

شناسایی و تعیین پسته های آلوده به آفاتوکسین در مرحله فراوری

علی تاج آبادی پور^۱ - محمد حسن فولادی^۲ - مهدخت ارجمند کرمانی^۳

چکیده

پسته یکی از مهمترین محصولات باغبانی کشور بوده و دومین محصول صادراتی غیرنفتی بعد از فرش می باشد. یکی از مسائل جدی که صادرات این محصول پرارزش را در معرض خطر قرار داده است آفاتوکسین می باشد. آفاتوکسین از متابولیت‌های ثانویه کپک‌هایی چون *Aspergillus flavus*

و

A. parasiticus می باشد که خطرات زیادی برای سلامت انسان در پی دارد. مهمترین عامل ورود قارچ‌های مولد آفاتوکسین به میوه پسته و رشد و نمو آنها و نهایتاً تولید آفاتوکسین ترک خوردگی پوست رویی پسته در باغ می باشد، خطرناک ترین نوع ترک خوردگی عارضه زودخندانی می باشد که هم پوست سبز و هم پوست استخوانی بطور همزمان شکاف برداشته و مغز مستقیماً در معرض هجوم قارچ‌های مولد آفاتوکسین قرار می گیرد. خصوصیات ظاهری پسته های آلوده به آفاتوکسین در باغ متفاوت از پسته های سالم بوده و می توان از این خصوصیات جهت حذف این گونه پسته ها در مرحله فراوری استفاده نمود. به منظور تعیین خصوصیات ظاهری و فیزیکی پسته های آلوده و استفاده از روشهای علمی جهت حذف آنها، از سه رقم تجارتي پسته اوحدی، کله قوچی و احمدآقایی در مرحله فراوری در دو ضبط پسته مکانیزه در دو زمان نمونه گیری بعمل آمد و از پسته های روآبی خندان بدون لکه و لکه دار، پسته های زیرآبی خندان بدون لکه و لکه دار و پسته های ریز و شکسته و مغز شده و پسته های بدن لکه (انتهای فراوری) نمونه برداری گردید. پسته های لکه دار از نظر میزان گسترش لکه بر روی پوست استخوانی به گروه‌های ۱ (میزان لکه بین ۱ تا ۳۰٪)، ۲ (میزان لکه ۳۱ تا ۶۰٪) و ۳ (میزان لکه بیشتر از ۶۰٪) تقسیم بندی شدند و مقدار آفاتوکسین نمونه ها به روش اسکندر - TLC اندازه گیری شد. داده های بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پسته های روآبی لکه دار دارای بیشترین مقدار آفاتوکسین بودند. هرچه میزان لکه بر روی پوست استخوانی افزایش یافت، میزان آفاتوکسین نیز افزایش یافت بطوریکه میزان آفاتوکسین در پسته های زیر آبی لکه دار گروه یک، دو و سه به ترتیب ۴۹۰، ۱۳۶۴/۷ و ۱۷۸۲ ppb بود. پسته های روآبی بدون لکه نیز دارای مقدار قابل توجهی آفاتوکسین بودند. پسته های ریز و پسته های شکسته و مغز شده دارای مقادیر ناچیز آفاتوکسین بوده و پسته های نهایی (انتهای فراوری) بدون لکه فاقد آفاتوکسین بودند.

- ۱- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات پسته کشور
- ۲- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان
- ۳- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات پسته کشور

مقدمه :

