نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۹، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲، ص. ۲۲۱-۲۱۵

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 9, No. 3, Fall 2013, p. 215-221

اثر ازن محلول در آب بر کاهش آفلاتوکسین پسته واریته اوحدی

پرویز بشیری[۱] - محمدحسین حداد خداپرست[۲*] - ناصر صداقت[۳] - فریده طباطبایی یزدی[۴] - مهدی نصیری محلاتی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۸/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۳۰

چکیده:

در این تحقیق تأثیر غوطه ور کردن سه نوع پسته آلوده (خشک با پوست سخت، خشک با پوست نرم، تازه با پوست نرم، رقم اوحدی) با ازن صفر پی پی ام (شاهد) ازن ۴ و ۸ پی پی ام (قسمت در میلیون و یا میلی گرم در لیتر) با زمان تماس صفر(شاهد) و ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ ساعت، جهت کاهش آفلاتوکسین ب۱، ب۲، ج۱ و ج۲ و مجموع آفلاتوکسین ها، مورد بررسی قرار گرفت. دمای آب ۱۰ درجه سانتیگراد و پ هاش آن ۰/۳± ۵/۵ بود. برای تمام نمونه ها، تأثیر متقال بین غلظت ازن و زمان تماس با ازن و یا تأثیر متقابل با نوع پسته، مورد بررسی قرار گرفت. آفلاتوکسین ب۱، از نظر مقدار بیشتر بود و همچنین راحت تر تخریب و کاهش یافت. نتایج نشان می دهد که نمونه های شاهد(غلظت ازن صفر و یا زمان تماس صفر) از لحاظ کاهش آفلاتوکسین ها و آفلاتوکسین مجموع، در سطح ۵ درصد، تفاوت معنی داری ندارند ولی با نمونه های تیمار شده با ازن، تفاوت معنی داری دارند. برای نمونه های شاهد میانگین درصد کاهش آفلاتوکسین های ب۱، ب۲، ج۱، ج۲ و مجموع آفلاتوکسین ها به ترتیب ۵/۶، ۹/۷، ۱۴/۶، ۱۵ و ۶/۴ درصد بود در حالی که این کاهش برای نمونه های تیمار شده با ۴ پی پی ام ازن به ترتیب ۳۲/۷، ۸/۵۵، ۳۰/۶، ۳۴ و ۳۵ درصد بود همچنین این کاهش برای غلظت ازن ۸ پی پی ام به ترتیب ۴۷/۹، ۱۲/۵، ۴۵/۸، ۴۳/۹ و ۴۴/۴ درصد بود. نتایج نشان می دهد که تأثیر ازن محلول در آب، روی کاهش میزان آفلاتوکسین ها، به طور معنی داری وابسته به غلظت ازن مصرفی و زمان تماس ازن می باشد. همچنین نتایج مشخص می کند که حساسیت تخریب آفلاتوکسین ها نسبت به ازن به ترتیب ب۱ و ج۱ بزرگتر از ب۲ و ج۲ می باشد.

واژه‌های کلیدی: پسته نرم، پسته سخت، واریته اوحدی، سم زدایی، مغزهای آجیلی

مقدمه

پسته یکی از آجیل های خوشمزه است. پسته در بین مغزهای درختی از لحاظ ارزش غذایی و مزه مورد پسند، از برجستگی های خاصی برخوردار است. کلمه پسته از زبان فارسی به زبان انگلیسی[۶] و ایتالیایی وارد شده است (Ciancio 2009). (در واقع ریشه کلمه مورد استفاده برای پسته، در زبان های دیگر از ریشه کلمه ایرانی آن می باشد). پیستاسا[۷] همان پیستاورئه آ[۸]، جزء مغزهای درختی مناطق نیمه گرمسیری است، گیاه دولپه، دوپایه و خزان پذیر می باشد (Koshteh and Urutyan 2005; Miraliakbari 2005) که گرده افشانی آن به وسیله باد صورت می گیرد و جزء خانواده مهم آناکاردیاسه[۹] می‌باشد که بطور طبیعی در ایران و همچنین آسیای میانه می روید (Can *et al*. 2006; Onay *et al*. 2004).مطابق با آخرین آمار منتشره بوسیله سازمان کشاورزی خواروبار جهانی(فائو[۱۰]) تولید جهانی پسته در سال ۲۰۰۸ میلادی بالغ بر پانصد و پنجاه هزار تن بوده است و ایران با تولید بیش از ۱۹۲ هزار تن، مقام اول تولید و صادرات را داشته است و پس از ایران، امریکا و ترکیه، سوریه چین (Cheraghali and Yazdanpanah 2010) و به ترتیب با تولید ۱۲۶، ۱۲۰، ۵۲ و ۴۰ هزار تن مهمترین کشورهای تولید کننده پسته بوده اند. کل بهای تجارت جهانی پسته بالغ بر ۱/۸ میلیارد دلار بوده است (FAOSTAT 2008) . شیبانی در سال ۱۹۹۵ گزارش کرده است که رقم پسته اوحدی، بیش از ۶۰ تا ۷۰درصد پسته باغ های رفسنجان را تشکیل می داده است (Padulosi *et al*. 1996)

