ارزیابی میزان آفلاتوکسین B_1 در بخش‌های مختلف میوه پسته و تأثیر مراحل فرآوری بر مقدار آن

رزا درگاهی [۱]، محمد مرادی [۲*]، سیدرضا فانی [۳]، حیدر معصومی [۱]

۱- کارشناس پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران.
۲- استادیار پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران.
۳- کارشناس بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: moradi@pri.ir
(دریافت مقاله: ۹۲/۹/۱۷ پذیرش نهایی: ۹۳/۱۲/٦)

Archive of SID

چکیده

پسته به‌عنوان مهمترین محصول کشاورزی صادراتی کشور شناخته می‌شود که به‌رغم اهمیت راهبردی آن، چالش‌های بسیاری در مسیر تولید و ارایه آن به مصرف‌کننده وجود دارد. میوه پسته بستر مناسبی برای رشد کپک‌های مولد توکسین از جمله گونه‌های آسپرژیلوس است. هدف از این تحقیق مقایسه میزان آفلاتوکسین در قسمت‌های مختلف میوه، قبل و بعد از برداشت و در انواع پسته‌ها بود. برای این هدف، از میوه‌های سالم و زودخندان قبل از برداشت در مرحله باغ و همچنین از مراحل مختلف فرآوری میوه پسته در ترمینال‌های فرآوری، نمونه‌برداری صورت گرفت. مقدار آفلاتوکسین B_1 در نمونه‌ها با استفاده از کیت تشخیص الایزا اندازه‌گیری گردید. میانگین مقدار آفلاتوکسین در مغز پسته‌های زودخندان و سالم نمونه‌برداری شده قبل از برداشت به‌ترتیب ۱۰/۲ و ۱/۸ (ng/g) بود. انواع پسته‌های فرآوری شده سطوح متفاوتی از مقدار آفلاتوکسین را نشان دادند و مقدار آفلاتوکسین در پسته‌های لکه‌دار، ریز، روآبی و خندان به‌ترتیب ۲۱، ٤، ۱۵ و ۲ برابر بیشتر از پسته‌های بدون لکه، درشت، زیرآبی، و غیرخندان بود. وجود آفلاتوکسین در نمونه‌های پسته در باغ و نمونه‌های فرآوری‌شده نشان‌دهنده آلودگی به قارچ‌های مولد آن تحت شرایط باغی است، که در صورت فراهم شدن شرایط مناسب بعد از برداشت نیز می‌تواند گسترش یابد. با شناسایی و جداسازی منابع آلودگی در مراحل اولیه و پس از فرآوری در یک توده پسته می‌توان سطح آلودگی به آفلاتوکسین را کاهش داد و پسته عاری از آلودگی تولید نمود.

