

دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم

پایان نامه :

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته بیوشیمی

گروه بیوشیمی

بررسی میزان آلودگی نمونه های صادراتی شهرستان سیرجان به قارچ

آسپرژیلوس از طریق اندازه گیری میزان آفلاتوکسین با روش HPLC

مولف :

حسن اسدی زیدآبادی

استاد راهنما:

دکتر رضا حاج حسینی

استاد مشاور:

دکتر مجید شهرتی

اردیبهشت ۱۳۸۹

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده
	فصل اول - کلیات
۱	1-1-1 مقدمه
۲	2-1-2 گیاه شناسی
۳	1-2-1-1 سطح زیر کشت
۴	1-2-2-2 نیازهای آب هوایی
۴	1-2-3-3 خصوصیات ارقام
۷	1-3-3-1 آفلاتوکسین
۶	1-3-3-1-1 تاریخچه آفلاتوکسین
۷	1-3-3-2 نحوه تولید و ساختار شیمیایی آفلاتوکسین
۹	1-3-3-3 اثرات سم آفلاتوکسین بر بهداشت و سلامت انسان
۱۲	1-3-3-4 روشهای خنثی سازی آفلاتوکسین در مواد غذایی
۱۳	1-3-3-5 زیانهای اقتصادی ناشی از آفلاتوکسین
۱۳	1-3-3-6 حالات ممکن برای ایجاد آلودگی به آفلاتوکسین
۱۳	1-3-3-6-1 قبل از برداشت
۱۴	1-3-3-6-2 برداشت
۱۵	1-3-3-6-3 بعد از برداشت
۱۶	1-3-3-6-4 ذخیره سازی نهایی
۱۶	1-3-3-6-5 فراوری نهایی و عرضه به بازار

۱۷	7-3-1 عوامل جانبی موثر در تولید آفلاتوکسین
۲۱	8-3-1 جلوگیری از آلوده شدن پسته به آفلاتوکسین
۲۱	4-1 زود خندانی
۲۱	1-4-1 تعریف زود خندانی
۲۲	2-4-1 انواع زود خندانی
۲۴	3-4-1 نقش آن در پیدایش آفلاتوکسین
۲۷	4-4-1 طراحی ماشینهایی که دانه آلوده را جدا می سازند
۲۸	5-4-1 شناسایی پسته های آلوده بر اساس خصوصیات فیزیکی
۳۲	6-1 مواضع قانونی

فصل دوم - مواد و روشها

۳۴	هدف
۳۴	دامنه کاربرد
۳۴	اصطلاحات و تعاریف
۳۸	مواد لازم
۴۱	وسائل لازم
۴۴	روش اجرای آزمون
۴۹	تضمین کیفیت
۵۳	گزارش نتایج آزمون
۵۵	فصل سوم: بحث و نتیجه گیری
۶۰	پیشنهادات
۶۱	گرافها
۶۸	عکسها
۷۵	جداول
۸۲	منابع

تقدیم به:

تقدیم به همسر صبور و مهربانم، به پاس همدلی ها و
فداکاریهایش، او که فروغ نگاهش، گرمی کلامش و روشنی
رویش و سرمایه جاودانی من است.
تقدیم به عزیزانی که دوستشان دارم و جایشان در قلب من
است و مرا در این راه یاری نموده اند.

و تقدیم به فرزندان دلبندم

علی و عرفان

چکیده :

شیوع بیماریهای مهلک و آمار تلفات آن و طبعات سنگین اقتصادی و اجتماعی آن همواره از دغدغه های فکری محققین دنیا بوده است در این راستا سرطان کبد یکی از شایعترین انواع سرطان در کشور ماست که هر سال قربانیان بسیاری در کشور دارد. تحقیقات نشان داده که یکی از عوامل ایجاد این نوع سرطان وجود سم آفلاتوکسین در خوراک انسان و دام است. این سم که یکی از متابولیت‌های ثانویه قارچ آسپرژیلوس است می تواند در نوع B یا G توسط این قارچ تولید و از طریق محصولات کشاورزی آلوده به قارچ مثل برنج ذرت بادام زمینی مستقیماً وارد بدن شود و یا از طریق خوراک دام آلوده وارد بدن آن شده و در کبد دام تبدیل به نوع دیگری از سم بنام نوع M شده و وارد شیر شده و به مصرف انسان برسد. یکی دیگر از راههای انتقال مستقیم سم از طریق پسته های آلوده است. پسته مهمترین محصول صادرات غیرنفتی کشور است که بعد از نفت اور ترین کالای صادراتی ایران است و دارای ارزش غذایی بالایی است. در این تحقیق تلاش گردیده تا با شناخت کامل این گیاه و خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و بیوشیمیایی دانه آن راههای آلودگی به قارچ و شرایط لازم برای رشد و تکثیر مورد بررسی قرار گرفته و بیماری زایی آن مورد مطالعه قرار گیرد و به طبع آن راههای پیشگیری از آلودگی مواد غذایی به این سم مورد بررسی قرار گیرد. همچنین عارضه زود خندانی و نقش ویژه آن در فراهم کردن بستر مناسب جهت رشد و تکثیر قارچ مولد آفلاتوکسین مورد تحقیق قرار گرفته و در بحث و نتیجه گیری بابررسی میزان آلودگی نمونه های صادراتی به سم آفلاتوکسین با روش HPLC و با توجه به داده های موجود مشاهده می گردد که ۹۴/۹ درصد از متغیر Total کمتر از ۴۰ است و فقط ۵/۱ درصد از آن بیشتر از ۴۰ می باشد. یعنی در واقع ۵۱۹ تا از اندازه گیری ها زیر ۴۰ می باشد و فقط ۲۸ تا از اندازه گیری ها از ۴۰ بیشتر میباشد و ثانیاً در مقایسه بین چند نوع پسته مشخص گردید که معمولاً پسته های روآبی لکه دار دارای بیشترین مقدار سموم (ppb ۲۰۱۵/۴) هستند. پسته های روآبی پسته هایی دارای اختلال فیزیولوژیکی هستند که پوست سبز آنها در فاصله زیادی از برداشت شکاف برداشته و عمدتاً پسته های زودخندان هستند 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 (اندازه لکه کمتر از ۳۰٪) با پسته های گروههای ۲ (اندازه لکه بین ۳۰ تا ۶۰٪) و ۳ (اندازه لکه بالای ۶۰٪) 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

