

# بررسی تاثیر نور آفتاب در کاهش افلاتوکسین پسته در مقایسه با خشک کنهای صنعتی

محمد حسن فولادی<sup>۱</sup> - فاطمه میر داماد یها<sup>۲</sup>

## چکیده

در حال حاضر جداسازی پسته های آلوده به افلاتوکسین بر اساس خصوصیات فیزیکی و ظاهری در حین فراوری تنها روش مورد استفاده برای کاهش افلاتوکسین در توده پسته می باشد. به دلیل اینکه این روشها کارایی ۱۰۰٪ نداشته و همواره احتمال خطا وجود دارد و نیز مواردی مثل عدم رعایت زمان مناسب برداشت؛ شرایط حمل و نقل پسته های چیده شده و تاخیر در انجام عملیات فراوری باعث بروز آلودگی در پسته هایی می شود که خصوصیات فیزیکی و ظاهری مشخصی ندارند و قابل جدا سازی نیستند؛ باید روشهای سم زدایی مجاز به منظور کاهش افلاتوکسین در این پسته ها مورد بررسی قرار گیرد. در این تحقیق تاثیر نور آفتاب در زمان فراوری بر کاهش افلاتوکسین مورد بررسی قرار گرفت. به همین منظور پسته های با پوست شکاف خورده چروکیده و خشک بعد از پوست گیری و پسته های لکه دار رقم اکبری به سه روش آفتابی و یک روش دستگاهی در قالب طرح کاملا تصادفی خشک شدند و مقدار افلاتوکسین آنها به روش *TLC* - اسکرن اندازه گیری و داده های بدست آمده با نرم افزار *SAS*؛ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقدار افلاتوکسین *B1* در پسته های با پوست شکاف خورده چروکیده و خشک شده به روشهای آفتابی، ۲ روش ترکیبی از آفتابی و دستگاهی و یک روش دستگاهی به ترتیب ۳۸/۹۵، ۲۹/۷۹، ۱۵/۰۷ و ۱/۳۴ *ppb* و در پسته های لکه دار به ترتیب ۲۶۳۸ و ۳۷۴۶ و ۱۰۰۳ و ۷۱۵/۲ *ppb* بود. اگر چه اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود نداشت با اینحال کمترین مقدار افلاتوکسین اندازه گیری شده مربوط به روش خشک کردن دستگاهی بود و نور خورشید در کاهش مقدار افلاتوکسین نمونه ها تاثیری نداشت.