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته دکتری، استاد و دانشیاران گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: Khodaparast@um.ac.ir)
۵- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

6- Pistachio
7- Pistacia
8- *Pistacia vera* L.
9- Anacardiaceae
10- FAO

پیستاسیا شامل یازده گونه است که فقط یک گونه آن(پیستاورئه آ) از لحاظ تجارتی و خوراکی مهم است و به علاوه در ایران، پسته دارای دو گونه وحشی دیگر بنام های پیستا آسیا آتلانتیکا زیر شاخه موتیکا[1] و پیستاسیا خنجوک[2] می باشد (Afzadi *et al.* 2007; Kole 2007).

آسپرژیلوس فلاوس[3] و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*[4]. قارچ ها معمولاً عامل اصلی زیان به محصولات کشاورزی هستند (Abbas 2005; Golan and Paster 2008; Valpuesta 2002) . برخی از محققین دریافته اند که بین شکاف برداشتن پوسته نرم (یا اصطلاحاً زودخندانی[5]) و همچنین تغییر رنگ پوسته سخت پسته، و شدت آلودگی همبستگی وجود دارد. این مشکل برای تولیدکنندگان پسته بسیار حائز اهمیت است (Doster and Michailides 1995; Doster and Michailides 1999; Pitt and Hocking 2009).

پسته در فصل رشد و نمو، بخوبی به وسیله پوسته های بیرونی حفاظت می شود. اما آسیب به این پوسته ها به وسیله انگل ها و یا عارضه زودخندانی در پسته، سبب آلودگی به قارچ آسپرژیلوس در باغ می شود (Pitt *et al.* 2009; Rai and Varma 2010). مایکوتوکسین ها، متابولیت های ثانویه سمی فعالیت قارچی هستند که شامل انواع مولکول های شیمیایی با وزن مولکولی پایین (کمتر از سه هزار دالتون) می باشند (Williams *et al.* 1989) که ساختمان و فعالیت بیولوژیکی متفاوتی دارند (Arora 2004; Khachatourians and Arora 2002). برآورد شده است که سالیانه حداقل ۲۵ درصد محصولات کشاورزی به وسیله سموم قارچی، آلوده می شوند (Karaca and Velioglu 2007; Karaca *et al.* 2010). دما و رطوبت نسبی محیط برای تولید سموم قارچی، با شرایط رشد قارچ، متفاوت است. بطور کلی دمای بهینه برای تولید سموم قارچی بین ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی گراد است اما بعضی از سموم مانند تی۲[6]، بیشترین مقدار تولید را در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد دارند (Arora 2004).

آفلاتوکسین ب۱ در بین گروه از بقیه سمی تر است و یکی از مواد طبیعی با توانایی ایجاد سرطان می باشد. سایر آفلاتوکسین ها به ترتیب ج۱ و ج۲ و ب۲ می باشند. گزارش شده است که برآورد زیان اقتصادی سموم قارچی به تنهایی در امریکا سالیانه بالغ بر ۹۳۲ تا ۱۶۶۰ میلیون دلار می باشد (Khachatourians *et al.* 2002). قارچ های مولد سم و آلوده کننده مواد غذایی، شامل سه گروه عمده، *آسپرژیلوس*[7]، *فوزاریوم*[8] و *پنی سیلیوم*[9] می باشند (Gourama 1991; Karaca *et al.* 2007). حداقل ۱۸ ساختمان شیمیایی برای آفلاتوکسین شناسایی شده است (Bhat *et al.* 2010). این سموم به طور عمده به وسیله *آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس* بر روی محصولات کشاورزی تولید می شوند و گاهی نیز به ندرت به وسیله *آسپرژیلوس تاماری*[10] و یا *نومیوس*[11] تولید می شوند. تعداد متعدی آفلاتوکسین وجود دارند اما فقط ۴ تای آنها به طور عمده مهم هستند که عبارتند از ب۱، ب۲، ج۱ و ج۲. عموماً عنوان شده است که آسپرژیلوس فلاوس فقط آفلاتوکسین نوع ب را تولید می کند و پارازیتیکوس هر دو نوع ب و ج را تولید می کند. آفلاتوکسین ب۱ در اثر نور ماوراءبنفش، تلألوء آبی و آفلاتوکسین ج، نور سبز ساطع می‌کنند. آفلاتوکسین ام یک و ام دو فقط در محصولات لبنی وجود دارند. آسپرژیلوس، میکروارگانیزم نسبتاً گرما دوست و نیمه خشکی پسندی است و به خوبی با مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری سازگار شده است (Abbas 2005; Golan *et al.* 2008).