به نام آنکه جان را فکرت آموخت

ن والقلم وما یسطرون

تشکر و قدر دانی:

پاینده ترین سپاسهای پیشکش درگاه خداوند منان که هستی ام بخشید، یاریم کرد و کسب دانش را روزیم ساخت. او که همواره در عرصه پر پیچ و خم زندگی یاورم بوده است و اینکه با مدد از رحمت بی پایان او و در سایه محبت‌های بندگان، موفق به طی مقطع دیگری از تحصیلات خویش شده ام، بر خود واجب می دانم که این نعمت بزرگ را به نیکوترین وجه شاکر و ممنون باشم و از کلیه عزیزانی که در این مسیر یاریم نموده اند تشکر و قدر دانی نمایم. در این راستا از محضر جناب آقای دکتر حاج حسینی استاد عالیقدر که زحمت راهنمایی پایان نامه حقیر را به عهده داشتند تشکر و قدر دانی می نمایم.

همچنین مراتب تقدیر و سپاس خود را از جناب آقای دکتر شهرتی که زحمت مشاوره این رساله را قبول نموده ند را به جای می آورم و آرزوی توفیق الهی برای این عزیز دارم از جناب آقای مهندس تاج ابادی پور کارشناس محترم مرکز تحقیقات پسته که مرا در جمع آوری مطالب پایان نامه کمک نموده اند سپاسگزاری می نمایم.

همچنین تقدیر و تشکر فراوان می کنم از :

- جناب آقای مهندس افخمی مدیر عامل محترم و جناب آقای مهندس سلیمان زاده مدیریت محترم منطقه ویژه اقتصادی سیرجان که مرا هم در دوره تحصیل و هم در تکمیل پایان نامه کمک و همراهی نموده اند.
- جناب آقای مهندس شرافت مدیریت محترم کل موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی استان کرمان و جناب آقای مهندس یزدی میر مخلصونی ریاست محترم اداره استاندارد شهرستان سیرجان که در انجام تحقیقات مربوط به این پایان نامه یاریم نمودند و بعضا امکانات لازم را در اختیارم گذاشته اند.

فصل اول : کلیات

1-1 - مقدمه

پسته گیاهی است که از دیرباز در نقاط مختلف ایران مورد کشت و پرورش قرار می گرفته است . جنگل های وحشی و خودروی پسته در ناحیه شمال شرقی ایران و نواحی هم مرز با ترکمنستان پیشینه ای باستانی دارد . اهمیت اقتصادی پسته که معروف به طلای سبز است برکسی پوشیده نیست . پسته به عنوان یک محصول استراتژیک جایگاه خاصی را در بین تولیدات کشاورزی دارا می باشد، این محصول بخش عمده ای از صادرات غیر در اختیار کشور ما قرار دارد. در حال حاضر سطح زیر کشت پسته ایران ۴۰۰۰۰۰ هکتار می باشد که استان کرمان با مجموع بیش از ۲۷۰۰۰۰ هکتار باغ های بارور و غیر بارور، ۷۷ درصد محصول کل کشور را تولید و به عنوان مهمترین منطقه پسته کاری ایران و دنیا محسوب می شود . با توجه به اینکه ایران مهمترین تولید کننده پسته دنیاست اما عملکرد پسته در ایران یکنواخت نبوده که این به مسائل مختلفی ارتباط دارد. برای بدست آوردن محصول مطلوب و اقتصادی، گرده افشانی و لقاح ضروری است . تامین گرده کافی و مناسب از جمله مسائلی است که اکثر باغداران پسته به اهمیت آن واقف نیستند. در اکثر باغات پسته نسبت مناسب درختان نر به ماده رعایت نگردیده و درختان نر موجود هم ممکن است از نظر زمان گلدهی با ارقام ماده موجود تطابق زمانی نداشته باشند. با توجه به تنوع ژنتیکی وسیع پسته در ایران دامنه گسترده ای از ارقام و فتوتیپهای مختلف در باغات پسته دیده می شود لذا دوره گلدهی ارقام ماده به نحوی است که صرفاً یکنوع تلقیح کننده با دوره گلدهی مشخص و محدود نمی تواند برای همه ارقام پسته قابل توصیه باشد . بنابراین تعیین مناسبترین تلقیح کننده پسته از میان ارقام نر (در صورت شناسایی) و ژنوتیپ های موجود جهت ارقام ماده تجاری و بررسی خصوصیات انواع دانه گرده، تلقیح، اثرات زنی^۱ و متازنی^۲ و توصیه دانه گرده مناسب در صورت نیاز برای گرده افشانی مصنوعی باغات پسته از اولویتهای می باشد. زودخندانها^۳ میوه های پسته غیر طبیعی هستند که پوست سبز و استخوانی در طول محل خندانی شکاف خورده و مغز در معرض کپکها و حشرات قرار می گیرند. آفاتوکسین از متابولیت های ثانوی کپکهایی همچون آسپرژیلوس فلاووس^۴ است که از محل زودخندانی به

^۱ Xenia
^۲ Metaxenia
^۳ Early splits
^۴ Aspergillus flavus

مغز نفوذ می کنند. میوه ارقام مختلف پسته درجات مختلفی از زودخندانی نشان داده و دانه گرده ارقام مختلف پسته ممکن است بر پیدایش این عارضه اثر گذار باشند .

از آنجائیکه پوست رویی و سبز پسته منبعی سرشار از مواد فنولیک مختلف می باشد و مواد فنولیک یا تانن های بسیاری از گیاهان خاصیت آنتی اکسیداسیونی دارند بنابراین ممکن است بر از بین بردن متابولیت های قارچ های مختلف و حتی باکتریها اثر گذار باشند . لذا با توجه به احتمال تفاوت مقدار مواد فنولیک در پوست سبز ارقام مختلف پسته ، مقدار مواد فنولیک در پوست سبز ارقام مختلف پسته ، مقدار مواد فنولیک در پوست رویی با میزان آفلاتوکسین احتمالی موجود در مغز ارقام مختلف بهتر است مقایسه گردند.

