



بررسی پایداری رادیکالهای آزاد ایجاد شده تحت فرایند ضد عفونی کردن با پرتوهای الکترونی ۱۰ MeV در سبزیجات خشک و ادویه به روش EPR

۱. فرهود ضیائی*^۱، حسین لنجانیان^۱، محمود برموز^۲، عباس حسینی رنجبر^۲
مرکز تحقیقات و کاربرد پرتو فرایند یزد، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۲۸۹-۸۹۱۷۵،
یزد - ایران
۲. دانشکده فیزیک، دانشگاه شهید باهنر کرمان، صندوق پستی: ۷۶۱۶۹-۱۳۳، کرمان - ایران

چکیده: در این طرح ابتدا نمونه‌هایی از سبزیجات و ادویه خشک انتخاب و پس از توزین دقیق، به جهت اهمیت جرم در پاسخ دستگاه EPR، تحت تابش باریکه الکترونیهای ۱۰ MeV با دُز جذبی معادل ۱۰ kGy پرتو دهی شد. پس از کالیبره کردن دستگاه، پارامترهای بهینه، ویژه ماده مورد بررسی تنظیم شدند. سپس نمونه‌ها در لوله مخصوص دستگاه قرار داده شده و طیفهای EPR نمونه‌ها تهیه شدند و مورد مقایسه قرار گرفتند. در مرحله نهایی، به منظور بررسی میزان پایداری رادیکالها، اندازه‌گیریها در فاصله‌های زمانی مشخص تکرار شدند. همچنین اثرهای دما و رطوبت بر تغییر پاسخ EPR مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل، حاکی از کاهش میزان رادیکالهای آزاد با گذشت زمان و افت کامل آن پس از گذشت زمانی حدود دو ماه است. فرایندهای اعمال شده به هنگام استفاده از این مواد، به عنوان مثال در زمان طبخ، مانند حرارت‌دهی و افزایش رطوبت نیز موجب از بین رفتن کامل رادیکالهای آزاد در نمونه‌ها می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: روش EPR، دُز تابش، پایداری رادیکالهای آزاد، باریکه الکترونیهای ۱۰ MeV، سبزیجات خشک، ادویه، اثر دما، اثر رطوبت

EPR Study of Free Radicals Stability in Dried Vegetables and Spices Induced in Disinfection Process by 10 MeV E-Beam

F. Ziaie*¹, H. Lanjanian¹, M. Barmooz², A. H. Ranjbar²
1- Yazd Radiation Processing Center, AEOL, P.O. Box: 89175-389, Yazd - Iran
2- Faculty of Physics, Shahid Bahonar University, P.O. Box: 76169-133, Kerman - Iran

Abstract: Several sets of dried vegetable and spices samples were prepared and weighed precisely due to the importance of the sample mass in EPR system response. The samples were irradiated under the 10 MeV electron beam with 10 kGy absorbed dose value. The EPR system was adjusted on the optimized EPR parameters. Then the EPR spectrums of the samples were measured. The measurements were repeated in a defined time intervals to investigate the stability amount of the free radicals. The effects of temperature and humidity on EPR response were also studied. Results were shown that the amounts of free radicals induced by radiation decrease and are eliminated after about two months. It was also obtained that the temperature and humidity which are the processes that occur upon using this materials like cooking time and increasing humidity, cause also to completely eliminate the created free radicals.

Keywords: EPR method, radiation dose, free radicals stability, 10 MeV electron beam, dried vegetable, spices, temperature effect, humidity effect

