صنعتی حتی با غلظت‌های بسیار ناچیز هم استفاده می‌شود، در مرحله‌ی اول، حضور اجزای مورد نظر در ۳ نمونه‌ی متفاوت زعفران به این روش بررسی شد. نتایج نشان داد که تمام نمونه‌ها، حاوی ترکیب‌های مورد نظر کروسین، سافرانال و کامفرول است. در کروماتوگرام‌های نمونه‌های متفاوت، هر چند که باند و عرض قله‌ها متفاوت بود، ولی کروسین، کامفرول و سافرانال بیش‌ترین مقدار را در نمونه‌ی زعفران منطقه‌ی قائنات پس از پرتودهی داشت. در مرحله‌ی دوم با استفاده از کروماتوگرام‌های رسم شده و مشاهده‌ی قله‌ها در طول موج‌های مربوط به هر جزء زعفران، سطح زیر منحنی هر قله توسط نرم‌افزار دستگاه HPLC محاسبه شد. سپس با استفاده از منحنی استانداردِ رسم شده با ماده‌ی خالص، غلظت هر جزء محاسبه شد و میانگین داده‌ها به دست آمد. جدول ۱، میانگین اطلاعات کمّی میزان هر یک از اجزای مورد بررسی را در هر گرم از نمونه‌های مختلف زعفران بیان می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، عصاره‌ی زعفران منطقه‌ی قائنات دز دزهای ۴ تا ۶ kGy و منطقه‌ی کلات در دز ۴ kGy پس از ۲ ماه حاوی بیش‌ترین مقدار کروسین و نمونه‌ی منطقه‌ی قائنات پس از یک ماه در دز ۶ kGy، غلظت بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشته است. هم‌چنین در میان این نمونه‌ها، عصاره‌ی زعفران منطقه‌ی قائنات در دز ۴ kGy پس از یک ماه، بیش‌ترین غلظت سافرانال را داشت [۲۸].

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، اختلاف معنی‌داری را بین اکثر اجزای نمونه‌ها (جدول ۱) نشان نداده است. اختلاف بین تمام گروه‌ها در مورد کروسین، کامفرول و سافرانال در سطح $p<0.01$، معنی‌دار بود. براساس نتایج جدول ۲ (تجزیه واریانس)، متغیر مستقل زمان بر محتوای کروسین، کامفرول و سافرانال، و متغیرهای مستقل منطقه و دز پرتودهی، بر محتوای کروسین و سافرانال، اثر معنی‌دار داشته‌اند. اثر متقابل دز و زمان بر محتوای کروسین و اثر متقابل منطقه و زمان بر محتوای هر سه ترکیب معنی‌دار بوده است.

۲.۳ بررسی تغییر عامل‌های رنگی هانترلب در اثر پرتودهی

شکل ظاهر، یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی در بازاریابی مواد غذایی تازه و فرآوری شده است. از نظر مشتری، رنگ مواد غذایی تأثیر به سزایی بر کیفیت مواد غذایی دارد و می‌توان براساس همبستگی رنگ با ویژگی‌های کیفی از قبیل عیوب حسی، تغذیه‌ای و چشمی یا غیرچشمی به کنترل فوری این عیوب کمک کرد. مختصات L^*، a^* و b^* هانترلب به طور معمول در صنعت مواد غذایی استفاده می‌شوند. هم‌چنین می‌توان بزرگی تفاوت رنگ بین نمونه‌های فرآوری شده و شاهد را با معیار اختلاف رنگ کلی (ΔE) بیان نمود. تفاوت‌های قابل درک در رنگ را می‌توان به صورت تجزیه‌ای در سطوح بسیار مشخص ($\Delta E>3$)، مشخص ($1.5<\Delta E<3$)، و اختلاف کم ($1.5>\Delta E$) طبقه‌بندی کرد [۲۹].

نتایج سایر پژوهشگران نیز بهبود رنگ نمونه‌های پرتودهی شده‌ی عصاره‌ی زردچوبه را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از بررسی حاضر با نمونه‌های زردچوبه‌ی آروماتیک، Curcuma aromatica (CA)، و زردچوبه‌ی لونگا، Curcuma longa (CL)، نشان داد که زردچوبه‌ی آروماتیک پرتودهی شده (CA)، در دز ۱۵ kGy بهبود رنگ مطلوب‌تری را نسبت به دز ۳۰ kGy و نمونه‌ی شاهد نتیجه می‌دهد. این فرایند تغییر معنی‌داری در عامل‌های رنگ نمونه ایجاد کرد و مقدار آن بیش‌تر از زردچوبه‌ی لونگا (CL) است که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است [۱۹].

بررسی نمایه‌های رنگ نشان داد که متغیرهای L^*، a^* و b^* در نمونه‌ی تیمار شده نسبت به نمونه‌ی شاهد (تیمار پرتوندیده) افزایش داشته است [۲۶].

براساس جدول ۳، روند تغییر این سه عامل سنجش رنگ به وسیله‌ی هانترلب، ارتباط مستقیمی با شدت دز پرتودهی داشت و با توجه به در نظر گرفتن آثار هر سه زمان صفر، نگه‌داری بعد از یک و دو ماه بر شاخص‌های رنگ L^*، a^* و b^*، می‌توان گفت که برای زعفران منطقه‌ی قائنات نسبت به دو منطقه‌ی دیگر، شدت رنگ با شدت دز افزایش داشته و پس از دو ماه آن را حفظ کرده است. هم‌چنین در این بررسی، با افزایش دز پرتو ΔEh، در منطقه‌ی قائنات در سطح اختلاف کم، در منطقه‌ی تربت حیدریه در سطح اختلاف کم، مشخص و بسیار مشخص، و در منطقه‌ی کلات در سطح مشخص و بسیار محسوس بود.