2-1 - گیاهشناسی و زیست شناسی

درخت پسته اهلی (*Pistacia vera* L) متعلق به تیره سماق (*Anacardiaceae*) است . جنس *Pistacia* دارای ۱۱ گونه است که همگی آنها از خود تر باتین یا سقز ترشح می کنند. گیاهان این تیره بصورت درخت یا درختچه هستند. جنس های مهم این تیره شامل سماق (*Rhus*)، پسته (*Pistacia*)، گل پر (*Cotinus*) ، انبه (*Margifera*) و بادام هندی (*Anacardium*) می باشند. درخت پسته دارای برگ های مرکب شانه ای است و هر برگ یک جوانه جانبی را در بر می گیرد. اکثر جوانه های جانبی به گل آذین اولیه مبدل می شوند و یک محور اصلی را تشکیل می دهند که در سال بعد خوشه های پسته را تولید می کنند. بنابراین خوشه های پسته بصورت جانبی بر روی شاخه یکساله ظاهر می شوند. از نظر گیاه شناسی میوه پسته جزو میوه های شفت است . میوه های شفت متشکل از سه قسمت لایه برون بر خارجی، لایه میان برگشتی و لایه درون بر سخت هستند که درون بر هسته را فرا می گیرد. تفاوت میوه های شفت در بخش خوراکی آنهاست . در پسته و بادام، مغز به مصرف خوراکی می رسد اما در شفتهای دیگر نظیر زردآلو و هلو میان برگشتی بخش خوراکی میوه است .

درخت پسته دو پایه بوده یعنی برای تولید میوه به وجود درختان نر و درختان ماده نیازمندی باشد . گلها فاقد گلبرگ و غدد شهد سازند پس در گرده افشانی گلها زنبور عسل نقشی نداشته و باد این کار را انجام می دهد. گل های پسته جانبی و گل آذین خوشه مرکب دارند، در زیر آنها ۳-۱ براکته بزرگ و ۷-۲ براکته کوچک موجود است. در پایین گل های نر ۲-۱ براکته بزرگ و دو براکته کوچک وجود دارد. پوشش گل ۲-۱ قسمتی دیسک کوچک، ۳-۵ پرچم بامیله کوتاه که در پایین به دیسک چسبیده اند. بساک طویل می باشد. گل های ماده دارای یک براکته و دو براکته کوچک، پوشش گل ۵-۲ قسمتی

کوچک فاقد دیسک است. تخمدان فوقانی فاقد پایه و شامل یک تخمک، نهنج تحتانی، خامه کوتاه، کلاله ۳ قسمتی، یک لوب بزرگتر از ۲ تایی دیگر. تخمک واژگون است. طرح های اولیه گل نر و ماده بصورت جانبی روی شاخه های فصل جاری تشکیل و اولین کاسبرگها در اردیبهشت ماه در بعضی جوانه ها مشاهده شده است. ساختار گل آذین که دارای تعداد زیادی گل است در خرداد ماه کاملاً تمایز می یابد. جوانه های گل آذین ماده بعد از ۳ ماه رکود، در مهر ماه شروع به رشد کرده و مادگی آغازیده می شود و نزدیک اواخر اسفند، هر طرح اولیه به مادگی ۳ برچه ای توسعه می یابد که یکی از برچه ها بزرگ و دو برچه دیگر کوچک و عقیم می باشند. گل‌های نر پس از ۹ ماه رکود که در اردیبهشت سال قبل آغازیده شده، طرح های اولیه آن رشد سریع کرده و تمایز و بلوغ در اواخر اسفند ماه رخ می دهد. هر گل آذین عموماً دارای ۱۵۰-۱۰۰ گل بوده و دوره گلدهی ارقام نر و ماده از ۳-۲ هفته متفاوت می باشد. درصد گل‌هایی که میوه تشکیل می دهند از سالی به سال دیگر متفاوت بوده و بستگی به شرایط آب و هوایی در طی شکوفه دهی و همچنین در طی زمستان قبل از شکوفه دهی دارد. کافی نبودن سرمای زمستانه، شکوفه دهی را به تاخیر انداخته و اثر معکوس روی تولید کرده و توسعه مادگی دارد. بررسی ها طی ۴ سال پیاپی با سرمای کافی نشان داده است که به طور متوسط ۱۰٪ گل‌ها میوه تولید کرده که ۷/۵ درصد دارای مغز و ۲/۵ درصد پوک می باشند.

1-2-1 سطح زیر کشت

در حال حاضر سطح زیر کشت پسته ایران بیش از ۳۶۰۰۰۰ هکتار می باشد که استان کرمان با سطح زیر کشت پسته بارور و نیمه بارور، بیش از ۲۷۰۰۰۰ از کل سطح (۷۷ درصد) را به خود اختصاص داده و مهمترین منطقه پسته کاری ایران و جهان محسوب می شود. ضمناً سایر استانهای پسته خیز عبارتند از: یزد، خراسان، فارس، سمنان، سیستان و بلوچستان، قزوین، مرکزی، اصفهان و قم که بیش از ۹۰۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت باقیمانده را به خود اختصاص می دهند. مهمترین تولید کنندگان پسته در دنیا بترتیب ایران، آمریکا، ترکیه، سوریه، یونان و ایتالیا می باشند.