**۱- مقدمه**

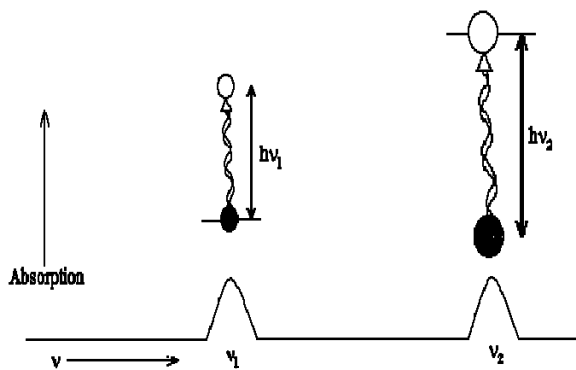
عنوان استانداردهای اروپایی درباره کنترل مواد غذایی پرتودیده به وسیله روشهای تشخیص ویژه، رسماً به تصویب رسیده است. از بین آنها دو روش تشخیص مواد غذایی حاوی استخوان و مواد سلولزی بر اساس اسپکتروسکوپی EPR^(۳) پایه‌گذاری شده است [۲ و ۳]. مزیت روش اسپکتروسکوپی EPR بعنوان وسیله‌ای جهت کنترل مواد غذایی پرتو دیده، در حساسیت و دقت بسیار آن نهفته است [۴]. در این طرح به بررسی، اندازه‌گیری و مقایسه پاسخ EPR در مورد برخی از مواد سلولزی مانند ادویه و سبزیجات خشک قبل و بعد از پرتودهی با دز جذبی ۱۰ kGy تحت شرایط یکسان پرداخته شده است. بررسی پایداری رادیکالهای آزاد ایجاد شده در اثر تابش بر حسب تابعی از زمان نیز یکی دیگر از مسائل مورد مطالعه بوده است. انتخاب این گونه مواد غذایی برای بررسی، از این واقعیت ناشی می‌شود که ادویه و سبزیجات خشک دارای بیشترین آلودگی نسبت به سایر مواد غذایی هستند. بیشتر ادویه و سبزیجات خشک در فضای باز، مرحله خشک کردن را طی می‌کنند که این روند باعث وارد شدن آلودگی‌های موجود در هوا و خاک به ماده غذایی خواهد شد. بسیاری از کارخانه‌های تولیدکننده اینگونه مواد غذایی به جهت کاستن آلودگی، از روشهای ضدعفونی با گازهای متیل برومید برای از بین بردن حشرات و اتیلن اکساید در کاستن میزان باکتری و کپک، استفاده می‌کنند. هر دوی این مواد بسیار سمی هستند؛ علاوه بر این، اتیلن اکساید سبب تخریب لایه ازن می‌شود؛ به همین جهت استفاده از این گاز به منظور حفظ محیط زیست در اروپا و در ایالات متحده آمریکا ممنوع شده است. بنابراین، روش پرتودهی مواد غذایی نسبت به روشهای قدیمی به عنوان روشی با زیان کمتر، بطور مؤثرتری نابود کننده

فرایند پرتودهی مواد به عنوان جایگزین بسیار مناسب روشهای پیشین سترون‌سازی و یا ضدعفونی کردن تجهیزات یکبار مصرف پزشکی و مواد غذایی، مدتی است که مورد استفاده قرار گرفته است. پرتوهای یونساز، نابودکننده کلیه ریزسازواره‌ها و انگلهایی است که موجب آلودگی مواد غذایی و ایجاد بیماری می‌شوند. از انواع این آلودگیها می‌توان به کپک، مخمر، قارچ و حشرات اشاره کرد که باعث فساد، مسمومیت و افت کیفیت مواد غذایی می‌گردند. هنگامی که مواد غذایی در معرض پرتوهای یونساز قرار می‌گیرند، گونه‌های پارامغناطیس یعنی رادیکالهای آزاد و یونها به وجود می‌آیند. رادیکالهای آزاد در نمونه‌های مرطوب به سبب شکل‌گیری مولکولهای خنثی در کسری از ثانیه از بین می‌روند، اما در مورد ترکیبات و مواد غذایی خشک، اثر آنها تا مدت طولانی باقی می‌ماند. رادیکالهای آزاد بوجود آمده ممکن است پیوندهای شیمیایی ثانویه ایجاد کنند. روش پرتودهی در سال ۱۹۸۳ توسط سازمان کشاورزی و مواد غذایی (FAO)^(۱) و سازمان بهداشت جهانی (WHO)^(۲) بعنوان روشی کارآمد و ایمن برای نگهداری مواد غذایی مورد تأیید قرار گرفته است [۱]، اما این روش هنوز توسط بسیاری از کشورها، همچنین گروههایی از مصرف‌کنندگان پذیرفته نشده است. این وضعیت در حقیقت کمتر به مسأله خود پرتو مربوط است و اغلب از زمینه‌های فکری و روانی ایجاد شده در اذهان عمومی در مورد ماهیت پرتو، نشأت می‌گیرد. امروزه مجهزکردن مراکز تجاری مواد غذایی با سیستمهای کنترل کیفیت مواد غذایی و یا روشهای تشخیص پرتودیدگی به منظور جلب اعتماد مصرف‌کنندگان، یکی از اقدامات حائز اهمیت تلقی می‌شود. در اتحادیه اروپا پنج اساسنامه تحت