جدول ۱. مقادیر تشکیل‌دهنده‌های ترکیبات زیست فعال زعفران در ۲۱ نمونه‌ی مختلف زعفران ایران برحسب منطقه

منطقه	دز	کروسین (میلی‌گرم در گرم نمونه)			کامفرول (میلی‌گرم در گرم نمونه)			سافرانال (میلی‌گرم در گرم نمونه)		
		پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه	پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه	پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه
	۰	۰٫۰۳±۰٫۰۰^{c*}	۰٫۶۳±۰٫۰۰^{a*}	۰٫۷۰±٫۰۰^{a*}	۰٫۰۱±۰٫۰۰^{c}	۰٫۶۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۰۴±۰٫۰۰^{d}	۱٫۵۸±۰٫۰۰^{b}	۰٫۷۸±۰٫۰۰^{b}
	۱	۰٫۷۲±۰٫۰۱^{a}	۰٫۶۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۳±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۰۳±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۱±۰٫۰۰^{b}	۰٫۸۳±۰٫۰۰^{b}	۱٫۷۴±۰٫۰۰^{a}	۰٫۸۹±۰٫۰۰^{a}
	۲	۰٫۶۹±۰٫۰۲^{a}	۰٫۵۸±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۶۵±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۰۳±۰٫۰۱^{a}	۰٫۵۷±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۱۴±۰٫۰۰^{c}	۱٫۴۴±۰٫۰۰^{a}	۱٫۵۲±۰٫۰۰^{b}	۰٫۹۶±۰٫۰۰^{a}
قائنات	۳	۰٫۶۸±۰٫۰۱^{a}	۰٫۶۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۰۳±۰٫۰۱^{a}	۰٫۵۸±۰٫۰۰^{a}	۰٫۱۹±۰٫۰۰^{b}	۱٫۰۱±۰٫۰۰^{b}	۱٫۶۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۸۷±۰٫۰۰^{a}
	۴	۰٫۶۱±۰٫۰۱^{ab}	۰٫۵۱±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۶۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۰۲±۰٫۰۰^{b}	۰٫۶۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۲±۰٫۰۰^{b}	۱٫۲۱±۰٫۰۰^{a}	۱٫۶۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۷۱±۰٫۰۰^{b}
	۵	۰٫۶۰±۰٫۰۲^{ab}	۰٫۵۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۷۳±۰٫۰۰^{a}	۰٫۰۲±۰٫۰۰^{b}	۰٫۶۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۱۸±۰٫۰۰^{b}	۰٫۸۷±۰٫۰۰^{b}	۱٫۶۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۹۷±۰٫۰۰^{a}
	۶	^{a}۰٫۷۱±۰٫۰۱	۰٫۵۲±۰٫۰۰^{ab}	^{ab}۰٫۶۱±۰٫۰۰	۰٫۰۳±۰٫۰۰^{a}	۰٫۵۷±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۲۲±۰٫۰۰^{b}	۰٫۷۹±۰٫۰۰^{bc}	۱٫۳۹±۰٫۰۰^{c}	۰٫۸۸±۰٫۰۰^{a}
	۰	۰٫۳۱±۰٫۰۲^{b}	۰٫۳۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۰۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۵۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۸۳±۰٫۰۰^{c}	۰٫۲۱±۰٫۰۰^{c}
	۱	۰٫۳۴±۰٫۰۰^{b}	۰٫۳۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۶±۰٫۰۰^{bc}	۰٫۳۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۱۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۵±۰٫۰۰^{b}	۱٫۱۹±۰٫۰۰^{b}	۰٫۴۳±۰٫۰۰^{ab}
	۲	۰٫۳۴±۰٫۰۰^{b}	۰٫۴۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۴±۰٫۰۰^{a}	۰٫۴۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۰۸±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۳±۰٫۰۰^{b}	۲٫۱۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۴۰±۰٫۰۰^{ab}
تربت	۳	۰٫۴۰±۰٫۰۱^{a}	۰٫۳۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۸±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۲۵±۰٫۰۰^{c}	۰٫۳۰±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۰۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۲±۰٫۰۰^{b}	۱٫۲۰±۰٫۰۰^{b}	۰٫۲۶±۰٫۰۰^{c}
	۴	۰٫۳۳±۰٫۰۲^{b}	۰٫۳۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۹±۰٫۰۰^{b}	۰٫۳۰±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۰۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۴±۰٫۰۰^{b}	۱٫۳۰±۰٫۰۰^{b}	۰٫۲۲±۰٫۰۰^{c}
	۵	۰٫۳۰±۰٫۰۲^{b}	۰٫۳۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۹±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۳۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۱±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۰۲±۰٫۰۰^{b}	۰٫۲۷±۰٫۰۰^{c}	۱٫۲۴±۰٫۰۰^{b}	۰٫۳۴±۰٫۰۰^{b}
	۶	۰٫۲۸±۰٫۰۰^{b}	۰٫۳۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۸±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۲۶±۰٫۰۰^{bc}	۰٫۳۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۱۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۴±۰٫۰۰^{c}	۱٫۱۹±۰٫۰۰^{b}	۰٫۵۰±۰٫۰۰^{a}
کلات	۰	۰٫۵۰±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۵۴±۰٫۰۰^{a}	۰٫۵۶±۰٫۰۰^{c}	۰٫۵۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۲±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۱۰±۰٫۰۰^{d}	۰٫۶۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۵۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۱۲±۰٫۰۰^{d}
	۱	۰٫۴۸±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۴۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۷۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۶±۰٫۰۰^{b}	۰٫۴۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۹±۰٫۰۰^{b}	۰٫۶۵±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۲±۰٫۰۰^{c}
	۲	۰٫۴۹±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۵۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۷۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۲۲±۰٫۰۰^{b}	۰٫۲۹±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۲۷±۰٫۰۰^{b}	۰٫۶۴±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۶۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۲±۰٫۰۰^{b}
	۳	۰٫۶۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۵۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۵±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۲۹±۰٫۰۰^{b}	۰٫۳۰±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۳۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۴±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۵۹±۰٫۰۰^{a}	۰٫۹۶±۰٫۰۰^{a}
	۴	۰٫۵۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۵۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۷۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۱۴±۰٫۰۰^{c}	۰٫۲۹±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۳۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۷±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۹۱±۰٫۰۰^{a}
	۵	۰٫۵۱±۰٫۰۱^{a}	۰٫۵۱±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۱±۰٫۰۰^{b}	۰٫۱۶±۰٫۰۰^{c}	۰٫۳۱±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۱۸±۰٫۰۰^{c}	۰٫۶۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۳۹±۰٫۰۰^{c}
	۶	۰٫۵۲±۰٫۰۰^{a}	۰٫۵۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۴±۰٫۰۰^{ab}	۰٫۲۸±۰٫۰۰^{b}	۰٫۲۱±۰٫۰۰^{c}	۰٫۱۹±۰٫۰۰^{c}	۰٫۶۶±۰٫۰۰^{a}	۰٫۶۰±۰٫۰۰^{a}	۰٫۹۷±۰٫۰۰^{a}