1-2-2 نیاز های آب و هوایی

دمای مناسب برای کشت و پرورش این گیاه در دامنه وسیعی قرار می‌گیرد بطوریکه دمای C ۴۵ در تابستان و دمای C ۲۰ - در زمستان را بخوبی تحمل می‌نماید. پسته نسبت به سرمای دیررس بهاره حساس می‌باشد و دمای انجماد و حتی نزدیک به آن نیز خسارت فراوانی ایجاد می‌نماید. نواحی مناسب برای تولید پسته، مناطق دارای تابستان‌های گرم و خشک و زمستان‌های معتدل بوده و درختان پسته نباید در ارتفاعات بالا کاشته شوند زیرا گرمای تابستان برای توسعه مغز کافی نمی‌باشد. رویشگاه پسته در ایران مناطقی با عرض جغرافیایی ۲۷-۴۰ درجه شمالی و ارتفاع ۳۰۰۰-۷۰۰ متر از سطح دریاست (۱). در کالیفرنیا پسته در ارتفاع بین ۲۵۶-۶۴ متر از سطح دریا بخوبی رشد می‌کند. برای تولید محصول خوب، یکنواخت، بموقع باز شدن جوانه‌ها، گل‌آذین‌های طبیعی، تشکیل میوه خوب و رشد رویشی مناسب، پسته حداقل به ۱۰۰۰ ساعت سرمای زیر C ۷ نیاز دارد. زمانیکه مجموع ساعات زیر C ۷ کمتر از ۱۰۰۰ ساعت باشد برگ و گلدهی نامنظم بوده و بتاخیر افتاده و برگها تغییر شکل داده و محصول کاهش مییابد. میزان رطوبت نسبی در تابستان بایستی کمتر از ۳۵٪ باشد، البته وجود مقادیر کمتر رطوبت نسبی نیز توصیه شده است زیرا باعث کاهش بیماریهای قارچی می‌شود. افزایش رطوبت نسبی در زمان گلدهی و گرده افشانی باعث کاهش بازده گرده افشانی و در نتیجه کاهش تشکیل میوه شده، همچنین در زمان رسیدن میوه باعث گسترش بیماریهای قارچی می‌گردد، به‌طور کلی وجود تابستانهای گرم و خشک و طولانی و زمستانهای سرد و معتدل از جمله عوامل محیطی مناسب جهت کاشت پسته می‌باشند.

1-2-3 خصوصیات ارقام

ارقام پسته از لحاظ زمان گلدهی، زمان پر شدن مغز، زمان رسیدن، درشتی و سایر خصوصیات تفاوت زیادی با هم دارند، این تنوع ژنتیکی باعث گردیده باغداران بتوانند بهترین رقم و مناسب با شرایط آب و هوایی را انتخاب نمایند. در ایران حدود ۹۰ رقم شناخته شده است که تعدادی از آنها بصورت گسترده و تجاری و برخی به صورت پراکنده و محدود کشت می‌شوند که خصوصیات مهمترین ارقام تجاری پسته به شرح زیر ارائه می‌شود:

رقم اوحدی - یکی از مهمترین ارقام تجاری پسته، بسیار معروف و سازگار در اکثر مناطق پسته کاری و ۶۰-۷۰ درصد باغات پسته سیرجان را شامل می‌شود. ارتفاع درخت حدود ۳ متر دارای رشد متوسط و تاج گسترده می‌باشد. اکثریت برگهای آن مرکب سه برگچه ای هستند و برگچه‌های انتهایی آن بزرگتر از

برگچه های جانبی می باشد. غالبیت انتهایی خیلی زیاد ، متوسط گل، زودرس و سال آوری متوسطی دارد. در دهه اول شهریور قابل برداشت می باشد.

رقم کله قوچی - عملکرد نسبتا بالا ، میوه فندقی و درشت از عوامل اصلی انتخاب و گسترش آن بوده است دارای شاخه های قوی و محکم تری نسبت به اوحدی می باشد. نسبت به کمبود آب و مواد غذایی حساسیت بیشتری دارد. در اکثر سالها بعلت زودگلدهی مخصوصا در مناطق سردسیر در معرض خطر سرمای بهاره می باشد. میان رس و با سال آوری متوسط می باشد دارای غالبیت انتهایی کمتر و قدرت تولید شاخه های جانبی بیشتری می باشد. نهالهای بذری حاصل از این رقم نسبت به سمیت بر مقاوم می باشند. در دهه دوم شهریور قابل برداشت می باشد.

رقم احمد آقایی - از ارقام تجاری با میوه بادامی شکل، پوست استخوانی سفید و درشتی میوه در حال گسترش می باشد. متوسط گل و دیررس، دارای بیشترین شدت سال آوری که در صورت اعمال مدیریت صحیح داشت به مقدار زیادی قابل کنترل است.

3-1 آفلاتوکسین

افلاتوکسین ها سمومی هستند که بوسیله تعدادی از قارچ ها که بر روی خوراک دام و مواد غذایی رشد می کنند، تولید شده و می توانند بیماری افلاتوکسیکوزیس را در حیوانات اهلی و انسان ایجاد کنند. در مورد این سموم و بیماری های حاصله در سراسر جهان تحقیقات زیادی صورت گرفته است . عوامل محیطی مختلفی بر روی تولید افلاتوکسین دخالت دارند از این رو شدت آلودگی بستگی به موقعیت جغرافیائی ، شیوه کشاورزی ، حساسیت محصولات کشاورزی قبل از درو، پروسه تهیه مواد غذایی و وضعیت انبار محصولات دارد.

افلاتوکسین ها نسبت به سایر سموم قارچی به علت اثرات سرطان زائی و ایجاد مسمومیت حاد از اهمیت بیشتری برخوردار هستند. بسیاری از کشورها با توجه به داشتن آلودگیهای قارچی در مواد غذایی و محصولات کشاورزی با تصویب قوانین و مقررات ویژه ای توانسته اند بهداشت و سلامتی مواد غذایی تولیدی خود را تامین نمایند.

1-3-1 تاریخچه :

در سال ۱۹۶۰ بیش از صد هزار بوقلمون جوان در کشور انگلیس در اثر یک بیماری جدید تحت عنوان بیماری **TURKEY X** در عرض چند ماه از بین رفتند. محققین پس از مطالعات و بررسیهای دقیق دریافتند که بیماری تنها محدود به بوقلمون نشده و در جوجه اردکها و بلدرچین های جوان منجر به تلفات سنگینی شده است، همچنین به این نتیجه رسیدند که عامل بیماری از طریق تغذیه با بادام زمینی^(۱) برزیلی به طیور مزبور منتقل و باعث مرگ و میر آنها شده است. سرانجام بعد از آزمایشات متعدد مشخص گردید که خوراک مورد نظر بر اثر آلودگی با نوعی سم که منشا قارچی دارد باعث تلفات طیور گردیده لذا در سال ۱۹۶۱ قارچ تولیدکننده بیماری را **ASPERGILUS .FLAYUS** و سم حاصله را **AFLATOXIN** نامگذاری کردند. کشف این سموم موجب شد که مسئولین امر به زیانهای حاصله از سموم قارچی به عنوان عامل آلوده کننده مواد غذایی و ایجاد بیماری و حتی مرگ در انسان و حیوانات توجه بیشتری بنمایند. (۷)

در پائیز ۱۹۷۴ بیماری افلاتوکسیکوزیس در دو ایالت شمالی و ۱۵۰ روستای کشور هند اتفاق افتاد که در این همه گیری ۳۹۷ نفر بیمار شدند که از این تعداد ۱۰۸ نفر جان باختند. در سال ۱۹۸۲ بیماری مزبور در کشور کنیا مشاهده گردید.

