

آلودگی میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در محصول فرعی پسته

پیروز شاکری^{۱*}، حسن فضائی^۲

۱. بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و

ترویج کشاورزی، کرمان، ایران.

۲. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: Pirouz_shakeri@yahoo.co.uk

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۲

چکیده

هر سال پس از پوست‌گیری از پسته تازه، مقدار زیادی محصول فرعی پسته تولید می‌شود. این محصول ارزش غذایی مناسبی دارد و به‌عنوان خوراک دام مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه با هدف بررسی میزان آلودگی میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در محصول فرعی پسته تولیدی در شهرستان‌های کرمان، رفسنجان، زرنده و سیرجان در استان کرمان انجام شد. نمونه‌ها به تفکیک از پایانه‌های سنتی و صنعتی، در سه مرحله شامل اوائل، اواسط و اواخر دوره برداشت پسته و سه فاصله مختلف از زمان برداشت تا پوست‌گیری (۱-۲ ساعت، ۶-۵ ساعت و ≥ 13 ساعت) تهیه گردید. نمونه‌ها در مقابل آفتاب خشک و سپس آسیاب شدند. تمام نمونه‌ها در شرایط استریل کشت گردید و جمعیت کپک‌ها، کپک‌های آسپرژیلوس، باکتری‌های کلی‌فرم و اشریشیاکلی شمارش گردید. همچنین غلظت سموم آفلاتوکسین از طریق عصاره‌گیری از نمونه‌ها و با دستگاه HPLC تعیین شد. نتایج نشان داد که میانگین جمعیت کل کپک‌ها، کپک‌های آسپرژیلوس و باکتری‌های کلی‌فرم و اشریشیاکلی به ترتیب ۲۱۰۰۰، ۳۸۹۲، ۳۰۹۴ و ۱/۱ CFU در هر گرم و کمتر از حد مجاز آن برای خوراک دام بود، هر چند جمعیت میکروبی بین نمونه‌های شهرستان‌های مختلف ($P < 0/05$)، و جمعیت کپک‌ها بین نمونه‌های پایانه‌های سنتی و صنعتی ($P < 0/05$) متفاوت بود. با وجود تفاوت ($P < 0/01$) در غلظت سموم آفلاتوکسین بین نمونه‌های شهرستان‌ها، میانگین غلظت کل سموم در نمونه‌های محصول فرعی پسته ۰/۹ میکروگرم در هر کیلوگرم و کمتر از حد مجاز آن برای خوراک‌های دام بود. به‌طور کلی نتایج نشان داد که محصول فرعی پسته تولیدی در استان کرمان از نظر آلودگی‌های میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در حد قابل قبولی از سلامت قرار دارد.

واژگان کلیدی: محصول فرعی پسته، کپک‌ها، آفلاتوکسین، کلی‌فرم و اشریشیاکلی.

مقدمه

وجود آب و هوای خشک و نیمه خشک در اکثر مناطق کشور، محدودیت و فقر مراتع، کمبود منابع آب قابل دسترس، بارش اندک همراه با الگوی نامناسب بارش‌ها و استفاده نادرست از منابع موجود، سبب کمبود مواد خوراکی قابل استفاده در تغذیه دام شده است. در حال حاضر حدود ۳۳/۵ میلیون تن از خوراک مورد نیاز دام‌ها در داخل تولید می‌شود و حدود ۶/۵ میلیون تن باید از خارج از کشور تهیه شود. در سال ۱۳۸۸ بیش از ۸۵۵۰ هزار تن از انواع محصولات فرعی با قابلیت استفاده در جیره نشخوارکنندگان تولید شده است (دیانی و همکاران، ۱۳۸۸). در حالی که اخیراً پیشنهاد شده است که استفاده از محصولات فرعی کشاورزی در تغذیه حیوانات یک راه‌کار موفق برای کاهش هزینه‌های خوراک، کاهش آلودگی‌های زیست محیطی و همچنین بازگشت سریع و کم‌هزینه این مواد به چرخه طبیعت است (Vasta et al., 2008). محصول فرعی پسته

وجود آب و هوای خشک و نیمه خشک در اکثر مناطق کشور، محدودیت و فقر مراتع، کمبود منابع آب قابل دسترس، بارش اندک همراه با الگوی نامناسب بارش‌ها و استفاده نادرست از منابع موجود، سبب کمبود مواد خوراکی قابل استفاده در تغذیه دام شده است. در حال حاضر حدود ۳۳/۵ میلیون تن از خوراک مورد نیاز دام‌ها در داخل تولید می‌شود و حدود ۶/۵ میلیون تن باید از خارج از کشور تهیه شود. در سال ۱۳۸۸ بیش از

محصولات دامی تولید شده باشد. همچنین آلودگی‌های سالمونلایی و اشریشیاکلی از مهمترین آلودگی‌های باکتریایی هستند که از طریق خوراک دام و طیور منتقل شده و سبب ایجاد مشکلات بهداشتی می‌شوند. سوبه‌های مشخصی از اشریشیاکلی پاتوژن مهم روده هستند و باعث بروز انواع مختلفی از بیماری‌های گوارشی می‌گردد (Donnenberg, 2002). از این رو برای تعیین کیفیت بهداشتی مواد غذایی، بررسی آلودگی‌های باکتریایی به‌خصوص اشریشیاکلی به‌عنوان شاخص بهداشتی پیشنهاد شده است. از سوی دیگر برای جلوگیری از ورود آفلاتوکسین به زنجیره غذایی انسان، پایش مستمر میزان آفلاتوکسین در جیره دام‌ها و حذف عوامل موثر در تولید سموم در خوراک دام‌ها پیشنهاد شده است (مکتبی و همکاران، ۱۳۹۳). از آن‌جا که مصرف محصول فرعی پسته در تغذیه نشخوارکنندگان رو به افزایش است و با توجه به نگرانی‌هایی که در ارتباط با سلامت انسان با مصرف فرآورده‌های آلوده به آفلاتوکسین وجود دارد، پژوهش حاضر در استان کرمان به‌عنوان بزرگترین تولیدکننده پسته کشور، به‌منظور بررسی‌های میکروبیولوژیکی و تعیین غلظت سموم آفلاتوکسین در محصول فرعی پسته انجام شد.

