



وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

دستورالعمل اجرایی

مدیریت اکراتوکسین A و قارچهای مولد
آن در کشمش

منصوره میرابولفتحی
روح الله کرمی اسبو
لاله حسینیان

شماره فروست

۵۱۲۰۷

۱۳۹۵



موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

عنوان دستورالعمل: مدیریت اکراتوکسین A و قارچ های مولد آن
در کشمش

عنوان پروژه‌های منتج به دستورالعمل

شماره پروژه	عنوان پروژه
۷-۱۶-۱۶-۸۹-۰۷۷	بررسی اکراتوکسین A و قارچ های مولد آن در کشمش

نگارنده: منصوره میرابولفتحی، روح الله کرمی اسبو و لاله حسینیان

ناشر: موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

نوع: دستورالعمل اجرایی

تاریخ انتشار: ۱۳۹۵



چکیده

اکراتوکسین A (OTA) زهرابه قارچی گروهی از قارچ هاست که عمدتاً توسط گونه های *Aspergillus* و *Penicillium* در کשמش، حبوبات، غلات، کاکائو، و گوشت حیواناتی که غذای آلوده به OTA در رژیم غذایی آنها وجود داشته یافت شده است. محل اصلی ایجاد سمیت ناشی از اکراتوکسین A کلیه ها بوده، سبب نارسایی کلیه شده و نهایتاً به سرطان آن منجر می شود، اکراتوکسین A سبب نارسایی کبد نیز می گردد. حد تحمل اکراتوکسین A در کشمش $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ در نظر گرفته شده است. کشمش ایران علاوه بر مصرف داخلی به کشورهای آلمان، ایتالیا، لیتوانی، اتریش، فرانسه، یونان، چین، کشورهای عربی، ژاپن و کانادا صادر می شود. مهمترین عامل محدود کننده صادرات کشمش در دنیا آلودگی آن به اکراتوکسین A است. با توجه به اثبات آلودگی کشمشهای آسیب دیده محصول بعضی از مناطق کشور به مقادیر بالایی از اکراتوکسین A و همچنین حصول جدایه های مولد اکراتوکسین A از گونه قارچ *Aspergillus carbonarius* از کشمشهای مذکور، ضروری است از آلودگی کشمش به قارچهای مولد این زهرابه قارچی و تولید زهرابدر کشمش مورد مصرف مردم و کشمش صادراتی جلوگیری به عمل آید. رعایت اصول صحیح کشت و جلوگیری از تماس انگور با



خاک، برداشت مناسب، رعایت اصول (Hazard Analysis and Critical Control Point) HACCP در طی مراحل مختلف فرآوری و انبار کشمش که به تفصیل در این دستور العمل بیان شده است، از میزان ریسک آلودگی کشمش به زهرابه قارچی اکراتوکسین A خواهد کاست.
واژه‌های کلیدی: اکراتوکسین A، کشمش



مقدمه

اکراتوکسین A (OTA) زهرا به قارچی گروهی از قارچ هاست که عمدتاً توسط گونه های *Aspergillus* و *Penicillium* در کشمش، حبوبات، غلات، کاکائو، و گوشت حیواناتی که غذای آلوده به OTA در رژیم غذایی آنها وجود داشته یافت شده است. محل اصلی اختلال های ناشی از اکراتوکسین A کلیه ها است که سبب نارسایی کلیه شده و نهایتاً به سرطان آن منجر می شود، اکراتوکسین A سبب نارسایی کبد نیز می گردد. حد تحمل OTA در غذای روزانه بسیار پایین و $1-16 \text{ ng/kg}$ وزن بدن انسان پیشنهاد شده است. مهمترین عامل محدود کننده صادرات کشمش در دنیا آلودگی آن به اکراتوکسین است. بر اساس قوانین کشورهای اروپایی حد تحمل اکراتوکسین A در کشمش $10 \mu\text{g/kg}$ در نظر گرفته شده است. کشمش میوه خشک و رسیده ارقام مختلف انگور می باشد. بر اساس آمار وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۴ سطح زیر کشت انگور ایران حدود ۳۰۰۰۰۰ هکتار و تولید آن معادل ۳۰۴۹۸۷۳ تن است. کشمش ایران به کشورهای هلند، آلمان، ایتالیا، لیتوانی، اتریش، فرانسه، یونان، چین، کشورهای عربی، ژاپن و کانادا صادر می شود. طی اجرای پروژه تحقیقاتی در سالهای ۱۳۹۰-۱۳۹۲ محصول کشمش استان خراسان در کاشمر، خلیل آباد، قوچان، استان قزوین در تاکستان، و استان آذربایجان شرقی در بناب، مراغه و ملکان از نظر آلودگی به



