

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 گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۴/۲۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۲۷

۸۲

چکیده

مقدمه: نامناسب بودن شرایط انبار ممکن است منجر به ایجاد یا افزایش آلودگی به کپک‌ها و زهرابه‌های ناشی از آن‌ها از جمله آفلاتوکسین گردد. عوامل مختلف محیطی روی رشد قارچی و تولید مایکوتوکسین‌ها به عنوان متابولیت‌های 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 زرنند در فواصل سه ماهه به مدت یک سال بررسی گردید.

یافته‌ها: دامنه فعالیت آبی (aw) 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 اندازه‌ای 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 گونه‌های 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

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). آفات توکسین‌ها یکی از مهم‌ترین زهرابه‌های قارچی هستند که توسط برخی گونه‌های قارچ اسپرژیلوس تولید می‌گردد. پسته یکی از اقلام عمده صادرات غیر نفتی ایران است که در بازارهای جهانی شناخته شده و معروف است. 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 قارچی متعلق به بخش فلاوی و آفات توکسین‌های 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 آفات توکسین‌ها 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 آفات توکسین منجر شود (Moradi & Hokmabadi, 2011). وجود آفات توکسین 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 آفات توکسین 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 ۴۰:۶۰ دی اکسید کربن: نیتروژن) موجب تولید بیش‌ترین مقدار آفات توکسین 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

بررسی عوامل مؤثر بر رشد قارچی و تولید آفات توکسین در انبارهای پسته

رشد کرده و تولید آفات توکسین نماید. تحمل و یا مقاومت گونه‌های مختلف توکسین‌زای قارچ اسپرژیلوس به سطوح پایین اکسیژن (۰/۱۴٪) و مقادیرهای 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 فله‌ای در کیسه‌های گونی ۷۰ کیلویی صادر می‌گردد (Iran Pistachio Association, 2013) که در خارج از کشور پس از بسته‌بندی مناسب با چند برابر قیمت در فروشگاه‌های 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 می‌شوند. معمولاً در این زمان از کیسه‌های کفی یا پلاستیکی جهت انبار کردن یا نگهداری پسته استفاده می‌شود. 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 بسته‌بندی در بسته‌های غیرقابل نفوذ به رطوبت، محموله‌های پسته در انبارهای معمولی نگهداری شده، رطوبت آن تحت تأثیر رطوبت هوای انبار قرار گرفته 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 می‌یابد، این امر ممکن است منجر به تولید آفات توکسین نیز گردد. پسته در طول نگهداری در انبار، در صورت فراهم شدن شرایط مناسب همچون دما، رطوبت نسبی، آلودگی به آفات، و خسارت پرنده‌گان و جوندگان، بستر مناسبی برای رشد انواع میکروارگانیسم‌ها مخصوصاً گونه‌های توکسین‌زای قارچ اسپرژیلوس (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

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 دیجیتالی (MINI-GAC plus, DICKY-John, ILLINOIS, USA) تنظیم شده برای پسته تعیین گردید.

- تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی تغییرات داده‌های به دست آمده در طول زمان‌های نمونه‌برداری از آمار توصیفی شامل تغییرات بیشینه، کمینه، میانگین و دامنه استفاده گردید. آنالیز آماری داده‌ها شامل رگرسیون بین عوامل اندازه‌گیری 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 قارچ‌ها 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 مدل‌های 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 شکل‌های 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

(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 اسپرژیلوس و تولید آفلاتوکسین به دست آید.