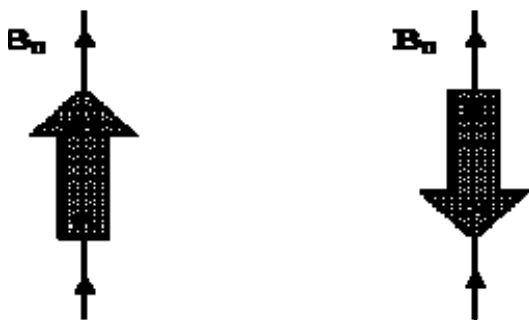


این صورت کمترین انرژی هنگامی اتفاق می‌افتد که گشتاور مغناطیسی الکترون (μ) با میدان مغناطیسی خارجی هم جهت باشد؛ و بیشترین انرژی مربوط به حالتی خواهد بود که این گشتاور در خلاف جهت میدان خارجی قرار گیرد (شکل ۲). این دو حالت بر اساس تصویر اسپین الکترون (M_s) روی جهت میدان مغناطیسی خارجی نامگذاری می‌شود. چون الکترون دارای اسپین $\frac{1}{2}$ است،

حالت موازی به $M_s = -\frac{1}{2}$ و حالت



شکل ۱- گذار مربوط به جذب انرژی الکترومغناطیس و طیف حاصله.



شکل ۲- بیشینه و کمینه انرژی جهت گیری μ در یک میدان خارجی B_0 .

پاد موازی به $M_s = +\frac{1}{2}$ تخصیص داده می‌شود. معادلات اساسی EPR در مکانیک کوانتومی بصورت زیر استخراج می‌شوند:

$$\mathbf{E} = g \mu_B \mathbf{B}_0 M_s = \pm \frac{1}{2} g \mu_B \mathbf{B}_0 \quad (2)$$

باکتریها بوده و اثر آن مانند گازهای نام برده در ماده غذایی باقی نمی‌ماند [۵].

۲- روش اسپکتروسکوپی EPR

روشهای اسپکتروسکوپی در واقع به عنوان سیستمهای اندازه‌گیری و تفسیر اختلاف انرژی حالتی اتمی و مولکولی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با استفاده از این دانش و در دست داشتن اختلاف انرژی ΔE بین حالتها می‌توان اطلاعاتی مانند شدت، ساختار و دینامیک نمونه‌های مورد مطالعه را بدست آورد. همچنین می‌توان این اختلاف انرژی را با توجه به ارتباط آن با جذب تابشهای الکترومغناطیسی اندازه‌گیری کرد. بنابراین قانون پلانک، تابش الکترومغناطیسی قابل جذب است اگر شرط رابطه (۱) در مورد انرژی آن برقرار باشد:

$$\Delta E = h\nu$$

(۱)

که در آن h ثابت پلانک و ν بسامد این تابش را تشکیل می‌دهد. جذب انرژی موجب گذار از تراز انرژی پایین‌تر به تراز انرژی

بالتر می‌شود. در روشهای اسپکتروسکوپی متداول، مقدار ν تغییر می‌کند، به عبارت دیگر جاروب می‌شود. بنابراین، بسامدهای جذب مطابق با اختلاف انرژی حالتها پدیدار می‌گردند. حاصل این عمل، به صورت طیف نهایی ثبت می‌شود (شکل ۱).