در سال ۱۹۸۳ **AUTRUP** و همکاران برای اندازه گیری افلاتوکسین در ادرار از روش **SYNCHRONOUS FLURECENCE SPECTROSCOPY** استفاده کردند.

در سال ۱۹۸۶ **WILD** و همکاران روشهای ارزیابی سیستم ایمنی را که دارای حساسیت قابل توجهی است، برای تعیین میزان افلاتوکسین در مایعات بدن انسان بکار بردند.

در سال ۱۹۸۸ **IARC**^(۱) افلاتوکسین **B1** را در لیست مواد سرطانزای انسانی قرار داد. (۱۱ و ۱)
بر اساس گزارشات سازمان غذا و کشاورزی سازمان ملل متحد (**FAO**) هر ساله میلیونها تن مواد غذایی در اثر آلودگی با مایکوتوکسین ها از بین می رود لذا در سال ۱۹۸۸ برنامه ریزیهای زیادی همراه با کارگاههای آموزشی برای کنترل بهداشتی مواد غذایی در سرتاسر دنیا صورت گرفت (۴).
در سال ۱۹۹۰ بنابه گزارش مرکز کنترل بیماریها^(۲) در کشور آمریکا عامل ایجاد بسیاری از موارد مسمومیت های غذایی، میکربها و قارچهای بیماریزا بوده اند.

از سال ۱۹۹۰ روش **TLC** به عنوان یکی از روشهای متداول جداسازی افلاتوکسین مورد توجه بوده و به منظور تشخیص و تعیین مقادیر کمی افلاتوکسین به کاررفته است. در این روش میزان سم بر حسب **NG/G** گزارش می شود. (۷)

1-3-2 نحوه تولید و ساختار شیمیایی افلاتوکسین

افلاتوکسین ها ، میکوتوکسین هائی هستند که توسط دونوع کپک به نامهای **ASPERGILUS.FLAVOUS** و **ASPERGILUS.PARASITICUS** ایجاد می شوند. در کلمه **AFLATOXIN** حروف **A** و **F** به ترتیب نماینده جنس قارچ یا **ASPERGILUS** و گونه آن یا **FLAVOUS** می باشند که با لغت **TOXIN** ترکیب شده است. (۸و۹).

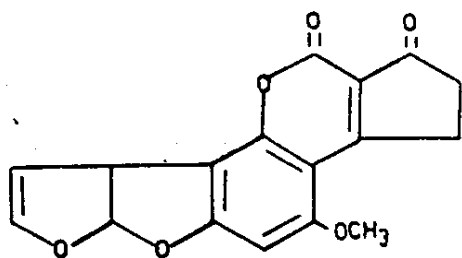
مطالعات زیادی در مورد گونه های این قارچ شامل **ASPERGILUS.PARASITICUS** و **ASPERGILUS.FLAVOUS** و **ASPERGILUS.NOMIUS** و **ASPERGILUS.NIGER** در دانشگاهها و مراکز تحقیقاتی جهان صورت پذیرفته است. براساس این مطالعات در طبیعت چهار نوع افلاتوکسین اصلی شامل **B1** و **B2** و **G1** و **G2** و دو نوع محصولات متابولیکی به نامهای **M1** و **M2** وجود دارند که می توانند خوراکیهای دام و انسان همانند ذرت ، سورگوم ، گندم ، سویا ، کنجاله پنبه دانه ، بادام زمینی ، آجیل ها ، خشکبار را آلوده سازند. (۱۴ و ۹ و ۷ و ۲)

1-INTERNATIONAL AGENCY RESEARCH CANCER 2-CENTER CONTROL DISEASE

آفلاتوکسین های **M1** و **M2** برای اولین بار از شیر دامهایی که با خوراک آلوده تغذیه شده بودند ، جدا شدند. (۷ و ۲) این سموم دارای ساختمان ملکولی مشابهی بوده و یک گروه از ترکیبات اکسیژن دار هتروسیکلیک را تشکیل می دهند. (۷)

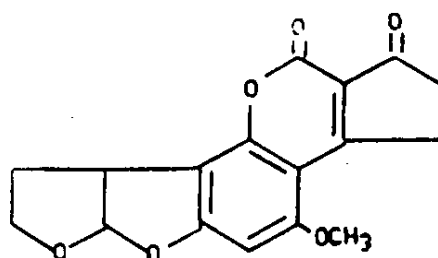
افلاتوکسین های **G2, B2** مشتقاتی از **G1, B1** بوده و افلاتوکسین های **M2, M1** به ترتیب از افلاتوکسین های **B2, B1** حاصل می گردند و فرمول ملکولی آنها به شرح زیر است

