# بررسی عوامل مؤثر بر رشد قارچی و تولید آفلاتوکسین در انبارهای پسته استان کرمان

**محمد مرادی[a]*، حسین حکم‌آبادی[b]، سید رضا فانی[c]**

*[a] استادیار پژوهش، بخش گیاه پزشکی، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، ایران*
*[b] استادیار پژوهش، بخش باغبانی، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، ایران*
*[c] کارشناس، بخش گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۴/۲۴



## چکیده

**مقدمه:** نامناسب بودن شرایط انبار ممکن است منجر به ایجاد یا افزایش آلودگی به کپک ها و زهرابه های ناشی از آن ها از جمله آفلاتوکسین گردد. عوامل مختلف محیطی روی رشد قارچی و تولید مایکوتوکسین‌ها به عنوان متابولیت های ثانویه مضر مؤثر است . به‌بود وضعیت انبار می‌تواند در جلوگیری از آلودگی پسته مؤثر باشد.

**مواد و روش‌ها:** عوامل محیطی تأثیرگذار روی آلودگی پسته در انبارها شامل رطوبت نسبی، دما، رطوبت مغز پسته، فعالیت آبی و آلودگی به آفات در ۴۷ انبار مختلف در شهرستان‌های رفسنجان، کرمان، سیرجان و زرند در فواصل سه ماهه به مدت یک سال بررسی گردید.

**یافته‌ها:** دامنه فعالیت آبی ($a_W$) و رطوبت مغز پسته طی نمونه‌برداری به ترتیب از ۰/۴۶ – ۰/۱۲ و ۵/۳ – ۳/۱ درصد در انبارهای مختلف متغیر بود. در غالب انبارهای مورد بررسی دامنه رطوبت نسبی انبارها از ۲۴ تا ۲۶ درصد متغیر و کمینه و بیشینه آن به ترتیب ۱۳ و ۳۶/۵ درصد و دامنه دما بین ۲۳/۳ تا ۲۶/۱ درجه سانتی‌گراد بود. از طرف دیگر تغییرات رطوبت مغز پسته و فعالیت آبی با گذشت زمان انبارداری در تمامی انبارها تقریباً ثابت بود، لذا تبادل رطوبتی بین پسته و محیط به اندازه ای نیست که بتواند رشد قارچ *Aspergillus flavus* و تولید آفلاتوکسین را افزایش دهد . وضعیت آلودگی میوه پسته به آفات انباری کمتر از ۱ درصد و آلودگی به گونه های آسپرژیلوس موجود در انبارهای مختلف از غیرقابل تشخیص تا یک درصد در بیش‌ترین مقدار خود متفاوت بود.

**نتیجه‌گیری:** وضعیت کلی انبارهای استان کرمان به صورتی نیست که باعث ایجاد یا بهبود شرایط مناسب برای رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین گردد.

***واژه‌های کلیدی:*** *آسپرژیلوس، انبار، دما، رطوبت نسبی، فعالیت آبی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: moradi@pri.ir



jftn.srbiau.ac.ir

## مقدمه

امروزه آلودگی مواد غذایی به زهرابه‌های قارچی از مهم‌ترین معضلات بهداشتی محسوب می‌شود (Amaike and Keller, 2011)، سازمان بهداشت جهانی و سازمان‌های ملی بهداشت در کشورهای مختلف با توجه به خطرات جدی آن‌ها، مقررات و قوانین ویژه‌ای برای تولید، مصرف و واردات مواد غذایی تنظیم نموده‌اند (Codex Alimentarius, 2010). آفلاتوکسین‌ها یکی از مهم‌ترین زهرابه‌های قارچی هستند که توسط برخی گونه‌های قارچ آسپرژیلوس تولید می‌گردد. پسته یکی از اقلام عمده صادرات غیر نفتی ایران است که در بازارهای جهانی شناخته شده و معروف است . سال‌های متمادی ایر ان 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 قارچی متعلق به بخش فلاوی و آفلاتوکسین‌های ناشی از آن‌ها باعث شده است که صادرات این محصول با ارزش به کشورهای اتحادیه اروپا و آمریکا با محدودیت روبرو گردد (Bui-Klimke *et al.*, 2014). عموماً، تولید آفلاتوکسین‌ها در پسته قبل از برداشت محصول و تحت شرایط باغی صورت می‌گیرد و تأخیر در زمان برداشت، عدم فرآوری مناسب و شرایط نامناسب انبارداری می‌تواند به تشدید رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین منجر شود (Moradi & Hokmabadi, 2011). وجود آفلاتوکسین در یک توده پسته، با میوه‌های ترک‌خورده، آلودگی به آفات، خصوصیات ظاهری نامطلوب و یا آسیب‌دیدگی پوست استخوانی در ارتباط است (Shakerardekani *et al.*, 2012).