* حروف لاتین متفاوت در هر منطقه برای هر یک از نمایه‌های رنگ تفاوت معنی‌دار آماری ($p<۰٫۰۱$) را نشان می‌دهند.

جدول ۲. تجزیه‌ی واریانس پس از پرتودهی

منابع تغییرات	درجه‌ی آزادی	میانگین مربع‌ها		
		کروسین	کامفرول	سافرانال
منطقه	۲	۴۸٫۲۹***	^{ns}۰٫۵۸	۱۸٫۰۳***
دز پرتودهی	۶	۱٫۴۶**	^{ns}۰٫۴۷	۳٫۱۵***
زمان	۲	۱٫۷۹**	۱۳٫۱۰***	۸٫۴۹***
دز پرتودهی × زمان	۱۲	۰٫۷۸*	^{ns}۰٫۲۶	^{ns}۰٫۱۶
دز پرتودهی × مکان	۱۲	^{ns}۰٫۵۸	^{ns}۰٫۳۷	^{ns}۰٫۴۳
مکان × زمان	۴	۰٫۸۲*	۱۵٫۱۵***	۲٫۹۲**
خطا	۱۵۰	۰٫۳۸	۰٫۵۸	۰٫۶۳
کل	۱۸۸			

* وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵٪،

** وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۱٪،

*** وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰٫۱٪،

جدول ۳. مقادیر تشکیل‌دهنده‌ی رنگ در ۲۱ نمونه‌ی مختلف زعفران ایران برحسب منطقه

منطقه	دز	a*			b*			L*		
		پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه	پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه	پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه
	۰	۲۲٫۶۶±۰٫۲۵^{b}	۲۳٫۲۵±۰٫۴۱^{a*}	۲۳٫۹۸±۰٫۶۸^{a*}	۱۸٫۲۴±۰٫۸۳^{b}	۱۸٫۱۵±۰٫۱۹^{a}	۱۹٫۸۳±۲٫۶۹^{a}	۲۵٫۴۶±۰٫۷۱^{b}	۲۵٫۹۰±۰٫۶۳^{a}	۲۵٫۶۶±۱٫۷۵^{a}
	۱	۲۵٫۱۰ ±۰٫۸۶^{b}	۲۲٫۶۹±۱٫۶۴^{a}	۲۴٫۱۶±۱٫۰۳^{a}	۱۷٫۲۶±۱٫۲۱^{b}	۱۸٫۳۴±۳٫۸۸^{a}	۲۰٫۸۴±۳٫۳۲^{a}	۲۵٫۱۰ ±۰٫۸۶^{b}	۲۵٫۷۲±۲٫۸۵^{a}	۲۶٫۴۳±۲٫۰۷^{a}
	۲	۲۵٫۸۱ ±۰٫۸۰^{ab}	۲۲٫۸۰±۰٫۵۴^{a}	۲۳٫۷۶±۱٫۰۸^{a}	۱۷٫۷۸±۱٫۱۹^{b}	۱۸٫۰۹±۱٫۷۴^{a}	۲۰٫۶۴±۲٫۶۹^{a}	۲۵٫۸۱ ±۰٫۸۰^{ab}	۲۶٫۰۳±۱٫۲۵^{a}	۲۶٫۳۹±۲٫۰۹^{a}
قائنات	۳	۲۵٫۶۸ ±۰٫۱۳^{ab}	۲۲٫۹۵±۰٫۹۸^{a}	۲۳٫۵۱±۰٫۵۰^{a}	۱۷٫۸۳±۰٫۲۷^{b}	۱۷٫۶۵±۱٫۸۱^{a}	۱۹٫۴۶±۱٫۳۲^{a}	۲۵٫۶۸ ±۰٫۱۳^{ab}	۲۵٫۵۸±۱٫۳۸^{a}	۲۵٫۵۴±۱٫۰۳^{a}
	۴	۲۵٫۶۶ ±۰٫۵۵^{ab}	۲۲٫۹۷±۰٫۴۹^{a}	۲۳٫۹۵±۱٫۲۰^{a}	۱۷٫۴۶±۰٫۲۹^{b}	۱۸٫۳۷±۱٫۴۶^{a}	۲۱٫۵۳±۳٫۲۵^{a}	٫۶۶ ±۰٫۵۵^{ab}	۲۶٫۰۳±۱٫۱۱^{a}	۲۶٫۹۵±۲٫۱۰^{a}
	۵	۲۵٫۹۶ ±۰٫۴۷^{ab}	۲۳٫۲۵±۰٫۸۴^{a}	۲۳٫۶۹±۱٫۲۵^{a}	۱۷٫۹۷±۰٫۲۹^{b}	۱۸٫۲۱±۲٫۲۲^{a}	۱۹٫۵۹±۲٫۹۵^{a}	۲۵٫۹۶ ±۰٫۴۷^{ab}	۲۵٫۵۲±۱٫۵۱^{a}	۲۵٫۷۷±۱٫۹۴^{a}
	۶	۲۷٫۶۲ ±۱٫۳۱^{a}	۲۳٫۵۸±۱٫۰۱^{a}	۲۳٫۱۹±۱٫۱۴^{a}	۲۰٫۶۳±۱٫۳۶^{a}	۱۸٫۵۶±۲٫۰۷^{a}	۱۹٫۱۷±۱٫۶۲^{a}	۲۷٫۶۲ ±۱٫۳۱^{a}	۲۶٫۰۴±۱٫۳۲^{a}	۲۵٫۳۲±۱٫۰۹^{a}