مواد و روش کار

تهیه نمونه‌های محصول فرعی پسته برای بررسی محصول فرعی پسته از شهرستان‌های کرمان، رفسنجان، زرنده و سیرجان به‌عنوان مناطق اصلی تولید پسته در استان کرمان نمونه‌برداری انجام شد. در هر شهرستان دو پایانه سنتی و صنعتی پوست‌گیری و فرآوری پسته به‌صورت تصادفی انتخاب شد. سه مرحله زمانی برداشت پسته شامل ابتدا، اواسط و اواخر فصل برداشت به‌عنوان مراحل نمونه‌برداری در نظر گرفته شد. همچنین بر اساس فاصله زمان برداشت

یکی از مهم‌ترین محصولات فرعی کشاورزی است که شامل پوست نرم رویی، دُم خوشه‌ها، برگ‌ها، سرشاخه‌ها و مقداری پسته‌های پوک و نیمه مغز می‌باشد و گزارش شده است که میانگین تولید آن ۱/۶ برابر پسته خشک می‌باشد (شاکری و همکاران، ۱۳۹۴). در سال ۱۳۹۲ تولید پسته در کشور ۴۷۲۰۹۷ تن بوده است (FAO, ۲۰۱۵)، و با احتساب تولید محصول فرعی پسته به‌میزان ۱/۶ برابر پسته خشک، تولید آن ۷۵۵ هزار تن در سال برآورد می‌گردد. نتایج تحقیقات متعدد نشان داده است که محصول فرعی پسته از ارزش غذایی قابل توجهی برخوردار است و پتانسیل خوبی برای استفاده در جیره نشخوارکنندگان دارد (مهدوی و همکاران، ۱۳۸۷؛ مختارپور و همکاران، ۲۰۱۲ و شاکری، ۲۰۱۶). با توجه به کمبود و افزایش قیمت منابع خوراک دام در کشور، همچنین وفور، ارزان بودن و ترویج استفاده از محصول فرعی پسته به‌عنوان بخشی از جیره نشخوارکنندگان، سبب شده تا استفاده از آن در تغذیه دام‌ها رایج گردد. تقریباً آلودگی خوراکی‌های دام با آفلاتوکسین اجتناب‌ناپذیر است (کامکار، ۲۰۰۸). مطالعات انجام شده نشان داده است که برخی از مزارع پسته در استان کرمان به قارچ‌های مولد آفلاتوکسین آلوده می‌باشند (اصغری، ۱۳۷۸ و مرادی و معصومی، ۱۳۷۸). آفلاتوکسین‌ها ممکن است مستقیماً از طریق رشد کپک‌ها بر روی مواد گیاهی خوراکی تولید شوند و یا از طریق زنجیره غذایی به فرآورده‌های حیوانی نظیر شیر و یا گوشت منتقل شده و در آن‌ها تجمع یابند. در این شرایط سم به‌طور مستقیم از طریق مصرف غذای آلوده در بافت‌های مختلف حیوان و یا ترشحات آن‌ها ذخیره می‌گردد (Tabak and Cook, 1968). بنابراین تعیین این سموم در محصولات مورد استفاده در تغذیه دام‌ها می‌تواند سبب اطمینان خاطر بیشتر در مورد سلامتی محصولات مورد استفاده برای دام‌ها و سلامت

معین و متفاوت از استاندارد آفلاتوکسین آلوده نموده و پس از سنجش میزان آلودگی، درصد بازیافت با HPLC (Dionex, P680PUM) تعیین گردید (AOAC, 2002).

آماده سازی نمونه ها

به ۱۰ گرم از هر نمونه ۹۰ میلی لیتر محلول رینگر استریل اضافه شد (رقت ۰/۱). مجدداً ۹ میلی لیتر محلول رقیق کننده به یک میلی لیتر از محلول اخیر اضافه گردید و رقت ۰/۰۱ به دست آمد. با هم زدن و یکنواخت کردن محتویات لوله با رقت ۰/۰۱، یک میلی لیتر از آن به ۹ میلی لیتر محلول رقیق کننده در لوله سوم افزوده و رقت ۰/۰۰۱ حاصل شد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۲).

شمارش کلی فرم

مقدار ۱ میلی لیتر از محلول های با رقت ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ به دو پلیت اضافه گردید و سپس ۲۰ میلی لیتر محلول (Mae Conkey Agar) پس از ذوب و خنک شدن به آن ها اضافه گردید. پس از بسته شدن در پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه با ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از آن کلنی های ارغوانی شمارش گردید و با استفاده از رابطه زیر تعداد واحد مولد کلنی (CFU) تعیین گردید (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۲).

محصول تا زمان از پوست گیری آن در سه فاصله زمانی ۱-۲ ساعت، ۵-۶ ساعت و حدود ۱۳ ساعت و بیشتر نمونه برداری انجام شد.

برای نمونه برداری از محصول فرعی پسته تولید شده در هر مرحله، مدت ۱۵ دقیقه در محل تخلیه محصول و یا در مسیر نقاله انتقال محصول قرار گرفته و در فاصله زمانی هر یک دقیقه یک مشت از محصول برداشت گردید. به این ترتیب ۷۲ نمونه شامل: ۴ شهرستان \times ۲ نوع پایانه صنعتی و سنتی پوست گیری و فرآوری پسته \times ۳ مرحله برداشت \times ۳ مرحله زمانی برداشت تا پوست گیری تهیه گردید. نمونه های تهیه شده از هر پایانه در محلی تمیز در برابر آفتاب به صورت لایه ای نازک پهن گردید و تا خشک شدن کامل (حدود ۴ روز) روزانه ۲-۳ بار به هم زده شدند. نمونه های تهیه شده با آسیاب آزمایشگاهی مجهز به توری با منافذ به قطر ۰/۳ میلی متر آسیاب شد.

