



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

دستورالعمل اجرایی

مدیریت آفلاتوکسین و قارچهای مولد آن در فندق

منصوره میرابوالفتحی، روح الله کریمی اسبو
و سید عبدالله میرحسینی مقدم

شماره فروست

۵۳۳۴۷

۱۳۹۶



موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

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

عنوان دستورالعمل: مدیریت آفلاتوکسین و قارچ‌های مولد آن در
فندق

عنوان پروژه‌های منتج به دستورالعمل

| شماره پروژه | عنوان پروژه |
|--------------|--|
| ۰۱۶-۱۶-۸۶۰۹۹ | بررسی آفلاتوکسین و قارچ‌های مولد آن در فندق استان گیلان |

نگارنده: منصوره میرابو الفتحی، روح‌الله کرمی اسبو و سید عبدالله

میرحسینی مقدم

ناشر: موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

نوع: دستورالعمل اجرایی

تاریخ انتشار: ۱۳۹۶



چکیده

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های قارچی هستند که عمدتاً بوسیله دو گونه قارچی *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus* تولید می‌شوند. این گروه از زهرابه‌های قارچی مسبب سمیت‌های کبدی شدید و عوامل سرطان‌زا و جهش‌زای ژنتیکی قوی هستند. سطح زیر کشت باغات فندق در گیلان بالغ بر ۱۲۵۰۰ هکتار تخمین زده شده است. حد تحمل آفلاتوکسین در خشکبار $5-15 \mu\text{g/kg}$ در نظر گرفته شده است. تا قبل از انجام پروژه "بررسی آفلاتوکسین و قارچ‌های مولد آن در فندق استان گیلان" در مورد وضعیت آلودگی فندق ایران به آفلاتوکسین و قارچ‌های مولد آن که مصرف داخلی دارد تحقیقی صورت نگرفته بود. به منظور روشن شدن وضعیت آلودگی فندق ایران به آفلاتوکسین و قارچ‌های مولد آن در دو سال متوالی ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷، مجموعاً تعداد ۹۰ نمونه که نماینده شرایط متنوع آب و هوایی و اقلیمی منطقه، انواع انبارها و شرایط فرآوری بود از مراحل زمان برداشت از روی درخت، پس از دوره انبارداری در شرایط متعارف محلی و پس از فرآوری، از نظر آلودگی به قارچ‌های مولد



آفلاتوکسین و میزان آفلاتوکسین بررسی شد. نتایج نشان داد، علیرغم اینکه ۴۵٪ تعداد نمونه های مرحله باغ در سال ۱۳۸۶ و ده درصد در سال ۱۳۸۷ آلوده به گونه های قارچی مولد آفلاتوکسین آلوده بودند، ولی میزان آلودگی قارچی در هر نمونه کم و در حد $1/7-1\%$ بود. همچنین در نمونه های این مرحله، آلودگی به آفلاتوکسین بسیار ناچیز و در حد $0.4-1\text{ ppb}$ بود، این امر بیانگر ریسک پایین آلودگی به آفلاتوکسین در باغ است. پس از سه ماه انبار فندق در انبارهای محلی، جمعیت قارچ-های مولد آفلاتوکسین به $2/9\%$ افزایش یافت، ولی در پایان این دوره آفلاتوکسین در مغز فندق های انبارداری شده ردیابی نشد که این امر را می توان به دلیل بسته بودن اپی کارپ فندق دانست. در حالیکه $60-50\%$ درصد نمونه های کارگاه ها آلوده به آفلاتوکسین و قارچ های مولد آن بود و به دلیل شرایط نامناسب کارگاه های سنتی فرآوری، در طی این مرحله آلودگی به قارچ های مولد آفلاتوکسین با میانگین دو ساله 55% و آفلاتوکسین با میانگین دو ساله 54 ppb رخ داده بود. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، کارگاه های سنتی و غیر بهداشتی چند منظوره که در حال حاضر فرآوری فندق در آنها انجام می شود باید به کارگاه های فرآوری جدید، بهداشتی و مناسب تبدیل شود و روش های فرآوری



مکانیزه جایگزین روش های سنتی به خصوص در مرحله خیساندن فندق
شود.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین، فندق، ایران