آفلاتوکسین B₁



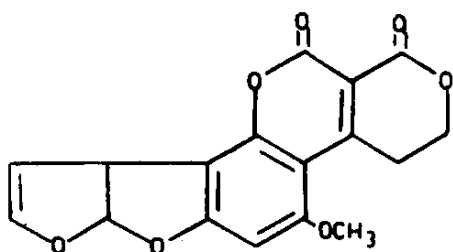
I. B₁

آفلاتوکسین B₂



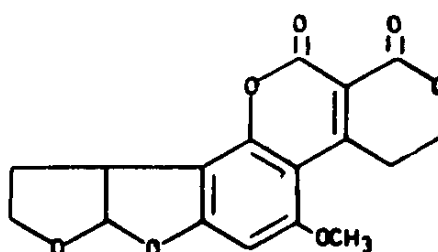
II B₂

آفلاتوکسین G₁



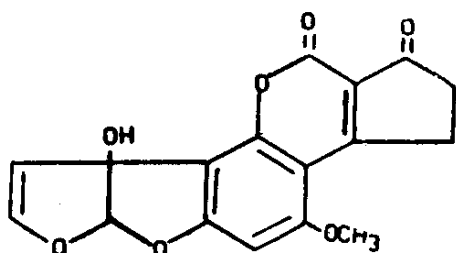
III. G₁

آفلاتوکسین G₂



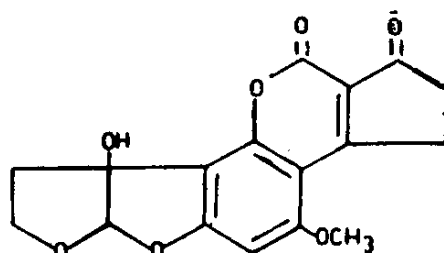
IV. G₂

آفلاتوکسین M₁



V M₁

آفلاتوکسین M₂



VI M₂

شکل الف-۱- فرمول مولکولی باز انواع سموم آفلاتوکسین

چنانچه گاو شیری از خوراک دام آلوده به افلاتوکسین **B** تغذیه نماید آنزیمهای موجود در کبد آن را به افلاتوکسین **M** تبدیل کرده که در شیر وادرار را دفع می شود. (۴۶)

این سموم در شیر، پنیر، بادام زمینی، تخم پنبه، مغز بادام، چاشنی‌ها، انجیر و در انواع مختلف خوراکی‌های انسانی و دامی یافت شده و قابل اندازه‌گیری است گاهی تخم مرغ و محصولات گوشتی به علت استفاده از خوراک آلوده، آلودگی به افلاتوکسین را نشان می‌دهند. افلاتوکسین‌ها از مسائل مهم بهداشت عمومی به شمار می‌روند و می‌توانند در کلیه مراحل تولید، فرآوری، حمل و نقل و ذخیره به مواد غذایی آسیب برسانند. (۷)

فاکتور هائی که می‌توانند زمینه‌های لازم جهت رشد قارچ و تولید افلاتوکسین را ایجاد نمایند شامل آلودگی محصولات کشاورزی قبل از درو، به تعویق افتادن زمان خشک کردن محصولات و بالا بودن درصد رطوبت آن آفات نباتی و انباری، شرایط نگهداری مواد غذایی در انبار (از نظر میزان درجه حرارت و رطوبت) می‌شوند. همچنین عواملی نظیر استرس ناشی از کمبود آب و خشکسالی، باروری ضعیف گیاهان و تراکم زیاد آنها در مزرعه، وجود علفهای هرز، افزایش درجه حرارت محیط در ازدیاد کپکها و تولید سم نقش دارند. (۷ و ۴ و ۲)

حساسیت فردی حیوانات به سم افلاتوکسین به طور قابل توجهی متفاوت بوده و به گونه، سن، جنس، و تغذیه حیوان بستگی داشته به طوریکه حیوانات جوانتر دارای بیشترین حساسیت به این سم می‌باشند. عواملی نظیر وضعیت تغذیه، وجود عوامل بیماری‌زایمانند ویروس هپاتیت و یا آلودگی‌های انگلی در ایجاد بیماری در انسان نقش داشته و مواردی مانند محدودیت دسترسی به مواد غذایی، فراهم بودن وضعیت محیطی مناسب جهت رشد قارچها، نبود سیستم کنترلی و مراقبت بخصوص هنگامی که انسان برای مدت طولانی در معرض دزهای کم سم قرار دارد، می‌تواند موارد بروز بیماری را افزایش دهند. (۷)

1-3-3 اثرات سم افلاتوکسین در بهداشت و سلامتی انسان و حیوان:

افلاتوکسین‌ها از عمده‌ترین مواد جهش‌زا شناخته شده‌اند. براساس شواهد آزمایشگاهی که بر روی حیوانات آزمایشگاهی بعمل آمده، این سموم قادرند باعث سرطان کبد در اکثر این حیوانات شوند. براساس مطالعات انجام شده، رابطه‌ای بین سرطان و مصرف افلاتوکسین **B1** وجود دارد و مصرف مداوم غذاهای آلوده به مقادیر کم افلاتوکسین **B1**، شانس ابتلا به سرطان کبد را افزایش می‌دهد (سامراجیوا، ۱۹۹۰). افلاتوکسین‌ها در طیف وسیعی از مواد غذایی نظیر خوراک دام و طیور، شیر، آرد گندم، آرد سویا، کشمش، پنیر، ماست، سوسیس‌های تخمیری، گوشت‌های عمل‌آوری شده و ... مشاهده شده است.

در صورت کپک زدگی خوراک دام و تولید آفلاتوکسین **B1** در آن، مشتقات هیدرو آن یعنی آفلاتوکسین **M1** در شیر مشاهده می شود که همانند **Af B1** اثرات هپاتو توکسینی و سرطان زایی دارد البته باید ذکر شود که تحقیقاته محققین مختلف وجود آفلا توکسین های **M1, M2** را در شیر گزرا رش کرده اند که همگی آنها مشتقات آفلا توکسین های **B1, B2** می باشند. اما مهمترین آفلا توکسینی که در شیر و فراورده های لبنی وجود دارد نوع **M1** می باشد.

انسان بوسیله مصرف غذاهای آلوده در اثر رشد قارچها در معرض خطرات ناشی از سم قرار گرفته و چون جلوگیری از رشد قارچها در مواد غذایی آسان نیست بنابراین پیشگیری از بیماریهای قارچی در انسان و حیوان مشکل می باشد.

در بعضی از کشورهای جهان مانند تایوان، اوگاندا و هندوستان مواردی از بروز افلاتوکسیکوزیس انسانی در اثر مصرف غذاهای آلوده، گزارش شده است اما در کشورهای توسعه یافته به دلیل وجود سیستم های کنترلی دقیق، فروش مواد غذایی آلوده ممنوع بوده و بیماری به ندرت مشاهده می شود. (۷)

علائم بالینی مشاهده شده در انسان شامل استفراغ، درد ناحیه شکم، ضایعات حاد کبد مثل **FATTY CHANGE**، ادم ریوی، لرزش عضلانی، کوما، تشنج و مرگ همراه با ادم مغز و درگیری اندامهائی نظیر کبد کلیه ها و قلب می باشد. (۷ و ۴ و ۲) افلاتوکسین **B1** از عوامل تراژدیک موتاژنیک و سرطانزای انسانی است (۱۹ و ۱۴ و ۳)

اگر انسان روزانه برای مدت طولانی کمتر از ۱۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن افلاتوکسین **B1** دریافت نماید به عوارض زود گذر و موقتی مبتلا می شود اما چنانچه این میزان به ۵۰ میکروگرم برسد اثرات بالینی مهمی رخ خواهد داد و تظاهرات اپیدمیولوژیکی اتفاق می افتد. (۲).