	۰	۲۵٫۳۰±۰٫۴۸^{ab}	۲۲٫۴۵±۳٫۷۶^{a}	۲۵٫۴۹±۰٫۷۲^{a}	۲۰٫۰۴±۰٫۶۳^{ab}	۱۶٫۶۸±۵٫۱۳^{a}	۲۲٫۴۴±۱٫۱۴^{a}	۲۹٫۶۷ ±۰٫۴۲^{a}	۳۰٫۰۸±۲٫۴۴^{a}	۲۵٫۱۵±۰٫۷۵^{a}
	۱	۲۵٫۵۴±۰٫۳۲^{ab}	۲۰٫۲۵±۲٫۶۴^{a}	۲۴٫۶۷±۲٫۹۲^{a}	۲۰٫۵۲±۰٫۱۸^{a}	۱۵٫۰۶±۲٫۴۴^{a}	۲۲٫۰۸±۳٫۶۵^{a}	۲۹٫۳۷ ±۰٫۲۷^{a}	۳۱٫۷۴±۱٫۶۲^{a}	۲۳٫۷۴±۳٫۰۴^{a}
	۲	۲۵٫۸۲±۰٫۲۵^{a}	۲۳٫۶۹±۰٫۴۴^{a}	۲۵٫۵۲±۲٫۴۷^{a}	۲۰٫۰۴±۰٫۶۲^{ab}	۱۷٫۸۸±۰٫۴۹^{a}	۲۳٫۰۸±۲٫۴۸^{a}	۲۹٫۵۲ ±۰٫۲۶^{a}	۲۹٫۶۶±۰٫۱۴^{a}	۲۴٫۷۵±۳٫۰۴^{a}
تربت	۳	۲۳٫۶۵±۱٫۱۲^{c}	۲۲٫۶۸±۳٫۳۰^{a}	۲۵٫۹۸±۲٫۰۹^{a}	۱۸٫۰۹±۱٫۲۱^{c}	۱۶٫۹۸±۳٫۳۶^{a}	۲۳٫۶۵±۲٫۴۹^{a}	۲۹٫۸۴ ±۰٫۳۶^{a}	۳۱٫۳۹±۲٫۰۹^{a}	۲۴٫۶۲±۲٫۲۲^{a}
	۴	۲۴٫۵۱±۰٫۷۴^{bc}	۲۲٫۴۲±۲٫۰۰^{a}	۲۳٫۷۵±۰٫۷۷^{a}	۱۹٫۰۵±۰٫۶۱^{bc}	۱۶٫۷۱±۱٫۸۸^{a}	۲۱٫۸۴±۰٫۴۴^{a}	۲۹٫۷۵ ±۰٫۶۴^{a}	۳۰٫۳۹±۰٫۶۲^{a}	۲۲٫۳۰±۰٫۶۱^{a}
	۵	۲۵٫۰۴±۰٫۴۴^{ab}	۲۱٫۶۲±۱٫۳۶^{a}	۲۶٫۲۹±۲٫۱۶^{a}	۱۹٫۶۵±۰٫۵۶^{ab}	۱۵٫۹۷±۱٫۳۵^{a}	۲۴٫۲۹±۲٫۷۰^{a}	۲۹٫۷۸ ±۰٫۵۵^{a}	۳۰٫۷۴±۱٫۰۱^{a}	۲۵٫۳۱±۲٫۶۳^{a}
	۶	۲۴٫۳۸±۰٫۹۴^{ab}	۲۰٫۹۷±۲٫۲۷^{a}	۲۴٫۱۴±۱٫۹۵^{a}	۱۹٫۵۱±۰٫۸۲^{ab}	۱۵٫۴۵±۳٫۱۲^{a}	۲۱٫۹۳±۳٫۱۳^{a}	۲۸٫۶۳ ±۱٫۵۶^{a}	۲۹٫۷۵±۳٫۱۴^{a}	۲۴٫۳۱±۳٫۱۳^{a}
	۰	^{a}۱٫۱۲±۲۱٫۱۹	۲۲٫۲۹±۰٫۶۹^{ab}	۲۵٫۹۷±۲ ۱۱^{a}	۱۵٫۶۸±۱٫۰۵^{a}	۱۵٫۴۵±۰٫۴۱^{ab}	۲۲٫۷۸±۱٫۲۷^{a}	۳۰٫۶۶ ±۰٫۶۳^{a}	۲۹٫۲۳±۰٫۹۰^{a}	۲۶٫۱۵±۰٫۴۲^{a}
	۱	۲۲٫۱۶±۰٫۶۶^{a}	۱۹٫۵۲±۳٫۴۵^{bc}	۲۳٫۲۶±۰٫۲۹^{ab}	۱۶٫۹۴±۱٫۲۳^{a}	۱۳٫۱۷±۳٫۰۶^{b}	۲۲٫۳۴±۲٫۶۳^{a}	۲۹٫۹۹ ±۰٫۷۱^{ab}	۳۰٫۴۹±۱٫۵۸^{a}	۲۶٫۴۱±۳٫۸۳^{a}
	۲	۲۲٫۵۶±۱٫۸۸^{a}	۲۱٫۴۴±۰٫۶۳^{abc}	۲۳٫۹۷±۱٫۱۲^{ab}	۱۵٫۳۳±۰٫۲۵^{a}	۱۵٫۱۳±۰٫۶۴^{ab}	۲۲٫۸۵±۰٫۹۶^{a}	۳۰٫۲۱ ±۱٫۰۶^{ab}	۳۰٫۲۵±۰٫۲۴^{a}	۲۷٫۲۶±۰٫۸۰^{a}
کلات	۳	۲۲٫۹۶±۰٫۹۶^{a}	۲۰٫۷۰±۰٫۵۶^{abc}	۲۲٫۶۵±۰٫۷۱^{b}	۱۷٫۱۶±۰٫۹۸^{a}	۱۴٫۳۷±۰٫۴۸^{ab}	۲۰٫۴۹±۱٫۴۵^{a}	۲۹٫۹۷ ±۰٫۵۵^{ab}	۳۰٫۵۶±۰٫۸۳^{a}	۲۴٫۴۳±۲٫۲۹^{a}
	۴	۲۲٫۹۷±۱٫۵۲^{a}	۲۲٫۷۳±۱٫۳۹^{a}	۲۳٫۶۱±۱٫۶۹^{ab}	۱۷٫۰۲±۲٫۰۹^{a}	۱۶٫۴۶±۱٫۴۰^{a}	۲۱٫۱۲±۰٫۷۵^{a}	۲۹٫۷۸ ±۰٫۱۳^{ab}	۲۹٫۸۹±۰٫۰۳^{a}	۲۵٫۶۲±۱٫۲۱^{a}
	۵	۲۳٫۷۰±۱٫۷۵^{a}	۲۰٫۴۳±۰٫۰۹^{abc}	۲۳٫۵۰±۱٫۸۸^{ab}	۱۸٫۱۴±۲٫۳۷^{a}	۱۳٫۹۶±۰٫۱۵^{ab}	۲۰٫۸۰±۲٫۴۴^{a}	۲۹٫۱۴ ±۰٫۴۹^{b}	۳۰٫۳۲±۰٫۹۰^{a}	۲۴٫۹۸±۲٫۴۹^{a}
	۶	۲۳٫۳۲±۲٫۰۹^{a}	۱۹٫۶۴±۰٫۵۸^{c}	۲۳٫۵۷±۰٫۶۸^{b}	۱۷٫۴۸±۲٫۲۹^{a}	۱۳٫۴۸±۰٫۶۰^{b}	۲۰٫۹۴±۱٫۹۹^{a}	۲۹٫۴۹ ±۰٫۱۸^{b}	۳۰٫۸۷±۰٫۴۹^{a}	۲۴٫۱۰±۲٫۵۳^{a}