تعیین سموم آفلاتوکسین در نمونه ها

برای تعیین غلظت سموم آفلاتوکسین شامل B_1 ، B_2 ، G_1 و G_2 در هر نمونه، با افزودن ۴۰۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد، ۵۰ میلی لیتر هگزان و ۵ گرم NaCl به هر ۵۰ گرم از نمونه عصاره استخراج گردید. تمیزسازی عصاره با ستون های ایمنوافینیتری مخصوص جذب آفلاتوکسین (Co. 5 μ m, 120° A 25 \times 4.6 mm) انجام شد. با ۶ غلظت متفاوت از استاندارد آفلاتوکسین (SIGMA Co.) منحنی استاندارد تعیین شد. در نهایت دو نمونه فاقد آلودگی را با دو غلظت

$$\text{CFU} = \frac{\text{تعداد کلنی ها}}{\text{رقت نمونه در لوله} \times \text{مقدار نمونه کشت شده}} \quad \text{(تعداد میکروب در یک گرم یا یک میلی لیتر)}$$

اشریشیایی

شهرستان × ۲ نوع پایانه × ۳ مرحله برداشت × ۳ مرحله زمانی برداشت تا پوست‌گیری و بر اساس مدل زیر استفاده شد. میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند (SAS, ۲۰۰۳).

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + \varepsilon_{ijkl}$$

در این رابطه، Y_{ijkl} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، A_i اثر شهرستان، B_j اثر نوع پایانه، C_k اثر مرحله برداشت، D_l اثر زمان برداشت تا پوست‌گیری و ε_{ijkl} خطای آزمایشی می‌باشد.

نتایج

جدول ۱ نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین (۷۲ نمونه) در محصول فرعی پسته جمع‌آوری شده از استان کرمان در طول یک دوره برداشت پسته را نشان می‌دهد.

مناطق نمونه‌برداری

نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و تعیین غلظت سموم آفلاتوکسین در نمونه‌های محصول فرعی پسته به تفکیک شهرستان‌های پسته‌خیز در استان کرمان در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان آلودگی به باکتری /شیریشیاکلی در نمونه‌های محصول فرعی پسته از شهرستان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نداشتند، در حالی که نمونه‌های شهرستان سیرجان کمترین آلودگی به کپک‌ها و کلی‌فرم را در مقایسه با نمونه‌های سایر شهرستان‌ها نشان دادند ($P < 0/01$).

مقایسه غلظت سموم آفلاتوکسین در نمونه‌های شهرستان‌های مختلف نشان داد که نمونه‌های شهرستان سیرجان از نظر غلظت سموم G_1 , G_2 , B_1 و کل آفلاتوکسین آلوده‌ترین نمونه‌ها در استان کرمان می‌باشند و نمونه‌های شهرستان‌های کرمان و زرنده به ترتیب با غلظت $0/2083$ و $0/3174$ میکروگرم در کیلوگرم کمترین آلودگی به کل سموم آفلاتوکسین را داشتند ($P < 0/01$).

مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از محلول هر نمونه (رقت ۰/۱) به لوله دورهام‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت^۱ اضافه گردید و لوله‌ها به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در صورت وجود گاز در لوله دورهام، با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر معرف کواکس و تشکیل حلقه ارغوانی، ایکولای مثبت می‌باشد. برای شناسایی اشیریشیاکلی با افزودن معرف فنل‌رد به لوله حاوی محیط کشت، رنگ معرف به زرد تغییر می‌یابد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۲).

شمارش کپک‌ها

مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول‌های با رقت ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ به محیط کشت Y.G.C^۲ اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در گرمخانه با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. کلنی‌های مخملی شکل با رنگ‌های مختلف شمارش و در معکوس رقت و حجم استفاده شده ضرب گردید (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۲). برای تشخیص نوع کپک^۳ نیز از محیط کشت Y.G.C استفاده شد. تعدادی از کلنی‌های مخملی شکل در چهار گوشه محیط کشت قرار گرفت و به مدت ۷۲ ساعت در گرمخانه با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای تشخیص نوع کپک، بخشی از کلنی رشد یافته با انتقال بر روی لام و با استفاده از لاکتوفنل و عدسی ۴۰ از طریق کلیدهای شناسایی تشخیص داده شد. (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۲).

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه آماری داده‌های مربوط به شمارش تعداد کلی فرم، کل کپک‌ها و کپک‌های اسپرژیلوس، از لگاریتم بر پایه ۱۰ مقادیر استفاده شد. از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و رویه NESTED در قالب یک طرح آماری آشیانه‌ای (ترتیبی)^۴ شامل ۴

1. Lauryl sulfate tryptose broth
2. Yeast Extract Chloramphenicol Agar
3. Slide culture
4. Hierarchical or Nested Design

جدول ۱- میانگین جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در محصول فرعی پسته استان کرمان (تعداد= ۷۲ نمونه)

غلظت سموم آفلاتوکسین (میکروگرم در کیلوگرم)				جمعیت میکروبی (CFU* در هر گرم)			
B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	کل	کپک	کلی فرم	اشریشیاکلی
۰/۶۰۸۰	۰/۱۲۶۸	۰/۰۶۰۰	۰/۱۰۳۲	۰/۹۰۴۵	۲۱۰۰۰	۳۸۹۲	۳۰۹۴

Colony Forming Unit *

جدول ۲- جمعیت میکروبی و غلظت انواع سموم آفلاتوکسین در محصول فرعی پسته به تفکیک شهرستان‌های استان کرمان