آفلاتوکسین ها نسبت به حرارت مقاومند و با فرآیند حرارتی معمولی، کاملاً غیرفعال نمی شوند. تیمار حرارتی تحت شرایط غیرمرطوب نمی تواند آفلاتوکسین ها را از بین ببرد (Takayuki and F. 1993; Yazdanpanah et al. 2005). آفلاتوکسین ها تحت حرارت ۱۵۰ تا ۱۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت نیز غیرفعال نمی شوند (Hussain *et al.* 2008; Jalili *et al.* 2010). در تعدادی از کشورها محدودیت مقدار مجاز آفلاتوکسین در غذا و خوراک دام، تعیین شده است. به عنوان مثال در اتحادیه اروپا برای آفلاتوکسین ب۱ مقدار ۸ پی پی بی[12] و برای مجموع آفلاتوکسین ها حد مجاز ۱۰ پی پی بی، تعیین شده است (EuropeanCommission(EC). 2010) که این محدودیت، کمتر از مقدار تعیین شده در آمریکا می باشد (FDA 2010).

مواد و روش ها

پسته خشک با پوسته سخت[13](پوسته نرم بیرونی گرفته شده)، پسته تازه با پوسته نرم بیرونی[14] و پسته خشک با پوسته نرم بیرونی، از باغ های پسته استان خراسان رضوی تهیه شد، اسپور لیوفلیزه قارچ آسپرژیلوس فلاوس (کد ۵۰۰۶) و آسپرژیلوس پارازیتیکوس

1- Pistacia atlantica sub sp. Mutica
2- Pistacia khinjuk
3- Aspergilus flavus
4- Aspergilus paraticus
5- Early split
6- Trichothecene mycotoxin

7- Aspergillus
8- Fusarium
9- Penicillum
10- A. tamarii
11- A. nomius
12- Part per billion or microgram.(pbb)
13- Shell
14- Hull

(کد۵۲۸۶) از کلکسیون قارچ های صنعتی ایران (سازمان پژوهش های علمی و صنعتی)[1] تهیه شد که هر دو قادر به تولید آفلاتوکسین هستند، سموم آفلاتوکسین استاندارد ب۱، ب۲، ج۱، ج۲ از شرکت شیمیایی سیگما تهیه شد، بقیه مواد مصرفی از خلوص بالا و درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند و از شرکت مرک تهیه شدند. دستگاه قوس الکتریکی مولد ازن، مدل آ.اس ۱۰ ساخت ایران، با ظرفیت تولید ۱۰ گرم ازن در ساعت، دستگاه تغلیظ کننده اکسیزن از نوع بیمارستانی با ظرفیت ۲ تا ۵ لیتر در دقیقه مدل ال.اف.وای.آی.۵.آ.دبلیو، بود. دستگاه سنجش ازن با قابلیت جذب نور ماوراءبنفش، ساخت ایران. دستگاه کروماتوگرافی مایع با قابلیت کارایی بالا، مدل آلینس[2] و آشکارساز فلورسنت مدل ۴۷۴ و ستون کرومولیت[3] تماماً ساخت شرکت واترز بودند.

روش ها

آلوده کردن مصنوعی پسته ها؛ آماده سازی محیط کشت، هر دو اسپوربه صورت مجزا، بوسیله کشت مقدماتی در ۵۰۰ میلی لیتر محیط کشت سابوراد مایع۲٪ که در دمای۲ ± ۲۳ درجه سانتی گراد به مدت۲۴ ساعت در گرمخانه قرار گرفتند، فعال شدند و سپس پسته ها با این معلقه قارچی، آغشته شدند، معلقه قارچی حاوی حدود[6] ۱۰ سلول زنده[4] در هر میلی لیتر بود. پسته های تلقیح شده به مدت۸ روز در گرمخانه ۲±۲۳ درجه سانتی گراد قرار گرفتند بدین وسیله قارچ ها رشد کردند و سموم قارچی تولید شد.

آماده سازی محلول آبی حاوی ازن

pH یکی از عوامل مهم موثر بر قدرت واکنش دهی ازن و همچنین موثر در تجزیه آن در آب می باشد به طوری که pH های کمتر از ۷ اثر کمی بر تجزیه ازن دارد اما pH بالا، سرعت تجزیه ازن به طور معنی داری افزایش می یابد (Beltran 2005). به همین دلیل برای تنظیم pH، مقدار ۱۵۰ میلی لیتر اسیدکلریدریک نرمال به یکصد لیتر آب مقطر افزوده شد و pH حدود ۰/۳ ± ۵ تنظیم شد. برای انحلال ازن در آب از دستگاه ونتوری که گاز را در آب تزریق می کند، استفاده شد غلظت ازن در گاز ۱/۵٪ که معادل ۱۵/۷ لیتر در متر مکعب بود. جریان تغذیه اکسیژن به دستگاه ازن ساز، ۵ لیتر در دقیقه بود. ازن بعد از مخلوط شدن با آب به پایین مخزن آب وارد می شد، دمای آب نیز به ۱۰ درجه سانتی گراد کاهش یافت. غلظت ازن برای تیمار کردن نمونه در سه سطح بود که سطح صفر (شاهد) فقط شستشو با آب و غلظت‌های ۴ و ۸ پی. پی. ام ازن محلول بود.