اختلاف انرژی که در اسپکتروسکوپی EPR بررسی می‌شود غالباً ناشی از برهمکنش الکترونیهای جفت نشده در نمونه است که با یک میدان مغناطیسی خارجی توسط یک مغناطیس در آزمایشگاه ایجاد می‌شود و به اثر زیمن موسوم است. الکترونها به دلیل داشتن گشتاور مغناطیسی، هنگامی که در یک میدان مغناطیسی B_0 قرار می‌گیرند مانند یک حوزه یا میله مغناطیسی عمل می‌کنند. در



کالریومتر به عنوان دزیومتر استاندارد مرجع انجام پذیرفت. پس از پرتودهی، نمونه‌ها با دقت صدم میلی‌گرم توزین و در لوله‌های کوارتزی (با قطر داخلی 4 mm) ویژه سیستم اندازه‌گیری EPR قرار داده شدند. سپس اندازه‌گیری EPR به وسیله دستگاه EMS-104 از نوع x-band (بسامد میکروویو 9/8 GHz) ساخت شرکت بروکر^(۵) آلمان انجام گرفت. پاسخ دستگاه EPR شامل ارتفاع قله تا قله سیگنال^(۶) با بیشترین دامنه (مشتق اول طیف جذب) بوده که به جرم نمونه‌ها نرمالیزه شده است. وزن نمونه‌ها به گونه‌ای انتخاب شد که ارتفاع آنها حدود 8mm درون لوله مذکور را اشغال کند. اندازه‌گیری در محدوده میدان مغناطیسی با مقدار 3g در حدود ۲ و با پهنای روبش^(۸) 110G انجام گرفت. همانگونه که قبلاً اشاره شد از اهداف حائز اهمیت در این کار تحقیقی بررسی میزان پایداری رادیکالهای آزاد ایجاد شده بر حسب تابعی از زمان بوده است. بدین منظور اندازه‌گیری‌های EPR برای نمونه‌های یکسان در فواصل زمانی متفاوت از چند دقیقه تا دو ماه پس از پرتودهی تکرار شدند. همچنین بمنظور اطمینان از تکرارپذیری نتایج، اندازه‌گیری همه نمونه‌ها تحت کالیبراسیون یکسان سیستم EPR انجام پذیرفت. برای هر نمونه میانگین سه اندازه‌گیری حساب شد و به عنوان مقدار نهایی قلمداد گردید.

۴- نتایج و بحث

افزایش پاسخ سیگنال EPR نسبت به سیگنال ذاتی ناشی از پرتودهی تحت باریکه الکترونیهای 10 MeV برای تعدادی از سبزیجات خشک و ادویه‌ای که مورد مصرف عموم است، همچنین پایداری آن پس از گذشت دو ماه از زمان پرتودهی اندازه‌گیری شد. سیگنال پاسخ مربوط به نمونه شود خشک پیش از پرتودهی و پس از آن، همچنین در زمانهای متفاوت پس از پرتودهی در شکل ۳ نمایش داده شده است. در این شکل افت شدت سیگنال

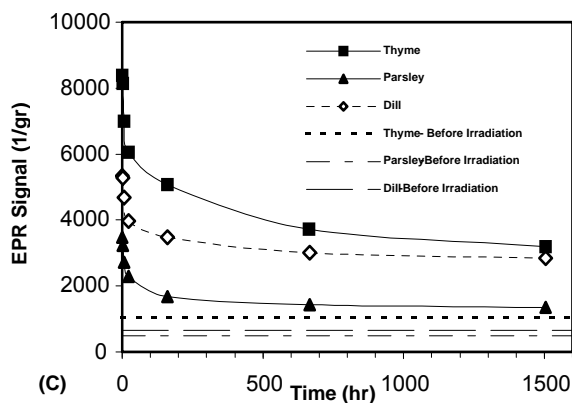
$$\Delta E = h \nu = g \nu B_0$$

(۳)