کراتوکسین A و قارچهای مولد آن در آزمایشگاه تحقیقات مایکوتوکسینهای موسسه تحقیقات گیاهپزشکی بررسی شد. همگی نمونه ها به قارچهای *Aspergillus section Nigri* آلوده بودند، لیکن میزان آلودگی متغیر بوده، و بیشترین آلودگی قارچی مربوط به کشمشهای غیر خوراکی و آسیب دیده بود که مصارف مستقیم خوراکی نداشتند.

در بازدید از کارگاههای منطقه کاشمر مشاهده شد که کشمشهای تغییر رنگ یافته ناشی از انگورهای آسیب دیده از کشمشهای سالم جدا شده و برای تهیه الکل یا لواشک از آنها استفاده می شد که بیشترین آلودگی ها قارچی مربوط به این کشمشها بود. از نظر نوع کشمش تفاوتی بین میزان آلودگی در کشمش سبز قلمی، بی دانه و پلویی مشاهده نشد، ولی کشمشهایی که پس از تیزاب روی زمین و بطریق آفتابی خشک شده بودند بیشتر از کشمشهای گوگردی آویخته در بارگاه آلودگی قارچی داشتند. جدایه های قارچی گروه *A. Nigri* تحقیق اخیر در شرایط مناسب توانایی تولید ۲/۳ ppb تا ۱۰۸/۸ اکراتوکسین A را داشتند. جدایه مولد بیشترین مقدار اکراتوکسین با مقدار ۱۰۸/۸ ppb از کشمشهای غیر خوراکی که در گویش محلی منطقه کاشمر "کله" نامیده می شوند جدا شد. بررسی پتانسیل تولید اکراتوکسین در جدایه های گروه *A. Nigri* نشان داد که از نظر چگونگی تنوع جدایه های مولد اکراتوکسین همه



جدایه های مولد اکراتوکسین A متعلق به گونه *Aspergillus carbonarius* بودند.

آلودگی به اکراتوکسین A در سه نمونه تاکستان، یک نمونه ملکان و یک نمونه کاشمر ردیابی شد، میزان آن در نمونه های آلوده تاکستان و ملکان کمتر از حد مجاز تعریف شده برای این مایکوتوکسین (10 ppb) و آلودگی نمونه کشمش کاشمر (100 ppb) بسیار بالاتر از حد مجاز تعریف شده بود (Mirabolfathy *et al.*, 2014).

از نظر مقایسه انواع کشمش در مراحل مختلف و تاثیر روشهای مختلف فرآوری در آلودگی کشمش نتایج بررسی نشان داد که بیشترین جدایه های *A. carbonarius* مولد اکراتوکسین، از کشمش نامرغوب غیر خوراکی که عمدتاً شامل انگورهای زخمی، آسیب دیده و لهیده بود حاصل شد (شکل ۱).





شکل ۱- کشمشهای آسیب دیده که عموماً آلودگی قارچی و مایکوتوکسینی بالا دارند

در ایران به منظور تهیه کشمش ابتدا پس از برداشت انگورها با استفاده از امولسیون روغن گیاهی و تیزاب (کربنات پتاسیم) و در موارد معدود به روشهای سنتی در آفتاب خشک می شوند. سپس با روشهای جدید (استفاده از بارگاههای توری و سیمی) و یا سنتی (آویختن با نخ) کشمش تهیه می شود و در مواردی در همین مرحله گوگردی می شود، سپس کشمش به کارخانه منتقل و در آنجا شستشو شده و گوگرد دهی می گردد. سپس مواد همراه حذف و در گرمخانه یا در آفتاب خشک و در بسته های بزرگ بسته بندی می شود (شکل ۳).