عملیات تیمار کردن با ازن

مخزن پلاستیکی حاوی یکصدلیتر مفید آب(قطر حدود ۴۰ سانتی متر و ارتفاع ۱۰۰ سانتی متر) بود که همانطور که در کارخانجات متداول است، مخلوط شدن ازن با آب تحت خلأ حاصل از جریان چرخش آب و عبور از وسیله ونتوری صورت گرفت. جریان متلاطم باعث افزایش حلالیت ازن در آب شده بدین ترتیب، پسته های آلوده در آب ازن دار، غلظت های صفر (شاهد) و ۴ و ۸ پی. پی. ام به مدت زمان تماس صفر (شاهد) ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ ساعت، غوطه ور شدند، دما در حدود ۱۰ سانتی گراد ثابت شد.

بعد از تیمار کردن، پسته ها با روش استاندارد ۹۹۴/۰۸[5] که معادل روش استاندارد[6] شماره ۶۸۷۲ ایران است، اندازه گیری آفلاتوکسین ها انجام شد (Horwitz 2002). تجزیه و تحلیل آماری، مقایسه میانگین ها با نرم افزار ام اس تت سی، در سطح معنی داری کمتر از پنجم صدم و با آزمون ال. اس. دی، مقایسه انجام شد. از طرح آماری فاکتوریل ۷×۳×۳ (سه سطح غلظت ازن محلول در آب، سه سطح نوع پسته و ۷ سطح زمان در معرض ازن بودن) با سه تکرار استفده شده و تجزیه و تحلیل واریانس، با نرم افزار مینی تب ویرایش ۱۳ انجام شد.

نتایج و بحث

معمولاً ممانعت از رشد تکثیر قارچ ها، کار مشکلی است زیرا در بهترین شرایط مدیریتی نیز امکان بروز آلودگی قارچ ها وجود دارد. مهمترین و بحرانی ترین عوامل محیطی برای حمایت از رشد قارچ ها عبارتند از: محتوای رطوبت نسبی محیط ، دما و زمان؛ بنابراین خشک کردن و نگهداری مناسب و همچنین حمل و نقل مناسب از مهمترین کارهای مقدماتی ممانعت از رشد قارچ هستند. روش های عملی و موثر برای حذف سموم قارچی از پسته، بسیار مورد نیاز و درخواست است. آلودگی قارچی و به متعاقب آن تولید آفلاتوکسین می تواند در محصولات کشاورزی در باغ و مزرعه، موقع برداشت، جابجایی و حمل ونقل، فرآیند و نگهداری و همچنین در موضوع توزیع محصول بروز کند. سموم قارچی باید تخریب شوند و یا به نوع مواد غیرسمی تبدیل گردند اما فرانید سم زدایی باید از نظر اقتصادی امکان پذیر باشد و هزینه این کار باید از ارزش محصول فرآیند شده کمتر باشد (Mishra and Das 2003). تولید آفلاتوکسین در دمای کمتر از ۸ تا ۱۳ و بیش از ۴۲ درجه سانتیگراد رخ نمی دهد. گزارش شده است که

1- Persian Type Culture Collection (PTCC)
2- Allince model, Waters Co
3- Chromolith
4- Cfu.ml-1

5- AOAC Method 994.08 (2002)
6- ISIRI 6872

حداکثر آفلاتوکسین بعد از ۴ تا ۷ روز در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد در انکوباتور تولید شده است و حداکثر آفلاتوکسین تولیدی در دانه هایی با رطوبت ۲۵ درصد و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد رخ داده است (Gourama, 1991). شرایط آزمایش تقریبا از چنین تحقیقاتی الگو گرفته است.