مطالعات انجام شده در آسیا و آفریقا نشان می دهد که جیره های غذایی حاوی افلاتوکسین از عوامل ایجاد سرطان کبد در انسان هستند بنابراین محققین بیمارستانها و مراکز درمانی سراسر جهان در جستجو و تلاش برای مشخص نمودن علل سرطان کبد می باشند. آنها پس از بررسیهای زیادی پی برده اند که افرادی که در معرض فاکتورهای خطر مانند هپاتیت، سیروز کبدی، افلاتوکسین ها، پیری و عوامل ارثی قرار دارند احتمال ابتلا به سرطان کبد در آنها بیشتر است. فاکتورهای خطر عواملی هستند که شانس ابتلا انسان را به یک بیماری افزایش می دهند. (۱۸)

علائم بالینی مشاهده شده در حیوانات شامل اختلال در دستگاه گوارش، جلوگیری از فعالیت سیستم ایمنی، کاهش تولید مثل، افزایش ضریب تبدیل غذا، کاهش شیر و تخم مرغ، کم خونی، یرقان و کاهش رشد می

باشد. ایجاد سرطان توسط افلاتوکسین به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است و کید اندام اصلی است که در بیشتر گونه ها آسیب می بیند. نتایج حاصله از این مطالعات حاکی از آن است که افلاتوکسین های **G1.M1, B1** باعث ایجاد انواع سرطان در گونه های مختلف حیوانات می شوند. در حیواناتی که تحت تاثیر افلاتوکسین قرار گرفته اند، اشتها کم شده تلفات ناشی از این سموم قابل مشاهده است (۷ و ۴) چنانچه میزان دریافتی افلاتوکسین در خوراک خوک بین **100-400PPB** باشد، میزان رشد کاهش می یابد. اما اگر میزان دریافتی بیش از **400PPB** گردد ضایعات کبدی، خونریزی در اندامهای داخلی و حتی مرگ مشاهده خواهد شد در حلیکه علائم بالینی در گوساله و گاوهاوقتی ظاهر می شود که به ترتیب میزان **150PPB** و **600PPB** افلاتوکسین را دریافت کرده باشند..

در شکل مزمن علاوه بر ضایعات کبدی، کاهش رشد، کاهش راندمان تغذیه، ضایعات کلیوی، اختلال در متابولیسم پروتئین ها و چربی ها دیده شده و در شکل حاد بیماری علائمی نظیر بی حالی، درد ناحیه شکم، اسهال، **RECTAL PROLAPSE** و سرانجام مرگ مشاهده میشود. (۱۷ و ۵)

افلاتوکسین ها می توانند نکروز حاد، سیروز و تومورهای کبدی، را در گونه های مختلف حیوانی ایجاد کنند به عنوان مثال افلاتوکسین **B1** در بسیاری از گونه ها شامل پستانداران، پرندگان، ماهیها و جوندگان سرطانزا می باشد. براساس تحقیقات بعمل آمده **LD50** سم برای اکثر گونه ها گزارش شده است. (۱) افلاتوکسین ها در کبد حیوانات متابولیزشده **./5-10MG/KG** و غلظت زیاد آن می تواند باعث بیماریهای کبد و سرانجام مرگ حیوان شود. امادر غلظتهای کم می تواند عوارض گوناگونی مانند ایجاد نواقص مادرزادی، خونریزی در عضلات و کاهش فعالیتهای سیستم ایمنی را در بر داشته باشد. (۱۹)

حدکثر میزان مجاز افلاتوکسین در خوراک دام و یاشیر که مخاطره ای برای انسان ایجاد نمی کند را **ACTION LEVEL** می نامند چنانچه به منظور کاهش میزان سم، غذای آلوده به افلاتوکسین با غذای دیگری مخلوط شود به طوریکه میزان **AL** آن کمتر از **20PPB** گردد، به دلیل تهدید سلامتی جامعه قابل استفاده برای گاو شیری نیست. همچنین اگر **AL** شیر بیشتر از **./5PPB** باشد قابل مصرف نبوده و باید معدوم گردد. (۶).

1-3-4 روشهای خنثی سازی افلاتوکسین :

برای خنثی کردن و یا کاهش میزان سم افلاتوکسین روشهایی زیر پیشنهاد گردیده است.

- ۱- جداسازی فیزیکی
- ۲- غیر فعال کردن توسط حرارت
- ۳- پرتونگاری
- ۴- استخراج توسط حلال
- ۵- جذب از محلول
- ۶- غیر فعال کردن توسط میکربها
- ۷- تخمیر

از بین روشهای یاد شده، روشهای شیمیائی به عنوان استراتژی اصلی جهت خنثی سازی به کار می رود. مواد مختلف شیمیائی جهت غیر فعال کردن افلاتوکسین مورد آزمایش قرار گرفته اند. محققین پس از بررسی و مطالعه به این نتیجه رسیده اند که بیشترین مواد به دلیل ایجاد باقیمانده در مواد غذایی امنیت لازم را ندارند. در بین این مواد آمونیاک و بی سولفیت سدیم اشکالات فوق را نداشته لذا جهت خنثی سازی و یا کاهش سم قابل استفاده می باشند.