A - بارگاه‌های سیمی و سنتی برای خشک نمودن و گوگرد دهی



B - دستگاه‌های جداسازی خوشه‌ها و مواد همراه و شستشوی کشمش، جدا نمودن کشمش‌های معیوب و آسیب دیده روی ریل در کارخانه و دستگاه حذف دم کشمش

شکل ۳- مراحل فرآوری کشمش



دستور العمل

۱. استفاده از داربست برای جلوگیری از تماس میوه با خاک به خصوص در فصل رسیدن انگور.
۲. در حین جمع آوری محصول صدمه ای به آن وارد نشود. عوامل ایجاد فساد و آلودگی از محیط دور شوند. ساقه ها و خوشه های بزرگ از کشمش جدا شوند. در حین جمع آوری محصول به درجه حرارت آن توجه شود و حتما پس از سرد شدن کافی، در ظروف حمل قرار داده شوند.
۳. عملیات حمل محصول، می بایست بسرعت انجام شود و از ماندن محصول در معرض آفتاب، باد یا باران جلوگیری بعمل آید. انبار نمودن سریع و مناسب کشمش های آفتابی در جلوگیری از آلودگی اهمیت دارد، زیرا در برخی موارد بارانهای پاییزه سبب بهم چسبیدن کشمشها، انتقال آلودگی قارچی و تولید توکسین می شود.
۴. حین تیزابی کردن انگور، می بایست انگورهای آفت زده، نارس، چروکیده، کپک زده، و آلوده قبل از عملیات تیزابی کردن تا حد امکان از میوه جدا شده و دفع گردند تا موجب آلودگی آب و میوه ها نشوند.



۵. اصول HACCP در طی مراحل مختلف فرآوری کشمش رعایت شود، HACCP یک سامانه شناخته شده بین المللی برای کاهش خطر و ایمنی از ابتلا به مواد مضر موجود در مواد غذایی است. در این سامانه باید مضرات بالقوه در نقاط خاص، در پروسه تولید شناسایی و کنترل شود.
۶. تامین شرایط فرآوری مطلوب از احتمال تولید اکراتوکسین A در انواع کشمش می کاهد
۷. تسریع در پروسه خشک نمودن کشمش، عدم خشک نمودن روی زمین و خاک و استفاده از بارگاه سیمی از جمله شرایط مناسب فرآوری است.
۸. در کلیه محلهای خشک کردن، سکو باید از جنس بتن با سطح صاف و صیقلی به ارتفاع حداقل ۲۵ سانتی متر از سطح زمین و دارای شیب مناسب برای شستشو و ضدعفونی کردن باشد. سکوها باید دور از جاده های خاکی ماشین رو و محل عبور و مرور افراد، دور از محل نگهداری و عبور و مرور حیوانات اهلی، دور از منابع آلوده کننده و جمع آوری زباله باشد. سکوها مجاور تاکستان و محل برداشت و تیزابی کردن انگور باشد. قبل از شروع عملیات و پس از خاتمه آن شستشو و تمیز گردد. در مناطق بادخیز با بادشکن محافظت شود.



۹. در صورتی که برای خشک کردن کشمش از طبق استفاده می شود، این طبقها می بایست قابل شستشو، مشبک یا توری و از جنس مناسب برای صنایع غذایی باشند. استفاده از طبقهای چوبی و غیر قابل شستشو برای این منظور سبب انتقال آلودگی و افزایش بار آلودگی قارچی خواهد شد.

۱۰. اصول بهداشتی و تمیز کردن محوطه و دستگاه ها باید در زمان خشک کردن و مراحل فرآوری رعایت شود. محصول نهایی باید در جای خشک و خنک نگهداری شود

۱۱. در حین جمع آوری محصول خشک شده می بایست از ظروف قابل شستشو و ضد عفونی شده استفاده شود.

۱۲. رطوبت کشمش در هنگام انبار نباید بالای ۱۶-۱۳٪ و فعالیت آب a_w (نسبت فشار آب موجود در کشمش به فشار بخار آب خالص در حالت اشباع) نباید بیشتر از ۰/۶ باشد، در چنین شرایطی فعالیتهای میکروبی در کشمش امکان پذیر نیست. در مواردی که کشمش رطوبتی بیش از این مقدار دارد در اثر رطوبت شیره از کشمشها خارج شده و سبب آلودگی های قارچی بعدی می شود.