در سال ۲۰۰۱ میلادی، اداره کل غذا و داروی امریکا(اف دی‌ای[1]) ازن را به عنوان عامل ضدمیکروبی به هر دو شکل گاز یا محلول، برای فرآیند تیمار کردن و نگهداری مواد غذایی مورد موافقت قرار داد (FDA June, 26, 2001). نیمه عمر ازن در حالت محلول در آب در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد حدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه است (Jongen 2005; Pirani and Gilda 2010). با افزایش pH و دما و افزایش انرژی مکانیکی، تجزیه ازن نیز افزایش می یابد. نیمه عمر ازن در هوا طولانی تر از نیمه عمر آن در حالت محلول است و حدود ۱۲ ساعت می باشد. ازن دارای بوی نافذی است که به وسیله شامه انسان در غلظت کم، حدود یک صدم تا پنجم صدم پی پی ام، در محیط قابل تشخیص است (Pirani and GILDA 2011; Smith and Hong-Shum, 2003). ازن یک گاز ناپایدار است و بطور معمولی در خط تولید کارخانجات و معمولاً به وسیله قوس الکتریکی تولید می شود (Jongen 2005). تغذیه ازن ساز با اکسیژن سبب می شود که غلظت ازن تولیدی حدود ۸ تا ۱۴ درصد باشد، استفاده از هوا غلظت ازن حدود ۳ تا ۵ درصد می باشد (Pirani *et al*. 2011). با افزایش دما، واکنش دهی ازن و تجزیه آن افزایش می یابد ولی حلالیت در آب و پایداری آن کاهش می یابد (Karaca *et al*. 2007). بلاک (۱۹۷۸) گزارش کرده است(Black *et al*., 1978) که تیمار کردن بوسیله آمونیاک بسیار امیدبخش است و رویکردی عملی است کاهش آفلاتوکسین بوسیله آمونیاک سبب باز شدن حلقه لاکتون در ساختمان آفلاتوکسین می شود به ویژه وقتی که pH محیط بالاتر از ۹ باشد، هرچند که آمونیاک سبب کاهش کیفیت دانه می شود، این فرآیند مناسب برای خوراک دام است و برای غذای انسان اختصاص نیافته است (Gourama 1991). چندین مطالعه بر روی خصوصیات ضدمیکروبی ازن انجام شده است، اکباس (۲۰۰۸) گزارش کرده است(Akbas and Ozdemir 2008) که کاربرد گاز ازن به مقدار ۱ تا ۹ پی. پی. ام در انجیر خشک به مدت ۳۶۰ دقیقه، باعث غیرفعال شدن *اشرشیاکلی*[2] و *باسیلوس سرئوس*[3] شده است. بهترین نتیجه کاهش تا ۳/۵ سیکل لگاریتمی برای اشریشیا کلای و ۲ سیکل لگاریتمی برای باسیلوس سرئوس بوده است .

همچنین Oztekin (۲۰۰۶) گزارش کرده است که کاهش شمارش میکروبی انجیر خشک به حداقل سه ساعت و با ۵ پی پی ام غلظت ازن نیاز داشته است. در گزارش زورلوجنک (۲۰۰۸) انجیر خشک تحت غلظت ازن گازی ۱۳/۸ پی پی ام و ازن محلول آبی ۱/۷ پی. پی. ام به مدت تا ۳۰ دقیقه قرار گرفت که اثر ازن گازی برای کاهش آفلاتوکسین از اثر ازن محلول بهتر بود در حالیکه ازن محلول در آب برای کاهش شمارش میکروبی تأثیر بهتری داشت (Zorlugenc *et al*. 2008). در گزارش اکباس (۲۰۰۶) پسته در معرض گاز ازن با غلظت های مختلفی تا یک پی. پی. ام و در زمان های متفاوتی تا۳۶۰ دقیقه، در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۷۰٪ قرار گرفت که در بیشترین غلظت و بیشترین زمان در معرض قرار گرفتن، جمعیت هر دو میکروب حدود ۳ و ۳/۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت (Akbas and Ozdemir 2006). آچن(۲۰۰۱) گزارش کرده که سطح سیب درختی بوسیله ای- کلای تلقیح شد و بوسیله آب ازن دار با غلظت ۲۴-۲۵ پی پی ام تیمار شد همزدن به مدت یک تا ۵ دقیقه در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد بود، در این حالت کاهش میکروبی حدود ۳/۷ و ۲/۶ سیکل لگاریتمی بود(Achen and Yousef 2001). بیوچت (۱۹۹۹) گزارش کرده است که ارزش عدد دی[4] (زمان لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی از تعداد میکروارگانیسم های یک محصول) برای کاهش *کاندیای آسپرژیلوس فلاوس و پارزیتیکوس* که در معرض ۱/۷۴ پی. پی. ام ازن در محلول بافری فسفات با pH ۵/۵ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته بودند به ترتیب ۱/۵۴ و ۱/۷۱ دقیقه محاسبه شد (Beuchat *et al*. 1999). یوک (۲۰۰۷) اعلام کرد که اثر ازن محلول در آب با غلظت ۱، ۳ و ۵ پی پی ام و با زمان در معرض قرار گرفتن نیم، یک، سه و پنج دقیقه بر روی قارچ خوراکی رقم انوکی[5] در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد و به مدت نگهداری ۱۰ روز قرار گرفت، ای-کلای و لیستریا منوسیتوژنز[6] به ترتیب نیم و یک سیکل لگاریتمی از شمارش میکروبی آنها کاسته شد (Yuk *et al*. 2007).