که در آنها g به «عامل g »^(۴) موسوم بوده و ثابت تناسب است که در اکثر نمونه‌ها تقریباً برابر با ۲ است، اما بسته به آرایش الکترونی رادیکالها یا یونها، تغییر می‌کند. μ_B نیز مگنتوم بوهر است که واحد طبیعی گشتاور مغناطیس الکترونی را تشکیل می‌دهد. دو روش متفاوت برای اندازه‌گیری طیف مورد استفاده قرار می‌گیرند که عبارتند از، اعمال میدان مغناطیسی ثابت و جاروب کردن بسامد تابش الکترومغناطیسی در اسپکتروسکوپی های متداول، و دیگری ثابت نگاهداشتن بسامد تابش الکترومغناطیسی و جاروب کردن میدان مغناطیسی. هنگامیکه میدان مغناطیسی روی دو حالت اسپین تنظیم می‌شود، یک پیک جذب ظاهر خواهد شد. بنابراین اختلاف انرژی این دو حالت برابر انرژی تابش الکترومغناطیسی خواهد بود. این میدان، میدان تشدید (رزونانس) نامیده می‌شود [۶ تا ۱۰].

۳- مواد و روشها

نمونه‌های مورد استفاده در این پژوهش بطور کلی شامل برخی ادویه و سبزیجات خشک از جمله زردچوبه، دارچین، آویشن، جعفری، شود، پودر سیر و پودر پیاز بوده است. برای اطمینان از اینکه این مواد قبلاً مورد پرتودهی قرار نگرفته‌اند، در تهیه آنها دقت شد تا نمونه‌ها از تولیدکننده‌هایی که به روشهای سنتی و بسته‌بندی نشده، این مواد غذایی را عرضه می‌دارند، تهیه گردد. کلیه نمونه‌ها تحت تابش باریکه الکترونیهای 10 MeV حاصل از شتابدهنده الکترون از نوع رودترون مدل TT200 با دُز جذبی در حدود 10 kGy مورد پرتودهی قرار گرفتند. اندازه‌گیری مقدار صحیح دز جذبی، با قرار دادن نمونه‌ها در فانتوم پلی‌استایرن معادل کالریومتر پلی‌استایرن، پرتودهی همزمان آنها و قرائت پاسخ



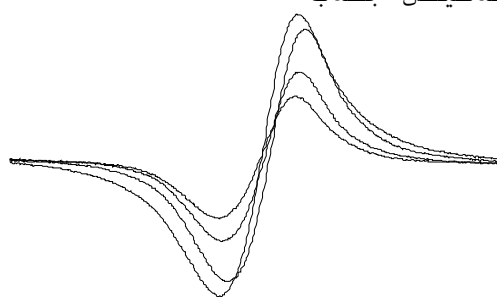
شکل ۴- تغییرات شدت قله تا قله سیگنال برای کلیه نمونه‌ها بر حسب تابعی از زمان پس از پرتودهی (خطوط افقی مربوطند به شدت سیگنال EPR نمونه‌هایی که پرتودهی نشده‌اند).

رطوبت و یا گرما و در نتیجه باز ترکیب شدن رادیکالها صورت می پذیرد. روند افت شدت سیگنالها نشان می‌دهد که پس از چند ماه نگهداری میزان رادیکالهای آزاد تقریباً به حد نمونه‌های مشابه پرتودهی نشده می‌رسد.