مواد و روش‌ها

- انتخاب انبار

جهت بررسی انبارهای موجود در استان کرمان، تعداد 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 نمونه‌برداری 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 استوانه‌ای شکل جهت نمونه‌برداری از داخل گونی پسته) مقدار ۲ کیلوگرم پسته از محل‌های مختلف هر گونی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها باهم مخلوط و در نهایت ۶۰۰ 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، چونده و نحوه تهویه)، نوع ساختمان مورد استفاده (قدیمی یا جدید) و ارتفاع از سطح زمین یادداشت‌برداری 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 شب‌پره خرنوب، شب‌پره هندی و گونه‌های مختلف اسپرژیلوس تعیین گردید. در صورت وجود آلودگی قارچی، ساختار تولیدکنیدی با استفاده از بینوکولر با بزرگ‌نمایی بالاتر (۶۰X) مورد بررسی قرار گرفت (Doster & Michailides, 1999) و در صورت نیاز و جهت اطمینان تشخیص جنس اسپرژیلوس از محیط‌های کشت چاپک آگار و عصاره مالت

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

متغیر بود، که بر روی پالت قرار داشتند. ارتفاع گونی‌های 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 این موضوع از زمان انبارداری پسته در مهرماه هر سال مطالعه محاسبه گردید.

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای تأثیرگذار در انبارداری پسته در شهرستان‌های رفسنجان، کرمان، زرنند و سیرجان در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری و همچنین فراوانی آلودگی به گونه‌های مختلف قارچ اسپرژیلوس در جداول ۱ و ۲ و شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بررسی ضریب همبستگی بین فاکتورهای اندازه‌گیری شده مؤثر در رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین در انبارهای مورد بررسی حاکی از عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین آن‌ها بود. تنها بین دو فاکتور محیطی دما و رطوبت نسبی در سطح $0/0001$ درصد همبستگی وجود داشت (جدول ۱). بررسی بیشتر داده‌ها نشان داد که ارتباط بین این دو عامل محیطی، در دو زمان اول و دوم نمونه‌برداری از نظر آماری معنی‌دار و به ترتیب برابر با $0/4$ و $0/73$ است (داده‌ها ارائه نگردیده است). ضرایب همبستگی بین فراوانی آلودگی به قارچ اسپرژیلوس با فاکتورهای دیگر اندازه‌گیری شده از $0/003$ تا $0/26$ متغیر بود، که در هیچ‌کدام از موارد این ضرایب از نظر آماری معنی‌دار 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 اندازه‌گیری شده باشد. از طرف دیگر مقادیر اندازه‌گیری شده رطوبت مغز و فعالیت آبی، کمتر از محدوده بحرانی برای رشد *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین و مدل‌های پیشنهادی در این زمینه بود.

نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از عدم تفاوت بین انبارها در صفات اندازه‌گیری شده بود (تغییرات p بین $0/241$ تا $1/0$ برای صفات اندازه‌گیری شده). این موضوع بیان‌گر عدم تغییر معنی‌دار سطوح فعالیت آبی و میزان رطوبت مغز پسته و از جمله فاکتورهای کلیدی برای رشد *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین در شهرستان‌های مختلف طی زمان‌های نمونه‌برداری است. از طرف دیگر سطوح فاکتورهای محیطی شامل دما و رطوبت نسبی در طول مدت سال باعث تغییر معنی‌دار میزان آلودگی به قارچ و رطوبت مغز پسته نمی‌گردند. خسارت ناشی از پرندگان و جوندگان بجز در چند انبار در شهرستان‌های زرنند و سیرجان به ندرت مشاهده گردید. در انبارهای سلطانی (رفسنجان)، امینی، عادل پسته سیرجان، اسدی، معین و ترابی آلودگی به شب‌پره خرنوب و در انبارهای امینی، حسام و ترابی آلودگی به شب‌پره 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 نمونه‌برداری در انبارهای مختلف در شهرستان‌های مختلف از $3/4$ تا $5/3$ درصد متغیر بود. همچنین دامنه تغییرات بین حداکثر و حداقل میزان آن نیز در بیش‌ترین میزان اندازه‌گیری شده $2/1$ 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 قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین بود.