رشد *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین در شرایط انبار روی بسترهای غذایی از جمله خشکبار تحت تأثیر ترکیب گازی محیط، فعالیت آبی، اسیدیته، برهمکنش میکربی و طول مدت انبارداری است. به عنوان مثال در مورد بادام‌زمینی، انبارداری در فعالیت آبی ۰/۹۴، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ۱۰ درصد اکسیژن (نسبت تعادلی ۶۰:۴۰ دی اکسید کربن: نیتروژن) موجب تولید بیش‌ترین مقدار آفلاتوکسین در ۲۱ روز صورت گردید (Ellis *et al.*, 1994). این موضوع نشان می‌دهد که قارچ می‌تواند در اتمسفر غنی‌شده با دی‌اکسید کربن در حضور گاز اکسیژن رشد کرده و تولید آفلاتوکسین نماید. تحمل و یا مقاومت گونه‌های مختلف توکسین‌زای قارچ آسپرژیلوس به سطوح پایین اکسیژن (۰/۱۴٪) و مقدارهای بیشتر از ۱۵ درصد دی اکسید کربن، به دما و فعالیت آبی بستگی دارد (Magan & Lacey, 1984). به طور کلی فعالیت آبی کمتر از ۰/۷ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (رطوبت نسبی مغز پسته کمتر از ۷ درصد) و رطوبت نسبی محیط کمتر از ۷۰ درصد برای نگهداری طولانی مدت پسته توصیه شده است (Boutrif, 1998). در حال حاضر سالیانه تقریباً نیمی از محصول پسته ایران به صورت فله ای در کیسه های گونی ۷۰ کیلویی صادر می گردد ( Iran Pistachio Association, 2013) که در خارج از کشور پس از بسته‌بندی مناسب با چند برابر قیمت در فروشگاه های زنجیره‌ای به عنوان یک محصول غذایی با ارزش عرضه می‌گردد. پسته‌های خشک‌شده قبل از صادرات جهت انجام عملیاتی نظیر جدا کردن پسته‌های دهان بست، صدمه‌دیده، آفت‌زده و در نهایت غربال کردن و درجه‌بندی به انبارهای موقت منتقل می شوند. معمولاً در این زمان از کیسه های کنفی یا پلاستیکی جهت انبار کردن یا نگهداری پسته استفاده می شود.. یکی از مراحل مهم قبل از صادرات، نگهداری پسته در انبار است . عمر نگهداری پسته در انبار بستگی به مقدار رطوبت آن و دمای انبار دارد. از طرفی قبل از بسته بندی در بسته های غیرقابل نفوذ به رطوبت، محموله‌های پسته در انبارهای معمولی نگهداری شده، رطوبت آن تحت تأثیر رطوبت هوای انبار قرارگرفته و با آن به تعادل می‌رسد. یعنی اگر رطوبت انبار زیاد باشد پسته به راحتی رطوبت انبار را جذب نموده و پس از آن آلودگی قارچی افزایش می یابد، این امر ممکن است منجر به تولید آفلاتوکسین نیز گردد. پسته در طول نگهداری در انبار، در صورت فراهم شدن شرایط مناسب همچون دما، رطوبت نسبی، آلودگی به آفات، و خسارت پرندگان و جوندگان، بستر مناسبی برا ی رشد انواع میکرواورگانیزم‌ها مخصوصاً گونه‌های توکسین زای قارچ آسپرژیلوس (با توجه به پتانسیل خفته آلودگی) است. میزان فراگیری قارچ با دما و رطوبت نسبی انبار و مغز پسته، ترکیب گازهای اتمسفری، برهمکنش میکربی و بسیاری از فاکتورهای دیگر ارتباط دارد (Smith, 1997, Moss, 2004; Cotty & Jaime-Garcia, 2007; Gironi *et al.*, 2008; Georgiadou



jfn.srbiau.ac.ir

*et al.*, 2012). با توجه به وجود انواع میکرواورگانیزم‌ها بر روی سطح پسته و مطلوب بودن آن برای استقرار و تکثیر آفات انباری، این امکان وجود دارد که در طی انبارداری شرایط مناسب رشد قارچی و تولید آفلاتوکسین فراهم گردد. لذا در تحقیق حاضر، وضعیت فعلی انبارهای نگهداری پسته در استان کرمان مورد بررسی قرار گرفت تا تصویری روشن از نحوه تأثیرگذاری عوامل مؤثر بر رشد قارچ آسپرژیلوس و تولید آفلاتوکسین به دست آید.

## مواد و روش‌ها

**-انتخاب انبار**

جهت بررسی انبارهای موجود در استان کرمان، تعداد ۶، ۸، ۱۶ و ۱۷ انبار به ترتیب در شهرستان‌های زرند، کرمان، رفسنجان و سیرجان با شرایط متفاوت انبارداری انتخاب گردید. در فواصل ۳ ماهه (پس از برداشت در سال ۱۳۹۰) از انبارهای منتخب به مدت یک سال نمونه برداری صورت گرفت. برای نمونه‌برداری در هر انبار، پس از بررسی وضعیت عمومی انبار، تعداد ۶ تا ۸ گونی ۵۰ کیلوگرمی پسته از محل‌های مختلف انتخاب و با استفاده از بمبو (وسیله‌ای استوانه ای شکل جهت نمونه‌برداری از داخل گونی پسته) مقدار ۲ کیلوگرم پسته از محل‌های مختلف هر گونی نمونه برداری شد. نمونه‌ها باهم مخلوط و در نهایت۶۰۰ گرم آن جهت انجام آزمایش‌های بعدی برداشت و به آزمایشگاه منتقل گردید. در هر انبار شرایطی مانند نوع انبار، رقم پسته، تعداد گونی در هر پالت، مدت زمان انبارداری، شرایط عمومی انبار (وجود پرنده، جونده و نحوه تهویه)، نوع ساختمان مورد استفاده (قدیمی یا جدید) و ارتفاع از سطح زمین یادداشت برداری گردید. فاکتورهای مورد بررسی به شرح زیر اندازه‌گیری گردید.

برای تعیین درصد آلودگی مغز به آفات و قارچ‌ها، ابتدا پوست استخوانی پسته جدا گردید. با استفاده از بینوکولر با بزرگ‌نمایی متغیر (10X) آلودگی مغز پسته به شب پره خرنوب، شب پره هندی و گونه‌های مختلف آسپرژیلوس تعیین گردید. در صورت وجود آلودگی قارچی، ساختار تولید کنیدی با استفاده بینوکولر با بزرگنمایی بالاتر (۶۰X) مورد بررسی قرار گرفت (Doster & Michailides, 1999) و در صورت نیاز از جهت اطمینان تشخیص جنس آسپرژیلوس از محیط‌های کشت چاپک آگار و عصاره مالت آگار استفاده شد (Klich, 2002).

برای تعیین میزان فعالیت آبی پس از تهیه آرد از مغز نمونه‌های پسته در داخل پلاستیک با قطر ضخیم، مقدار ۵ گرم از آن به دستگاه هیگروپالم (Hygropalm, Rotronic, Germany) منتقل و براساس روش ارائه شده توسط کارخانه سازنده دستگاه، میزان فعالیت آبی اندازه‌گیری گردید.

در هر انبار رطوبت نسبی نمونه‌های پسته (پوست استخوانی و مغز) در ۴ تکرار به وزن تقریبی ۵۰۰ گرم با استفاده از دستگاه ثبات دیجیتال (MINI- GAC plus, DICKY-John, ILLINOIS, USA) تنظیم‌شده برای پسته تعیین گردید.