فراسنجه‌ها	نمونه‌های مورد بررسی در شهرستان‌های				معنی داری
	کرمان	رفسنجان	زرنند	سیرجان	
	جمعیت میکروبی (CFU* در هر گرم)				
کل کپک‌ها	۱۹۶۲۷ ^a	۲۸۸۸۹ ^a	۲۹۹۷۸ ^a	۳۵۵۶ ^b	۰/۰۰۰۱
کپک آسپرژیلوس	۲۰۸۰ ^{ab}	۵۵۴۷ ^a	۵۱۵۸ ^a	۱۰۷۱ ^b	۰/۰۳۹
کلی فرم	۶۱۰۵ ^a	۱۳۳۴ ^b	۳۸۵۲ ^{ab}	۸۰ ^c	۰/۰۰۰۳
اشریشیاکلی (ایکولای)	۱/۰۰	۱/۱۶	۱/۰۰	۱/۱۱	۰/۱۶۱
	غلظت سموم آفلاتوکسین (میکروگرم در کیلوگرم)				
B ₁	۰/۰۴۳۹ ^b	۱/۲۲۲۴ ^a	۰/۰۹۹۸ ^b	۱/۳۵۵ ^a	۰/۰۱۴
B ₂	۰/۱۰۵۶	۰/۱۴۴۰	۰/۱۴۲۲	۰/۰۹۷۰	۰/۹۹۶
G ₁	۰/۰۴۴۷ ^b	۰/۰۱۵۳ ^b	۰/۰۳۶۷ ^b	۰/۲۲۱۸ ^a	۰/۰۰۰۱
G ₂	۰/۰۱۴۲ ^b	۰/۰۰۱۴ ^b	۰/۰۱۶۹ ^b	۰/۶۲۷۸ ^a	۰/۰۰۰۱
کل	۰/۲۰۸۳ ^c	۱/۳۸۳۱ ^b	۰/۳۱۷۴ ^c	۲/۲۸۲۰ ^a	۰/۰۱۴

Colony Forming Unit*

حروف متفاوت در هر سطر دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

پایان فرآوری
نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در نمونه‌های محصول فرعی پسته به تفکیک نوع پایانه‌های سنتی و صنعتی فرآوری پسته در جدول ۳ نشان داده شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که محصول فرعی پسته تولید شده در پایانه‌های فرآوری سنتی نسبت به محصول تولید شده در پایانه‌های صنعتی به کپک و اختصاصاً به کپک‌های

پایانه فرآوری
نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در نمونه‌های محصول فرعی پسته به تفکیک نوع پایانه‌های سنتی و صنعتی فرآوری پسته در جدول ۳ نشان داده شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که محصول فرعی پسته تولید شده در پایانه‌های فرآوری سنتی نسبت به محصول تولید شده در پایانه‌های صنعتی به کپک و اختصاصاً به کپک‌های

پایانه فرآوری
نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در نمونه‌های محصول فرعی پسته به تفکیک نوع پایانه‌های سنتی و صنعتی فرآوری پسته در جدول ۳ نشان داده شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که محصول فرعی پسته تولید شده در پایانه‌های فرآوری سنتی نسبت به محصول تولید شده در پایانه‌های صنعتی به کپک و اختصاصاً به کپک‌های

جدول ۳ - تاثیر نوع پایانه فرآوری پسته بر جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفاتوکسین در محصول فرعی پسته

سطح معنی داری	انحراف استاندارد میانگین‌ها	نوع پایانه فرآوری پسته		فراسنجه‌ها
		صنعتی	سنتی	
جمعیت میکروبی (CFU*) در				
هر گرم)				
۰/۰۴۷	۲۳۳۴/۹	۱۷۷۳۳ ^b	۲۵۹۰۰ ^a	کل کپک‌ها
۰/۰۲۵	۹۶۸/۴	۳۲۴۱ ^b	۴۸۴۶ ^a	کپک اسپرژیلوس
۰/۱۸۸۵	۸۶۰/۶	۳۰۲۸	۳۱۹۳	کلی فرم
۰/۱۲۲	۰/۰۴	۱/۱۱	۱/۰۰	اشریشیاکلی
غلظت سموم آفاتوکسین (میکروگرم در کیلوگرم)				
۰/۶۲۲	۰/۲۰۴	۰/۵۷۴۵	۰/۶۵۸۱	B _۱
۰/۰۳۸	۰/۳۰۶	۰/۰۸۸۰ ^b	۰/۱۸۵۱ ^a	B _۲
۰/۰۵۰	۰/۰۱۱	۰/۰۷۱۹ ^b	۰/۰۴۲۲ ^a	G _۱
۰/۰۳۷	۰/۰۱۳	۰/۱۶۴۹ ^a	۰/۰۱۰۷ ^b	G _۲
۰/۶۴۹	۰/۲۱۴	۰/۸۹۹۳	۰/۹۱۲۴	کل

Colony Forming Unit *

حروف متفاوت در هر سطر دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

وکپک‌های اسپرژیلوس افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵)، در حالی که زمان برداشت تاثیری بر میزان آلودگی محصول فرعی به باکتری/اشریشیاکلی نداشت. علاوه بر این زمان برداشت پسته تاثیری بر غلظت سموم آفاتوکسین B_۱, B_۲, G_۱, G_۲ و همچنین غلظت کل سموم موجود در محصول فرعی پسته نداشت.

زمان برداشت محصول نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفاتوکسین در نمونه‌های محصول فرعی پسته به تفکیک مراحل برداشت محصول (اوایل، اواسط و اواخر دوره برداشت) در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با تاخیر در برداشت محصول پسته از اوایل به اواخر دوره برداشت، جمعیت کپک‌ها

جدول ۴ - تاثیر زمان برداشت پسته بر جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفاتوکسین در محصول فرعی پسته

سطح معنی داری	انحراف استاندارد میانگین‌ها	مراحل برداشت پسته (دوره برداشت)			فراسنجه‌ها
		اوایل	اواسط	اواخر	
جمعیت میکروبی (CFU*) در هر گرم)					
۰/۰۴۵	۳۷۶۰/۳	۲۴۲۸۹ ^a	۲۴۰۷۶ ^a	۱۵۱۰۵ ^b	کل کپک‌ها
۰/۰۱۹	۱۱۹۹/۵	۶۴۴۲ ^a	۳۲۴۰ ^b	۲۳۵۸ ^b	کپک اسپرژیلوس
۰/۰۴۷	۷۸۳/۰	۳۰۵۴ ^b	۴۰۳۵ ^a	۳۰۴۵ ^b	کلی فرم
۰/۱۷۱	۰/۰۵	۱/۱۶	۱/۰۵	۱/۰۰	اشریشیاکلی (ایکولای)
غلظت سموم آفاتوکسین (میکروگرم در کیلوگرم)					
۰/۷۳۰	۰/۳۶	۰/۷۰۷۹	۰/۶۴۳۰	۰/۷۸۷۳	B _۱
۰/۴۵۱	۰/۰۴	۰/۱۱۷۸	۰/۰۹۵۹	۰/۱۶۵۶	B _۲
۰/۹۸۸	۰/۰۱	۰/۰۵۶۳	۰/۰۷۵۵	۰/۰۴۷۷	G _۱
۰/۳۷۲	۰/۰۲	۰/۰۱۰۲	۰/۰۹۶۴	۰/۱۱۱۳	G _۲
۰/۵۸۹	۰/۲۵	۰/۹۸۳۷	۰/۶۲۹۳	۱/۱۱۱۸	کل

Colony Forming Unit *

حروف متفاوت در هر سطر دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).