پسته یکی از مهمترین محصولات باغی کشور می باشد که اهمیت زیادی در صادرات و اقتصاد کشور دارد. در حال حاضر بیش از ۳۰۰ هزار هکتار باغ پسته با تولید سالیانه حدود ۲۴۰ هزار تن پسته خشک در ایران وجود دارد. سالیانه بیش از ۱۰۰ هزار تن پسته به خارج از کشور صادر شده و درآمدی حدود چهارصد میلیون دلار را برای کشور به ارمغان می آورد. به دلیل شرایط مناسب اقلیمی، پسته ایران دارای مرغوبیت بالایی بوده و از نظر کیفیت نیز در بین رقبای خود کم نظیر می باشد. یکی از مسائل جدی که امروزه صادرات این محصول را در معرض خطر قرار داده است، در مواردی وجود سم آفلاتوکسین در پسته های تولیدی می باشد. آفلاتوکسین از متابولیت های ثانویه کپک هایی چون *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus* می باشد این قارچها می توانند آفلاتوکسین (سمی که برای انسان و حیوانات سرطانزا است) تولید کنند. حد مجاز و استاندارد زهرابه آفلاتوکسین یکی از شاخصهای امکان صدور پسته به تمامی دنیا می باشد. امروزه چه بسیار محموله هایی به دلیل بالا بودن میزان زهرابه آفلاتوکسین از حد مجاز، مجوز ورود به بازارهای جهانی را بدست نمی آورند. در این رابطه خریداران خارجی با پرداخت بهاء کالا، محصولی را خریداری می کنند که از کیفیت عالی برخوردار بوده و عاری از هر گونه مواد خارجی و یا عوامل زیان آور برای سلامت انسان باشد. سالیانه مقادیر قابل توجهی از محصولات کشاورزی به ارزش میلیاردها دلار دستخوش حمله قارچها قرار گرفته و نابود می شوند. محصولات حاوی زهرابه آفلاتوکسین کیفیت مطلوبی نداشته و به قیمت ارزانتری به بازار ارائه می شوند. اگرچه آلودگی به آفلاتوکسین به ندرت صورت می گیرد و تعداد معدودی از پسته ها به آفلاتوکسین آلوده هستند ولی می توانند توده بزرگی از پسته را آلوده نشان دهند. در صورت جلوگیری از آلودگی و یا گسترش آن در مرحله فرآوری با زمان برداشت مناسب، حمل و نقل سریع پسته های چیده شده از باغ و بلافاصله انجام عمل فرآوری روی آنها، رعایت نکات بهداشتی در مراحل فرآوری (شستشو، خشک کردن و انبار)، می توان پسته های آلوده شده به آفلاتوکسین در باغ را بر اساس خصوصیات ظاهری و فیزیکی آنها در مرحله فرآوری جداسازی نمود و میزان آفلاتوکسین را تا حد زیادی کاهش و یا حتی به صفر رسانید. قارچهای مولد آفلاتوکسین ضمن رشد و نمو این زهرابه را تولید می کنند که باعث آلودگی مواد غذایی همچون ذرت، بادام زمینی، پسته

گردو، بادام، انجیر، حبوبات، غلات و لبنیات می گردد. در انسان اولین اندامی که بوسیله آفلاتوکسین آسیب می بیند، کبد است. انواع آفلاتوکسین بر اساس رنگ فلورسانس و حرکت نسبی روی صفحه کروماتوگرافی (TLC) به چهار گروه عمده B1، B2، G1، G2 تقسیم بندی می شوند. شرایط لازم برای فعالیت قارچهای مولد آفلاتوکسین و در نتیجه تولید آفلاتوکسین وجود مواد غذایی، حرارت و رطوبت مناسب می باشد. درجه حرارت ۳۸-۳۶ برای فعالیت قارچهای مولد آفلاتوکسین و ۲۵ درجه سانتیگراد برای تولید آفلاتوکسین بهترین شرایط دمایی می باشد. حداقل رطوبت نسبی هوا ۸۵٪ و رطوبت دانه بالاتر از ۸ درصد از دیگر شرایط تولید آفلاتوکسین می باشد. مهمترین عاملی که سبب نفوذ قارچها به داخل میوه پسته می گردد شکاف خوردن پوست سبز رویی پسته در باغ بوده و از مهمترین نوع شکاف خوردگیها، زودخندانی می باشد. پسته های زودخندان پسته های غیرطبیعی هستند که هم پوست استخوانی و هم پوست سبز در محل خندانی شکاف برداشته و مغز پسته مستقیماً در معرض هجوم قارچها و آفات قرار می گیرد. بعلت اینکه شروع عارضه زودخندانی قبل از بلوغ فیزیولوژیکی و بیشتر از یک ماه قبل از برداشت در باغ می باشد، بنابراین فرصت کافی جهت رشد قارچها و تولید آفلاتوکسین در آنها وجود دارد. خصوصیات ظاهری پسته همانند رنگ پوست استخوانی، ریزی و درشتی محصول، آفت زدگی، چسبیدگی پوست سبز به پوست استخوانی، وزن، طول، عرض و قطر پسته از خصوصیات مهمی هستند که می توان از آنها در جهت جداسازی پسته های آلوده به آفلاتوکسین استفاده نمود. از مهمترین خصوصیات پسته های زودخندان، لکه دار شدن پوست استخوانی، چسبیده بودن پوست سبز به پوست استخوانی می باشد. با استفاده از مشخصه های وجود لکه روی پوست استخوانی و اندازه پسته می توان ۹۰٪ از پسته های زودخندان را جداسازی نمود (Sommer و همکاران ۱۹۸۶). هنگامیکه پسته های با پوست سبز در دستگاه پوست کنی قرار داده می شوند، ۹۸٪ از پسته های زودخندان پوست سبزشان را حفظ کرده در حالیکه ۹۵٪ از پسته های طبیعی پوست کنده می شوند.