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

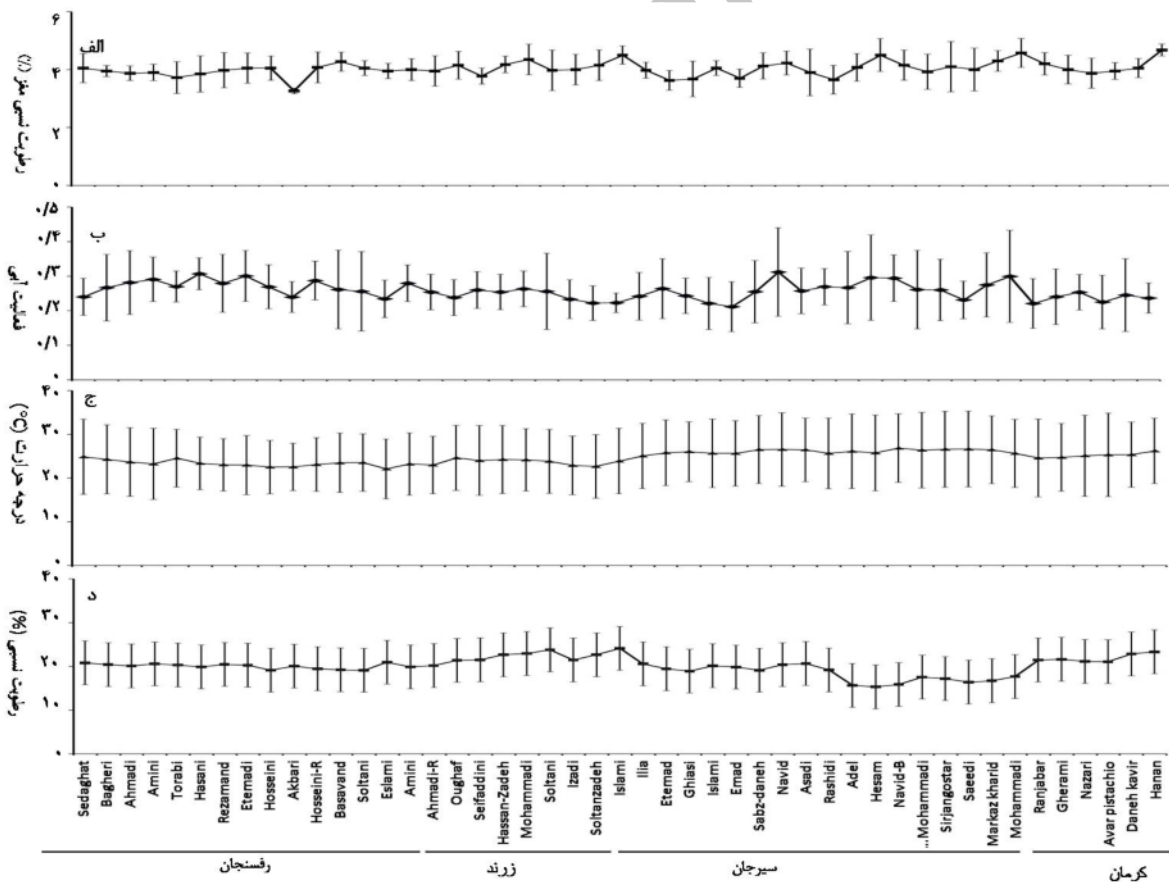
عامل	عامل			
	رطوبت مغز دانه (%)	فعالیت آبی	رطوبت نسبی (%)	دما (°C)
رطوبت مغز دانه (%)	۱	۰/۱۵	۰/۱۴	۰/۰۵
فعالیت آبی	۰/۱۵	۱	۰/۰۸	۰/۰۸
رطوبت نسبی (%)	۰/۱۴	۰/۰۸	۱	***۰/۶۸۴
دما (°C)	۰/۰۵	۰/۰۸	***۰/۶۸۴	۱
آلودگی به اسپرژیلوس	۰/۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۷	۰/۰۶

***: به ترتیب ضریب همبستگی بین دو عامل در سطح $0/0001$ معنی‌دار است.

تغییرات دما در طی انبارداری در شهرستان‌های 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 هم‌پوشانی دارد، ولی این نکته حائز اهمیت است که بقیه فاکتورهای ضروری برای رشد و تولید آفلاتوکسین به گونه‌ای 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).