مقدمه

آفلاتوکسین‌ها گروهی از زهرا به‌های قارچی هستند که عمدتاً بوسیله دو گونه *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus*، در تعداد زیادی از محصولات غذایی مانند خشکبار و غلات تولید می‌شوند و به علت ایجاد سمیت‌های کبدی شدید در حیوانات آزمایشگاهی مختلف و تولید آن در محصولات گوناگون کشاورزی به عنوان آلوده کننده‌های مواد غذایی به خوبی شناخته شده‌اند (Jelkins *et al.*, 1989). آفلاتوکسین‌ها عوامل سرطان‌زا و جهش‌زای ژنتیکی قوی هستند (Busby *et al.*, 1985)، همچنین با هیپاتیت حاد، سندروم ری^۱ و سیروز^۲ در کودکان دچار فقر غذایی همراه بوده‌اند (Jelinek *et al.*, 1989). آژانس تحقیقات سرطان، آفلاتوکسین‌ها را جزء مواد سرطان‌زای انسانی (سرطان‌زاهای گروه ۱) طبقه‌بندی نموده است (Vainio *et al.*, 1993). در ایران عمده تحقیقات مربوط به آفلاتوکسین روی پسته و به دلیل محدودیت‌های صادراتی این محصول پر ارزش بوده است که حاصل این تحقیقات تامین شرایط مناسب و مکانیزه در مرحله فرآوری و در نتیجه کاهش آلودگی بوده است.

¹Reye's syndrome

²cirrhosis



فندق از گیاهان کم توقع و مقاوم به عوامل نامساعد محیطی است . وجود ریشه های افشان، رشد درختچه ای و تولید پاجوش فراوان سبب می شود این گیاه در جلوگیری از فرسایش خاک و تثبیت آن نقش موثری داشته باشد. فندق در جنگل های آستارا، ارسباران، تالش، کوههای الموت، و طارم زنجان به صورت خودرو می روید و انواع بومی آن شامل دو گونه *C. cornuta* و *Corylus avellanae* در ارتفاعات اشکورات (رودسر)، الموت قزوین، ارتفاعات دیلمان (سیاهکل)، ارومیه، مشهد، گرگان، آذربایجان شرقی (مرند و اسکو)، کردستان (بقایع مریوان) و در ارتفاعات فلات مرکزی بین قم و کاشان تا دلیجان مشاهده شده است. مهمترین کشورهای تولید کننده فندق در دنیا عبارتند از ترکیه، ایتالیا، اسپانیا، آمریکا و یونان که ترکیه به تنهایی ۷۰ تا ۸۰ درصد فندق دنیا را تولید می کند. ایران، فرانسه و رومانی نقش کمتری در تولید فندق جهان دارند. سطح زیر کشت باغات فندق در گیلان بالغ بر ۱۲۵۰۰ هکتار تخمین زده می شود که در جنگل های طوالش ، اشکورات رودسر و پیرکوه دیلمان در مناطق گرمابدشت، آسیاب، نیلو، گری گواهر، شیه، اسپیلی، آغوزین کندسر، زیاز، امام رئیسین، ملکوت، می کال و کاکرود به حالت خودرو و باغات دیده می شود . رقم غالب منطقه رقم گرد اشکورات می باشد.



یکی از مشکلات فندق صادراتی ترکیه به عنوان بزرگترین صادر کننده فندق به اروپا و آمریکا آلودگی آن به آفلاتوکسین است در ترکیه نمونه های فندق کمتر از $40 \mu\text{g/kg}$ آفلاتوکسین داشته اند، و بیشترین آلودگی آفلاتوکسین B1 $149/9 \mu\text{g/kg}$ و بیشترین آلودگی آفلاتوکسین کل $210/4 \mu\text{g/kg}$ بوده است (EU Report, 2002). بر اساس بررسی مایکوتوکسین های فندق موجود در فروشگاه های مصر، ۹۰ درصد نمونه ها میزان $25-175 \text{ ng/g}$ آلودگی آفلاتوکسینی داشته اند (Abdel-Hafez&Saber1993).

شرایط محیطی مناسب برای تولید آفلاتوکسین در فندق دمایی معادل $25-30^\circ\text{C}$ و رطوبت $97-99\%$ در صد گزارش شده است. (Diener&Davis, 1967; Schindler *et al.*, 1967; Northolt *et al.*, 1976; Simsek *et al.*, 2002) فاکتورهای دیگری مانند میزان آب فعال، رطوبت، ترکیب بستر (Sakai *et al.*, 1984)، مدت نگهداری در انبار و آسیب ناشی از تغذیه حشرات (Lynch & Wilson, 1991) در رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین دخالت دارند. تا قبل از این تحقیق در مورد چگونگی آلودگی فندق ایران به آفلاتوکسین و قارچهای مولد آن که مصرف داخلی دارد گزارشی وجود نداشت. نتایج اجرای این پروژه نشان داد: در باغ و انبار احتمال تولید آفلاتوکسین بسیار کم است، ولی پس از فرآوری میزان آلودگی به آفلاتوکسین در نمونه های مغز فندق $3/7-404 \text{ ppb}$ در سال اول و در نمونه های سال دوم $1/41-2/07 \text{ ppb}$ بود. بر اساس نتایج



این پروژه آلودگی مغز فندق به آفلاتوکسین در طی مراحل فرآوری اتفاق می‌افتد (میرابولفتحی و همکاران ۱۳۸۷).