* حرف لاتین متفاوت در هر منطقه برای هر یک از نمایه‌های رنگ تفاوت معنی‌دار آماری ($p<۰٫۰۱$) را نشان می‌دهند.

براساس نتایج جدول ۴، متغیرهای مستقل منطقه و زمان بر نمایه‌های رنگ اثر معنی‌دار داشته است. هم‌چنین اثر متقابل منطقه و زمان بر این سه نمایه معنی‌دار بوده است.

۳.۳ تأثیر پرتوگاما بر فعالیت میکروبی

جدول ۵ نشان‌دهنده‌ی محتوای میکروبی نمونه‌های شاهد و تیمار دیده در محیط‌های کشت مختلف و میانگین آنها است. تعداد کلنی‌ها با واحد ایجاد کلنی در یک گرم از نمونه، سنجیده می‌شود که این میزان در نمونه‌ی زعفران مورد آزمایش، بالا بوده و آلودگی میکروبی نسبتاً شدیدی را نشان می‌دهد. براساس اطلاعات جدول ۵، پس از پرتودهی تا دز ۴ kGy، باکتری‌های اسپوردار کاملاً حذف و تعداد مزوفیل‌های هوازی، کلیفرم‌ها و قارچ‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p<۰٫۰۵$). با توجه به این که مقاومت باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها در مقابل پرتو متفاوت است، دز مورد نیاز برای از بین بردن آنها نیز متفاوت است [۱۷]. نتایج این مطالعه نیز نشان می‌دهد که با توجه به میزان آلودگی اولیه‌ی محصول، پاسخ میکروارگانیسم‌های مختلف در دز ۴ kGy متفاوت است و بیش‌ترین اثر پرتودهی در از بین بردن باکتری‌ها، در میان کلیفرم‌ها مشاهده می‌شود ($p<۰٫۰۵$). براساس نتایج جدول ۶، تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف مشاهده نمی‌شود. بین دزهای پرتو در هر سه مورد فوق تفاوت معنی‌داری در سطح ۰٫۱٪ وجود دارد. بین مناطق مختلف PCA، تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود. در خصوص DG و VRB تفاوت معنی‌داری در سطح ۰٫۱٪ مشاهده می‌شود.

هم‌چنین نتایج نشان داد که به طور مشخصی تفاوت معنی‌دار میکروبی بین شیوه‌های مختلف نمونه‌برداری [۱۷] و دز ۴ kGy به منظور کاهش میکروبی مناسب وجود دارد. مطابق داده‌های مندرج در جدول ۵، کم‌ترین بار میکروبی کلی، در کپک و مخمر و کلیفرم زعفران منطقه‌ی قائنات و سپس کلات و تربت حیدریه مشاهده شد، ولی ایشرشیاکلی در زعفران سه منطقه مشاهده نگردید. این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران تطابق دارد [۱۷، ۳۰، ۳۱].

جدول ۴. تجزیه‌ی واریانس پس از پرتودهی

منابع تغییرات	درجه‌ی آزادی	میانگین مربعات*		
		L*	a*	b*
منطقه	۲	۱۵٫۴۵***	۳۹٫۲۶***	۶۰٫۹۱***
دز پرتودهی	۶	۰٫۰۴ns	۳٫۶۶ns	۱٫۴۳ns
زمان	۲	۳۰٫۹۲***	۸۲٫۲۲***	۴۳٫۸۳***
دز پرتودهی × زمان	۱۲	۰٫۳۱ns	۰٫۱۸ns	۳٫۴۵ns
دز پرتودهی × مکان	۱۲	۰٫۳۰ns	۲٫۶۸ns	۳٫۳۱ns
مکان × زمان	۴	۹٫۲۴***	۱۹٫۹۸***	۴۳٫۸۳***
خطا	۱۵۰	۰٫۳۲	۲٫۰۳	۳٫۶۴
کل	۱۸۸			

* وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵٪،

** وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۱٪،

*** وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰٫۱٪،

جدول ۵. مقایسه‌ی میانگین شمارش کلی، کپک، مخمر، کلیفرم در ۲۱ نمونه‌ی مختلف زعفران ایران برحسب منطقه

منطقه	دز	شمارش کلی (cfu)			کپک و مخمر (cfu)			شمارش کلیفرم (cfu)		
		پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه	پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه	پس از پرتودهی	پس از ۱ ماه	پس از ۲ ماه
	۰	۹٫۲	۱٫۱×۱۰^۳±۶۵٫۶^a*	۱٫۲×۱۰^۳±۸۱٫۰^a	۱٫۹×۱۰^۲±۹٫۹^a*	۲٫۰×۱۰^۲±۵۰٫۳^a*	۲/۲ × ۱۰^۲±۳۹/۳^a*	۸٫۰ × ۱۰±۱۳٫۳^a*	۱٫۱×۱۰^۲±۱۹٫۷^a*	۱٫۴×۱۰^۲±۲۵٫۸^a*
	۱	۵٫۰×۱۰^۲±۲۴٫۹^a	۵٫۸×۱۰^۲±۲۲٫۱^a	۵٫۹×۱۰^۲±۳۵٫۸^b	۱٫۳×۱۰^۲±۱۳٫۶^b	۱٫۱×۱۰^۲±۱۶٫۵^b	۱٫۰ × ۱۰^۲±۱۳٫۵^b	۲٫۰±۰٫۴^b	۲٫۰±۰٫۱^b	۲٫۰±۰٫۴^b
	۲	۱٫۵×۱۰^۲±۱۲٫۲^b	۲٫۰×۱۰^۲±۱۰٫۸^b	۲٫۱×۱۰^۲±۲۲٫۰^c	۸٫۰×۱۰±۱۳٫۷^b	۹٫۰×۱۰±۸٫۲^b	۹٫۰×۱۰±۳٫۰^b	۰٫۰^b	۰٫۰^b	۰٫۰^eb
قائنات	۳	۶٫۰×۱۰±۴٫۲^b	۷٫۰×۱۰±۳٫۲^b	۷٫۰×۱۰±۱۱٫۷^d	۵٫۰×۱۰±۲۴٫۸^bc	۵٫۰×۱۰±۵٫۲^cd	۴٫۰.×۱۰±۰٫۱^c	۰٫۰^b	۰٫۰^b	۰٫۰^b
	۴	۵٫۰±۰٫۵^c	۳٫۰±۰٫۵^c	۳٫۰±۰٫۴^e	۳٫۰×۱۰±۲۸٫۶^cd	۱٫۰×۱۰±۰٫۷^de	۲٫۰±۰٫۵^d	۰٫۰^b	۰٫۰^b	۰٫۰^b
	۵	۳٫۰±۰٫۵^c	۵٫۰±۰٫۵^c	۲٫۰±۰٫۴^e	۱٫۰×۱۰±۸٫۹^de	۲٫۰±۰٫۱^de	۲٫۰±۰٫۳^d	۰٫۰^b	۰٫۰^b	۰٫۰^b
	۶	۳٫۰±۰٫۲^c	۳٫۰±۰٫۵^c	۰٫۰^e	۲٫۰±۴٫۱^e	۲٫۰±۰٫۲^e	۰٫۰^d	۰٫۰^b	۰٫۰^b	۰٫۰^b
	۰	۵٫۱×۱۰^۳±۳۲٫۰^a	۹٫۵×۱۰^۳±۳۳٫۷^a	۵٫۰×۱۰^۳±۲۲٫۱^a	۶٫۰×۱۰^۲±۲۷٫۲^a	۶٫۰×۱۰^۲±۲۰٫۱^a	۶٫۵×۱۰^۲±۲۹٫۱^a	۸٫۲ × ۱۰^۲±۸٫۹^a	۱٫۲×۱۰^۳±۳۱٫۱^a	۱٫۳×۱۰^۳±۲۸٫۴^a
	۱	۳٫۲×۱۰^۲±۲۸٫۰^b	۳٫۸×۱۰^۲±۲۳٫۸ ^b	۳٫۶×۱۰^۲±۳۴٫۷^b	۲٫۴×۱۰^۲±۲۱٫۰^b	۳٫۰×۱۰^۲±۱۴٫۹^b	۳٫۱×۱۰^۲±۱۲٫۵^b	۲٫۰ × ۱۰±۰٫۱^b	۱٫۰×۱۰±۰٫۶^b	۱٫۰×۱۰±۱٫۳^b
	۲	۸٫۰×۱۰±۵٫۴^b	۷٫۵×۱۰±۳٫۳^c	۵٫۰×۱۰±۵٫۶^cd	۱٫۲×۱۰^۲±۹٫۸^c	۱٫۰×۱۰^۲±۶٫۳^d	۱٫۱×۱۰^۲±۴٫۳^d	۰٫۰^c	۰٫۰^d	۱٫۰±۰٫۴^c
تربت	۳	۱٫۰×۱۰±۱٫۲^c	۳٫۵×۱۰±۱٫۹^c	۲٫۰×۱۰±۳٫۲^c	۱٫۲×۱۰^۲±۱۴٫۷^cd	۲٫۰×۱۰^۲±۷٫۸^c	۱٫۸.×۱۰^۲±۵٫۸^c	۵٫۰±۰٫۵^c	۵٫۰±۰٫۱^c	۵٫۰±۰٫۹^c
	۴	۳٫۰±۰٫۵^c	۷٫۰±۸٫۲^d	۵٫۰±۱٫۲^d	۷٫۰×۱۰±۱۲٫۲^d	۷٫۰×۱۰±۳٫۹^d	۷٫۰×۱۰±۳٫۱^d	۰٫۰^c	۰٫۰^d	۰٫۰^c
	۵	۱٫۰×۱۰±۱٫۷^c	۰٫۰^e	۱٫۰±۰٫۸^d	۰٫۰^e	۰٫۰^e	۰٫۰^e	۰٫۰^c	۰٫۰^d	۰٫۰^c
	۶	۳٫۰±۰٫۵^c	۰٫۰^e	۱٫۰±۰٫۱^d	۳٫۰±۵۱٫۷^e	۰٫۰^e	۰٫۰^e	۳٫۰±۰٫۲^c	۰٫۰^d	۰٫۰^c
	۰	۵٫۱×۱۰^۳±۳۲٫۰^a	۴٫۹×۱۰^۳±۱۹٫۴^a	۵٫۰×۱۰^۳±۲۲٫۱^a	۳٫۲×۱۰^۲±۲۱٫۸^a	۳٫۲×۱۰^۲±۱۱٫۸^a	۳٫۳×۱۰^۲±۲۲٫۱^a	۵٫۵ × ۱۰^۲±۷٫۴^a	۱٫۲×۱۰^۲±۳٫۳^a	۱٫۳×۱۰^۲±۱۰٫۱^a
	۱	۳٫۲×۱۰^۲±۲۸٫۰^b	۳٫۶×۱۰^۲±۲۷٫۸^b	۳٫۶×۱۰^۲±۳۴٫۷^b	۱٫۰×۱۰^۲±۶۲٫۲^b	۹٫۰×۱۰±۱۵٫۶^b	۹٫۰×۱±۴٫۴^b	۷٫۰ × ۱۰±۵٫۸^b	۵٫۰×۱۰±۳٫۶^b	۵٫۰×۱۰±۱۴٫۷^b
	۲	۸٫۰×۱۰±۵٫۴^b	۵٫۰×۱۰±۲٫۸^c	۵٫۰×۱۰±۵٫۶^cd	۵٫.×۱۰±۲۰٫۰^b	۵٫۰×۱۰±۲٫۱^cd	۵٫۰×۱۰±۵٫۶^cd	۲٫۰±۴٫۱^c	۰٫۰^c	۱٫۰±۰٫۴^b
کلات	۳	۱٫۰×۱۰±۱٫۲^c	۲٫۰×۱۰±۱٫۲^d	۲٫۰×۱۰±۳٫۲^c	۶٫۰×۱۰±۴۷٫۶^b	۵٫۰×۱۰±۲٫۵^bc	۵٫۰×۱۰±۳٫۲^bc	۰٫۰^c	۰٫۰^c	۱٫۰±۰٫۴^b
	۴	۳٫۰±۰٫۵^c	۵٫۰±۰٫۸^e	۵٫۰±۱٫۲^d	۷٫۰×۱۰±۳۱٫۳^b	۲٫۰×۱۰±۱٫۵^e	۲٫۰×۱۰±۰٫۱^cd	۰٫۰^c	۰٫۰^c	۱٫۰±۰٫۴^b
	۵	۱٫۰×۱۰±۱٫۷^c	۰٫۰^e	۱٫۰±۰٫۸^d	۶٫۰×۱۰±۶۰٫۷^c	۲٫۰×۱۰±۱٫۹^de	۲٫۰×۱۰±۰٫۸^cd	۰٫۰^c	۰٫۰^c	۱٫۰±۰٫۴^b
	۶	۳٫۰±۰٫۵^c	۰٫۰^e	۱٫۰±۰٫۱^d	۱٫۰×۱۰±۱۳٫۷^c	۷٫۰±۱٫۲^f	۷٫۰±۰٫۱^d	۰٫۰^c	۰٫۰^c	۱٫۰±۰٫۴^b