واژه های کلیدی: پسته، آفلاتوکسین B_1، الایزا، برداشت، مراحل فرآوری

www.SID.ir

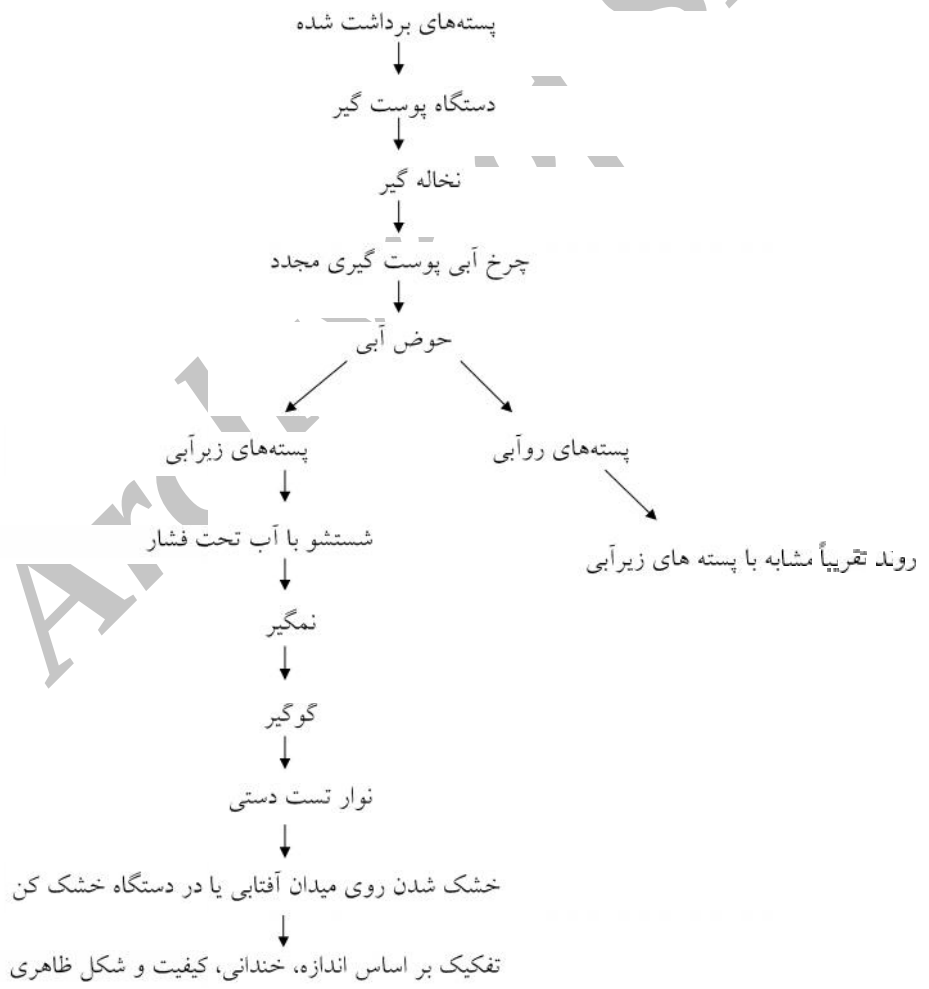
مقدمه

آفلاتوکسین‌ها، متابولیت‌های ثانویه‌ی سرطان‌زا هستند که عمدتاً توسط قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس* (*Aspergillus flavus*) و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (*A. parasiticus*) روی محصولات مختلف کشاورزی و فرآورده‌های آنها تولید می‌شوند. آفلاتوکسین‌های B_1، B_2، G_1 و G_2 از خطرناک‌ترین سموم قارچی شناخته شده هستند که ممکن است به تنهایی و یا به صورت توأم در محصولات مختلف تولید شوند (Richard *et al*., 2003; Chun *et al*., 2007). آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان این چهار آفلاتوکسین را در گروه ۱ ترکیبات سرطان‌زا تقسیم بندی نموده است (Anonymous, 1993). سازمان بهداشت جهانی و سازمان های ملی بهداشت در کشورهای مختلف با توجه به خطرات جدی آن‌ها، مقررات و قوانین ویژه‌ای برای تولید، مصرف و واردات مواد غذایی تنظیم نموده اند (Codex Alimentarius, 2010). آفلاتوکسین B_1 از بین بقیه مایکوتوکسین‌ها سمی‌تر است و با فراوانی بیشتر در پسته گزارش شده است (Moradi and Hokmabadi, 2011). عوارضی همچون ایجاد سرطان کبد، جهش‌های ژنتیکی، ایجاد ناهنجاری، بازدارندگی سیستم ایمنی، آفلاتوکسیکوزیس، سندرم ری (Reye Syndrome) و تورم مزمن کبدی از جمله اختلالاتی هستند که قرارگرفتن در معرض آفلاتوکسین میتواند در سلامتی انسان ایجاد نماید (Kew, 2003). عموماً، تولید آفلاتوکسین‌ها قبل از برداشت محصول و تحت شرایط باغی صورت می‌گیرد. تأخیر در زمان برداشت، عدم فرآوری مناسب محصول و شرایط نامناسب انبارداری می تواند به تشدید رشد قارچی و تولید آفلاتوکسین منجر شود (Gupta and Gopal, 2002; Moradi and Hokmabadi, 2011). تولید آفلاتوکسین توسط گونه‌های مختلف آسپرژیلوس در طبیعت عمومیت داشته و بسیار گسترده است (Ayejuyo and Williams, 2008). غالباً در پی استمرار شرایط رطوبتی محیط، تنش‌های محیطی مانند خشکی یا رفع موانع ورود قارچ، میزبان‌های این قارچ نسبت به آلودگی حساس می‌شوند (Chiou *et al*., 2002).

از سال ۱۳۵۰ آلودگی میوه پسته به آفلاتوکسین چالش اصلی صادرات این محصول برای کشور ایران به عنوان یکی از بزرگ‌ترین تولیدکننده‌های پسته در دنیا بوده است (Danesh *et al*., 1979). تاکنون روش‌های مختلفی از جمله راهکارهای فیزیکی، زراعی، شیمیایی و بیولوژیک جهت مدیریت آلودگی محصولات مختلف به آسپرژیلوس و یا آفلاتوکسین توصیه شده است، که هرکدام بسته به مکان، زمان، نوع محصول، قابلیت کاربردی بودن و میزان کارایی، معایب و محاسن خاص خود را دارند (Barkai-Golan and Paster, 2008; Moradi and Hokmabadi, 2011). محدودیت‌های بهداشتی و قوانین و مقرارت بین المللی مانع کاربرد روش‌های متداول در مورد پسته شده است (Seeram *et al*., 2006; Brans, 2011; Racicot *et al*., 2012). سال‌های متمادی ایران به عنوان معتبرترین تولید و صادرکننده پسته جهان شهرت داشته و کماکان یکی از بزرگ‌ترین کشورهای تولید و صادر کننده در این خصوص است. آلودگی میوه پسته به گونه‌های آسپرژیلوس متعلق به بخش فلاوی (*Aspergillus* section *Flavi*) و آفلاتوکسین‌های ناشی از آن‌ها باعث شده است که صادرات این محصول باارزش به