شکل ۱- فندق‌های دهان بست با افزایش آلودگی‌های کپکی در سطح پوست، پس از دوره انبارداری



شکل ۲- نگهداری فندق به همراه بادام زمینی در کارگاه‌های فرآوری چند منظوره



شکل ۳- خشک نمودن فندق در گرمکن های چند منظوره پس از خیس نمودن

دستور العمل

۱. احداث انبارهای بهداشتی و با تهویه مناسب برای نگهداری در دوره زمانی برداشت تا فرآوری تا در این مدت شرایط رشد کپکها در سطح پوست و نفوذ آن به مغز فراهم نگردد (شکل ۱)
۲. پایین نگاه داشتن رطوبت کارگاه بلتمهیداتی مانند جلوگیری از نفوذ آب باران ، عدم انجام پروسه خیساندن ۲۴-۴۸ ساعته فندق در فضاهای باز حامل اسپور قارچ .



۳. انتقال حجم مناسبی از فندق قابل مصرف روزانه برای فرآوری در همان دوره ۴۸ ساعته به کارگاه به جای انبار نمودن طولانی مدت محموله های فندق در کارگاه فرآوری.

۴. نظر به این که کارگاه های محلی چند منظوره هستند و فرآوری بادام زمینی محصول منطقه و وارداتی و در مواردی تخمه آفتاب گردان نیز در این کارگاه ها انجام می شود (شکل ۲) ضروری است بقایای بادام زمینی خام موجود در کارگاه فرآوری فندق سریعاً معدوم شوند، بادام زمینی و به ویژه پيله - های آن به طور قطع منبع آلودگی قارچ های مولد آفلاتوکسین هستند.

۵. محموله ها و توده های بادام زمینی خام از کارگاه خارج ، در محل دیگری انبار و از پيله جدا شده و فقط برای نمک زنی و برشته نمودن به این کارگاهها منتقل شوند.

۶. از آنجا که در پروسه فرآوری فندق ابتدا پیلای کمک به خندان شدن، آنها را به مدت ۲۴-۴۸ ساعت خیس می کنند، این اقدام نباید در کارگاه های مذکور که دارای جمعیت بالای اسپور قارچ و شرایط مطلوب رطوبتی و دمایی برای جوانه زدن اسپور



و تولید آفلاتوکسین هستند، انجام شود، همچنین آب مورد استفاده برای خیس نمودن عاری از آلودگیهای میکروبی و قارچی شود.

۷. در مواردی، پس از این دوره مقداری از فندق‌ها دستی شکسته می‌شوند که بیشتر آلودگی در حین انجام این اقدام در کارگاه‌های فوق‌الذکر اتفاق می‌افتد.

۸. خشک نمودن توده‌ای و تدریجی فندق در مخازن باز و بادمای ناکافی، بدون جابجایی و هوای دهی توده‌ها از علل آلوده شدن فندق خیس به قارچ‌های مولد آفلاتوکسین در کارگاه‌های سنتی و تولید آفلاتوکسین بالا در فندق است (شکل ۳)، که این پروسه نیز باید مکانیزه و اصلاح شود.

۹. با توجه به اینکه کارگاه‌های سنتی فرآوری فندق در استان گیلان واقع در آستانه اشرفیه، غیر بهداشتی، سنتی و چند منظوره هستند، ضروری است کارگاه‌های فرآوری بهداشتی و مناسب احداث شوند و یا با استفاده از مصالح قابل شستشو در کف و دیوارها، بازسازی و تعمیر شوند و قسمت‌های غیر مسقف کارگاه با سوله فلزی مسقف شود، تا به این ترتیب



شرایط مطلوب برای جلوگیری از آلودگی مغز فندق به آفلاتوکسین فراهم گردد.

۱۰. اصول HACCP در طی مراحل مختلف فرآوری شامل خیس نمودن، شکستن و برشته نمودن فندق رعایت شود، HACCP 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 بحرانی، در طی پروسه فرآوری شناسایی و کنترل شود، در مورد فندق با رعایت بند های ۱-۸ این دستورالعمل این اصول در شرایط کنونی محقق می شود.

