مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶
DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

تاثیر عصاره‌های چهار کولتیوار پسته *(Pistacia vera)* ایرانی بر روی میزان رشد آسپرژیلوس فلاووس و تولید آفلاتوکسین B_1

زهرا مودی[۱]، محدثه لاری پور[۲]* و فریبا شریف نیا[۳]

[۱]ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه

[۲]ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

[۳]ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۶

چکیده

پسته .*Pistacia vera* L از مهم‌ترین اقلام صادراتی کشور ایران محسوب می‌شود که می‌تواند بستر مناسبی برای رشد قارچ‌های توکسین‌زا و در نتیجه تولید آفلاتوکسین B1 باشد. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرگذاری عصاره چهار رقم پسته شامل اکبری، احمد آقایی، کله‌قوچی از شهر دامغان و بادامی سفید از شهر فیض آباد و همچنین اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک، پالمتیک و استئاریک موجود در آن بر رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش میزان آفلاتوکسین B1 می‌باشد. در تحقیق حاضر عصاره پسته‌ها با دستگاه روتاری تحت خلاء تهیه و با دستگاه GC-MS، آنالیز شد. اثرات ضدقارچی عصاره‌ها و اسیدهای چرب بصورت مجزا با روش‌های دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت کشندگی و میزان آفلاتوکسین B1 با HPLC بررسی شد. بیشترین مقدار اسید چرب اولئیک با ۶۶/۳ ٪ در پسته اکبری وجود داشت. از تاثیرگذارترین عصاره‌ها و اسیدهای چرب روی قارچ مورد بررسی، پسته اکبری و احمد آقایی با MIC برابر ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر و به ترتیب MFC برابر با ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم و اسید چرب اولئیک با MIC و MFC برابر با ۱۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود. در ترکیب عصاره‌های چهار پسته بهمراه چهار اسید چرب بیشترین میزان کاهش تولید آفلاتوکسین با ۳۶/۷۷ میکروگرم بر کیلوگرم، در مقایسه با نمونه شاهد(۸۴۳/۹۵ میکروگرم بر کیلوگرم) مشاهده شد. بنابراین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که هرچه میزان اسیدهای چرب موجود در یک کولتیوار پسته بیشتر باشد، مقاومت آن نوع پسته نیز در برابر رشد قارچ و تولید توکسین بیشتر خواهد بود. و با توجه به اینکه اسیدهای چرب موجود در پسته ترکیبات زیست سازگار هستند می‌توان از آن‌ها به عنوان نگهدارنده در صورتیکه در طعم و مزه پسته تاثیرگذار نباشد بهره برد.

واژه های کلیدی: آفلاتوکسین، پسته، *آسپرژیلوس فلاووس*، نگهدارنده، اسید چرب

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: m.larypoor@iau-tnb.ac.ir

مقدمه

پسته با نام علمی .*Pistacia vera* L از گونه‌های مهم سردهی .Pistacia L و متعلق به خانواده پسته سانان (Anacardiacea) بیشتر در اقلیم نیمه گرمسیری بوده و در زنجیره‌ی مواد غذایی ایرانیان از جایگاه ویژه و ممتازی برخوردار است و این خشکبار یکی از مهمترین محصولات صادراتی به شمار می‌رود[۵،۱۵]. محل پیدایش این گیاه در خاورمیانه و آسیا است که در ایران در مناطق مرتفع کویری مانند استان کرمان، سمنان، خراسان و یزد بعمل می‌آید[۲۲،۲]. در ایران کولتیوارهای متفاوتی از پسته کشت می‌شود و به دلیل خصوصیات ژنتیکی متفاوت در گونه‌های پسته، آن‌ها در برابر عوامل آسیب‌زا