**-تجزیه و تحلیل آماری**

برای بررسی تغییرات داده های به دست آمده در طول زمان‌های نمونه برداری از آمار توصیفی شامل تغییرات بیشینه، کمینه، میانگین و دامنه استفاده گردید. آنالیز آماری داده‌ها شامل رگرسیون بین عوامل اندازه گیری شده و زمان‌های مختلف و همچنین جدول تجزیه واریانس از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد. برای بررسی اثرات متغیرها، رطوبت مغز پسته، فعالیت آبی و آلودگی به قارچ ها به عنوان متغیرهای وابسته یا تأثیرپذیر (Y) و دما و رطوبت نسبی محیط به عنوان متغیر مستقل و یا اثرگذار (X) برای بررسی رگرسیون خطی بین آن‌ها در نظر گرفته شدند جهت مقایسه انبارهای مختلف از مدل های خطی جدول تجزیه واریانس استفاده شد.

## یافته‌ها

با توجه به اینکه یکی از مراحل اصلی در زنجیره تولید و عرضه پسته، انبارها هستند، در این مطالعه پارامترهای موثر بر رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین در ۴۷ انبار طی انبارداری پسته مورد بررسی قرار گرفت.

در تمامی انبارهای مورد بررسی در استان کرمان تفاوت کلی بین آن‌ها وجود نداشت و بیشتر انبارها دارای سیستم‌های تهویه به شکل های مختلف بودند و بسته به نیاز باغدار و یا مالک آن، میزان مساحت آن‌ها از ۴۰ مترمربع تا ۵۰۰ مترمربع (هر واحد) متغیر بود. حجم پسته انبارشده از ۴ گونی ۵۰ کیلوگرمی تا بیشتر از ۵۰۰ گونی



ijfn.srbiau.ac.ir

متغیر بود، که بر روی پالت قرار داشتند . ارتفاع گونی های پسته بر روی پالت‌ها از ۱ تا ۴ متر، بسته به حجم پسته انبار شده متغیر بود. مدت زمان نگهداری پسته‌ها در انبارها از ۱ تا ۱۲ ماه متفاوت بود، که ا ین موضوع از زمان انبارداری پسته در مهرماه هر سال مطالعه محاسبه گردید.

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای تأثیرگذار در انبارداری پسته در شهرستان های رفسنجان، کرمان، زرند و سیرجان در زمان های مختلف نمونه برداری و همچنین فراوانی آلودگی به گونه های مختلف قارچ آسپر ژیلوس در جداول ۱ و ۲ و شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بررسی ضریب همبستگی بین فاکتورهای اندازه گیری شده مؤثر در رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین در انبارهای مورد بررسی حاکی از عدم وجود ارتباط معنی دار بین آن ها بود. تنها بین دو فاکتور محیطی دما و رطوبت نسبی در سطح ۰/۰۰۰۱ درصد همبستگی وجود داشت (جدول ۱). بررسی بیشتر داده ها نشان داد که ارتباط بین این دو عامل محیطی، در دو زمان اول و دوم نمونه برداری از نظر آماری معنی‌دار و به ترتیب برابر با ۰/۴ و ۰/۷۳ است (داده‌ها ارائه نگردیده است). ضرایب همبستگی بین فراوانی آلودگی به قارچ آسپرژیلوس با فاکتورهای دیگر اندازه‌گیری شده از ۰/۰۰۳ تا ۰/۲۶ متغیر بود، که در هیچ کدام از موارد این ضرایب از نظر آماری معنی دار نبودند. از آنجایی که سطوح رطوبت نسبی اندازه‌گیری شده در بیش‌ترین مقدار از ۳۷ درصد پایین‌تر بود، لذا این وضعیت ممکن است یکی از دلایل عدم وجود ارتباط آماری بین فاکتورهای اندازه گیری شده باشد. از طرف دیگر مقا دیر اندازه‌گیری شده رطوبت مغز و فعالیت آبی، کمتر از محدوده بحرانی برای رشد *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین و مدل های پیشنهادی در این زمینه بود.

نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از عدم تفاوت بین انبارها در صفات اندازه گیری شده بود (تغییرات p بین ۰/۲۴۱ تا ۱/۰ برای صفات اندازه گیری شده). این موضوع بیان‌گر عدم تغییر معنی دار سطوح فعالیت آبی و میزان رطوبت مغز پسته و از جمله فاکتور های کلیدی برای رشد *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین در شهرستان های مختلف طی زمان های نمونه برداری است. از طرف دیگر سطوح فاکتورهای محیطی شامل دما و رطوبت نسبی در طول مدت سال باعث تغییر معنی دار میزان آلودگی به قارچ و رطوبت مغز پسته نمی گردند. خسارت ناشی از پرندگان و جوندگان بجز در چند انبار در شهرستان‌های زرند و سیرجان به ندرت مشاهده گردید . در انبارهای سلطانی (رفسنجان)، امینی، عادل پسته سیرجان، اسدی، معین و ترابی آلودگی به شب پره خرنوب و در انبارهای امینی، حسام و ترابی آلودگی به شب پره هندی با فراوانی کمتر از یک درصد برای هر آفت به صورت مجزا دیده شد.

تغییرات میزان رطوبت مغز پسته نیز روند مشابهی همانند فعالیت آبی را نشان داد (شکل ۱ الف). به نظر می‌رسد خشک کردن پسته تا سطح رطوبتی ۵ تا ۸ درصد برای نگهداری طولانی مدت و جلوگیری از آلودگی مناسب است و دامنه تغییرات حداکثر رطوبت مغز پسته در طول مدت نمونه برداری در انبارهای مختلف در شهرستان های مختلف از ۳/۴ تا ۵/۳ درصد متغیر بود . همچنین دامنه تغییرات بین حداکثر و حداقل میزان آن نیز در بیش‌ترین میزان اندازه‌گیری شده ۲/۱ درصد به دست آمد. بنابراین در مجموع، نتایج حاکی از خشک‌شدن پسته تا سطوح قابل‌اطمینان در پایانه‌های فرآوری، پایین بودن رطوبت نسبی محیط و عدم وجود شرایط مناسب برای رشد قار چ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین بود.