www.SID.ir

کشورهای اتحادیه اروپا و آمریکا با محدودیت روبرو گردد (Bui-Klimke *et al.*, 2014). بدیهی است ابتدایی‌ترین و مهم‌ترین اقدام در راستای کاهش آلودگی در پسته، پیداکردن منابع آلودگی در مراحل مختلف تولید و فرآوری محصول و حذف آنها برای جلوگیری از انتشار آفلاتوکسین به توده پسته است. ترک‌خوردگی زودهنگام پسته که یکی از منابع آلودگی است، در پسته‌هایی پیش می‌آید که وضعیتی طبیعی ندارند و پوست رویی آنها در طول شیار خندانی پوست استخوانی زودتر از موعد طبیعی شکاف برمی‌دارد و این امر باعث می‌شود که مغز پسته در معرض کپک‌های هوابر و حشرات آفت قرار گیرد و کیفیت آن کاهش پیدا کند. از این رو تحقیقات در زمینه عوامل تأثیرگذار در تشکیل پسته‌های زودخندان در باغ و همچنین حذف آن‌ها بعد از برداشت در طی فرآوری مطلوب به نظر می‌رسد. عموماً، پس از برداشت، پسته‌تر بلافاصله از باغ به ترمینال فرآوری منتقل و به شرح زیر فرآوری می‌گردد. این مراحل در برخی از ترمینال‌ها کمی متفاوت است (شکل ۱).



شکل ۱- مدل مراحل فرآوری میوه پسته در انواع مختلف ترمینال های فرآوری

www.SID.ir

نحوه پراکندگی ومنابع آفلاتوکسین در یک توده پسته اولاً در تعیین وضعیت آلودگی توده پسته اهمیت داشته و ثانیا" نقش سورتینگ (sorting) یا جداسازی مجدد را در کاهش آلودگی مشخص می‌نماید. در این خصوص تعدادی از محققین سعی نموده‌اند جنبه‌های مختلف این موضوع را مورد بررسی قرار دهند (Danesh *et al.*, 1979; Barkai-Golan and Paster, 2008; Moradi and Hokmabadi, 2011).

در سال های اخیر، آزمون‌هایی بر پایه روش الایزا (ELISA) برای تشخیص آفلاتوکسین ارائه شده‌اند. روش‌های الایزا نسبت به سایر روش‌ها دارای مزایای بالقوه‌ای هستند که از آن جمله می‌توان به سادگی، حساسیت، هزینه کم و استفاده از مواد شیمیایی ایمن‌تر اشاره نمود. مطالعات گسترده روی آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی، روش الایزا را در مقایسه با روش‌های بسیار دقیق اما گران قیمت مانند HPLC و LC/MS معتبر ساخته است (Chun *et al.*, 2007).

با توجه به اینکه مطالعه کمی در خصوص پراکندگی آفلاتوکسین و منابع مرتبط با آن در یک توده پسته قبل ار فرآوری و یا در حین فرآوری در کشور انجام شده است، در این تحقیق انواع پسته‌ها از نظر شکل، رنگ‌گیری و اندازه، گروه‌بندی و مقدار آفلاتوکسین در آنها اندازه‌گیری گردید. این تحقیق با هدف مقایسه میزان آفلاتوکسین در قسمت‌های مختلف میوه، قبل و بعد از برداشت و مقایسه میزان آفلاتوکسین در پسته‌های لکه‌دار و بدون لکه، پسته‌های روآبی و زیرآبی، پسته‌های ریز و درشت و پسته‌های خندان و ناخندان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آماده سازی نمونه‌ها

- **باغ:** نمونه‌برداری از باغ‌های شهرستان‌های کرمان، رفسنجان، زرند و سیرجان در شهریور ماه سال ۹۱ صورت گرفت. در هر منطقه تعداد ۵ باغ تجاری رقم فندقی انتخاب و در هر باغ، ۱۵ درخت به صورت تصادفی انتخاب و از پسته‌های زودخندان و سالم به صورت مجزا و از هر درخت ۵۰ عدد میوه پسته برداشته شد. پسته‌های هر تیمار چیده شده از ۱۵ درخت با همدیگر مخلوط و در صندوق یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

- **ترمینال‌های ضبط پسته:** دو ترمینال فرآوری نیمه مکانیزه میوه پسته در شهرستان رفسنجان انتخاب و در مراحل مختلف فرآوری پسته از پسته‌های لکه‌دار، بدون لکه، ریز، ناخندان، زیرآبی و روآبی نمونه‌برداری صورت گرفت. برای هر یک از نمونه‌های فوق، تعداد ۱۰ نمونه از دو رقم فندقی و کله‌قوچی در روزهای مختلف فرآوری به مقدار ۵ کیلوگرم برداشته شد. پس از مخلوط کردن نمونه‌ها، مقدار یک کیلوگرم به عنوان نمونه نهایی جهت انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

اندازه‌گیری آفلاتوکسین

نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از خشک کردن، آسیاب شده و از الک با مش ۱۰ عبور داده شدند. جهت اندازه‌گیری آفلاتوکسین B_1 از کیت الایزا (R-Biofarm, Germany) استفاده شد و نمونه‌ها براساس دستورالعمل مربوط به کیت، مورد استخراج و آماده‌سازی قرار گرفتند. به این ترتیب که پس از مخلوط کردن نمونه‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