روش جداسازی مکانیکی بطور موفقیت آمیزی ۹۰٪ از پسته های زودخندان را جدا کرده و فقط ۵٪ از پسته های طبیعی در این نمونه باقی می ماند. وزن، طول، عرض، قطر پسته های زودخندان بطور معنی داری با پسته های طبیعی اختلاف دارد (Sommer و همکاران ۱۹۸۶) پسته های زودخندانی که زودتر در باغ تشکیل شده اند در زمان برداشت دارای پوست سبز چروکیده و وزن مخصوص کمتر و مغز و پوست استخوانی کوچکتر و لکه زیاد روی پوست استخوانی نسبت به پسته های زودخندان تشکیل شده نزدیک زمان برداشت و پسته های سالم هستند. این خصوصیات ویژه می توانند برای جداسازی پسته های آلوده در طول فرآوری مورد استفاده قرار گیرند (Doster و همکاران ۱۹۹۵). بین کرم ناف پرتقال

(NOW) (شب پره خرنوب) و آفلاتوکسین در دانه های پسته رابطه وجود دارد. نتایج پیشنهاد می کند که کشاورزان می توانند آلودگی به آفلاتوکسین را با مبارزه با این آفت کاهش دهند. بعلاوه اگر دستگاههای فرآیند بتوانند پسته های آلوده به این آفت را جدا کنند میزان آفلاتوکسین تا حد زیادی کاهش خواهد یافت (Sommer و همکاران ۱۹۸۶). شاخص لکه دار بودن سطح خارجی پوست استخوانی می تواند در جداسازی پسته های آلوده در حین فرآوری استفاده شود (Pearson و همکاران ۱۹۹۴).

Schateki و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که پسته های روآبی که دارای خسارتهای فیزیولوژیک قبل از برداشت می باشند، دارای آفلاتوکسین هستند. آنها پسته های روآبی و زیرآبی را به هفت گروه از لحاظ اندازه و وزن تقسیم بندی کردند و پسته هر یک از گروهها را بر اساس لکه دار بودن یا نبودن پوست استخوانی طبقه بندی کردند و ۲۰ نمونه ۵۰ تایی پسته را از هر یک از گروهها جهت اندازه گیری میزان آفلاتوکسین مورد استفاده قرار دادند. نتایج حاصل از اندازه گیری آفلاتوکسین B1 در آنها نشان می دهد که پسته های خیلی ریز (حدود ۰/۵ گرم وزن دانه) دارای آفلاتوکسین خیلی کم می باشند و رابطه مشخصی بین اندازه پسته و میزان آلودگی آنها به آفلاتوکسین وجود ندارد.