منابع

میرابولفتچی، م.، میرحسینی مقدم، س. ع.، کرمی اسبو، ر. ۱۳۸۷. بررسی آفلاتوکسین و قارچ مولد در فندق استان گیلان. هجدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران. صفحه ۵۴

- 1- Abdel-Hafez AI, Saber SM. Mycoflora and mycotoxin of hazelnut (*Corylus avellana* L.) and walnut (*Juglans regia* L) seeds in Egypt.1993. Zentralbl Mikrobiol 148:137-47.
- 2- Busby, W.F., Wogen, G.N., Searleed, C.E. (Ed), 1985, Aflatoxins, American chemical society, Washington DC., PP.1-15.
- 3- Diener,U.L.,Davis,N.D.,1967.Limiting temperature and relative humidity for growth and production of



- aflatoxin and free fatty acids by *Aspergillus flavus* in sterile peanuts. Journal American Oil Chemists 'Society 44,259 .263.
- 4- EU/Turkey: New aflatoxin scare prompts crackdown on imports of nuts and figs. European Report 2002; February 6.
 - 5- Food Standards Agency, Food Survey information sheet No. 21/02, 2002: Survey of nuts, nut products and dried tree fruits for mycotoxins. In: http://www.foodstandards.gov.uk/multimedia/pdfs/21_nuts.pdf
 - 6- Jelinek, C.F., Pohland, A.E., Wood, G.E., 1989, Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds –an update, Journal of AOAC, 72, 223-230.
 - 7- Lynch, R.E., Wilson, D.M., 1991. Enhanced infection of peanut, *Arachis hypogae* L. seeds with *Aspergillus flavus* group fungi due to external scarification of peanut pods by the lesser cornstalk borer, *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller). Peanut Science 18:110-116.
 - 8- Northolt, M. D., Verhulsdonk, C. A. H. , Soentoro, P. S. S. , Paulsch, W. E. 1976. Effect of water activity and temperature on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Journal of Milk and Food Technology 39:170 -174.
 - 9- Sakai, T., Sugihara, K., Kozuka, H., 1984. Growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* in plant materials. Journal of Hygienic Chemistry 30:62-68.
 - 10- Schindler, A. F., Palmer, J., Eisenberg, W. 1967. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* as related to various temperatures. Applied Microbiology 15:1006-1009.



- 11- Simsek,O., Arici, M., Demir,C. 2002.Mycoflora of hazelnut (*Corylus avellana* L.) and aflatoxin content in hazelnut kernels artificially infected with *Aspergillus parasiticus*. *Nahrung* 46,194-196.
- 12- Vainio, H., Heseltine, E., Wilbourn, J. 1993. Report on an IARC working group meeting on some naturally occurring substances. *Int. J. Cancer*, 53: 535-7.

Abstract

Aflatoxins are the highly toxic secondary fungal metabolites mainly produced by two fungal *Aspergillus* species: *A. flavus* and *A. parasiticus*, Aflatoxins have highly carcinogenic, mutagenic, and leave toxic effects for human and animal health. Approximately 12500 hectares of hazelnut trees were grown in Guilan province in the North of Iran. Aflatoxins are the secondary metabolites which produced mainly by *A. flavus* and *A. parasiticus*. Maximum tolerant limit of aflatoxin in nuts is 5-15 $\mu\text{g}/\text{kg}$. During 2008- 2010 a research project conducted to clear the aflatoxin and aflatoxin producing fungi contamination risk of hazelnut produced in Iran, mainly consumed in Iran. In this research project during two consecutive years, aflatoxin producing - *Aspergillus* species were monitored in hazelnut samples collected from Eshkevarat and Deilaman dry land areas in Guilan province at harvest time, after two months storing at local storages and after processing at the local processing sites. 90 samples were collected orchards with different geographical and environmental conditions and also different storages and processing sites. The results showed that at harvest time ,in spite of high incidence of aflatoxin producing fungi (45%), the contamination level of aflatoxin producing fungi and afltoxins in each sample was low,1-1.7% and 0.1- 0.4 ppb respectively.



The population density of *A. flavus* and *A. parasiticus* increased to 2.9% in hazelnut samples after 3 months of storing at local storages but due to closing the shells aflatoxin contamination was not occurred and aflatoxins were not found in the storages samples. After processing stages high levels of aflatoxins contamination (54 ng/g) and *A. flavus* and *A. parasiticus* (55%) spores were found in hazelnut samples. Based on the results obtained from this project it is recommended that the traditional stores must be renewed using HACCP principals.

Key words: Aflatoxin, Hazelnut, Iran.



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

Instruction Title: Management of aflatoxin and
aflatoxin producing fungi in hazelnut

Project Titles:

| Project Title | Project Number |
|--|----------------|
| Study on aflatoxin and aflatoxin-producing fungi in hazelnut (<i>Corylus avellana</i> L.) of Guilan | 016-16-86-099 |

Authors: Mansoureh Mirabolfathy, Rouhollah Karami-Osboo, S. Abdollah Mirhoseini Moghadam

Publisher: Iranian Research Institute of Plant Protection

Date of Issue: 2018



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

Applied Instruction

**Management of aflatoxin and aflatoxin
producing fungi in hazelnut**

**Mansoureh Mirabolfathy, Rouhollah Karami-
Osboo, S. Abdollah Mirhoseini Moghadam**

2018

Registration No.

53347