به طور کامل، مقدار ۲ گرم از هر نمونه توزین و ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد به آن اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه به وسیله شیکر به هم زده شد. پس از آن مخلوط‌های حاصله از کاغذ صافی عبور داده شدند و در ادامه به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره بدست آمده، ۶۰۰ میکرولیتر بافر رقیق شده اضافه گردید. مرحله بعد شامل بارگذاری عصاره نمونه‌ها در چاهک‌های پلیت الایزا بود. به این ترتیب مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر عصاره آماده شده در دو تکرار به چاهک‌ها اضافه شد. ضمنا مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد آفلاتوکسین B۱ با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱/۵، ۴/۵، ۱۳/۵ و ۴۰ ng/g) نیز در دو تکرار به چاهک‌های پلیت الایزا اضافه گردیدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از آنزیم الحاقی (conjugate) به هر چاهک اضافه شده و بلافاصله پس از آن نیز ۵۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی به هر چاهک اضافه و به طور کامل به هم‌زده شد. در ادامه پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شدند و بعد مایع داخل چاهک دور ریخته شد. برای اطمینان از خروج کامل مایع داخل چاهک، پلیت الایزا چند مرتبه و با شدت بر روی کاغذ جاذب رطوبت به صورت وارونه زده شد. آنگاه تمامی چاهک‌ها با ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر پر شده و به همان روش مجدداً تخلیه گردید. مرحله شست و شو سه مرتبه تکرار گردید و در ادامه ۵۰ میکرولیتر از ماده زمینه‌ای (سوبسترا) و ۵۰ میکرولیتر ماده رنگ‌زا (chromogenic) به هر چاهک اضافه گردید، به طور کامل به هم‌زده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و دمای اتاق قرار گرفت، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از ماده توقف واکنش به هر چاهک اضافه و مخلوط گردید و نهایتا" میزان جذب آنها در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت الایزا اندازه‌گیری شد. حد تشخیص روش برای تخمین آفلاتوکسین B_1، ۰/۶ ng/g بود.

آزمایشات در ۳ تکرار و به روش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی و پس از تبدیل داده مناسب توسط نرم افزار آماری MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

یافته‌ها

نتایج سنجش آفلاتوکسین در جداول ۱ و ۲ و شکل ۲ ارایه گردیده است.

الف: میوه پسته در باغ

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد بین مناطق مختلف نمونه‌برداری، سطوح آفلاتوکسین اندازه‌گیری شده در دو رقم کله‌قوچی و فندقی از نظر آماری تفاوتی نداشتند ولی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که غلظت آن به ترتیب در شهرستان‌های رفسنجان، سیرجان، زرند و کرمان کاهش می‌یابد. مقایسه میزان آفلاتوکسین در پوست استخوانی و مغز پسته نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار آن به ترتیب مربوط به مغز و پوست استخوانی است، که از نظر آماری دارای تفاوت‌های معنی‌دار بودند ($p\leq ۰/۰۵$) (جدول ۲). مقدار آفلاتوکسین در مغز پسته‌های زودخندان از ۵/۷ تا ۱۰ و در پسته‌های سالم از ۱/۴ تا ۱/۸ نانوگرم بر گرم متغیر بود. در خصوص پوست رویی (سبز)، مقدار آفلاتوکسین اندازه‌گیری شده کمتر از حد تشخیص روش مورد استفاده بود. نتایج همچنین نشان می‌دهد مقدار آفلاتوکسین B_1 در مغز و پوست استخوانی

Archive of SID
www.SID.ir

پسته‌های زودخندان به ترتیب حدود ۹ و چهار برابر پسته‌های سالم است.

جدول ۱- مقایسه آفلاتوکسین B_1 در پسته‌های زودخندان و سالم، قسمت‌های مختلف میوه (پوست رویی، پوست استخوانی و مغز) و مناطق نمونه‌برداری شده و اثرات متقابل آنها در دو رقم کله‌قوچی و فندقی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F Value
A	۳	۱۲۱/۹٤	۱/۰۲^{ns}
B	۲	۲۳۲۷/۲۹	۱۹/٤٦**
AB	٦	۱۹/۵۷	۰/٤۸ ^{ns}
C	۱	٤۳۷۸/۵۱	۳٦/٦۲**
اثر متقابل AC	۳	۹۹/۰۲	۰/۸۳ ^{ns}
اثر متقابل BC	۲	۹۰٦/۷۰	۸/۱٦**
اثر متقابل ABC	٦	۹۲/۲	۰/۸۳ ^{ns}
D	۱	۱۷۹۵/۱۷	۵/۵۲*
E	۱	۱۹٦۰/۲۲	٤/۸۸*
F	۱	۲٦/۱۷	۳/۷۳ ^{ns}
G	۱	۱۷۳/۳٤	٦/۱۳*
H	۱		≤۰/۲ ^{ns}

فاکتور A: مناطق رفسنجان، سیرجان، زرند و کرمان
فاکتور B: شامل پوست استخوانی، پوست رویی و مغز
فاکتور C: شامل پسته‌های زودخندان و سالم
فاکتور D: شامل پسته‌های زیرآبی و روآبی
فاکتور E: شامل پسته‌های لکه‌دار و بدون لکه
فاکتور F: شامل پسته‌های خندان و ناخندان
فاکتور G: شامل پسته‌های درشت و ریز
فاکتور H: شامل دو رقم کله‌قوچی و فندقی در تمامی صفات مورد بررسی
^{ns}: نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار؛ * و **: به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و کمتر از ۰/۰۱ .