جدول ۶. تجزیه‌ی واریانس پس از پرتودهی

منابع تغییرات	درجه‌ی آزادی	میانگین مربع‌ها*		
		PCA	DG	VRB
منطقه	۲	ns۰٫۱۱	۷٫۳۸***	۳٫۱۴***
دز پرتودهی	۶	۴۳٫۳۶***	۳۸٫۵۷***	۲۰۸٫۱۳***
زمان	۲	ns۰٫۲۴	ns۰٫۳۲	ns۰٫۰۴
دز پرتودهی × زمان	۱۲	۰٫۲۳**	ns۰٫۱۸	ns۰٫۱۱
دز پرتودهی × مکان	۱۲	۰٫۸۶***	۲٫۴۹***	۰٫۹۷***
مکان × زمان	۴	۰٫۷۵***	ns۰٫۳۶	ns۰٫۰۳
خطا	۳۳۹	۰٫۰۹	۰٫۱۵	۰٫۰۹
کل	۳۷۸			

* وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵٪،

** وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۱٪،

*** وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰٫۱٪،

۴. نتیجه‌گیری

براساس نتایج به دست آمده مشخص شد که پرتودهی زعفران با پرتو گاما در محدوده‌ی دز ۴ تا kGy ۶، سبب تغییر معنی‌دار ترکیبات زیست فعال (کروسین، سافرانال، کامفرول) نمونه‌ها نشد. هم‌چنین عامل‌های رنگی مورد ارزیابی گرفته با هانترلب، تغییرات معنی‌دار را نشان نداد. به علاوه، با توجه به شرایط مختلف کاشت، برداشت، نگه‌داری زعفران و آلودگی‌های متنوع این گیاه، افزایش دز پرتو گاما منجر به کاهش قابل توجه کل میکروبی، کپک، مخمر و کلیفرم در نمونه‌های زعفران می‌شود.

پی‌نوشت‌ها

1. High-Performance Liquid Chromatography
2. Food Grade
3. Gradient
4. Total Colour Difference
5. Pepton Water
6. Pour Plate
7. Plate Count Agar (PCA)
8. Dicholoran-Glycerol Agar (DG18)
9. Violet Red Bile Agar (VRB)
10. EC Broth
11. Escherichia Coli Broth (EC)
12. ENDO Agar

مرجع‌ها

[1] T.K. Lim, Edible Medicinal and Non Medicinal Plants, Springer Science & Business Press, (2014).

[2] Kh. Bouzarjomehri, F. Sheikhahmadi, The role of climate changes on the development of saffron cultivation in the city Bakharz. 2nd National Conference on The Newest Scientific and Research Findings on Saffron, (2013) 86.

[3] M.H. Abrishami, Saffron (spice). Astanprint Press, (2000).