۱- عضو هیئت علمی دانشگاه شهید باهنر کرمان دانشکده کشاورزی

۲- کارشناس موسسه تحقیقات پسته کشور

#### مقدمه

آفلاتوکسینها از متابولیت‌های ثانویه گروهی از گونه‌های قارچی جنس *Aspergillus* به ویژه *A. parasiticus*، *A. flavus* می‌باشند. این قارچها که در سرتا سر دنیا در هوا و خاک یافت می‌شوند؛ قادر به حمله و ایجاد آلودگی در اندامهای زنده و مرده گیاهان و جانوران می‌باشند. به همین علت و در اثر عدم توجه کافی؛ امکان آلوده شدن بسیاری از محصولات مهم کشاورزی در مزرعه به این قارچها و سموم آنها وجود دارد (۴ و ۳). مطالعات نشان داده که کاهش آلودگی قارچی در محصولات کشاورزی تا قبل از برداشت محصول از طریق انجام صحیح عملیات زراعی که رشد و گسترش قارچها را محدود نماید امکان پذیر است (۳) و پس از برداشت محصول نیز به کارگیری روشهای مناسب فراوری و خشک کردن و نگهداری در انبار جهت کاهش آلودگی و جلوگیری از گسترش آن لازم است؛ ولی با وجود تمام اقدامات فوق همواره امکان آلودگی محصول وجود دارد و از آنجائیکه آلودگی محصولات کشاورزی به آفلاتوکسین‌ها موجب بروز ضرر اقتصادی فراوانی در کشورهای تولیدکننده می‌گردد؛ در سه دهه اخیر مطالعات فراوانی در زمینه سم زدایی محصولات آلوده صورت گرفته است (۴ و ۳). متأسفانه پسته که مهمترین محصول کشاورزی صادراتی ایران است؛ نیز از هجوم قارچهای فوق در امان نیست و تحقیقات حاکی از حضور گونه‌های قارچی *Aspergillus* در باغهای پسته و آلودگی پسته در باغ به این قارچها و سموم آنها است. در مواردیکه پوست نرم رویی پسته (*Hull*) به دلایل مختلف آسیب دیده و در نتیجه مغز پسته حفاظ طبیعی خود را از دست دهد؛ ایجاد آلودگی اجتناب ناپذیر است (۵). هرچه فاصله زمانی ترک خوردگی پوست نرم رویی تا زمان برداشت محصول بیشتر باشد؛ که خود این امر موجب از دست رفتن مقداری از رطوبت پوست و در نتیجه چروکیدگی شدن آن می‌گردد؛ سطح آلودگی افزایش می‌یابد (۵). با اینکه جدا کردن پسته‌های مشکوک به آلودگی از طریق جداسازی چشمی و به کارگیری دستگاههای مکانیکی مختلف انجام می‌گیرد و در سالهای اخیر سطوح آلودگی محصول نهایی با حذف این گونه پسته‌ها به مقدار زیادی کاهش یافته؛ هنوز مقدار آفلاتوکسین موجود در پسته‌های ایران به حد قابل قبول بسیاری از کشورهای خریدار نرسیده است. این امر نشان دهنده حضور پسته‌هایی با سطوح آلودگی پایین در محصول نهایی می‌باشد که علائم ظاهری آنها در حدی نیست که از طریق روشهای فعلی؛ جداسازی آنها میسر باشد

مطالعات مربوط به آلودگی پسته در باغ نشان داده که عوامل اصلی آلودگی پسته؛ زود خندانگی (*Early splitting*) و پارگی پوست نرم رویی (*Tattering*) هستند؛ بطوریکه در ۲۲٪ نمونه‌های مربوط به اینگونه پسته‌ها که فاقد آفت زدگی بودند؛ افلا توکسین مشاهده شده و آفت زدگی موجب بالا رفتن درصد وجود افلاتوکسین در آنها تا ۷۵٪ گردیده است. (۵) بطور کلی روشهای غیر فعال سازی قارچها و کاهش افلاتوکسین‌ها را می‌توان به سه گروه فیزیکی شیمیایی و بیولوژیکی تقسیم نمود. روشهای فیزیکی شامل استخراج توسط حلالها و غیر فعال سازی از طریق

حرارت و اشعه دهی می باشند. (۳) در سالهای اخیر پرتودهی بعنوان روشی برای از بین بردن میکروبهایی بیماری زا در مواد غذایی توصیه شده است (۳). با اینکه اشعه گاما براحتی از مواد مایع و جامد عبور می کند؛ آفلاتوکسینها نسبت به اثرات مستقیم آن مقاوم بوده و اثرات غیرمستقیم آن نظیر تجزیه آب یا ترکیبات ساده دیگر در مواد غذایی ممکن است منجر به تولید رادیکالهای آزاد و در نهایت از بین بردن آفلاتوکسینها گردد (۳).