در این تحقیق نمونه های پسته بوسیله دو تا محیط کشت مجزا، مقدماتی که جهت فعال سازی اسپورها تهیه شده بود و حاوی 10^6 سلول زنده در هر میلی لیتر بود، آلوده شدند و پس فعالیت قارچها، تیمار کردن نمونه ها با غلظت های متفاوت ازن از صفر (شاهد) و ۴ و۸ پی پی ام ازن محلول در آب استفاده شد. زمان در معرض قرار گرفتن صفر (شاهد) ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ ساعت بود. نتایج نشان داد که در سطح معنی داری ۵ درصد، نمونه های شاهد(شستشو فقط با آب) تفاوت معنی داری در کاهش مقدار سموم قارچی نداشتند این موضوع در جدول شماره یک مشاهده می شود. همچنین در مقدار

1- Food and Drug Administration
2- Escherichia coli
3- Bacillus cereus

4- D-values (the time required to kill 90% of the microorganism)
5- enoki mushroom
6- Listeria monocytogenes

آفلاتوکسین ج۲ برای پسته خشک با پوسته نرم بیرونی که در معرض ۴ پی پی ام ازن قرار گرفته بود، کاهش مشاهده نشد این موضوع در جدول شماره ۲ مشاهده می شود. به طور کلی برای نمونه شاهد، کاهش آفلاتوکسین های ب۱، ب۲، ج۱، ج۲ و مجموع به ترتیب ۵/۶، ۹/۷، ۱۴/۶، ۱۵ و ۶/۴ درصد بود که این کاهش برای تیمار کردن با ۴ پی پی ام ازن محلول به ترتیب ۳۲/۷، ۸/۵۵، ۳۰/۶، ۳۴ و ۳۵ درصد بود و برای ۸ پی پی ام، ازن عبارت است از ۴۷/۹، ۱۲/۵، ۴۵/۸، ۴۳/۹ و ۴۴/۴ درصد کاهش بود این نتایج در جدول ۳ و۴ مشاهده می شوند. نتایج مشخص می کند که اثر ازن محلول در آب روی کاهش آفلاتوکسین با غلظت ازن و زمان در معرض قرار گرفتن، به طور معنی داری، رابطه همبستگی دارد، که این نتیجه را می توان در جدول ۵ و ۶ مشاهده کرد. نتایج روشن می سازد که حساسیت آفلاتوکسین نسبت به ازن به این صورت است که ب۱، ج۱ از ب۲ و ج۲ حساس ترند، این نتایج با تعداد زیادی از آثار منتشره دسترس، در مورد کاهش آفلاتوکسین بوسیله ازن، مطابقت دارد. دولیر (۱۹۶۷) گزارش کرده است که حذف آفلاتوکسین از بلغور آلوده بادام زمینی بوسیله روش استخراج حلال (۹۰ درصد استن+۱۰درصد آب) انجام شده است (Dollear *et al*. 1968). اما نقطه ضعف استخراج با حلال، هزینه بالای آن است و همچنین امکان ایجاد بد طعمی در محصول وجود دارد (Gourama 1991). پروکتور و همکاران(۲۰۰۴) گزارش کرده است (Proctor *et al*. 2004) که سطح بالایی از کاهش آفلاتوکسین درمواد غذایی را یافته است، فرآیند حرارتی دهی به وسیله آسیاب کردن برای دانه بادام زمینی در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد بدون در نظر گرفتن زمان فرآیند، حداکثر میزان کاهش آفلاتوکسین ب و ج حدود ۵۱ درصد بوده است. اکباس (۲۰۰۶) دریافته است (Akbas *et al*. 2006) که کاهش زیاد آفلاتوکسین در پسته با غلظت ازن و زمان تماس آن بستگی دارد. مک کنزی و همکاران (۱۹۹۷) نشان داده اند (McKenzie 1997; McKenzie *et al*. 1997) که آفلاتوکسین ب۱ و ج۱ خیلی سریعتر از آفلاتوکسین ب۲ و ج۲ در اثر ازن کاهش می یابند و دلیل آن را وجود پیوند دوگانه بین کربن ۸ و ۹ دانسته که در ب۱ و ج۱ وجود دارد ولی در ب۲ و ج۲ وجود ندارد و این موضوع با تحقیق ما سازگار است. صرف نظر از زمان در معرض قرار گرفتن و غلظت ازن استفاده شده، پوسته نرم بیرونی مانع آلودگی به آفلاتوکسین است، این نتیجه در جدول شماره ۱ و ۲ مشاهده می شود. کاهش آفلاتوکسین ب۱ و مجموع آفلاتوکسین ها، وابسته به نوع پسته است. تیمار کردن با ازن، تأثیر بیشتری بر پسته با پوسته سخت داشت، نسبت به پسته هایی که حاوی پوسته نرم بیرونی نیز بودند، احتمالاً دلیل آن این است که پوسته نرم بیرونی به صورت مانعی برای تأثیر ازن عمل می کند. این موضوع درجدول ۱و۴ (شکل ۱ و ۲) مشخص است، همچنین نتایج نشان می دهد که پوسته نرم بیرونی می تواند مانع آلودگی باشد اما همانطورکه می تواند مانع اثر ازن باشد. این موضوع در جدول ۱(شکل های یک تا چهار) نشان داده شده است.