جدول ۲- مقایسه غلظت آفلاتوکسین B_1 (ng/g) در اجزاء مختلف پسته‌های زودخندان و سالم نمونه‌برداری شده در باغ

نوع پسته	غلظت آفلاتوکسین (ng/g)		
	پوست رویی	مغز	پوست استخوانی
زودخندان	پایین تر از حد تشخیص	۱۰/۲۰ *	۵/٦۷ *
سالم	پایین تر از حد تشخیص	۱/۸۰	۱/۳۸

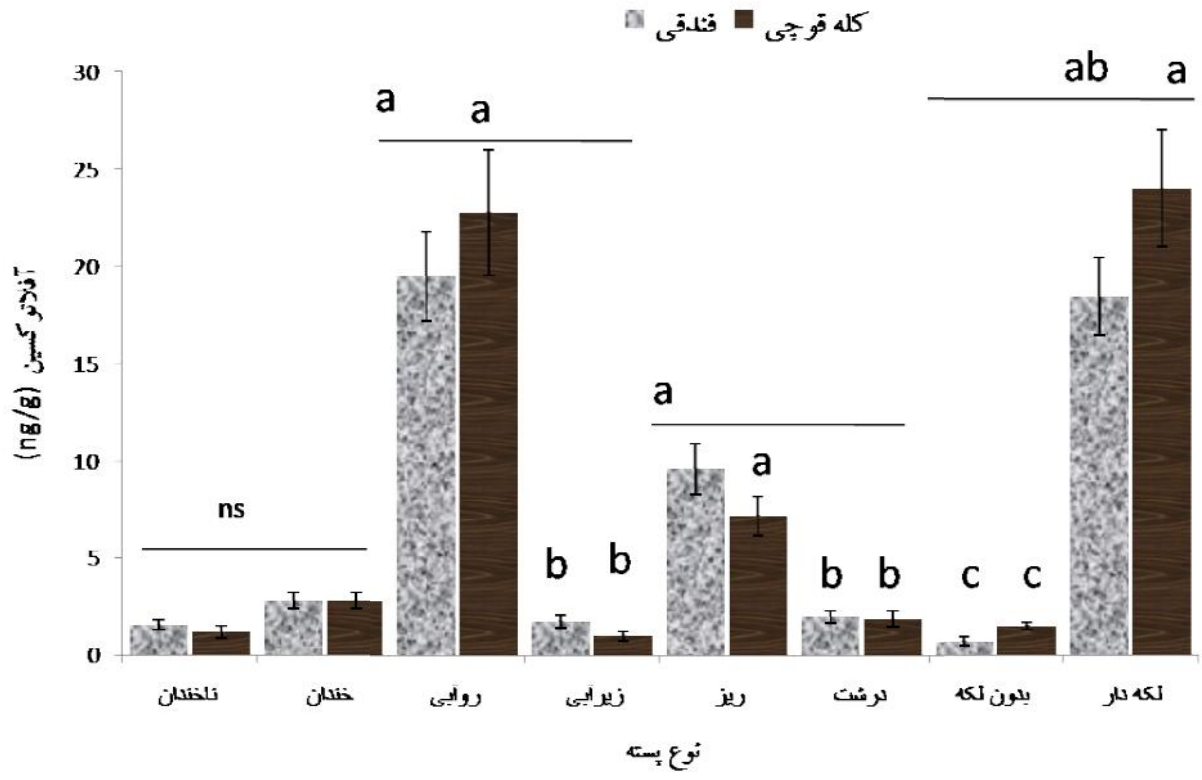
*تفاوت معنی‌دار بین میانگین مقدار آفلاتوکسین B_1 در هر ستون($P\leq ۰/۰۵$).

ب: فرآوری

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار آفلاتوکسین در پسته‌های روآبی و زیرآبی، درشت و ریز، لکه دار و بدون لکه و خندان و ناخندان و اثرات متقابل تیمارهای فوق و رقم در جدول ۱ و شکل ۲ آورده شده است.

www.SID.ir

بررسی نتایج نشان داد بیشترین مقدار آفلاتوکسین به ترتیب مربوط به پسته‌های روآبی، لکه‌دار، ریز، و خندان و کمترین مقدار آن به ترتیب مربوط به پسته‌های بدون لکه، ناخندان، زیرآبی و درشت بود. اثرات متقابل تیمارهای فوق و رقم در جداول ۱ از نظر آماری معنی‌دار نبود و نوع رقم تأثیری روی مقدار آفلاتوکسین نسبت به صفات فوق نشان نمی‌دهد. مقدار آفلاتوکسین B_1 در انواع پسته‌های مورد بررسی سطوح متفاوتی داشت، همچنان‌که مقدار آن در پسته‌های لکه‌دار از ۱۸ تا ۲٤، روآبی از ۱۹ تا ۲۳ و ریز از ۷ تا ۱۰ نانوگرم بر گرم متغیر بود. در بقیه پسته‌های مورد بررسی مقدار آفلاتوکسین B_1 در بیشترین مقدار خود کمتر از ۳ نانوگرم بر گرم بود (شکل ۲). براساس آنالیز آماری مقدار آفلاتوکسین B_1 بین پسته‌های روآبی با زیرآبی، درشت با ریز و لکه‌دار و بدون لکه از نظر آماری ($p\leq ۰/۰۵$) در دو رقم کله‌قوچی و فندقی تفاوت وجود داشت، در حالی‌که بین پسته‌های خندان با ناخندان و دو رقم در کلیه پسته‌های مورد بررسی تفاوت آماری وجود نداشت.