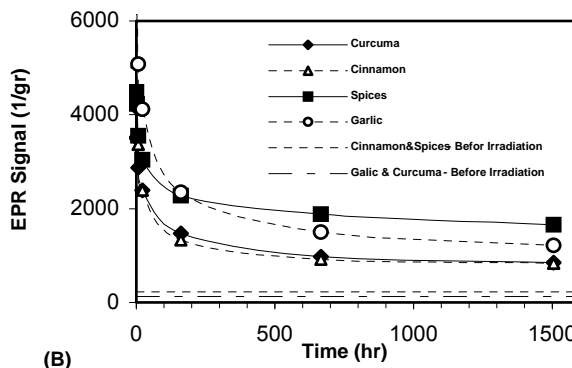
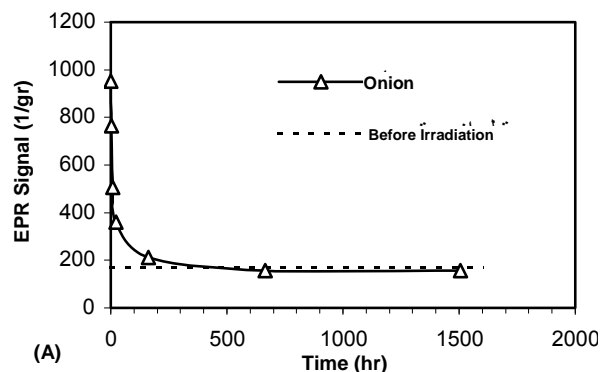
بمنظور حصول اطمینان در از بین رفتن کامل آنها، اثر دو فرایند طبیعی که به هنگام مصرف این گونه مواد غذایی اعمال می‌گردد نیز مورد بررسی قرار گرفت. این فرایندها وارد شدن رطوبت یا گرما بوده که در اثر ترکیب با مواد مرطوب و یا اضافه کردن آب به هنگام شستن یا طبخ ایجاد می‌شوند. این آزمایش در مورد کلیه نمونه‌ها انجام شد. نمونه‌ها پس از پرتودهی بلافاصله بطور جداگانه به مدت‌های ۲۰ و ۳۰ دقیقه در دمای 80°C قرار گرفتند. همچنین به تعدادی از نمونه‌ها بلافاصله بعد از پرتودهی آب اضافه شد و پس از سپری شدن زمان لازم برای خشک شدن، مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج این اندازه‌گیری‌ها در جدول ۱ با نتایج قبلی مقایسه شده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود شدت سیگنال نمونه‌های حرارت داده شده صرفنظر از اختلاف اندک به حد نمونه‌های پرتودهی نشده رسیده و در مورد نمونه‌های مرطوب کاملاً افت کرده است.

۵- نتیجه‌گیری

در اثر گذشت زمان کاملاً مشهود است. شکل ۴ تغییرات شدت سیگنال پیشینه را برای کلیه نمونه‌های استفاده شده بر حسب تابعی از زمان نمایش می‌دهد. چنانچه در شکل اخیر ملاحظه می‌شود شدت سیگنال برخی از نمونه‌ها مانند جعفری، دارچین، زردچوبه و بویژه پودر پیاز در مقایسه با دیگر مواد با سرعت بیشتری کاهش پیدا کرده‌اند. همچنین در این شکل شدت زمینه نمونه‌ها پیش از پرتودهی به صورت خطوط افقی نمایش داده شده است. کاهش شدت سیگنالها عمدتاً بدلیل جذب



شکل ۵- تغییرات شدت سیگنال EPR مربوط به نمونه شود با فواصل زمانی بلافاصله، هشت ساعت، یک روز و یک ماه پس از پرتودهی (بترتیب کاهش دامنه).





و تغییرات احتمالی رطوبت و دما در نمونه‌ها در طی دوره انجام آزمایشها بوده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را نسبت به همکاران گروه دزیمتري و کارگردانی شتابدهنده مرکز تحقیقات و کاربرد پرتو فرایند یزد، اعلام می‌دارند.