تحقیقات اخیر نشان می دهد که مواد مغذی موجود در جیره شامل پروتئین ها، چربی ها، ویتامین ها، عناصر کمیاب، مواد افزودنی نظیر آنتی بیوتیکها و مواد نگهدارنده باعث کاهش اثرات سمی افلاتوکسین می گردد. لذا جهت خنثی کردن اثرات افلاتوکسین روشهای جدیدی مورد مطالعه قرار گرفته است که در این روشها مواد جاذب غیر آلی که به جاذبهای شیمیائی معروف هستند به جیره غذایی حیوانات اضافه می شوند. یکی از این مواد **HSCAS**^(۱) می باشد که ضمن اتصال به ملکولهای افلاتوکسین، آن را بی حرکت کرده و از جذب آنها توسط بدن جلوگیری می کند. (۱۱ و ۷ و ۵)

1-HYDRATEDSODIUM CALCIUM ALUMINOSILICATE

بر اساس بررسیهای صورت گرفته موادی مانند **SODIUM ALUMINIUM SILICATES** و **BENTONITES** می توانند با بعضی از افلاتوکسین ها متصل شده و از جذب آنها جلوگیری کنند. موادی مانند **(MOS) MANNAN OLIGO SACHARIDES** که از سلولهای مخمر تولید

مشوند ممکن است در کاهش اثرات سم تاثیر داشته باشند. به هر حال مواد فوق به عنوان مواد افزودنی ضد افلاتوکسین در کشور آمریکا شناخته شده اند. (۱۲ و ۱)

5-3-1 زیانهای اقتصادی ناشی از افلاتوکسین :

زیانهای اقتصادی ناشی از آلوده شدن مواد غذایی و خوراک دام و طیور به افلاتوکسین ها شامل خسارات اقتصادی وارده به صنعت دامپروری، تلفات دام و طیور، زیانهای وارده به محصولات کشاورزی، شیوع بیماریهای دامی در دامداریها و مرغداریها، ضعیف شدن سیستم ایمنی دامها، کاهش رشد و تولید، افزایش ضریب تبدیل مواد غذایی، هزینه های برنامه ریزی جهت کاهش خطرات می گردد. براساس گزارشات سازمان **FAO** سالانه ۲۰٪ از محصولات غذایی تولید شده در دنیا توسط سموم قارچی آلوده می شوند که در این آلودگی افلاتوکسین ها سهم بیشتری نسبت به سایر سموم دارند. همچنین میزان زیانهای ناشی از حذف مواد غذایی آلوده و خسارات وارده به محصولات کشاورزی آمریکا در هر سال ۱۰۰ میلیون دلار اعلام شده است (۷ و ۴ و ۳)

بر طبق بررسیهای بعمل آمده توسط **CDC (CENTER DISEASE CONTROL)** و **FDA** ۱۴-۳ درصد از جمعیت آمریکاسالیانه به مسمومیت غذایی مبتلا می شوند که از این تعداد تقریباً ۹۰۰۰ نفر در سال در اثر مایکوتوکسین ها و باقیمانده های داروئی، مواد شیمیائی کشاورزی و هورمونهای از بین می روند.

بنابر آنچه ذکر گردید در حال حاضر پیشگیری و خنثی کردن این سموم در خوراک دام و انسان از مسائل مهمی است که صنایع غذایی دنیا با آن روبرو است و بایستی جهت حفظ بهداشت و سلامتی افراد جامعه با برنامه ریزیهای دقیق نسبت به حذف آنها از مواد غذایی اقدام نمود.

6-3-1 حالات ممکن برای ایجاد آلودگی

- **1-6-3-1** قبل از برداشت: (**pre – harvest**) بسیاری از عوامل تشکیل مایکوتوکسین ها مربوط به مزرعه است از جمله خشکسالی، بارندگی، آلودگی حشرات و... در این مرحله تحقیقات نشان داده است که کاهش آلودگی محصول به حشرات برای کنترل مایکوتوکسین ها بسیار مهم می باشد. زیرا رشد کپک در دانه های صدمه دیده بیشتر می باشد. همچنین رطوبت بالا و خشکسالی که شرایط بحرانی محسوب

میشوند نیز میتوانند عامل ایجاد مایکوتوکسین ها باشند. علاوه بر این امروزه استفاده از مهندسی ژنتیک برای تولید گونه های محصولات کشاورزی مقاوم به قارچ رایج شده است .

1-2-6-3-1 برداشت (harvest) طبق مطالعات انجام شده زمان برداشت بر تشکیل

مایکوتوکسین ها اثر دارد. زمان برداشت باید هنگامی باشد که محصول کاملاً " رشد کرده و چرخه رشد آن کامل شده باشد. محصولاتی که در مزرعه مدت زمان بیشتری باقی می ماند، بیشتر مستعد تشکیل مایکوتوکسین ها می باشند. همچنین عامل مهم دیگر در زمان برداشت، مدیریت باقی مانده محصول در مزرعه می باشد، زیرا باقی مانده محصولات عاملی برای بقاء اسپوره های قارچی و آلودگی ناشی از آن در محصولات بعدی می باشد. بنابراین مدیریت صحیح باقی مانده محصول می تواند از بروز این مشکل جلوگیری کند.

1-2-6-3-1 مراحل مختلف پوست کنی و خشک سازی:

پسته باید بلافاصله بعد از برداشت پوست گیری شوند. این عمل بوسیله چرخ های ویژه ای انجام می شود که بعضی از آنها بدون آب و بعضی همراه با آب پوست کنی را انجام می دهند. سپس پسته های پوست کنی شده را داخل تانک آب غوطه ور می سازند. مواد باقیمانده از پوست سبز میوه ، شاخ و برگ و تقریباً ۱۰٪ (در کالیفرنیا) پسته ها بر روی سطح آب قرار می گیرند و پسته ای سالم و تمیز در وسط و ته تانک قرار می گیرند. پسته های که معمولاً بر روی آب قرار می گیرند پسته های می باشند که دارای مغزی رشد نکرده ، مقدار رطوبت کم، آفت زده و پرنده زده هستند. پسته های روآبی بطور مجزا از پسته های ته نشین شده فرایند می شوند. بعد از جداسازی پسته ها در مخزن آب باید پسته ها خشک شده تا رطوبت آنها به ۶ درصد برسد .

پیرسون ۱۹۹۵ گزارش داد که در مرحله پوست کنی و جداسازی بوسیله آب، پسته های که غلظت آفلاتوکسین در آنها بیشتر است عمدتاً به چهار گروه تعلق دارند :

۱. پسته های که پوست استخوانی آنها لک داشته و بصورت دستی جداسازی شده اند .

۲. پسته های که بوسیله ماشین **color sorter** جدا سازی شده اند .