شکل ۲- میانگین غلظت آفلاتوکسین B۱ (ng/g) درارقام فندقی و کله قوچی در انواع پسته‌ها در حین فرآوری

www.SID.ir

در نوع پسته‌های مورد بررسی (خطوط افقی بالای ستون‌ها) شامل لکه‌دار و بدون لکه، درشت و ریز، زیرآبی و روآبی، خندان و ناخندان، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نیستند.

بحث و نتیجه‌گیری

پوست سبز پسته به عنوان سدی مؤثر، مغز را در برابر نفوذ قارچ‌ها و حشرات محافظت می‌کند. ترک‌خوردگی پوست رویی، خواه در امتداد شیار خندانی پوست استخوانی (زودخندانی) و یا در محل‌های دیگر (ترک‌خوردگی نامنظم)، باعث می‌شود مغز میوه پسته در معرض اسپورهای هوابر قارچی قرار گیرد (Tajabadipour and Sheibani Tezerji, 2011). براساس منابع موجود، قارچ آسپرژیلوس فلاووس یک پاتوژن زخم پوست رویی پسته است و پس از کلونیزه کردن پوست رویی، می‌تواند از پوست سخت به مغز سرایت کند. در پسته‌های دهن بست (پسته غیرخندان)، پوست استخوانی، مغز را نسبت به نفوذ قارچ محافظت می‌نماید، با وجود این، پسته‌های دهن‌بستی که حاوی آفلاتوکسین بوده‌اند نیز مشاهده شده است. بنابراین ممکن است که قارچ به طور موفقیت آمیز از پوست استخوانی نیز تحت شرایطی خاص عبور کند. نقطه‌ای که بیشترین احتمال ورود را دارد قسمت پایه میوه یا انتهای ساقه است (Sommer *et al*., 1986; Bonjar, 2004). در این ارتباط گزارش شده است که مقدار کمی آفلاتوکسین در پوست استخوانی وجود دارد (Schatzki, 1995).

وجود آفلاتوکسین در پسته‌های زودخندان نشان می‌دهد که آلودگی اولیه از باغ شروع می‌شود. وجود *آسپرژیلوس فلاووس* در میوه‌های پسته در حال رشد و قبل از برداشت در کالیفرنیا ثابت شده است (Thomson and Mehdy, 1978). تعدادی از پسته‌ها قبل از برداشت به *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* آلوده می‌شوند و مقدار آفلاتوکسین در پسته‌های زودخندان آلوده به آفت (NOW) novel orange worm بیشتر از پسته های زودخندان بدون آلودگی به آفت یاد شده بوده و پسته‌های با پوست‌رویی سالم عاری از آفلاتوکسین بوده‌اند (Sommer *et al*., 1986).

میزان زودخندانی از یک باغ به باغ دیگر، از یک درخت به درخت دیگر و از یک خوشه میوه به خوشه دیگر بسته به رژیم آبیاری، نوع خاک، شرایط آب و هوایی و نوع رقم تغییر زیادی می‌کند. به عنوان مثال آبیاری نامناسب (کم آبیاری) در اواخر بهار باعث افزایش تشکیل پسته‌های زود خندان در شهریور ماه و در زمان برداشت در باغ می‌گردد (تاج‌آبادی‌پور، ۱۳۷۸؛ Tajabadipour and Sheibani Tezerji, 2011). از این رو مقدار آفلاتوکسین بسته به عوامل فوق، ترکیب جمعیتی گونه‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و جدایه‌های آنها متفاوت است. به عنوان مثال جدایه‌های *آسپرژیلوس فلاووس* به دست آمده از انجیر با توانایی تولید اسکلرت‌های کوچک قادر به تولید آفلاتوکسین و اسیدسیکلوپیازونیک بودند، در حالی که جدایه‌های تولیدکننده اسکلرت بزرگ، آفلاتوکسین و اسید سیکلوپیازونیک تولید نکردند (Doster *et al*., 1996).

برای جداسازی پسته‌های آلوده به آفلاتوکسین احتیاج به دانستن خصوصیاتی همچون ظاهر پوست سبز، اندازه و وزن پسته و لکه دار بودن پوست

www.SID.ir

استخوانی است این ویژگی‌ها جهت جداسازی پسته‌های زودخندان آلوده به کپک‌ها با ارزش است. با توجه به منابع موجود و نتایج اولیه به دست آمده از این تحقیق توصیه یک برنامه مدیریتی جهت کاهش تولید پسته‌های زود خندان ضروری به نظر می‌رسد.