Doster و Michailides (۱۹۹۹) پسته ها را از لحاظ رنگ گیری پوست استخوانی و میزان آلودگی آنها به آفلاتوکسین مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که پسته های با ظاهر پوست استخوانی روغنی، بالاترین آلودگی به قارچها و کرم ناف پرتقال را داشتند. پسته های با پوست استخوانی غیرطبیعی با رنگ قهوه ای خیلی تیره و رنگ قهوه ای متوسط در امتداد شیار خندانی به ترتیب آلودگی کمتر دارند. پسته ها با پوست استخوانی زرد رنگ و یا بدون لکه هیچ گونه آلودگی نداشتند. بنابراین با استفاده از خصوصیات فیزیکی پسته های آلوده به آفلاتوکسین و حذف آنها در حین فرآوری می توان در جهت کاهش و یا حذف آفلاتوکسین از توده پسته گامهای موثری را برداشت.

روش تحقیق

در این تحقیق به منظور بررسی نقش خصوصیات فیزیکی و ظاهری پسته ها در مرحله فرآوری، یک باغ ۷۰ هکتاری از رقم اوحدی با سن حدود ۳۰ سال در یکی از مناطق شهرستان رفسنجان انتخاب شد. باغ موردنظر دارای مدیریت صحیح باغبانی، تغذیه، آبیاری، کنترل آفات و علفهای هرز بود. فرآوری پسته باغات مذکور در یک سیستم فرآوری نیمه مکانیزه شامل مراحل جدا کردن پوست سبز، شستشو، نمگیر، پوک گیربادی، گوگیر، جداسازی چشمی پسته های لکه دار و با پوست و خشک کردن آفتابی یک لایه بود. پسته های با پوست جدا نشده در پوست کن آبی ریخته شده و بعد از جدا شدن پوست سبز آنها به

دو دسته روآبی و و زیرآبی تقسیم شده و بطور جداگانه در آفتاب خشک شدند. مدت خشک شدن پسته ها (رسیدن به رطوبت ۴-۶ درصد) حدود دو روز بود. پسته های خشک شده توسط غربال به پسته های شکسته و مغز شده ، پسته های ریز و پسته های درشت تقسیم بندی شدند. نمونه گیریها در هشت نوبت (تکرار) از زمان شروع برداشت (اواسط شهریور) بصورت یک روز در میان تا اواسط مهرماه در ۲ سال متوالی انجام شد. انواع نمونه برداریها عبارت بودند از:

- ۱- پسته های ریز: از پسته های ریز جدا شده توسط غربال نمونه بردای شد.
- ۲- پسته های شکسته و مغز شده: از پسته های شکسته و مغز شده در اثر ضربه دستگاه پوست گیر که توسط غربال جداسازی شده بودند نمونه برداری انجام شد.
- ۳- پسته های روآبی خندان: پسته های روآبی اکثراً پوک می باشند ولی مقدار کمی پسته خندان نیز در آنها وجود دارد. از پسته های روآبی خندان لکه دار و بدون لکه نمونه برداری انجام شد.
- ۴- پسته های زیرآبی: پسته های زیرآبی از لحاظ وجود لکه و سطح گسترش آن به چهار گروه ۱- بدون لکه ۲- لکه دار گروه یک (میزان لکه روی پوست استخوانی بین ۱ تا ۳۰ درصد) ۳- لکه دار گروه دو (میزان لکه روی پوست استخوانی بین ۳۱ تا ۶۰ درصد) ۴ - لکه دار گروه سه (میزان لکه روی پوست استخوانی بین ۶۱ تا ۹۰ درصد) تقسیم شدند.
- ۵- پسته های آخر فرآوری: بعد از توجین دستی و عبور پسته ها از غربال از انتهای مرحله فرآوری نمونه برداری انجام شد.

نمونه های پسته جهت اندازه گیری میزان آفلاتوکسین آنها آماده شدند. اندازه گیری میزان آفلاتوکسین به روش اسکنر - TLC صورت گرفت. داده های بدست آمده در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با نرم افزار آماری *Sas* بعد از تبدیل داده مناسب مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین ها با روش دانکن در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث :

نتایج حاصل از اجرای این تحقیق نشان داد که پسته های روآبی لکه دار دارای بیشترین مقدار آفلاتوکسین هستند ($20.15/4$ *ppb*) (جدول ۱). پسته های روآبی پسته هایی دارای اختلال فیزیولوژیکی هستند که معمولاً پوست سبز آنها در فاصله زیادی از برداشت شکاف برداشته و عمدتاً پسته های زودخندان هستند و به دلیل شکاف برداشتن پوست سبز آنها رطوبت پوست سبز، پوست استخوانی و مغز آنها در باغ کاهش یافته و نتیجتاً وزن مخصوص و آب آنها نسبت به پسته های سالم کمتر می باشد. بنابراین این پسته ها در صورت غوطه ور شدن در آب ، همانند پسته های پوک بر روی سطح آب قرار می گیرند. *Doster* و همکاران

اظهار نمودند که رطوبت پوست سبز و مغز پسته های زودخندان با پوست چروکیده و خشک به ترتیب ۱۷ و ۹ درصد می باشد. در حالیکه میزان رطوبت پسته های سالم به ترتیب ۷۴ و ۴۴ درصد است و همچنین *Doster* و همکاران (۱۹۹۵) اظهار نمودند که پسته های زودخندان با پوست رویی چروکیده و خشک بیشتر از دو برابر به *A. niger* و بیشتر از سه برابر به *A. flavus* و *parasiticus* نسبت به پسته های زودخندان با پوست سبز رویی نرم و صاف آلوده بودند. پسته های روآبی بدون لکه، اگرچه میزان آفلاتوکسین آنها به مراتب کمتر از میزان آفلاتوکسین موجود در پسته های روآبی لکه دار بوده است، با این حال این مقدار بسیار بیشتر از حد مجاز آفلاتوکسین در پسته می باشد. بنابراین حتماً بایستی از پسته های سالم جداسازی شوند. با توجه به نداشتن خصوصیات ظاهری ویژه (عدم وجود لکه بروی پوست استخوانی) تنها راه جداسازی آنها استفاده از خصوصیات فیزیکی (وزن مخصوص) می باشد. در پسته های زیرآبی لکه دار نیز در تمام گروه‌بندیها آفلاتوکسین مشاهده شد. بنابراین صفت لکه دار بودن پوست استخوانی نیز از صفات بسیار مهمی است که می توان جهت جداسازی پسته های آلوده به آفلاتوکسین از آن استفاده نمود. *Sommer* و همکاران (۱۹۸۶) اظهار نمودند که با استفاده از مشخصه های وجود لکه بر روی پوست استخوانی و اندازه پسته می توان ۹۰٪ از پسته های زودخندان را در مرحله فرآوری جداسازی نمود. میزان آفلاتوکسین در پسته های زیرآبی لکه دار گروه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۴۹۰، ۱۳۶۴ و ۱۷۸۱ *ppb* بود (جدول ۱). البته این اختلافات به دلیل تغییرات زیاد مقدار آفلاتوکسین در نمونه برداریها معنی دار نبود. آنچه از این نتایج استنباط می شود این است که هر چه میزان لکه بر روی پوست استخوانی افزایش یابد میزان آفلاتوکسین نیز افزایش می یابد و اختلاف قابل توجهی بین پسته های زیرآبی لکه دار گروه یک با پسته های گروههای ۲ و ۳ وجود داشت. بنابراین اگر سطح لکه بر روی پوست استخوانی از ۳۰٪ بیشتر شود میزان آفلاتوکسین بطور قابل توجهی در این گونه پسته ها بالا خواهد رفت. نوع لکه های موردنظر در این تحقیق لکه های با رنگ قهوه ای تا قهوه ای تیره بود. *Doster* و همکاران نیز بعد از گروهبندی پسته های لکه دار بر اساس گسترش و میزان سطح لکه بر روی پوست استخوانی نتایج مشابهی با تحقیق حاضر گرفتند و اظهار نمودند که پسته های دارای لکه قهوه ای تیره بعد از پسته های لکه روغنی بیشترین مقدار آفلاتوکسین را در مقایسه با پسته های دارای لکه قهوه ای متوسط و کم رنگ داشتند. نتایج نشان داد که پسته های ریز دارای مقادیر جزئی آفلاتوکسین بوده (*ppb* ۱) و این مقدار کمتر از حد مجاز آفلاتوکسین (*ppb* ۲) بوده با این حال بایستی به خاطر کاهش کیفیت پسته های تجارتي و احتمال آلودگی به آفلاتوکسین حذف شوند. البته بایستی به این نکته توجه داشت که پسته های ریز مورد تحقیق بدون لکه بودند، بر اساس تحقیقات انجام شده پسته های دارای لکه و دارای مقادیر بالای آفلاتوکسین،