نتایج بدست آمده از این پژوهش در وحله اول توانائی، قابلیت بکارگیری و دقت سیستم اسپکتروسکوپی EPR را به منظور بررسی اثرات پرتو در گونه‌های سبزیجات خشک و ادویه به اثبات می‌رساند. همچنین روند تغییرات جمعیت رادیکالهای آزاد در اثر گذشت زمان و اثرات محیطی، همچنین فرایندهای استفاده از این مواد غذایی نشان دهنده افت کامل و در نهایت ایمن بودن استفاده از پرتو به جهت کاهش با میکروبی آن است. اختلافهای اندک در نتایج، ناشی از خطاهای آزمایش، نمونه‌سازی، توزین

جدول ۱- مقایسه عددی شدت سیگنال EPR نمونه‌ها پیش از پرتو دهی و پس از آن، همچنین اثر اعمال حرارت و رطوبت در پاسخ.

شدت سیگنال EPR (I/gr)						شماره ترتیب
پس از اعمال رطوبت	پس از عملیات حرارتی در دمای ۸۰°C		پس از پرتو دهی	پیش از پرتو دهی	نمونه	
	۳۰ دقیقه	۲۰ دقیقه				
۱۳۴	۱۸۷	۳۰۲	۴۲۲۱	۱۳۱	زردچوبه	۱
۲۲۷	۷۰۸	۹۹۲	۷۷۵۴	۲۳۸	دارچین	۲
۲۶۲	۴۴۱	۴۷۵	۴۲۶۲	۲۵۴	ادویه	۳
۱۰۵۴	۲۶۱۲	۳۲۱۳	۸۵۸۶	۱۰۳۳	آویشن	۴
۴۷۰	۴۷۱	۴۹۷	۴۱۶۳	۴۹۳	جعفری	۵
۶۳۵	۸۱۲	۱۵۴۲	۷۰۰۷	۶۵۶	شود	۶
۱۴۲	۹۸	۱۱۰	۶۹۵۰	۱۲۴	بودر سیر	۷
۱۶۶	۱۷۲	۱۸۵	۳۱۲۳	۱۷۰	بودر پیاز	۸

پی‌نوشتها :

- ۱- Food and Agriculture Organization
- ۲- World Health Organization
- ۳- Electron Paramagnetic Resonance
- ۴- g-factor
- ۵- Bruker Company, Germany
- ۶- Peak to Peak Signal Height

- ۷- $g=2m\mu/e$ Where m, c, μ and e are the electron mass, light velocity, electron magnetic moment and electron charge, respectively
- ۸- Scanning Width

References:

- Codex Alimentarius, Vol. **XV**, Codex General Standard for Irradiation Foods, FAO/WHO, Rome (1984).
- "Food stuffs Deflection of Irradiated Food Containing Bone-Method by EPR Spectroscopy," CEN/TC Final draft PrEN 1786 (1996).
- "Foodstuffs-Deflection of Irradiated Food Containing Cellulose-Method by EPR Spectroscopy," CEN/TC Final draft PrEN 1787 (1996).
- W. Stachowicz, "Aspects of detection of irradiated foods by EPR Spectroscopy," Applied Magnetic Resonance, **14**, 337-344, (1998).
- D.W. Thayer, "Radiation pasteurization of food," The Science Source for Food, Agricultural, and Environmental issues, issue paper No. **7**, April (1996).
- N.M. Atherton, "Electron spin resonance: Theory and applications," Chichester (England), E. Horwood; New York, Halsted press (1973).



7. "Handbook of electron spin resonance: data source, computer technology, relaxation, and ENDOR," edited by Charles P. Pools, Jr. Horacio A. Farach, New York, Wiley (1983).
8. C.P. Poole, "Electron spin resonance: a comprehensive treatise on experimental techniques," 2nd Edition, New York, Wiley (1983).
9. C.P. Poole, H.A. Farach, "Theory of magnetic resonance," 2nd Edition, New York, Wiley (1987).
10. J.E. Wertz, J.R. Bolton, "Electron spin resonance: elementary theory and practical applications," New York, McGraw-Hill (1972).