**جدول ۱- ضریب همبستگی (r) بین پارامترهای مورد ارزیابی در انبارهای استان کرمان**

| | عامل | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **عامل** | **رطوبت مغز دانه (%)** | **فعالیت آبی** | **رطوبت نسبی (%)** | **دما (°C)** | **آلودگی به آسپرژیلوس** |
| رطوبت مغز دانه (%) | ۱ | ۰/۱۵ | ۰/۱۴ | ۰/۰۵ | ۰/۰۱ |
| فعالیت آبی | ۰/۱۵ | ۱ | ۰/۰۸ | ۰/۰۸ | ۰/۰۰۳ |
| رطوبت نسبی (%) | ۰/۱۴ | ۰/۰۸ | ۱ | ***۰/۶۸۴ | ۰/۰۷ |
| دما ($^0$C) | ۰/۰۵ | ۰/۰۸ | ***۰/۶۸۴ | ۱ | ۰/۰۶ |
| آلودگی به آسپرژیلوس | ۰/۰۱ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۷ | ۰/۰۶ | ۱ |

*** : به ترتیب ضریب همبستگی بین دو عامل در سطح ۰/۰۰۰۱ معنی‌دار است.

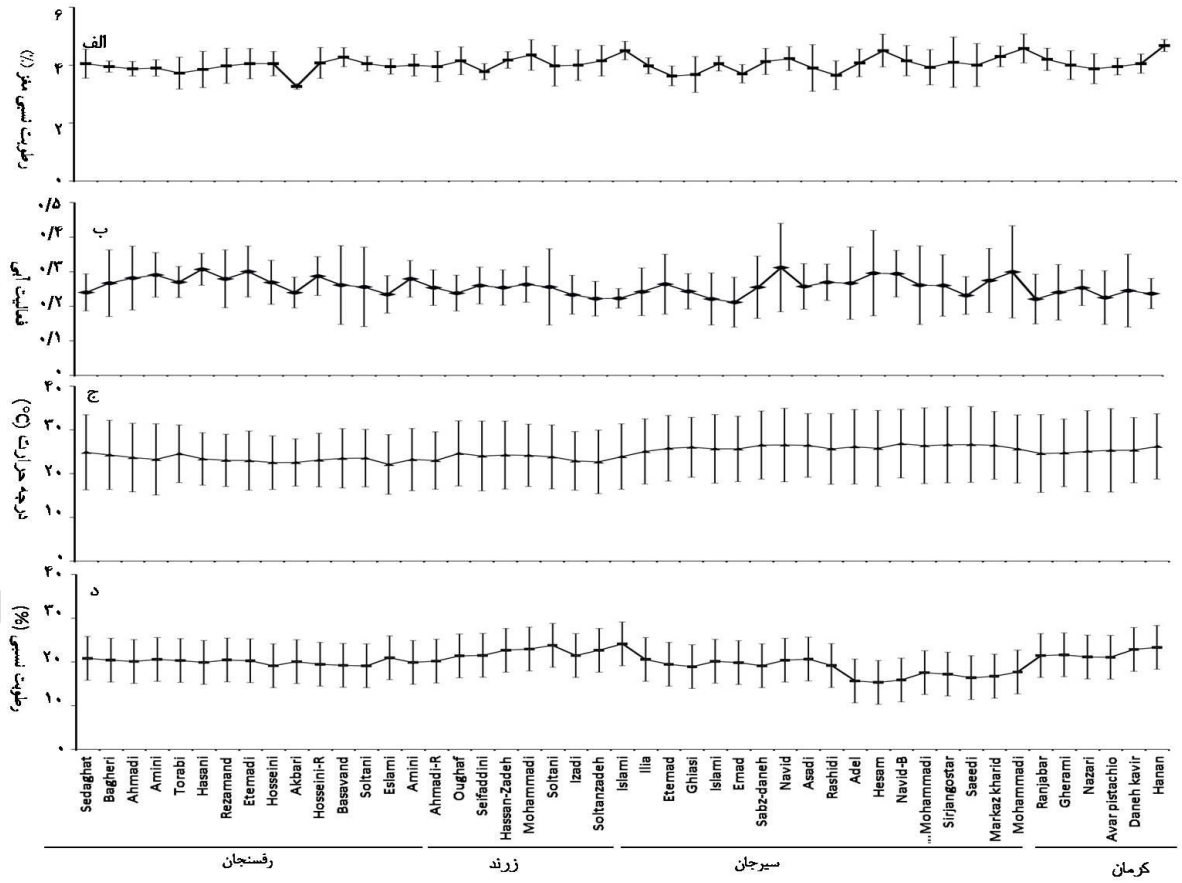
jfp.srbiau.ac.ir

در خصوص فعالیت آبی برای رشد قارچ آسپرژیلوس در مغز پسته، همان طور که در شکل ۱ (ب) مشاهده می‌گردد، مقدار حداکثر آن کمتر از محدوده بحرانی رشد قارچ آسپرژیلوس (۰/۶) بود. از طرف دیگر میانگین فعالیت آبی اندازه‌گیری شده در زمان های مختلف در تمامی انبارهای مورد بررسی به استثنای یک انبار کمتر از ۰/۳ (که خیلی پایین‌تر از حد بحران ی است ) بود. از طرف دیگر دامنه تغییرات (تفاوت بین بیشینه و کمینه) این پارامتر با گذشت زمان انبارداری پسته در تمامی انبارهای مورد بررسی تقریباً ثابت باقی مانده بود و میزان آن از ۰/۰۶ تا ۰/۲۹۶ بود که نشان‌دهنده این است که تبادل رطوبتی بین پسته و محیط اطراف آن در سطحی نیست که بتواند باعث افزایش فعالیت آبی و یا رطوبت نسبی مغز پسته به تبع آن گردد . این امر می‌تواند روی رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین تحت شرایط انبار موثر باشد.

تغییرات دما در طی انبارداری در شهرستان های مختلف از ۱۳/۷ تا ۳۵/۴ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. اگرچه مقایسه داده‌های مربوط به دما در انبارها با میزان آن برای رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین تا حدی هم پوشانی دارد، ولی این نکته حائز اهمیت است که بقیه فاکت ورهای ضروری برای رشد و تولید آفلاتوکسین به گونه ای نیست که امکان رشد و تولید آفلاتوکسین فراهم گردد (شکل ۱ ج و جدول ۲).

بررسی داده‌های رطوبت نسبی در انبارهای مورد بررسی تأییدکننده نتایج مربوط به رطوبت مغز پسته و فعالیت آبی است، که نشان می‌دهد تعادل رطوبت نسبی بین محیط و مغز پسته نمی‌تواند باعث افزایش میزان رطوبت در مغز و رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین گردد . در بیشتر انبارهای مورد بررسی تغییرات دامنه رطوبت نسبی انبارها از ۲۴ تا ۲۶ درصد متغیر بود که حداقل و حداکثر آن به ترتیب ۱۳ و ۳۶/۵ درصد بود (شکل ۱ د).