جزء پسته های ریز قرار دارند. تحقیقات انجام شده در خصوص نقش اندازه پسته در مقدار آفلاتوکسین نیز نتایج متناقضی را به دنبال داشته است، بطوریکه *Schateki* و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند با کاهش اندازه و وزن پسته ها، مقدار آفلاتوکسین نیز افزایش یافته ولی این افزایش مقدار آفلاتوکسین در خصوص پسته های خیلی ریز صادق نبوده و پسته های خیلی ریز دارای مقادیر جزئی آفلاتوکسین بودند. پسته های شکسته و مغز شده در حین فرآوری نیز دارای مقدار جزئی آفلاتوکسین بودند ($0/4$ ppb). این موضوع نشان دهنده آن است که در طی مراحل فرآوری فرصت کافی جهت رشد و نمو قارچها و تولید آفلاتوکسین بوجود نیامده است. پسته های زیرآبی بدون لکه و پسته های نهایی (بدون لکه) فاقد آفلاتوکسین بودند (جدول ۱). پسته هایی که پوست سبز آنها شکاف برداشته است بدون لکه بوده و جزء پسته های زیرآبی قرار می گیرند. *Doster* و همکاران اظهار نمودند که ۴ تا ۵ درصد از پسته های با پوست شکاف خورده نامنظم لکه دار بوده و پسته های سالم بدون لکه می باشند. بنابراین تمامی پسته های با پوست سالم و اکثر پسته های شکاف خورده نامنظم با پوست نرم فاقد آفلاتوکسین می باشند.

جدول شماره ۱- میزان آفلاتوکسین نمونه های مختلف پسته در طول فرآوری

نوع پسته	مقدار آفلاتوکسین کل (ppb)
پسته روآبی لکه دار	۲۰۱۵/۴a
پسته های زیرآبی لکه دار گروه سه	۱۷۸۱/۸a
پسته های زیرآبی لکه دار گروه دو	۱۳۶۴/۷a
پسته های زیرآبی لکه دار گروه یک	۴۹۰a
پسته های روآبی بدون لکه	۲۳۳/۹ b
پسته ریز	۱c
پسته شکسته و مغز شده	۰/۴c
پسته زیرآبی بدون لکه	۰c
پسته انتهای فرآوری	۰c

میانگین هایی که با حروف متفاوت علامت گذاری شده اند با آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری دارند.

منابع مورد استفاده:

- ۱- تاج آبادی پور، علی. ۱۳۷۶. شناسایی برخی از ارقام پسته. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- ۲- تاج آبادی پور، علی. ۱۳۷۸. عارضه زودخندانی در پسته. نشریه ترویجی. شماره ثبت ۴۵۰/۷۷ از مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی.

- 3-Doster, M.A., T.J. Michailides. 1995. *The development of early split pistachio nuts and the contamination by molds, Aflatoxins, and insects. First international symposium on pistachio nut. 20-24 september 1994. Adana-Turkey-Acta Horticulture 419, 359-364.*
- 4-Sommer, N.F., T.R. Buchanan and R.j. fortge. 1988. *Relation of early splitting and tattering of pistachio nuts to aflatoxin in the orchard. Phytopathology 76(7): 692-694.*
- 5- Pearson, T.C., D.C. Slaughter and H.E.Studer. 1994. *Physical properties of pistachio nuts. Transactions of the ASAE 37: 913-918.*
- 6- Doster, M.A., J. Michailides. 1999. *Relationship between shell discoloration of pistachio nuts and incidence of fungal decay and insect infestation. Plant disease. 259-262.*
- 7- Schatzki, T.F. and J. pan. 1997. *Distribution of aflatoxin in pistachios. 4. Distribution in small pistachios. J.Agre. Food. Chem. 45. 205-207.*