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 زمان‌های مختلف در تمامی انبارهای مورد بررسی به استثنای یک انبار کمتر از ۰/۳ (که خیلی پایین‌تر از حد بحرانی 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.



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

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.

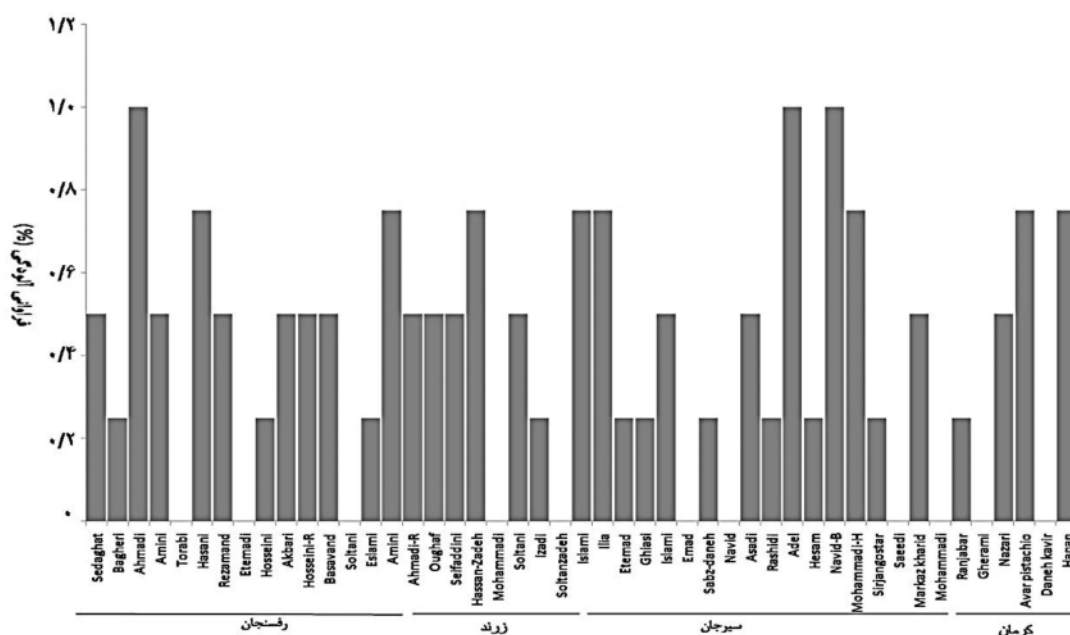
داده‌های به دست آمده از رطوبت مغز پسته و فعالیت آبی در انبارهای مورد بررسی نشان داد که در انبارداری خواه کوتاه و یا طولانی مدت، تعادل رطوبتی باعث افزایش این دو عامل مهم تأثیرگذار در رشد و تولید آفلاتوکسین توسط قارچ *A. flavus*، در مغز پسته نمی‌گردد. دامنه تغییرات میزان رطوبت مغز پسته در طی انبارداری 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

فاکتورهای اندازه‌گیری شده در شهرستان‌های مختلف تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند. در مجموع میانگین رطوبت نسبی مغز ۳/۹-۴/۱ درصد، فعالیت آبی ۰/۲۶-۰/۲۴، رطوبت نسبی محیط ۲۲/۶-۱۸/۳ درصد و دما ۲۶/۱-۲۳/۳ درجه سانتی‌گراد بود. این موضوع بیان‌گر شرایط نسبتاً یکسان در انبارهای مورد بررسی در شهرستان‌های مختلف بود (جدول ۲).