همان‌گونه که از نتایج پیداست در نمونه‌های برداشت شده قبل از فرآوری، تفاوت زادی در میزان آلودگی به آفلاتوکسین در پسته‌های زودخندان نسبت به پسته‌های سالم دیده می‌شود. این قبیل پسته‌ها علاوه بر آن که خود منابع بسیار مهمی از نظر آلودگی به سم آفلاتوکسین هستند به دلیل آن که به همراه خود جمعیت بسیار بالایی از قارچ مولد توکسین را نیز دارند می‌توانند در مراحل بعد از برداشت نیز موجب انتشار وسیع اسپورهای قارچ و آلودگی‌های ثانویه در بین پسته‌های سالم گردند، به ویژه زمانی که مراحل فرآوری و انبارداری از استانداردهای لازم برخوردار نبوده و به صورت سنتی باشند. نتایج به دست آمده از پسته‌های جمع آوری شده در مرحله بعد از برداشت نیز نشان می‌دهد که بالاترین میزان آفلاتوکسین در پسته‌های روآبی، لکه‌دار، ریز و خندان است. گذشته از خندان بودن پسته که صفت مثبتی از نظر بازارپسندی تلقی می‌گردد، سایر انواع پسته‌های با آلودگی بیشتر (پسته‌های ریز و لکه‌دار)، علاوه بر آلودگی بالا به آفلاتوکسین دارای صفات منفی از نظر بازار پسندی نیز هستند. با مقایسه غلظت آفلاتوکسین، مشاهده می‌گردد که آلودگی در پسته‌های ریز و لکه‌دار تا حدود ۹ برابر پسته‌های خندان است در حالی که تفاوت بین میزان آفلاتوکسین در پسته‌های خندان و ناخندان زیاد نیست، لذا به نظر می‌رسد در مرحله سورتینگ جداسازی این منابع آلودگی می‌تواند در کاهش آلودگی توده پسته به آفلاتوکسین نقش به سزایی داشته باشد.

آلودگی پسته و سایر فرآورده‌های حاصل از آن به آفلاتوکسین، به دلیل مشکلات عدیده و شناخته شده‌ای که این دسته از مواد از خود نشان داده‌اند مسئله‌ای جدی است. آلودگی به آفلاتوکسین که معمولاً به عنوان عامل تهدید کننده صادرت از آن نام برده می‌شود، می‌تواند برای مصرف کنندگان داخلی نیز خطری بالقوه محسوب شود. متأسفانه کشور ما به عنوان بزرگ‌ترین کشور تولید کننده پسته چالش‌هایی عمده در عرضه این محصول مغذی به مصرف‌کنندگان دارد. علاوه بر این که بسیاری از مشکلات در باغ برای کاهش آفلاتوکسین به دلایل ساختاری لاینحل باقی مانده است، در مرحله بعد از برداشت نیز به دلیل استفاده غالب باغداران از سیستم‌های سنتی و غیراستاندارد در فرآوری، این مشکل ابعاد وسیع‌تری به خود می‌گیرد.

مسئله دیگری که کمتر به آن پرداخته می‌شود سرنوشت پسته‌های دارای آلودگی بالا به آفلاتوکسین بعد از جداسازی است. مشاهدات میدانی نشان داده است، این منابع آلودگی، منهدم نشده و پس از عرضه به بازار با قیمتی پایین‌تر، در صنایع غذایی از جمله تهیه شیرینی‌جات استفاده می‌گردد. از آنجایی‌که با برنامه‌های مدون مراجع ذیربط مشکل آلودگی محموله‌های صادراتی تا حدودی مهار گردیده است و محصول نسبتاً سالمی به سایر کشورها عرضه می‌گردد، پیشنهاد می‌شود برای امنیت غذایی مصرف‌کنندگان داخلی نیز چاره‌ای اندیشیده شود.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

- تاج‌آبادی‌پور، علی (۱۳۷۸). عارضه زودخندانی در پسته. نشریه ترویجی، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، نشریه شماره ٤٥٠/٧٧، صفحه: ۱۵.