**شکل ۱- تغییرات میزان رطوبت نسبی (الف) و فعالیت آبی (ب) پسته، درجه حرارت (ج) و رطوبت نسبی (د) انبارهای مختلف شهرستان‌های کرمان، سیرجان، زرند و رفسنجان**

فاکتورهای اندازه گیری شده در شهرستان های مختلف تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند . در مجموع میانگین رطوبت نسبی مغز ۴/۱-۳/۹ درصد، فعالیت آبی ۰/۲۶-۰/۲۴، رطوبت نسبی محیط ۲۲/۶-۱۸/۳ درصد و دما ۲۶/۱- ۲۳/۳ درجه سانتی گراد بود . این موضوع بیان گر شرایط نسبتاً یکسان در ا نبارهای مورد بررسی در شهرستان‌های مختلف بود (جدول ۲).

آلودگی انبارهای مختلف به گونه های آسپرژیلوس در دامنه‌ی غیرقابل تشخیص تا یک درصد (در بیش‌ترین مقدار) متغیر بود (جدول ۱). به طور کلی مناطق مختلف مورد بررسی از نظر وجود گونه های مختلف قارچ آسپرژیلوس تفاوتی نشان ندادند و فراوانی آلودگی بسته به نوع پسته متغیر بود. میزان آلودگی، بیشتر تحت تأثیر منابع آن از جمله انواع پسته های لکه‌دار و آفت زده در یک توده پسته بود. نوع و میزان منابع آلودگی با چگونگی غربال گری در مرحله فرآوری و مرحله پس از فرآوری و کنترل آفات طی انبارداری تحت تأثیر قرار می گیرد. ثابت بودن میزان آلودگی در انبارهای مورد بررسی در زمان های مختلف نمونه‌برداری نیز حاکی از عدم ایجاد شرایط مناسب برای رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین بود.

## بحث

نحوه انبارداری پسته و شرایط محیط انبار از عوامل مهم تأثیرگذار بر آلودگی میوه پسته به قارچ آسپرژیلوس و تولید آفلاتوکسین است. برای این منظور تغییرات رطوبت مغز پسته، فعالیت آبی، رطوبت نسبی و دما در طی مدت انبارداری پسته در شرایط استان کرمان در طول سال مورد بررسی قرار گرفت.

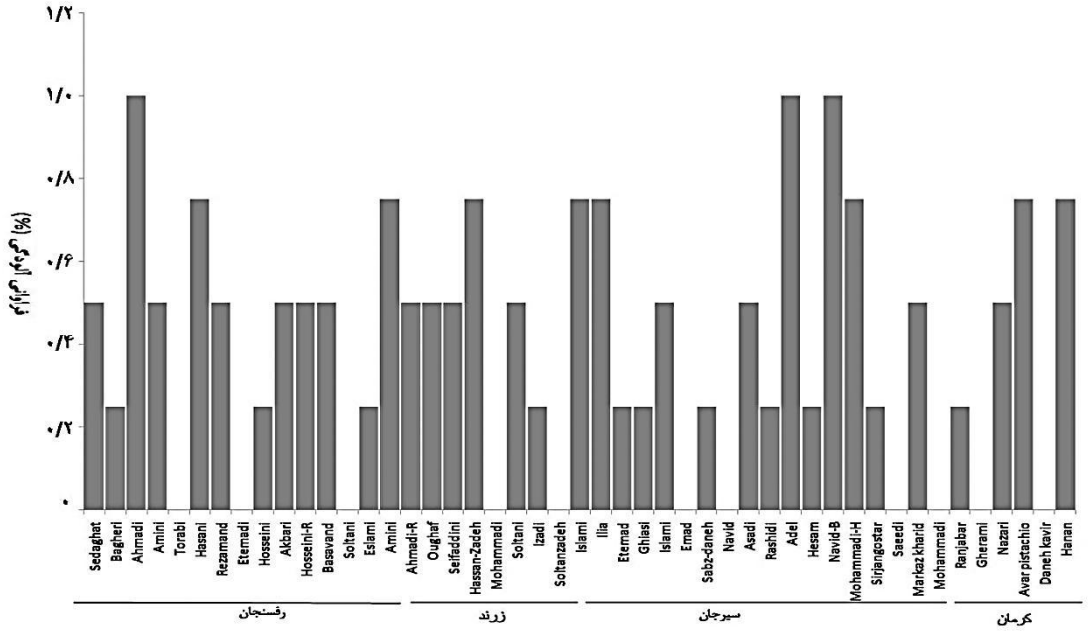
داده‌های به دست آمده از رطوبت مغز پس‌ته و فعالیت آبی در انبارهای مورد بررسی نشان داد که در انبارداری خواه کوتاه و یا طولانی مدت، تعادل رطوبتی باعث افزایش این دو عامل مهم تأثیرگذار در رشد و تولید آفلاتوکسین توسط قارچ *A. flavus*، در مغز پسته نمی گردد. دامنه تغییرات میزان رطوبت مغز پسته در طی انبارداری از ۳/۱ تا ۵/۳ و فعالیت آبی از ۰/۱۲ تا ۰/۴۶ در تمام انبارهای مورد بررسی متغیر بود . دامنه تغییرات دو عامل فوق کمتر از



**جدول ۲- تغییرات (حد اکثر، حداقل، دامنه و میانگین) درصد رطوبت مغز، فعالیت آبی، رطوبت نسبی و دمای اندازه‌گیری شده در انبارهای مختلف در شهرستان‌های کرمان، سیرجان، زرند و رفسنجان**