آلودگی انبارهای مختلف به گونه‌های 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 گونه‌های 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 پسته‌های لکه‌دار و آفت‌زده در یک توده پسته بود. نوع و میزان منابع آلودگی با چگونگی غربال‌گری در مرحله فرآوری و مرحله پس از فرآوری و کنترل آفات طی انبارداری تحت تأثیر قرار می‌گیرد. ثابت بودن میزان آلودگی در انبارهای مورد بررسی در زمان‌های مختلف

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، زرنند و رفسنجان

پارامتر		رفسنجان	زرنند	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 (°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



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

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 انجام شده 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 سانتی‌گراد اندازه‌گیری شده نمی‌گردد. این نکته از اهمیت خاصی برخوردار است به دلیل اینکه پسته‌های انبار شده دارای آلودگی خفته به قارچ *A. flavus* و یا سایر میکروارگانیسم‌ها هستند و در صورت وجود شرایط مناسب، آلودگی به صورت توده‌ای رخ می‌داد و در این صورت باید انتظار برگشت محموله‌های پسته به طور منظم را داشت (Moradi & Hokmabadi, 2011). این موضوع نشان می‌دهد با وجود مهیا بودن شرایط برای آلودگی و تولید آفلاتوکسین در باغ، لیکن شرایط فرآوری و انبارداری برای تولید آفلاتوکسین مناسب نیست 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 قارچ‌های مولد آفلاتوکسین، آلودگی می‌تواند ایجاد گردد. (Mojthahedi et al., 1978 and 1980; Doster & Michailides 1999; Mehrnejad & Panahi, 2006; Moradi &

حدود بحرانی مورد نیاز برای رشد و تولید آفلاتوکسین بود که از دلایل آن می‌توان به خشک شدن پسته در سطح قابل‌اطمینان طی مدت فرآوری میوه پسته در ترمینال‌ها 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 گونه‌های مختلف قارچ آسپرژیلوس قادر به رشد و تولید آفلاتوکسین و رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (Kader, 1982). اما بایستی توجه داشت که در فرآیند فرآوری میوه پسته میزان رطوبت مغز در مدت زمانی کوتاهی تا سطح قابل‌اطمینان کاهش می‌یابد (Moradi & Hokmabadi, 2011). مجتهدی و همکاران (1980) میزان رطوبت مغز پسته در نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان‌های 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 دامنه‌های رطوبتی نسبی ۱۱، ۳۳-۳۲، ۶۲-۷۳ و ۸۲-۸۷ 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 می‌دهد که در تمامی دماهای مورد بررسی و دامنه‌های رطوبتی تا ۷۳ درصد، رطوبت مغز پسته در 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; Mojtabehi *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 (Mojtabehi *et al.*, 1978 and 1980; Doster, 1999; Mehrnejad & Panahi, 2006; Moradi *et al.*, 2004; Moradi & Mirabolfathy, 2007). 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 از ۵ 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

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

مطالعه رطوبت نسبی انبارها در رفسنجان و بررسی امکان آلودگی پسته‌ها 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 (Mojtabehi *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 پسته‌های انبارشده به آفات و قارچ‌ها 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 پسته‌های 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 می‌تواند شرایط لازم برای رشد قارچ *A. flavus* و تولید آفلاتوکسین را در انبار فراهم نماید، که این موضوع به صورت میکروکلیمای 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 از ۷۰ درصد) در طول مدت

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.

(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 می‌رود، 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 می‌دهد با توجه به وضعیت رطوبت نسبی و دمای انبارهای مورد بررسی و فعالیت آبی و رطوبت مغز پسته، رشد قارچ‌های توکسین‌زا 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.

- 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, Utrecht, 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.
- Marin, 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., Haghghi, V. & Barnett, V. (1978). Postharvest pathology and mycotoxin contamination of Iranian pistachio nuts. *Phytopathology*, 68:1800-1804.
- Mojtahedi, H., Danesh, D., Haghghi, 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 *Aspergillus niger* groups in pistachio orchards of Kerman Province. *Iranian Journal Plant Pathology*, (40): 221-234.
- Moss, M. (2004). Toxicogenic fungi. In C. W. Blackburn, & P. J. McClure (Eds.), *Food-borne pathogens, hazards, risk analysis and control* (pp. 479-488). 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 .