مدت زمان برداشت تا پوست گیری
نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در نمونه های محصول فرعی پسته به تفکیک مدت زمان برداشت تا پوست گیری پسته در جدول ۵ نشان داده شده است. اختلاف معنی داری در جمعیت میکروبی شامل کپک ها، کپک های آسپرژیلوس، باکتری های کلی فرم و اشریشیاکلی موجود

مدت زمان برداشت تا پوست گیری
نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در نمونه های محصول فرعی پسته به تفکیک مدت زمان برداشت تا پوست گیری پسته در جدول ۵ نشان داده شده است. اختلاف معنی داری در جمعیت میکروبی شامل کپک ها، کپک های آسپرژیلوس، باکتری های کلی فرم و اشریشیاکلی موجود

جدول ۵ - تاثیر مدت زمان برداشت پسته تا پوست گیری آن بر جمعیت میکروبی و غلظت سموم آفلاتوکسین در محصول فرعی پسته

فراسنجه ها	مدت زمان برداشت تا پوست گیری پسته			انحراف استاندارد	سطح معنی داری
	۱-۲ ساعت	۵-۶ ساعت	≥۱۳ ساعت		
جمعیت میکروبی (CFU* در هر گرم)					
کل کپک ها	۱۷۶۶۰	۲۱۵۹۰	۲۳۷۵۰	۳۸۷۳/۱	۰/۲۸۲
کپک آسپرژیلوس	۳۲۸۲	۳۲۴۴	۳۱۵۰	۱۲۳۵/۴	۰/۴۴۹
کلی فرم	۲۵۴۶	۲۲۶۹	۲۴۴۹	۱۲۱۸/۵	۰/۰۷۷
اشریشیاکلی	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۱۰	۰/۰۵	۰/۷۵۲
غلظت سموم آفلاتوکسین (میکروگرم در کیلوگرم)					
B ₁	۰/۴۲۷۹	۰/۸۴۶۴	۰/۵۴۹۶	۰/۲۳۸	۰/۷۴۶
B ₂	۰/۱۰۲۴	۰/۰۸۸۹	۰/۱۸۹۱	۰/۰۴۲	۰/۱۲۸
G ₁	۰/۰۴۹۵	۰/۰۶۳۹	۰/۰۶۶۷	۰/۰۱۳	۰/۴۸۹
G ₂	۰/۱۰۹۴	۰/۰۹۵۲	۰/۱۰۵۰	۰/۰۱۵	۰/۹۳۵
کل	۰/۷۰۸۸	۱/۰۹۴۴	۰/۹۱۰۳	۰/۲۵۰	۰/۶۲۰

Colony Forming Unit *

کشور (ارسالی و همکاران، ۱۳۸۸؛ پیرستانی و همکاران، ۱۳۸۸) به سموم آفلاتوکسین آلوده می باشند. سازمان غذا و دارو^۱ در آمریکا (۲۰۰۰) میزان مجاز آفلاتوکسین در خوراک دام را ۲۰ میکروگرم در کیلوگرم و میزان آفلاتوکسین M₁ در شیرخام را ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم اعلام نموده است. در حالی که میانگین غلظت سموم آفلاتوکسین B₁، B₂، G₁، G₂ و کل در نمونه های محصول فرعی پسته مورد بررسی در آزمایش حاضر به ترتیب ۰/۹۰۴۵، ۰/۱۰۳۲، ۰/۰۶۰۰،

بحث

آلودگی خوراک دام و شیر یک معضل مهم و خطرناک در بسیاری از کشورها و از جمله ایران است (مکتبی و همکاران، ۱۳۹۳؛ کامکار، ۲۰۰۸). اطلاعات زیاد و دقیقی از میزان و نحوه آلودگی های میکروبی و سموم ناشی از آنها در خوراک های دام مورد استفاده در مناطق مختلف کشور وجود ندارد، با این وجود نتایج برخی از مطالعات نشان داده است که خوراک دام در برخی از دامداری ها (مکتبی و همکاران، ۱۳۹۳؛ رحیمی و همکاران، ۱۳۷۸) و شیر تولیدی در برخی از مناطق