آفلاتوکسین B1 اشعه (UV) را در طول موجهای ۲۲۲ و ۲۶۵ و ۳۶۲ نانومتر جذب می نماید و بیشترین جذب آن در طول موج ۳۶۲ نانومتر است. پرتودهی در طول موج ۳۶۲ نانومتر موجب فعال شدن آفلاتوکسین B1 و افزایش حساسیت آن به نایبودی می گردد (۳)، بیشترین حساسیت آفلاتوکسین B1 به اشعه UV در pH های کمتر از ۳ یا بیشتر از ۱۰ است که منجر به حذف یکی از بندهای مضاعف در حلقه فورانی و کاهش سمیت آنها می گردد (۴). تولید بیش از ۱۲ محصول غیرفعال پس از پرتودهی با اشعه UV؛ اثبات می کند که واکنشهای مختلفی در زمان شکسته شدن آفلاتوکسینهای B1 انجام می شود (۳ و ۴). با این همه نتایج تحقیقات آزمایشگاهی دلالت بر وجود محدودیتهایی در از بین رفتن آفلاتوکسینها با استفاده از اشعه UV در مواد غذایی دارد که ممکن است به علت قدرت نفوذ پایین UV و محدوده کم طول موج های قابل استفاده باشد. علاوه بر آنکه بنظر می رسد ترکیبات اولیه حاصل از پرتودهی باقیماندهای سمی بر جای می گذارند که نیاز به تبدیل آنها به شکل های غیرسمی می باشد (۴). یک منبع نوری قدرت بیشتری برای از بین بردن ترکیبات سمی حاصل از مراحل اولیه واکنش و تبدیل آنها به مواد غیرسمی را دارد (۴). نور مرئی؛ دارای دامنه وسیعی از طول موجها است و حساسیت نوری آفلاتوکسینها در محلولهای آبی در تحقیقات اولیه به اثبات رسیده است (۴). با وجود این درصد بسیار کمی از آفلاتوکسینها پس از قرار گرفتن مواد غذایی در مقابل منابع نوری شده است.

اشعه آفتاب که دارای دامنه وسیعی از طول موجها در منطقه UV و مرئی می باشد؛ کارایی بالاتری برای از بین بردن آفلاتوکسینها دارد (۴). تحقیقات متعددی در زمینه از بین بردن آفلاتوکسین B1 در محصولات جنبی بادام زمینی توسط نور خورشید بعمل آمده است. این موضوع نشان می دهد که بیش از ۹۰٪ آفلاتوکسین B1 که بطور مصنوعی به برش نازک بادام زمینی اضافه شده و ۵۰٪ آفلاتوکسین B1 که بطور طبیعی در بادام زمینی وجود داشته تخریب شده است (۴). این طرح با هدف بررسی تاثیر نور آفتاب در زمان خشک کردن بر غیرفعال کردن سریع قارچها و خنثی کردن آفلاتوکسین پسته های مشکوک به آلودگی در مقایسه با خشک کنهای صنعتی به اجرا گذاشته شد.

### مواد و روشها:

رقم پسته مورد استفاده در طرح؛ اکبری بود. نمونه های آزمایشی در چهار نوبت زمانی (تکرار) به فاصله یک هفته در فصل معمول برداشت پسته تهیه گردید. زمان نمونه برداری در سال اول اواخر مهر ماه و در سال دوم اواخر شهریور ماه بود. در سال اول از پسته های لک دار، پس از پوست گیری و شستشو در خط فراوری، قبل از مرحله خشک کردن و در سال دوم از پسته های با پوست ترک خورده و پاره شده در ترمینال فراوری قبل از مرحله پوست گیری نمونه برداری انجام شد.

نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه به دو گروه با پوست نرم و صاف و با پوست خشک و چروکیده تقسیم شدند. پوست گیری نمونه های آزمایشی با دست انجام و پس از شستشو به روشهای زیر خشک شدند.

در روش اول خشک کردن؛ پسته های مرطوب به مدت ۶۰ ساعت در زیر نور آفتاب قرار داده شدند. در روش دوم پس از قرار دادن پسته ها به مدت ۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد؛ نمونه های پسته تا خشک شدن کامل به مدت ۴۸ ساعت در آفتاب قرار گرفتند. در روش سوم پس از خشک کردن کامل پسته ها در آون؛ پسته های خشک به مدت ۲۴ ساعت در آفتاب قرار گرفتند؛ و در روش چهارم خشک کردن پسته فقط توسط آون انجام گرفت. به منظور اندازه گیری میزان رطوبت، حدود ۱۰۰ گرم پسته تر به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و پس از سرد کردن پسته ها مجدداً وزن شدند. اختلاف وزن پسته؛ مبنای محاسبه درصد رطوبت قرار گرفت. پس از خشک کردن نمونه ها به روشهای فوق الذکر آفلاتوکسین آنها مطابق با دستورالعمل پیشنهادی اداره نظارت بر مواد غذایی و به روش  $TLC$  - اسکرن اندازه گیری شد و داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار  $SAS$  در قالب طرحهای کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