نتیجه گیری

ین تحقیق مشخص کرد که ازن محلول در آب می تواند سبب کاهش آفلاتوکسین پسته بشود. کارایی ازن برای کاهش آفلاتوکسین بیشتر بر روی پسته بدون پوسته نرم (پسته با پوست سخت) نسبت به پسته ها با پوسته نرم، موثرتر است این موضوع در جدول ۱ و ۴ (شکل شماره ۴ و ۳) نشان داده شده است. کاهش در آفلاتوکسین ب۱ و مجموع وقتی حاصل می شود که حداقل با ۴ پی پی ام غلظت ازن در طی ۶ ساعت و یا ۸ پی پی ام و حداقل ۲ ساعت در معرض ازن قرار گیرد این موضوع درجدول ۶(شکل ۵)نشان داده شده است. بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین وقتی حاصل شد که از غلظت ۸ پی پی ام و زمان تماس ۱۰ یا ۱۲ ساعت استفاده شد. بطور کلی حساسیت آفلاتوکسین جهت تخریب به این گونه است که نوع ب۱ و ج۱ حساس تر از نوع ب۲ و ج۲ می باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند خصوصاً معاونت محترم اموزشی، معاونت محترم پژوهشی دانشکده و دانشگاه فردوسی مشهد و همچنین مدیریت و کارکنان موسسه و آزمایشگاه اسراء شرق، تقدیر و سپاسگزاری می شود.

منابع

Abbas, H. K., 2005, Aflatoxin and food safety. CRC.

Achen, M., & Yousef, A. E., 2001, Efficacy of ozone against Escherichia coli O157:H7 on apples. Journal of Food Science, 66(9), 1380-1384.

Afzadi, M. A., Tabatabaei, B. E. S., Mohammadi, S., & Tajabadipur, A., 2007, Comparison of genetic diversity in species and cultivars of pistachio (Pistacia sp. L.) based on Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers. Iranian Journal of Biotechnology, 5(3), 147-152.

Akbas, M. Y., & Ozdemir, M., 2006, Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(13), 2099-2104.

Akbas, M. Y., & Ozdemir, M., 2008, Application of gaseous ozone to control populations of Escherichia coli, Bacillus cereus and Bacillus cereus spores in dried figs. Food Microbiology, 25(2), 386-391.

Arora, D. K., 2004, Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications. CRC Press.

Beltran, F. J., 2005, Ozone reaction kinetics for water and wastewater systems. Taylor & Francis e-Library.

Beuchat, L. R., Chmielewski, R., Keswani, J., Law, S. E., & Frank, J. F., 1999, Inactivation of aflatoxigenic Aspergilli by treatment with ozone. Letters in Applied Microbiology, 29(3), 202-205.

Bhat, R., Rai, R. V., & Karim, A., 2010, Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9(1), 57-81.

Black, L. T., Spencer, G. F., & Brekke, O. L., 1978, Reactions of lipids in corn with ammonia. Journal of the American Oil Chemists' Society, 55(6), 526-529.

Can, C., Özaslan, M., Töremen, H., Sarpkaya, K., & Iskender, E., 2006, In vitro micrografting of pistachio, Pistacia vera L. var. Siirt, on wild pistachio rootstocks. Journal of Cell and Molecular Biology, 5, 25-31.

Cheraghali, A. M., & Yazdanpanah, H., 2010, Interventions to control aflatoxin contamination in pistachio nuts: Iran experience. Journal of Food Safety, 30(2), 382-397.

Ciancio, A., 2009, Integrated Management of Fruit Crops and Forest Nematodes. Springer Verlag.

Dollear, F. G., Mann, G. E., Codifer Jr, L. P., Gardner Jr, H. K., Koltun, S. P., & Vix, H. L. E., 1968, Elimination of aflatoxins from peanut meal. Journal of the American Oil Chemists' Society, 45(12), 862-865.

Doster, M., & Michailides, T., 1995, The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by Aspergillus species. Plant disease, 79(8), 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(3), 259-264.

EuropeanCommission(EC)., 2010, amending regulation (EC) No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. Official Journal of the European Union, L50, 8-12.

FAOSTAT., 2008, FAO Production, Consumption, Resources Statistics [on-line]. FAO.

FDA., 2010, Maximum acceptable level of ozone. USA.