1. Food and Drug Administration

دام، نگرانی جدی در رابطه با احتمال آلودگی آن به آفلاتوکسین ایجاد شد، هر چند تجزیه جداگانه پوست و مغز استخوانی پسته آلوده به سموم آفلاتوکسین نشان داده بود که میزان آلودگی پوست استخوانی نسبت به مغز پسته کمتر از یک درصد است (دهقانی یخدانی، ۱۳۸۳). گزارش شده است که گیاهان با مکانیسم‌های پیشرفته زیستی و مکانیسم‌های دفاعی در پاسخ به عوامل تنش‌زای محیطی و حمله عوامل بیماری‌زا مقابله می‌کنند (Mazid et al., 2011). وجود متابولیت‌های ثانویه گیاهی یکی از مکانیسم‌های دفاعی است که علاوه بر نقشی که در رنگ و بوی گیاهان دارند، وظایف فیزیولوژیکی و ضد باکتریایی در برابر دامنه گسترده‌ای از باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها نشان داده‌اند (Calsamiglia et al., 2007). نشان داده شده است که حضور تانن قابل هیدرولیز به‌عنوان یک متابولیت ثانویه در پوسته پسته از رشد قارچ‌ها و تولید سم آفلاتوکسین در مغز پسته به‌طور موثری جلوگیری می‌کند. (Mahony and Rodriguez, 1996)، به‌طوری که تا زمان ایجاد شکاف در پوست سبز رویی پسته، مغز آن به آفلاتوکسین آلوده نمی‌شود و تقریباً تمام اسپرژیلوس‌ها در دانه‌هایی یافت می‌شود که پوست نرم رویی آن‌ها بر اثر زود خندانی، پرنده‌زدگی و خسارت حشرات آسیب دیده باشد (Sommer et al., 1986). جمع‌بندی نتایج ۲۴ آزمایش مختلف بر روی محصول فرعی پسته نشان داد که میانگین غلظت ترکیبات فنلی و تانن کل به‌ترتیب در انواع محصول فرعی پسته به‌صورت تازه ۱۰/۷۶ و ۶/۳۴، خشک ۱۰/۳۸ و ۶/۱۶ و سیلاژ ۱۰/۷۰ و ۶/۱۷ درصد می‌باشد (شاکری و همکاران، ۱۳۹۵). در تایید نتایج آزمایش اخیر گزارش شده است که محصول فرعی پسته آفتاب‌خشک مورد استفاده در جیره آزمایشی گاوهای شیری عاری از سموم آفلاتوکسین از نوع B و G بود (وهمنی، ۱۳۸۴). علاوه بر این پس از سیلو

۰/۱۲۶۸ و ۰/۶۰۸۰ میکروگرم در کیلوگرم تعیین شد که به‌مراتب پایین‌تر از حد مجاز آن برای خوراک دام است (FDA, 2000). همچنین میانگین جمعیت میکروبی شامل شمارش کل کپک‌ها، کپک‌های اسپرژیلوس، کلی‌فرم و اشیریشیاکلی در نمونه‌های محصول فرعی پسته مورد بررسی در این آزمایش به‌ترتیب ۲۱۰۰۰، ۳۸۹۲، ۳۰۹۴ و ۱/۱ CFU در گرم تعیین شد. در حالی که سازمان دامپزشکی کشور به‌عنوان مرجع کنترل کیفی خوراک‌های دام و فرآورده‌های آن‌ها، حد مجاز جمعیت میکروبی، قارچی و اشیریشیاکلی را به‌ترتیب ۱۰^۶، ۱۰^۴ و کمتر از ۱۰ CFU در گرم برای انواع خوراک‌های دام با منشاء گیاهی اعلام نموده است (سازمان دامپزشکی، ۱۳۸۹). نگرانی‌های زیادی از آلودگی مغز پسته به سموم آفلاتوکسین وجود دارد. برخی از گزارشات نیز تایید می‌کند که برخی از مزارع پسته در استان کرمان به قارچ‌های مولد آفلاتوکسین آلوده بوده و پسته آن‌ها حاوی مقادیر غیر مجاز سموم آفلاتوکسین می‌باشد (دهقانی یخدانی، ۱۳۸۳)، اما محصول فرعی پسته از لحاظ آلودگی‌های میکروبی در حد مجاز (سازمان دامپزشکی، ۱۳۸۹) و از نظر غلظت سموم آفلاتوکسین به‌مراتب پایین‌تر از حد مجاز (FDA, 2000) آن برای خوراک دام بود. رشد و نمو قارچ‌های اسپرژیلوس در رطوبت ۱۳/۵ درصد شروع و تولید سم در رطوبت ۱۷/۵ درصد انجام می‌گیرد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۲). وجود منبع اولیه آلودگی، حشرات ناقل و حساسیت گیاه به آلودگی‌های قارچی از دیگر عوامل موثر در توسعه و گسترش قارچ‌ها در مواد خوراکی می‌باشند (Urban et al., 1987). از آن‌جا که رطوبت محصول فرعی پسته در حدود ۷۰-۶۵ درصد می‌باشد (شاکری و همکاران، ۱۳۹۴) و سایر عوامل توسعه و گسترش قارچ‌ها نیز در باغات پسته وجود دارد، هم‌زمان با مطرح شدن محصول فرعی پسته به‌عنوان خوراک

کردن محصول فرعی پسته تفاوتی در غلظت سموم آفلاتوکسین بین نوع خشک و سیلاژ آن مشاهده نگردید و غلظت کل سموم بسیار کمتر از حد مجاز آن برای خوراک دام و ۰/۴۲ میکروگرم در کیلوگرم گزارش گردید (شاکری و همکاران، ۱۳۹۴). بعضی از باغداران از محصول فرعی پسته پس از پوسیدگی به عنوان کود برای تقویت خاک استفاده می کنند. گزارش شده است که رشد و توسعه قارچ آسپرژیلوس در بقایای پسته باعث افزایش قابل توجه قارچ و آلوده شدن مغز پسته ها به سم آفلاتوکسین می شود (Doster and Michailides, 1994). جمعیت کل کپک ها و کپک های آسپرژیلوس در نمونه های محصول فرعی پسته نشان می دهد که جمعیت آن ها در آستانه حد مجاز برای مواد خوراک دام با منشاء گیاهی است. تراکم بالای کپک ها می تواند ناشی از تخلیه و جمع آوری محصول برداشت شده بر روی پارچه های بزرگی باشد که در زمان برداشت در سطح باغ پهن می گردد. عدم رعایت اصول بهداشتی به هنگام برداشت محصول با دست، وسایل حمل و نقل نامناسب و غیر بهداشتی و همچنین عدم رعایت اصول بهداشتی در پایانه های فرآوری پسته خصوصاً در محوطه پایانه ها و دستگاه های پوست گیری می تواند از عوامل مهم دیگر در افزایش جمعیت میکروبی در محصول باشد، خصوصاً این که میزان آلودگی در پایانه های سنتی به طور معنی داری ($P < 0/05$) از پایانه های صنعتی بالاتر بود. برداشت پسته عمدتاً از اواخر شهریور تا اوایل آبان انجام می شود. تعویق در برداشت پسته منجر به شکاف پوسته نرم رویی پسته شده و از این رو پسته هایی که پس از ترک خوردن پوست برداشت می شوند به آفلاتوکسین بیشتری آلوده می باشند (دهقانی یخدانی، ۱۳۸۳).