#### نتایج و بحث:

پسته از دو قسمت با ترکیبات مختلف تشکیل شده است. ۱- مغز پسته که قسمت خوراکی آن را تشکیل می دهد و سرشار از مواد مغذی است. ۲- پوست سخت استخوانی که مغز را در بر گرفته و از ترکیبات عمده آن می توان از لیگنین نام برد. متفاوت بودن ترکیبات این دو قسمت موجب خشک شدن هر قسمت بطور جداگانه می شود. به همین علت مقدار رطوبت در هر دو قسمت اندازه گیری شد. بطور متوسط مقدار رطوبت پوست سخت استخوانی ۲۷-۲۸ درصد بر مبنای وزن تر؛ مقدار رطوبت مغز پسته ۴۱-۴۳ درصد بر مبنای وزن تر و در مجموع مقدار رطوبت دانه پسته بین ۳۳-۳۵ درصد بر مبنای وزن تر دانه بود. با توجه به اینکه مغز پسته دارای رطوبت بیشتری است؛ مدت زمان طولانی تری را جهت خشک شدن لازم دارد. از طرف دیگر در ساعات اولیه خشک شدن؛ مقدار بیشتری رطوبت از پوست استخوانی خارج می شود که دلیل آن تماس پوست با هوای گرم است. نمونه های مختلف پسته که پس از مرحله پوست گیری نمونه برداری شده بودند نشان داد که در زمان فراوری و شستشو بین ۵ تا ۶ درصد به رطوبت آنها اضافه شده است که این امر باعث طولانی شدن زمان لازم برای خشک کردن تا رسیدن به حد مطلوب رطوبت می شود. در مواردی که نمونه پسته؛ پس از پوست گیری و قبل از خشک شدن نهایی از دستگاه نمگیر برداشته شده بود؛ مقدار رطوبت آن در انتهای نمگیری حدود ۳۳-۳۰ درصد بر مبنای وزن تر بود. این مطلب نشان می دهد که پسته در زمان نمگیری فقط رطوبت اضافی حاصل از شستشو و مقدار کمی از رطوبت خود را از دست می دهد. جهت تعیین حدود تقریبی زمان لازم برای خشک شدن پسته در آفتاب؛ نمونه هایی از پسته؛ پس از یک روز و پس از دو روز پهن کردن آنها به صورت تک لایه در آفتاب؛ برداشته و رطوبت مغز آنها اندازه گیری شد. مقدار رطوبت مغز

پسته پس از یک روز حدود ۱۵-۱۲ درصد بر مبنای وزن تر بود که نشان می داد در روز اول خشک کردن؛ آفتاب امنیت لازم را جهت جلوگیری از رشد قارچی در پسته مطابق با مطالعات *Denizel&Let.al* بوجود نیاورده است (۱). پسته های دارای شکاف و پارگی در پوست نرم رویی را می توان در دو گروه تقسیم بندی نمود. ۱- پسته هایی که از زمان ترک خوردن پوست آنها مدت زیادی سپری نشده و میزان رطوبت آنها تقریباً مشابه پسته های سالم است.

۲- پسته هایی که پس از ایجاد ترک خوردگی در اثر گذشت زمان مقدار زیادی از رطوبت خود را در محل ترک خوردگی از دست داده و چروکیده شده اند. این تقسیم بندی با مطالعات *Sommer&Let.al* مطابقت دارد (۵).