- Anonymous, (1993). IARC Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans, Vol. 56, Toxins derived from *F. moniliform*: Fumonisins B_1 and B_2 and fusarin C: In some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Press, Lyons; 445-466.
- Ayejuyo O.O., Williams A.B. and Imafidon T.F. (2008). Ochratoxin A burdens in rice from Lagos markets, Nigeria, Journal of Environmental Science Technology, 1(2): 80-84.
- Barkai-Golan, R. and Paster, N. (2008). Mycotoxins in fruits and vegetables. Burlington, Academic Press.
- Bonjar, G.S. (2004). Incidence of aflatoxin producing fungi in early split pistachio nuts of Kerman, Iran. Journal of Biological Sciences, 4(2): 199-202.
- Brans, H. (2011). Food and Agricultural Import Regulations and Standards Narrative, USDA Foreign Agricultural Service. Global Agriculture Information, pp. 42.
- Bui-Klimke, T.R., Guclu, H., Kensler, T.W., Yuan, J.M. and Wu, F. (2014). Aflatoxin Regulations and Global Pistachio Trade: Insights from Social Network Analysis. PloS one, 9(3): e92149.
- Chun H.S., Kim H.J., Ok. H.E., Hwang J. and Chung, D. (2007). Determination of aflatoxin levels in nuts and their products consumed in South Korea, Food Chemistry, 102: 385-391.
- Chiou, C.H., Miller, M., Wilson, D.L., Trail, F. and Linz, J.E. (2002). Chromosomal location plays a role in regulation of aflatoxin gene expression in *Aspergillus parasiticus*. Applied Environmental Microbiology, 68: 306-315.
- Codex Alimentarius. Codex General Standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Stan. (2010). 193-195. Available from:http://www.codexalimentarius.net- /download /standards/17 /CXS_193e.pdf. Accessed: 5-4-2013.
- Gupta, A. and Gopal, M. (2002). Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* isolates pathogenic to coconut insect pests, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18: 325–331.
- Danesh, D., mojtahedi, H., Barnett, R. and Campbell, A. (1979). Correlation between climatic data and aflatoxin contamination of Iranian pistachio nuts. Phytopathology, 69 (7): 715-716.
- Doster M.A. and Michailides, T.J. (1993). Characteristics of pistachio nuts with *Aspergilus* molds. Pages 64-68 in: California Pistachio Industry Annual Report Crop Year 1992-1993. California Pistachio Commission Fresno.
- Doster, M.A., Michailides, T.J. and Morgan, D.P. (1996). Aspergillus species and mycotoxins in figs from California orchards. Plant Disease, 80(5): 484-489.
- Kew, M.C. (2003) Synergistic interaction between aflatoxin B1 and hepatitis B virus in hepatocarcinogenesis. Liver International, 23: 405-409.
- Moradi, M. and Hokmabadi,H. (2011). Control of mycotoxin bioactives in nuts: Farm to fork. In Tokusoglu, Ö (ed), Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry, and Applications, CRC Press, 253-273.
- Moradi, M. and Javanshah, A. (2005). Distribution of aflatoxin in processed pistachio nut terminals. In IV International Symposium on Pistachios and Almonds, 726: 431-436.

Archive of SID
www.SID.ir

- Racicot, K., Craven, A. and Chen, Y.O. (2012). Bleaching augments lipid peroxidation products in pistachio oil and its cytotoxicity, European Journal of Lipid Science and Technology, 114(12): 1362-1372.
- Richard, J.L., Payne, G.E., Desjardins, A.E., Maragos, C., Norred, W.P., and Pestka, J.J. (2003). Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems.CAST Task Force Report, 139: 101-103.
- Schatzki, T.F. (1995). Distribution of aflatoxin in pistachios. 2. Distribution in freshly harvested pistachios. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43 (6): 1566-1569.
- Scholten J.M. and Spanjer, M.C. (1996). Determination of Aflatoxin B1 in pistachio kernels and shells. Journal of AOAC International, 79: 1360-1364.
- Seeram, N.P., Zhang, Y., Henning, S.M., Lee, R., Niu, Y., Lin,G., *et al*. (2006). Pistachio skin phenolics are destroyed by bleaching resulting in reduced antioxidative capacities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54:7036-40.
- Sommer, N.F., Buchanan, J.R. and Fortlage, R.J. (1986). Relation of early splitting and tattering of pistachio nuts to aflatoxin in the orchard, Phytopathology, 76: 692-694.
- Tajabadipour, A. and SheibaniTezerji, Z. (2011). Distribution of Aflatoxin Contamination in Small and Normal Size Pistachios in Orchard. In I International Symposium on Mycotoxins in Nuts and Dried Fruits, 963: 265-268.
- Thomson, S.V. and Mehdy, M.C. (1978). Occurrence of *Aspergillus flavus* in pistachio nuts prior to harvest. Phytopathology, 68: 1112-1114.

Archive of SID

www.SID.ir

Evaluation of aflatoxin B_1 in different parts of pistachio fruit and effects of processing stages

Dargahi, R.[1], Moradi M.[2*], Fani S.R.[3], Masoumi, H.[1]

1- Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran.
2- Assistant Professor, Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran.
3- Plant Protection Research Department, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Yazd, Iran.
*Corresponding author email: moradi@pri.ir
(Received: 2013/12/8 Accepted: 2015/2/25)

Archive of SID

Abstract

Pistachio nut as the most important agricultural export products is facing challenges trough production and conception. Toxigenic *Aspergillus* species are able to grow and produce dangerous mycotoxins on pistachio nut. Distribution of aflatoxin in different pistachio samples collected pre- (early splitting and healthy pistachios in orchards) and post-harvest (steps in processing plants) was evaluated. Aflatoxin B_1 content of samples was quantified using ELISA. Overall, high content of aflatoxin B_1 in pre-harvest was observed in early splitting pistachios which were 5 times higher than healthy ones. The mean value of aflatoxin B_1 content in early splitting and healthy pistachio was 10.2 and 1.8 ng/g, respectively. In processing plant, the content of aflatoxin B_1 in stained, small, floater and open shell pistachios was 21, 4, 15 and 2 times higher than unstained, large, sinker and closed shell pistachios, respectively. The presence of aflatoxin B_1 in samples taken from orchards and processing plants indicates pre-harvest contamination by aflatoxin-producing fungi, which may exacerbate by inadequate post-harvest conditions. Physical properties of contaminated pistachios may be used to reduce aflatoxin levels in pistachio bulks during or after processing. ELISA, as practical, sensitive and cheap method, may apply to determine the aflatoxin content of pistachios.

Key words: Aflatoxin, Pistachio, ELISA, Harvesting, Processing steps

www.SID.ir