افزایش غلظت آفلاتوکسین احتمالاً ناشی از استقرار کپک ها بر روی مغز پسته پس از شکاف پوسته نرم رویی می باشد و نتایج آزمایش اخیر نیز نشان می دهد که با تاخیر در برداشت محصول، جمعیت کپک ها در محصول فرعی پسته افزایش یافته است، هر چند این افزایش جمعیت سبب افزایش معنی داری در غلظت سموم آفلاتوکسین نمونه ها نشده است. عدم افزایش غلظت سموم احتمالاً به دلیل ممانعت از تولید آفلاتوکسین توسط کپک های آسپرژیلوس در حضور تانن موجود در محصول فرعی پسته می باشد (Mahony and Rodriguez, 1996). از دیگر عوامل مهم در آلوده شدن پسته به سموم آفلاتوکسین، طولانی شدن زمان برداشت تا پوست گیری پسته ذکر شده است (اصغری، ۱۳۷۸ و دهقانی یخدانی، ۱۳۸۳). محصول برداشت شده در مزرعه، داخل وسیله نقلیه و یا محوطه پایانه فرآوری انباشته می شود و این شیوه سبب افزایش حرارت در عمق محصول می گردد و رشد باکتری ها و کپک ها تسریع می شود. با وجود تاثیر نامطلوب مدت زمان برداشت تا پوست گیری پسته بر آلودگی به میکروبی ها و سموم آفلاتوکسین در دانه پسته، هیچ یک از فراسنجه های مورد بررسی تحت تاثیر مدت زمان برداشت تا پوست گیری قرار نگرفت و این امر نیز می تواند به خاصیت ضد میکروبی ترکیبات فنلی و تانن موجود در محصول فرعی پسته مربوط باشد (Mahony and Rodriguez, 1996). بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه محصول حاصل از فرآیند پوست گیری پسته از نظر آلودگی های میکروبی، آلودگی به کپک های آسپرژیلوس و سموم آفلاتوکسین در وضعیت مناسبی قرار دارد و با توجه به ارزش غذایی محصول و نتایجی که در اثر استفاده از آن در جیره

استان کرمان انجام شد و امور آزمایشگاهی آن در آزمایشگاه کنترل مواد غذایی، آرایشی و بهداشتی شهرستان رفسنجان انجام گردید. به این وسیله از کارشناسان محترم آزمایشگاه مذکور به‌ویژه آقای دکتر نادر درکی رئیس وقت آزمایشگاه تشکر و قدردانی می‌گردد.

۹. خوراک علوفه‌ای در تغذیه نشخوارکنندگان - یک مقاله مروری. (بخش اول: ذخیره‌سازی، ترکیبات شیمیایی، مصرف خوراک، عملکرد و قابلیت هضم). مجله علوم دامی (پژوهش و سازندگی). پذیرش شده در خرداد ۱۳۹۴ و در نوبت انتشار.
۹. شاکری، پیروز، رضایی، مرتضی، میرهادی، سید احمد (۱۳۹۴). تاثیر سیلوکردن بر ارزش غذایی و برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محصول فرعی پسته. مجله تولیدات دامی. دوره ۱۷، شماره ۱. صفحه ۷۰-۵۹.
۱۰. مرادی، محمد، معصومی، حیدر (۱۳۷۸). بررسی آلودگی میوه پسته به آفلاتوکسین B₁ در مرحله قبل از برداشت و در حین فرآوری پسته با استفاده از ELISA. مجموعه مقالات اولین همایش آفلاتوکسین پسته. موسسه تحقیقات پسته کشور.
۱۱. مرتضوی، سیدعلی، حداد خداپرست محمدحسین، فرهوش، رضا، ناصحی، بهزاد، رضائی مکرم، رضا (۱۳۷۲). میکروبیولوژی غذائی مدرن. جلد اول. نشر مشهد.
۱۲. مکتبی، سیاوش، حاجی حاجیکلانی، محمدرحیم، قربانپور، مسعود، ورنامخواستی، محمدکاظم (۱۳۹۳). مطالعه آفلاتوکسین B₁ در خوراک دام دامداری‌های گاو شیری سنتی اهواز. نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی. دوره دهم، شماره اول، صفحه ۴۵-۵۵.
۱۳. مهدوی، علی، زاغری، مجتبی، زاهدی‌فر، مجتبی، نیکخواه، علی، آقاشاهی، علی‌رضا (۱۳۸۷). تعیین ارزش غذایی و بررسی امکان استفاده از سطوح مختلف پوسته پسته خشک شده بر عملکرد پروار بره‌های نر افشاری ایران، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۱۵، شماره ۵، صفحه ۲۶۳-۲۵۲.

نشخوارکنندگان حاصل شده است، به‌کارگیری آن در تغذیه دام قابل توصیه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پروژه در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور تصویب و تامین اعتبار گردید. مراحل اجرایی آن در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی

منابع

۱. ارسالی، عبدالعظیم، بهال‌دینی بیگی، فائقه، قاسمی، رضا (۱۳۸۸). انتقال آفلاتوکسین از خوراک دام به شیر دام و شیر پاستوریزه در شهر شیراز و حومه. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. دوره ۱۷، شماره ۳، صفحه ۱۸۳-۱۷۵.
۲. اصغری، محمدرضا (۱۳۷۸). اندازه‌گیری آفلاتوکسین در پسته با تاکید بر روش‌های نمونه‌برداری. مجموعه مقالات اولین همایش آفلاتوکسین پسته. موسسه تحقیقات پسته کشور. کرمان.
۳. پیرستانی، اکبر، طباطبایی، سیدنورالدین، فاضلی، محمدهاشم، آنتیک‌چی، محمد، بابایی، مهدی (۱۳۸۸). بررسی تاثیر میزان آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر بر مشکلات تولید مثلی در گاوهای هلشتاین. پاتوبیولوژی دامپزشکی. سال اول، شماره ۱، صفحه ۳۷-۲۹.
۴. دهقانی یخدانی، حسین. (۱۳۸۳). آفلاتوکسین و امنیت غذایی پسته. معاونت باغبانی وزارت جهاد کشاورزی.
۵. دینانی، امید، شریفی حسینی، محمد مهدی و محبی، الهام (۱۳۸۸). استفاده از باقی‌مانده‌های زراعی فیبری در تغذیه نشخوارکنندگان، انتشارات خدمات فرهنگی کرمان.
۶. رحیمی، ابراهیم، کارگر، عبدالرسول، زمانی، فرشاد (۱۳۸۷). ارزیابی سطح آفلاتوکسین B₁ در خوراک دام در مزارع گاو شیری استان چهارمحال و بختیاری. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۷۹، صفحه ۷۶-۷۱.
۷. سازمان دامپزشکی کشور. (۱۳۸۹). دستورالعمل‌های اجرایی برای ارزیابی کیفی خوراک‌ها و فرآورده‌های دامی در کشور. سازمان دامپزشکی کشور.
۸. شاکری، پیروز، حسینی غفاری، مرتضی، فضائی، حسن (۱۳۹۵). محصول فرعی پسته به‌عنوان یک منبع

23. Mazid, M., Khan, T.A., and Mohammad, F. 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biol Med.* 3: 232-249.
24. Mokhtarpour, A., Naserian, A.A., Tahmasbi, A.M., and Valizadeh, R. 2012. Effect of feeding pistachio by-products silage supplemented with polyethylene glycol and urea on Holstein dairy cows performance in early lactation. *J Lives Sci.* 148: 208-213.
25. SAS. 2003. *SAS User's Guide Statistics*. Version 9.1 Edition. SAS Inst., Inc., Cary NC.
26. Shakeri, P. 2016. Pistachio by-product as an alternative forage source for male lambs: Effects on performance, blood metabolites, and urine characteristics. *J Anim Feed Sci Technol.* 211: 92-99.
27. Sommer, N.F., Buchanan, J.R., and Fortlage, R.J. 1986. Relation of early splitting and tattering of Pistachio nuts to aflatoxin in the orchard. *J Phytopathol.* 76(7): 692-694.
28. Tabak., H.H., and Et Cook, W.B. 1968. Growth and metabolism of fungi in an atmosphere of nitrogen. *J Mycologia.* 60: 115-140.
29. Urban, L., Diener Richard Cole, J., Sanders, T.H., Gary Payne, A., Louise Lee, S., and Maren Klich, A. 1987. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavous*. A Review. *J Phytopathol.* 25: 249-270.
30. Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., and Priolo, A. 2008. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *J Anim Feed Sci Technol.* 147, 223-246.
۱۴. وهمنی، پیام (۱۳۸۴). بررسی خصوصیات شیمیایی، تجزیه پذیری محصولات فرعی پسته و استفاده از آن در تغذیه گاوهای هلشتاین در اواسط شیردهی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشگاه فردوسی مشهد.
15. AOAC. 2002. *Association of official analytical chemists*. Official Methods of Analysis, 17th ed., Arlington, VA.
16. Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., and Ferret, A. 2007. Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci.* 90: 2580-2595.
17. Donnenberg, M.S. 2002. *Escherichia coli*: Virulence mechanisms of a versatile pathogen. Amsterdam: Academic Press.
18. Doster, M.A., and Michailides, T.J. 1994. Aspergillus moulds aflatoxin in Pistachio nuts in California. *J Phytopathol.* 84: 6.
19. FDA, Food and Drug Administration. 2000. Guidance for Industry: Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed. WWW.fda.gov.
20. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2012. Agricultural production stats, Available from: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
21. Kamkar, A. 2008. The study of aflatoxin M₁ in UHT milk samples by ELISA. *J. Vet. Res.* 63: 7-12.
22. Mahony, N.E., and Rodriguez, S.B. 1996. Aflatoxin variability in Pistachios. *J Appl Environ Microbiol.* 62: 1197-1202.

Microbial contamination and concentration of aflatoxin in pistachio by-product

Shakeri P^{1*}, Fazaeli H²

1. Animal Science Research Department, Kerman Agricultural and Natural Resource Research and Education Center, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran

2. Animal Science Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran

*Corresponding author: pirouz_shakeri@yahoo.co.uk

Received: 3 Mar 2015

Accepted : 9 Feb 2017

Abstract

Each year, large amount of pistachio by-product (PBP) was produced after the processing of fresh pistachio. PBP has suitable nutritional value and is used as a feed stuff in animal nutrition. The objective of this study was to determine the microbial contamination and concentration of aflatoxin in PBP in four areas in Kerman province (Kerman, Rafsanjan, Zarand, and Sirjan). The samples of PBP were collected from two types of processing system (traditional and industrial systems), three stage of pistachio harvesting (early, mid and late in the harvesting period), and three different intervals time of picking up the skin (1-2 hours, 5-6 hours and ≥ 13 hours). All samples were dried under the sun and then were milled. All of the samples were cultured in a sterile culture and total mould, *Aspergillus* moulds and *Coliform*, and *E.coli* bacteria were counted. The concentration of total aflatoxin was measured by HPLC via extraction. Results showed that the means of microbial population of total moulds, *Aspergillus* moulds and *Coliforms*, and *E.coli* bacteria count were 21000, 3892, 3094 and 1.1 CFU/g, respectively, that were below a critical level to interfere in animal nutrition. Although microbial population were different in sampling area ($P < 0.05$) and moulds population were different between the traditional and industrial processing terminals ($P < 0.05$). Although there was a difference in sampling area ($P < 0.01$), but the concentration of aflatoxin was 0.9 ppb in PBP samples which was below the critical level for livestock feed staffs. It was concluded that the producing PBP in Kerman province was not too much contaminated with microbes and the concentration of aflatoxin was less than the limit standard levels in feeds.

Keyword: Pistachio by- product, Aflatoxin, molds, *Coliform*, *E. coli*.