نتایج مربوط به اندازه گیری آفلاتوکسین در گروههای مختلف پسته نشان داد که پسته های زودخندان با پوست رویی نرم و مرطوب مقدار آفلاتوکسین آنها ناچیز و غیر قابل اندازه گیری بود. ولی پسته های زودخندان با پوست رویی خشک و چروکیده که زمان طولانی بین شکاف خوردن پوست نرم رویی تا زمان برداشت باعث از دست رفتن رطوبت پسته می شود؛ به دلیل وجود فرصت کافی (حد اقل دو هفته) قارچها استقرار یافته و پس از رشد و تکثیر آفلاتوکسین تولید نموده اند. با گذشت زمان از شروع ترک خوردگی خشک شدن پوست نرم رویی نشانه وجود آفلاتوکسین در پسته است که در مطالعات "Doster" مورد تایید قرار گرفته است.

میانگین مقادیر آفلاتوکسین اندازه گیری شده در پسته های با پوست رویی خشک و چروکیده و پسته های لک دار مرحله فراوری که به روشهای مختلف خشک شده اند در جداول (۱) و (۲) آورده شده است. نتایج بدست آمده نشان می دهد؛ تفاوت معنی داری از نظر میانگین مقدار آفلاتوکسین ها بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۵٪ وجود ندارد. این موضوع به دلیل ماهیت وجود آفلاتوکسین ها و شدت رشد قارچها در دانه های پسته است. به عبارتی دیگر توزیع ناهمگون آفلاتوکسین در دانه های پسته منجر به اندازه گیری مقادیر بسیار متفاوت آفلاتوکسین گردیده؛ در نتیجه در اثر گستردگی دامنه اندازه گیری؛ بررسی آماری تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد.

جدول ۱- اثر روشهای مختلف خشک کردن آفتابی؛ در میزان آفلاتوکسین پسته های با پوست ترک خورده خشک رقم اکبری؛ در اواخر شهریورماه

روش خشک کردن	آفلاتوکسین <i>B1</i> <i>ppb</i>	آفلاتوکسین <i>B2</i> <i>ppb</i>	آفلاتوکسین <i>Total</i> <i>ppb</i>
قرار دادن پسته مرطوب و آلوده در آفتاب	۳۸/۹۵ <i>A</i>	۵/۸۵ <i>A</i>	۴۴/۸۱ <i>A</i>
قرار دادن پسته نیمه مرطوب و آلوده در آفتاب	۲۹/۷۹ <i>A</i>	۱/۹۶ <i>A</i>	۳۱/۷۴ <i>A</i>
قرار دادن پسته خشک و آلوده در آفتاب	۱۵/۰۷ <i>A</i>	۰/۹۴ <i>A</i>	۱۶/۰۱ <i>A</i>
قرار دادن پسته مرطوب و آلوده در خشک کن	۱/۳۴ <i>A</i>	۰/۰۰ <i>A</i>	۱/۳۴ <i>A</i>

x- داده هایی که دارای حروف مشترک می باشند از نظر آزمون دانکن در سطح ۵٪ معنی دار نیستند.

جدول ۲- اثر روشهای مختلف خشک کردن در میزان آفلاتوکسین پسته های لکه دار رقم اکبری در اواخر مهرماه

روش خشک کردن	آفلاتوکسین <i>B1</i> <i>ppb</i>	آفلاتوکسین <i>B2</i> <i>ppb</i>	آفلاتوکسین <i>Total</i> <i>ppb</i>
قرار دادن پسته مرطوب و آلوده در آفتاب	۲۶۳۸ <i>A</i>	۸۰۸/۶ <i>A</i>	۳۴۴۶ <i>A</i>
قرار دادن پسته نیمه مرطوب و آلوده در آفتاب	۳۷۴۶ <i>A</i>	۶۸۸/۳ <i>A</i>	۴۴۳۵ <i>A</i>
قرار دادن پسته خشک و آلوده در آفتاب	۱۰۰۳ <i>A</i>	۱۱۵/۷ <i>A</i>	۱۱۱۹ <i>A</i>
قرار دادن پسته مرطوب و آلوده در خشک کن	۷۱۵/۲ <i>A</i>	۴۱/۱۴ <i>A</i>	۷۵۶/۳ <i>A</i>

x- داده هایی که دارای حروف مشترک می باشند از نظر آزمون دانکن در سطح ۵٪ معنی دار نیستند.