[4] F.I. Abdullaev, Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus L.*). *Exp. Biol. M.* (2002) 20-25.

[5] J.I. Choi, Srinivasan, P. Srinivasan, H.D. Park, decontamination of *Withania somnifera* by gamma irradiation and its effect on antioxidant activities, *J. Food Quality*. **38(3)** (2015) 213-220.

[6] N. Khazaei, M. Jouki, A. Kalbasi, H. Tavakolpour, S. Rajabifar, F. Motamedi Sedeh, A. Jouki, Study of Microbial Critical Points of Saffron from Farm to Factory in Iran, Int. J. Biol. Biomol. *Agri. Food Biotechnol. Eng.* **5(5)** (2011) 293-296.

[7] M. Mokhtari, Saffron decontamination by fumigation process. Thesis of Iranian Research Organization for Science and Technology, Khorasan Institute, Mashad (1995) 3-33.

[8] GAO, Food irradiation :FDA could improve its documentation of key decisions on food irradiation petition,Washington,D.C.GAO-10-309R(2010).

[9] M.N.C. Harder, V. Arthur, The Effects of Gamma Radiation in Nectar of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*), In: Feriz Adrovic, Gamma Radiation, Publisher:In Tech, Rijeka, Croatia, Brazil (2012).

[10] S.N. Mahindru, Food Preservation and irradiation, New Delhi (2005).

[11] M. Jouki, N. Khazaei, H. Tavakolipour, S. Rajabifar, F. Motamedi, A. Kalbasi, Determination of Chemical Characteristics of Saffron in Different Area of Iran, *J. Biol. Sci*. **4** (**1**) (2012) 71-74.

[12] E.H. Sales, F. Motamedi, S. Rajabifar, Effects of gamma irradiation and silver nano part particles on microbiological characteristics of Saffron, using hundel technology. *Indian J. Microbiol*. **52** (**1**) (2012) 66-69.

[13] K. Jae Kyung, J. Cheorun, H. Hwang, H. Park, K. Byu. M. Woo, Color improvement by irradiation of Curcuma aromatic extract for industrial application, *Radiat. Phys. Chem*. **75** (2006) 449-542.

[14] N. Moraga, L. Rambla, O. Ahrazem, A. Granell, L. Gmez, Metabolite and target transcript analysis during crocus sativus stigma development. *Phytochemistry*. 110 (2009) 751-765.

[15] T.K. Lim, Edible Medicinal and Non Medicinal plants, 8 Flowers. (2009) 89-130.

[16] T.K. Lim, Edible Medicinal and Non Medicinal plants, 8 Flowers. (2009) 77-137.

[17] M. Jouki, A. Kalbasi, H. Tavakolpour, S. Rajabifar, F. Motamedi. Sedeh, A. Jouki, Study of Gamma Irradiation and Storage Time on Microbial Load and Chemical Quality of Persian Saffron, World Academy of Science, *Engineering and Technology* **5** (2011) 05-23.

[18] S.Vedadi, B.Naserian,Determination of suitable doses of gamma radiation for reducing microbial contamination of saffron (*crocus sativus L.*) *Pajouhesh va Sazandegi* **65** (2005) 33-57.

[19] J.W. Lee, J.K. Kim, P. Srinivasan, J. Choi, J.H. Kim, S.B. Han, D.J. Kimc, M.W. Byun, Effect of gamma irradiation on microbial analysis, antioxidant activity, sugar content and color of ready-to-use tamarind juice during storage, *LWT-Food Sci. Technol.* **42** (2009) 101-105.

[20] J. Iborra, M.R. Castellar, M. Canovas, A. Manjon, TLC preparative purification of picrocrocin, HTCC and crocin from saffron. *J. Food Sci*. **57** (**3**) (1992) 714-731.

[21] M.S. Lee, C.T. Kim, Y. Kim, Supplemental Methods, Figures, Tables and References. *Supplemental Methods*, (2009).

[22] Ortega. Heriberto Caballero, *Food Chem*. **100** (**3**) (2007) 1126-1131.

[23] A.O. Adekunte, B.K. Tiwari, P.J. Cullen, A.G.M. Scannell, C.P. Odonnell, Effect of snication on colour, ascorbic acid and yeast in activation in tomato juice, *Food Chem*. **122** (**3**) (2010) 500-507.

[24] P.B. Pathare, U.L. Opera, F.A.J. Al-Said, Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technol*. (2012) 1-25.

[25] A. Anonymous, International Color Consortium, Specification ICC.1:2004-10 (Profile version 4.2.0.0.) Image technology colour management, Architecture, profile format and data structure, (2006) 1-10.

[26] J.K. Kim, C. Jo, H.J. Hwang, H.J. Park, Y.J. Kim, M.W. Byun, Color improvement by irradiation of Curcuma aromatic extract for industrial application, *Radiat. Phys. Chem*. **75** (2006) 449-452.

[27] B. Anonymous, Microbiology manual, (12th Edition). Darmstadt: Merck (2010) 688.

[28] A. Zareena, V. Variyar, S. Gholap, A.S, D.R. Bongirwar, Chemical investigation of Gamma Irradiated saffron (Crocus sativus L.), *J. Agri. Food Chem*. **49** (2001) 687-69.

[29] E. Arjeh, M. Barzegar, M.A. Sahari, Effects of gamma irradiation on physicochemical properties, antioxidant and microbial activities of sour cherry juice, *Radiat. Phys. Chem*. **114** (2015)18-24.

[30] W. Song, H. Sung, S. Kim, K. Kim, S. Ryu, D. Kang, Inactivation of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Typhimurium in black pepper and red pepper by Gamma Irradiation, *Int. J. Food Microbiol.* **172** (2014) 125–129.

[31] Sh. Zaman, Kh. Alam, F. Mortuza, L. Bari, Effectiveness of irradiation treatment in eliminating E. coli O157:H7 and Salmonella in dried organic herb samplesintended for use innded tea. *J. Food and Nutr. Sci.* **3**(**1-2)** (2015) 165-170.