۱۳. نگاهداری کشمش در جعبه های چوبی با چهار چوب فلزی با حجم یک متر مکعب بجای استفاده از گونی های معمولی در انبار سبب کنترل انتقال آلودگی قارچی خواهد شد. در اثر فشار گونی ها روی



یکدیگر خروج شیره مشاهده می شود و سبب آلودگی های قارچی بعدی می شود. میوه ها و دانه های برداشت شده نباید بیش از حد گنجایش در ظروف حمل قرار داده شوند. از انباشتگی بیش از حد محصول روی یکدیگر و در نتیجه لهیدگی آن می بایست ممانعت بعمل آید.

۱۴. جدانمودن کشمشهای آسیب دیده و زخمی از سایر کشمشها آلودگی را کاهش می دهد (شکل ۲).



شکل ۲- جدانمودن کشمش های معیوب و آسیب دیده
۱۵. در صورت امکان بهتر است از دستگاه سورت لیزری جهت سورت نهایی کشمش استفاده گردد

۱۶. رعایت کلیه شرایط مندرج در آخرین تجدید نظر استاندارد ملی ایران، شماره 830 و 2199 در انبار نیز الزامی است.



منابع

- 1- M. Mirabolfathy, R. Karami-Osboo and L. Hosseinian. 2014. Ochratoxin A and ochratoxin - producing isolates of *Aspergillus* section *Nigri* in raisin in Iran. *Iran. J. Plant Path.*, Vol. 50: 1-16



Abstract

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin which contaminates different plant products, including cereals, coffee, beans, nuts, cocoa and dried grape. Ochratoxin A is a potent nephrotoxin. *Aspergillus* species were suggested as the main contributors for OTA spoilage of coffee and grape products mainly black *Aspergillus*, especially *A. carbonarius*. Grape bushes are cultured through 300000 hectares of several provinces dispersed in Iran. During 2010- 2012 a research was carried out on the monitoring of ochratoxin A and ochratoxin A - producing fungi in raisin of Khorasan, Azarbaijan, Qazvin provinces. The samples were collected from different processing stages of raisin and storages or factories. All raisin samples were contaminated to *Aspergillus* section Nigri species. To study ochratoxin A potential production of *Aspergillus* section Nigri species isolated from raisin, representative isolates checked by culturing in PDB medium. The mean of assumed ochratoxin A producing fungi contamination was 56.31 (0-100%) in raisin samples which were varied depending on different processing method, raisin varieties and locations. All *A. carbonarius* isolates produced ochratoxin between 0.78- 108.8 ppb. Ochratoxin A was found in five samples out of 44 raisin samples at the contaminated levels from 0.4 to 100 ng/g. Contamination of Takestan and Malekan samples were less than tolerated limit for this mycotoxin (10 µg/kg), but contamination in one Kashmar's sample (100ppb) was much more than tolerated limit in raisin. Regarding to detection of ochratoxin A in a few damaged raisin lots which used for other indirect consumption like vinegar produced in some provinces, GAP principles must be implemented in orchards and during harvest time as well as HACCP principles during processing and storage stages. The prioritized GAP and HACCP principles were discussed in this instruction title.



Key words: Ochratoxin A, Raisin

Ministry of Jihad-e-Agriculture
Agricultural Research, Education & Extension Organization
Iranian Research Institute of Plant Protection

Instruction Title: Management of ochratoxin A and
ochratoxin A- producing fungi in raisin

Project Titles:

Project Title	Project Number
Study on ochratoxin A and ochratoxin A- producing fungi in raisin	7-16-16-89-077

Author: Mansoureh Mirabolfathy, Rouhollah Karami-
Osboo, Lale Hoseinian

Publisher: Iranian Research Institute of Plant Protection

Date of Issue: 2016



**Ministry of Jihad-e-Agriculture
Agricultural Research, Education & Extension Organization
Iranian Research Institute of Plant Protection**

Applied Instruction

Management of ochratoxin A and ochratoxin A- producing fungi in raisin

**Mansoureh Mirabolfathy, Rouhollah Karami-
Osboo, Lale Hoseinian**

**2016
Registration No.**

51207