چون شدت آلودگی به افلاتوکسین به عواملی نظیر زمان ترک خوردگی؛ نوع قارچ و مدت جایگزینی آن و در نهایت شرایط محیطی بستگی دارد و هیچگاه نمی توان نمونه های آلوده طبیعی با شرایط یکسان و شدت آلودگی مشابه داشت؛ به همین دلیل دامنه مقادیر افلاتوکسین اندازه گیری شده در نمونه ها وسیع و مقایسه آماری میانگین های بدست آمده تفاوت معنی داری را در روشهای مختلف خشک کردن نشان نمی دهد. با این وجود نتایج دو ساله اجرای طرح؛ مشخص می نماید که هر چه زمان استفاده از دستگاه خشک کن برای خشک کردن نمونه های پسته بیشتر شود؛ میانگین مقدار افلاتوکسین اندازه گیری شده آنها کمتر خواهد بود. بطوریکه میانگین مقدار افلاتوکسین در پسته هایی که به روش آفتابی خشک شده اند؛ بیشتر از مواردی است که ابتدا مقداری از رطوبت پسته توسط دستگاههای خشک کن گرفته شده است. میانگین مقدار افلاتوکسین در پسته های خشک شده توسط دستگاه از همه پایین تر است.

با توجه به نتایج بدست آمده می توان بیان نمود که؛ علاوه بر آنکه زمان برداشت و شدت لک دار بودن پسته در میزان آلودگی طبیعی پسته ها به افلاتوکسین نقش بسزایی دارد؛ بطوریکه مقدار افلاتوکسین در پسته های لک دار مربوط به اواخر مهرماه به مراتب بیشتر از مقدار افلاتوکسین اندازه گیری شده در پسته های نمونه برداری شده در اواخر شهریور ماه است. در اواخر فصل برداشت چون سرعت خشک شدن پسته در آفتاب به حدی نیست که قادر به غیرفعال کردن سریع ریشه های قارچی موجود در دانه های آلوده گردد در نتیجه نمی تواند باعث جلوگیری از تولید سم در زمان خشک شدن گردد و استفاده از نور آفتاب برای کاهش افلاتوکسین پسته بی تاثیر است. عملی ترین و اقتصادی ترین راهها برای کاهش افلاتوکسینها در پسته؛ انجام مراقبتهای پیشگیری از آلودگی محصول در باغ و رعایت زمان برداشت می باشد که باید بدقت مورد مطالعه و بررسی قرار گیرند. پسته های لک دار و مشکوک به آلودگی که کیفیت آنها پایین است در صورتی که در

آفتاب خشک شوند موجب افزایش آلودگی آنها شده و باید حتما توسط خشک کنهای صنعتی خشک شوند.

#### تشکر و قدر دانی :

بدینوسیله از همکاری صمیمانه مسئولین محترم ترمینالهای فراوری پسته امین و آگاه در انجام نمونه برداری هاو مسئولین محترم موسسه تحقیقات پسته کشور در فراهم کردن امکانات اجرای طرح تشکر و قدر دانی می گردد.

#### منابع:

- 1- Denizel, T., Edward J. Rolfe and Basil jarvis (1976) *Moisture-Equilibrium relative humidity relationship in pistachio nuts. With particular regard to control of aflatoxin formation. J. Sci. Food. Agric. 27: 1027-1034.*
- 2- Doster, M. A. & Michailides, T. J. (1994). *Aspergillus molds and aflatoxins in pistachio nuts in california phytopathology. 84: 583-590.*
- 3- Rustom. Y. S. (1996). *Aflatoxin in Food and Feed. Occurrence, Legislation and inactivation by physical methods. Food chemistry Vol, 59: 57-67.*
- 4- Samarajeewa. U., A.C.Sen, M.D.Cohen and C.I.Wel. (1990). *Detoxification of Aflatoxins in Feeds and Foods by physical and chemical. Methods. Journal of food protection, Vol 53, 489-501.*
- 5- 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.*