| پارامتر | | رفسنجان | زرند | سیرجان | کرمان |
|---|---|---|---|---|---|
| مغز دانه رطوبت(%) | بیشینه | ۴/۷ | ۴/۹ | ۵/۳ | ۴/۹ |
| | کمینه | ۳/۱ | ۳/۱ | ۳/۱ | ۳/۱ |
| | دامنه | ۱/۶ | ۱/۸ | ۲/۲ | ۱/۸ |
| | میانگین | ۳/۹ | ۴/۱ | ۴/۰ | ۴/۱ |
| فعالیت آبی | بیشینه | ۰/۴۳ | ۰/۴۲ | ۰/۴۶ | ۰/۴۰ |
| | کمینه | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۲ | ۰/۱۳ |
| | دامنه | ۰/۲۵ | ۰/۲۴ | ۰/۳۴ | ۰/۲۷ |
| | میانگین | ۰/۲۶ | ۰/۲۴ | ۰/۲۶ | ۰/۲۴ |
| رطوبت نسبی(%) | بیشینه | ۲۷/۱ | ۳۶/۵ | ۲۷/۴ | ۲۹/۲ |
| | کمینه | ۱۳/۲ | ۱۳/۷ | ۱۲/۰ | ۱۵/۹ |
| | دامنه | ۱۳/۹ | ۲۲/۸ | ۱۵/۴ | ۱۳/۳ |
| | میانگین | ۲۰/۱ | ۲۲/۶ | ۱۸/۳ | ۲۱/۹ |
| دما($^{\circ}C$) | بیشینه | ۳۳/۷ | ۳۳/۷ | ۳۴/۲ | ۳۵/۵ |
| | کمینه | ۱۳/۷ | ۱۳/۶ | ۱۳/۸ | ۱۴/۹ |
| | دامنه | ۲۰/۰ | ۲۰/۱ | ۲۰/۴ | ۲۰/۶ |
| | میانگین | ۲۳/۳ | ۲۳/۸ | ۲۶/۱ | ۲۵/۲ |

jfn.srbiau.ac.ir




**شکل ۲- فراوانی آلودگی پسته (٪) به گونه‌های مختلف قارچ آسپرژیلوس در انبارهای مختلف شهرستان‌های کرمان، سیرجان، زرند و کرمان**

حدود بحرانی مورد نیاز برای رشد و تولید آفلاتوکسین بود که از دلایل آن می توان به خشک شدن پسته در سطح قابل‌اطمینان طی مدت فرآوری میوه پسته در ترمینال ها و همچنین شرایط خشک آب و هوای استان کرمان را نام برد. میزان رطوبت مغز پسته در زمان برداشت از ۳۰ تا ۴۵ درصد متغیر است که در این سطح رطوبتی گونه های مختلف قارچ آسپرژیلوس قادر به رشد و تولید آفلاتوکسین و رقابت با سایر میکرواورگانیزم‌ها می باشند (Kader, 1982). اما بایستی توجه داشت که در فرآیند فرآوری میوه پسته میزان رطوبت مغز در مدت زمان کوتاهی تا سطح قابل‌اطمینان کاهش می یابد (Moradi & Hokmabadi, 2011). مجتهدی و همکاران (1980) میزان رطوبت مغز پسته در نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان های کرمان و اصفهان را بین ۳ تا ۶ درصد گزارش نمودند. توکلی‌پور و همکاران (۱۳۸۷) ضمن بررسی تأثیر دماهای ۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد در دامنه های رطوبتی نسبی ۱۱، ۳۳-۳۲، ۷۳-۶۲ و ۸۷-۸۲ درصد، گزارش نمودند که با افزایش دما در یک دامنه رطوبت نسبی معین، روند تغییرات میزان رطوبت پسته نزولی است که با افزایش دما این روند نزولی با سرعت بیشتری ادامه می‌یابد. بررسی داده‌ها همچنین نشان می دهد که در تمامی دماهای مورد بررسی و دامنه‌های رطوبتی تا ۷۳ درصد، رطوبت مغز پسته در مدت زمان ۳ ماه نگهداری کمتر از ۸ درصد است. با توجه به شرایط خشک استان کرمان نیز، امکان تبادل رطوبتی مغز پسته با محیط که منجر به افزایش رطوبت آن شود وجود ندارد. مشاهدات انجام‌شده در خصوص رطوبت نسبی در انبارها حاکی از پایین بودن آن است، که این امر سبب افزایش رطوبت مغز پسته در دامنه دمای ۱۳/۷ تا ۳۵/۵ درجه سانتی گراد اندازه‌گیری شده نمی گردد. این نکته از اهمیت خاصی برخوردار است به دلیل اینکه پسته های انبارشده دارای آلودگی خفته به قارچ *A. flavus* و یا سایر میکرواورگانیزم‌ها هستند و در صورت وجود شرایط مناسب، آلودگی به صورت توده ای رخ می داد و در این صورت باید انتظار برگشت محموله‌های پسته به طور منظم را داشت (Moradi & Hokmabadi, 2011). این موضوع نشان می‌دهد باوجود مهیا بودن شرایط برای آلودگی و تولید آفلاتوکسین در باغ، لیکن شرایط فرآوری و انبارداری برای تولید آفلاتوکسین مناسب زیست و پراکندگی آفلاتوکسین در یک توده پسته با منابع آن مرتبط بوده و در مراحل بعدی نگهداری یا حمل‌ونقل، چنانچه شرایط مناسب باشد با توجه به آلودگی خفته به قارچ های مولد آفلاتوکسین، آلودگی می‌تواند ایجاد گردد (Mojthahedi *et al.*, 1978 and 1980; Doster & Michailides 1999; Mehrnejad & Panahi, 2006; Moradi &

Javanshah, 2006; Moradi & Mirabolfathy, 2007; Moradi & Hokmabadi, 2011).

مطالعه رطوبت نسبی انبارها در رفسنجان و بررسی امکان آلودگی پسته ها به زهرابه آفلاتوکسین پس از برداشت نشان داد است که به علت پایین بودن رطوبت نسبی انبار در زمان نگهداری پسته، اسپور قارچ *A. flavus* که روی اغلب پسته‌های انبارشده وجود دارد، فرصت لازم برای رشد و ایجاد زهرابه را پیدا نمی‌کند (Danesh *et al.*, 1979). مقایسه داده‌های رطوبتی به دست آمده در این تحقیق با تحقیق انجام‌شده توسط (Mojtahedi *et al.*, 1980) نشان می‌دهد که میانگین رطوبت نسبی در شرایط کنونی پایین تر از سال ۱۳۵۹ است که به دلیل کاهش میزان بارش‌ها و شرایط خشک موجود استان کرمان است. مقایسه آلودگی پایین پسته های انبارشده به آفات و قارچ ها نشان می‌دهد، که آلودگی بیشتر مربوط به باغ است و دقت غربال‌گری در مرحله فرآوری و انبارداری می‌تواند میزان آن را تحت تأثیر قرار دهد (Doster & Michailides, 1999; Moradi & Javanshah, 2006; Moradi & Mirabolfathy, 2007; Moradi & Hokmabadi, 2011). به هر حال این موضوع باید مد نظر قرار گیرد که در صورت عدم کنترل به موقع آفات انباری این امر موجب ایجاد شرایط مناسب برای رشد میکرواورگانیزم‌ها مخصوصاً *A. flavus* می‌گردد. این امر در یک انبار قبل از اجرای این طرح مشاهده گردید که پسته های انبارشده آلودگی شدید به آفات انباری و قارچ *A. flavus* داشتند.

عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین فاکتورهای مورد بررسی می‌تواند به دلیل وجود شرایط خشک آب و هوایی و دما نسبتاً بالا در استان کرمان باشد، که به همین خاطر نیز تبادل رطوبتی بین محیط و مغز پسته در حدی نیست که بتواند باعث افزایش رطوبت مغز و فعالیت آبی و پیرو آن رشد میکرواورگانیزم‌ها گردد . لازم به ذکر است که در بعضی از موارد وجود و عدم کنترل آفات انباری می تواند شرایط لازم ب رای رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین را در انبار فراهم نماید، که این موضوع به صورت میکروکلیما عمل نموده و متفاوت از کل انبار است.

مطالعه رطوبت نسبی انبارها در رفسنجان و بررسی امکان آلودگی پسته‌ها به زهرابه آفلاتوکسین پس از برداشت نشان داده است که به علت پایین بودن رطوبت نسبی انبار (در اکثر موارد کمتر از۷۰ درصد) در طول مدت انبارداری پسته، اسپور قارچ *A. flavus* که روی اغلب پسته‌های انبارشده وجود دارد، فرصت لازم برای رشد و ایجاد زهرابه را پیدا نمی‌کند (Danesh *et al.*, 1979; Mojtahedi *et al.*, 1980) . آن‌ها همچنین گزارش نمودند که حداقل رطوبت نسبی لازم برای رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین فقط به مدت کوتاهی (۲۵ ساعت) فراهم است، لذا با توجه به پایین بودن دمای انبار در آن ماه از سال امکان تولید آفلاتوکسین وجود ندارد. این موضوع حاکی از آن است که اگرچه شرایط برای آلودگی و تولید آفلاتوکسین در باغ مهیا است ولی شرایط فرآوری و انبارداری برای تولید آفلاتوکسین مناسب نیست (Mojtahedi *et al.*, 1978 and 1980; Doster, 1999; Mehrnejad & Panahi, 2006; Moradi *et al.*, 2004; Moradi & Mirabolfathy, 2007) با این حال چنانچه در مراحل بعدی انبارداری یا حمل و نقل، شرایط رطوبتی و دما مناسب باشد با توجه به آلودگی خفته به قارچ‌های مولد آفلاتوکسین، این امر موجب توسعه فراگیری قارچی و افزایش غلظت آفلاتوکسین می‌گردد، این موضوع تحت تأثیر میوه‌های پسته آلوده‌شده در باغ، آفات انباری و زمان نگهداری است (Ellis *et al.*, 1994; Sinha, 1995; Saleemullah *et al.*, 2006; Bensassi *et al.*, 2010; Set & Erkmen, 2010; Georgiadou *et al.*, 2012).

Georgiadou و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که نگهداری پسته در دما ۵ تا ۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ تا ۶۰ درصد باعث ایجاد شرایط مناسب آلودگی به آفلاتوکسین نمی‌گردد. خشک کردن پسته در طول فرآوری باعث کاهش رطوبت مغز از ۵۰ به کمتر از۵ درصد می‌گردد، که شرایط مناسب برای انبارداری پسته است (Set & Erkmen, 2010). این موضوع در مدل‌های پیشنهادی رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین در میوه پسته نیز به صورت آزمایشی به دست آمده است (Marín *et al.*, 2012). در خصوص نحوه خشک کردن، Denizel و همکاران (۱۹۷۶) گزارش کردند نگهداری اولیه، پوست‌گیری، خشک کردن تحت شرایط آفتابی و نگهداری توده‌ای محصول باعث ایجاد فرصت‌های زیادی برای آلودگی قارچی می‌گردد. اگرچه تحت شرایط خشک کردن آفتابی رطوبت تا حدود ۱۰ درصد کاهش می‌یابد. ولی با توجه به زمان ۳ تا ۴ روزه‌ای که نیاز است، در مراحل بعدی



jfn.srbiau.ac.ir

(نگهداری توده‌ای در انبار) باعث ایجاد شرایط مناسب برای آلودگی قارچی می‌گردند و اگر خشک کردن به طور کامل صورت نگیرد فرصت کافی برای مهاجرت رطوبت و رشد قارچ وجود دارد. همچنین وی اعتقاد دارد که در این مرحله و مراحل بعدی و در طول حمل‌ونقل، زمان بیشتری برای تولید آفلاتوکسین به وجود خواهد آمد. به هر حال خشک کردن آفتابی تحت شرایط آفتابی استان کرمان مشکلی از نظر ایجاد شرایط مناسب برای رشد بعدی قارچها و تولید آفلاتوکسین به وجود نمی‌آورد. در رفسنجان در اکثر پایانه‌ها علاوه بر خشک کردن میدانی از نم‌گیر یا خشک کن نیز استفاده می‌گردد و به نظر می‌رسد دما در ماه‌های مرداد و شهریور نیز در روی میدان برای رشد بعدی قارچهای گروه *A. flavus* مناسب نباشد (Moradi & Mirabolfathy, 2007). اندازه‌گیری دما و رطوبت نسبی انبارها نشان داده است که مقدار رطوبت نسبی انبار در ۸ ماه از سال در حدی نیست که امکان رشد قارچها وجود داشته باشد. در فصل زمستان که رطوبت نسبی هوا بالا می رود، دمای پایین انبار گسترش قارچها را محدود می‌کند بنابراین رعایت اصول انبارداری مثل تهویه کافی و بهداشت انبار می‌تواند در حفظ کیفیت محصول تأثیر زیادی داشته باشد (Emami, 1977).

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می دهد با توجه به وضعیت رطوبت نسبی و دمای انبارهای مورد بررسی و فعالیت آبی و رطوبت مغز پسته، رشد قارچ های توکسین زا و تولید آفلاتوکسین بعد از برداشت در این نوع انبارها فراهم نبوده و انبارداری این محصول در استان کرمان در این شرایط مطلوب است.