FDA (June, 26, 2001). Final rule., Proceedings of the International Ozone Association, vol. Volume 66, Number 123 (pp. 33829-33830)

Golan, R. B., & Paster, N., 2008, Mycotoxins in fruits and vegetables. Academic Press.

Gourama, H., 1991, Growth and aflatoxin production of Aspergillus flavus in the presence of Lactobacillus species. vol. Ph.D. (p. 239). United States -- Nebraska: The University of Nebraska - Lincoln.

Horwitz, W., 2002, Official methods of analysis of AOAC International. AOAC international Gaithersburg, MD.

Hussain, Z., Khan, M. Z., & ul Hassan, Z., 2008, Production of aflatoxins from Aspergillus flavus and acute aflatoxicosis in young broiler chicks. Pak. J. Agri. Sci, 45, 1.

Jalili, M., Jinap, S., & Noranizan, A., 2010, Effect of gamma radiation on reduction of mycotoxins in black pepper. Food Control, 21(10), 1388-1393.

Jongen, W., 2005, Improving the safety of fresh fruit and vegetables. CRC.

Karaca, H., & Velioglu, Y. S., 2007, Ozone applications in fruit and vegetable processing. Food Reviews International, 23(1), 91-106.

Karaca, H., Velioglu, Y. S., & Nas, S., 2010, Mycotoxins: contamination of dried fruits and degradation by ozone. Toxin Reviews, 29(2), 51-59.

Khachatourians, G. G., & Arora, D. K., 2002, Applied Mycology and Biotechnology: agriculture and food production. Elsevier Science.

Kole, C., ed., 2007, Fruits and nuts: Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Springer Verlag.

Koshteh, K., & Urutyan, V. E., 2005, Global pistachio production and marketing challenges. Indian Journal of Economics and Business, 41.

McKenzie, K. S., 1997, Degradation and detoxification of common chemical contaminants of food and water using ozone generated by electrolysis. vol. Ph.D. (p. 200). United States -- Texas: Texas A&M University.

McKenzie, K. S., Sarr, A. B., Mayura, K., Bailey, R. H., Miller, D. R., Rogers, T. D., Norred, W. P., Voss, K. A., Plattner, R. D., Kubena, L. F., & Phillips, T. D., 1997, Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. Food and Chemical Toxicology, 35(8), 807-820.

Miraliakbari, H., 2005, Tree nut oils: Chemical characteristics, oxidation and antioxidants. vol. M.Sc. (p. 174). Canada: Memorial University of Newfoundland (Canada.(

Mishra, H., & Das, C., 2003, A review on biological control and metabolism of aflatoxin. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 43(3), 245-264.

Onay, A., Pirinç, V., Yildirim, H., & Basaran, D., 2004, In vitro micrografting of mature pistachio (Pistacia vera var. Siirt). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 77(2), 215-219.

Oztekin, S., Zorlugenc, B., & Zorlugenc, F. K., 2006, Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. Journal of Food Engineering, 75(3), 396-399.

Padulosi, S., Caruso, T., & Barone, E., eds., 1996, Taxonomy, Distribution, Conservation and Uses of Pistacia Genetic Resources: Report of a Workshop,,. Palermo, Italy.

Pirani, S., & Gilda, M., 2010, Application Of Ozone In Food Industries. vol. Doctoral

Pirani, S., & GILDA, M., 2011, Application of ozone in food industries.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D., 2009, Fungi and food spoilage. Springer Verlag.

Proctor, A. D., Ahmedna, M., Kumar, J. V., & Goktepe, I., 2004, Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment. Food Additives and Contaminants, 21(8), 786-793.

Rai, M., & Varma, A., 2010, Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons. Springer Verlag.

Smith, J., & Hong-Shum, L., 2003, Food additives data book. Wiley Online Library.

Takayuki, S., & F., B. L., 1993, Introduction to food toxicology.: ACADEMIC PRESS, INC.

Valpuesta, V., 2002, Fruit and vegetable biotechnology. Woodhead Publishing.

Williams, D. H., Stone, M. J., Hauck, P. R., & Rahman, S. K., 1989, Why are secondary metabolites (natural products) biosynthesized? Journal of natural products, 52(6), 1189-1208.

Yazdanpanah, H., Mohammadi, T., Abouhossain, G., & Cheraghali, A. M., 2005, Effect of roasting on degradation of Aflatoxins in contaminated pistachio nuts. Food and Chemical Toxicology, 43(7), 1135-1139.

Yuk, H. G., Yoo, M. Y., Yoon, J. W., Marshall, D. L., & Oh, D. H., 2007, Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes on enoki mushroom. Food Control, 18(5), 548-553.

Zorlugenc, B., Kiroglu Zorlugenç, F., Öztekin, S., & Evliya, I. B., 2008, The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs. Food and Chemical Toxicology, 46(12), 3593-3597.