## منابع


توکلی پور، ح.، بصیری، ع . و کلباسی اشتری ، م . (۱۳۸۷). اثرات دما و رطوبت نسبی محیط انبار بر روی شاخص‌های کیفی پسته در طول دوره انبار مانی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ۵(۴): ۶۶-۵۷.

Amaike, S. & Keller N. P. (2011). *Aspergillus flavus*. Annual Review Phytopathology, 49: 107-133.

Bensass, F., Rhouma, A., Ghrab, M., Bacha, H. & Rabeh Hajlaoui M. (2010). Evaluation of cultivar susceptibility and storage periods towards aflatoxin B1 contamination on pistachio nuts. Mycotoxin Research, 26:199–203.

Boutrif, E. (1998). Prevention of Aflatoxin in Pistachios. Available at http://www.fao.org-/docrep/W9474T/w9474t06.htm (visited 25 January 2013).

Bui-Klimke, T. R., Guclu, H., Kensler, T. W., Yuan, J. M., & Wu, F. (2014). Aflatoxin Regulations and Global Pistachio Trade: Insights from Social Network Analysis. PloS one, 9(3), e92149.

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: 5-4-2011.

Cotty, P. J. & Jaime-Garcia, R. (2007). Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. International Journal of Food Microbiology, 119:109-115.

Danesh, D., Mojtahedi, H., Barnett, R. & Cambell, A. (1979). Correlation between climatic data and aflatoxin contamination of Iranian pistachio nuts. Phytophthology, 69:715-716.

Denizel, T., Jarvis, B. & Rolfe, E. J. (1976). A field survey of pistachio (*Pistacia vera*) nut production and storage in Turkey with particular reference to aflatoxin contamination. Journal of science Food Agriculture, 27:1021-1026.

Doster, M. A. & Michailides, T.J. (1995). The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by *Aspergillus* species. Plant Diseases, 79:766-769.

Doster, M. A. & Michailides, T. J. (1999). Relationship between shell discoloration of pistachio nuts and incidence of fungal decay and insect infestation. Plant Disease, 83:259-264.

Ellis, W. O., Smith, J. P., Simpson, B. K., Ramaswamy, H. & Doyon, G. (1994). Growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts stored under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. International Journal of Food Microbiology, 22: 173-187.




jtnsrijau.ac.ir

Emami, A., Suzangar, M. & Barnett, R. (1977). Contamination of pistachio nuts with aflatoxins while on the trees and in storage. Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych,189:135-140.

Georgiadou, M., Dimou, A. & Yanniotis, S. (2012). Aflatoxin contamination in pistachio nuts: A farm to storage study. Food Control, 26 (2):580-586.

Giorni, P., Battilani, P., Pietri, V. & Magan, N. (2008). Effect of aw and CO2 level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. International Journal of Food Microbiology 122:109–113.

Kader, A. A., Heintz, C. M., Labavitch, J. M. & Rae, H. L. (1982). Studies related to the description and evaluation of pistachio nut quality. American Society Horticulture Science, 5(109):812-816.

Klich, M. A. (2002). Identification of common *Aspergillus* species. Central voor Schimmelcultures, Utrech,The Netherlands. Pp.116.

Iran Pistachio Association. (2013). Statistical Archive, Available at http://www.iranpistachio.org (visited 18 September 2013).

Magan, N. & Lacey, V. (1984). Effects of gas composition and water activity on growth of field and storage fungi and their interactions. Transactions British Mycological Society, 82:305-314.

Marín, S., Ramos, A. J. & Sanchis, V. (2012). Modelling *Aspergillus flavus* growth and aflatoxins production in pistachio nuts. Food Microbiology, 32:378-388.

Mojtahedi, H., Danesh, D., Haghighi, V. & Barnett, V. (1978). Postharvest pathology and mycotoxin contamination of Iranian pistachio nuts. Phytopathology, 68:1800-1804.

Mojtahedi, H., Danesh, D., Haghighi, B. & Fathy, S. (1980). Storage relative humidity in Rafsanjan and impossibility of pistachio aflatoxicosis after nut processing. *Iranian Journal Plant Pathology*, 16:80-85.

Moradi, M. & Javanshah, A. (2006). Distribution of aflatoxin in processed pistachio nut terminals. Acta Horticulture, (ISHS), 726:431-436

Moradi, M. & Mirabolfathy, M. (2007). Changing of *Aspergillus* species populations in pistachio processing terminals. Iranian Journal of Pajouhesh and Sazandeghi, 77:105-110.

Moradi, M. & Hokmabadi, H. (2011). Control of Mycotoxin Bioactives in Nuts: Farm to Fork. In Tokusoglu, Ö (ed), Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry, and Applications (pp. 253-273) CRC Press.

Moradi, M., Ershad, D., Mirabolfathy, M & Panahi, B. (2004). The role of plant debris, soil and manure on population density of *Aspergillus flavus* and *Aspegillus niger* groups in pistachio orchards of Kerman Province. Iranian Journal Plant Pathology, (40): 221-234.

Moss, M. (2004). Toxigenic fungi. In C. W. Blackburn, & P. J. McClure (Eds.), Food-borne pathogens, hazards, risk analysis and control (pp. 479e488). Boca Raton: Woodhead Publishing CRC Press.

Saleemullah A. I., Iqtidar, A. K. & Hamidullah, S. (2006). Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. Food Chemistry, 98:699–703

Set, E. & Erkmen, O. (2010). The aflatoxin contamination of ground red pepper and pistachio nuts sold in Turkey. Food Chemistry Toxicology, 48: 2532-2537.

Sinha, R. N. (1995). The stored-grain ecosystem. In: Jayas DS, White NDG, Muir WE (eds) Stored-grain ecosystems. Marcel Dekker, New York, pp 1–32.

Smith, J. E. (1997). "Aflatoxins. In Handbook plant and fungal toxicant." Edited by J.P. Flexinx, D'Mello, CR (Press, Boca Raton), New York, pp., 269-285.

Shakerardekani, A., Karim, R. & Mirdamadiha, F. (2012). The effect of sorting on aflatoxin reduction of pistachio nuts. Journal of Food Agriculture and Environment, 10 (1): 459-461 .

jftn.srbiau.ac.ir