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

مقاومت‌های نسبی مختلفی از خود نشان می‌دهند[۲۱،۲]. به گزارش ایرنا از گمرک ایران، میزان وزنی صادرات پسته در نیمه نخست سال ۱۴۰۲ به میزان ۲۰ هزار تن بوده است و ارزش اقتصادی حاصل از صادرات این محصول به ۶۶ کشور دنیا حدود یک میلیارد دلار در سال می‌باشد[۲۰،۲۲]. قارچ‌ها یکی از عوامل مهم فساد محصولات کشاورزی از قبیل دانه‌های روغنی مانند پسته، که حاوی اسیدهای چرب ارگانیک با یک گروه کربوکسیل و یک گروه متیل هست، می‌باشند. اسیدهای چرب در طول و درجه اشباع متفاوتند به این صورت که اسیدچرب اشباع زنجیره‌های مستقیم و شامل یک زنجیره کربن با پیوند یگانه است در حالی که اسیدهای چرب اشباع نشده حاوی یک یا چند پیوند دوگانه کربن-کربن هستند که باعث خم شدن زنجیره کربن می‌شود[۱۱]. لیپدهای ساده طبیعی مانند اسیدهای چرب، دارای خاصیت ضد میکروبی هستند[۳۲]. اسیدهای چرب موجود در بافت‌های اغلب گیاهان عالی مانند پسته معمولا شامل مقادیر نسبی متفاوتی از اسید چرب اولئیک، لینولئیک، پالمتیک و استئاریک هستند که از آن‌ها می‌توان در صنایع غذایی، صنایع دارویی، صنعتی و بهداشتی بهره برد[۱۴]. همچنین اسیدهای چرب می‌توانند باکتری‌ها، ویروس‌ها، مخمرها، قارچ‌ها و انگل‌هایی که پوست و مخاط انسان و حیوان را آلوده می‌کنند را از بین ببرند. و با توجه به اینکه غلات و دانه‌های آجیل، دارای روغن و کربوهیدرات بالایی هستند، در صورت عدم رعایت صحیح انبارداری و ذخیره، منبع مناسبی برای تولید مایکوتوکسین (Mycotoxin)[۱]ایجاد شده توسط قارچ‌های بیماری‌زا برای انسان همچون *آسپرژیلوس فلاووس* می‌شوند[۲۳،۳۰]. *آسپرژیلوس فلاووس* از جمله قارچ‌های رشته‌ای می‌باشد که بستره-های زیادی از مواد غذایی را می‌تواند آلوده به زهرآبه قارچی (Mycotoxin) کند[۲۹]. زهرآبه‌های قارچی متابولیت‌های ثانویه‌ای می‌باشد که دارای اثرات سمی مختلف روی انسان و حیوانات هستند. تقریباً حدود ۲۰ تا ۴۵ درصد از غلات دنیا به زهرآبه قارچی تولید شده توسط قارچ‌های انباری مانند *آسپرژیلوس فلاووس* آلوده می‌شوند و انسان به صورت غیر قابل اجتناب این ماده سمی را از طرقی مانند مصرف فرآورده‌های گیاهی و حیوانی آلوده شده می‌تواند دریافت کند[۴،۱۸]. یکی از زهرآبه‌های قارچی خطرناک تولید شده توسط *آسپرژیلوس فلاووس*، آفلاتوکسین می‌باشد که انواع مختلفی دارد و به علت فراوانی بسیار آن در طبیعت به عنوان مشهورترین مایکوتوکسین‌ها شناخته می‌شود. آفلاتوکسین‌ها دارای اثرات سمی، سرطان زایی، جهش‌زایی و آسیب‌زا خصوصا برای جنین در انسان و حیوانات است[۱۰،۲۲]. آفلاتوکسین B1 از مهم‌ترین آفلاتوکسین‌ها می‌باشد که ساختمان شیمیایی این مایکوتوکسین تحت نفوذ عوامل فیزیکی و شیمیایی تغییر نمی‌کند و بافت هدف آن کبد است که در نتیجه‌ی مصرف طولانی مدت مواد غذایی آلوده شده، منجر به سرطان کبد می‌شود[۱۷].

نظر به آنکه پسته از مهم‌ترین اقلام صادراتی کشور است اگر با این توکسین آلوده شود، خسارات اقتصادی فراوانی به کشور وارد می‌شود. دوز مجاز استاندارد ملی ایران، میزان آفلاتوکسین در پسته ۵ ppm است[۲۸]. طبق استاندارد جهانی حداکثر مقدار مجاز قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* در پسته خام ۱۵ ppm می‌باشد[۲۴]. کنترل قارچ‌ها با استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی انجام می‌گیرد، اما این موارد اغلب اثرات جانبی سو مانند تراتوژنیستی و آسیب به جنین قبل از تولد، برجا می‌گذارد[۲۶]. این موضوع از یک طرف و افزایش تقاضای مصرف کننده برای مواد غذایی تازه با حداقل فراوری و فاقد نگهدارنده‌های شیمیایی، از طرف دیگر باعث شده تحقیقات روی روش‌های نگهداری و افزایش مقاومت مواد غذایی جهت جلوگیری از رشد قارچ متمرکز شود. با توجه به اینکه اسیدهای چرب موجود در مغز پسته، یکی از فاکتورهای اصلی بر رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین می‌باشند و تفاوت در ترکیب شیمیایی کولتیوارهای مختلف پسته می‌تواند مبنای حساسیت یا مقاومت آن محصول

[۱] Mycotoxin

[۲] Aspergillus flavus

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

نسبت به رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و تولید آفلاتوکسین باشد[۴،۳۱]. در این پژوهش بنا بر دلیل فوق، سعی بر آن شده که میزان ترکیبات موثره پسته‌های صادراتی مورد بررسی قرار گرفته و اثر آن‌ها روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* بررسی شود. با استفاده از نتایج این تحقیق در پسته امید است که بتوان نگهدارنده‌ای طراحی کرد که در طعم و مزه پسته تاثیرگذار نباشد و در جهت حفظ و ماندگاری پسته از آن بهره برد.

مواد و روشها

تهیه ارقام پسته

در این تحقیق چهار نوع رقم پسته صادراتی شامل ارقام اکبری، احمد آقایی، کله قوچی از شهر دامغان و بادامی سفید از شهر فیض آباد مشهد جمع آوری شد.

تهیه عصاره پسته

برای تهیه عصاره پسته با روش خیساندن، مقدار ۵۰ گرم از پودر مغز خشک پسته به مدت ۷ روز در اتانول ۹۶٪ خوابانده شد و روزی یکبار در دمای معمولی آزمایشگاه همزده شد. سپس هر کدام از محتویات گیاهی به صورت مجزا، از کاغذ واتمن شماره ۱ گذرانده شدند و اتانول موجود در محلول روغنی به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری تحت خلا در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد خارج شد و عصاره پسته‌ها در پلیت شیشه‌ای ریخته شد و در آون ۳۰ درجه سانتی گراد تا زمان خشک شدن کامل عصاره قرار گرفت[۱].

تهیه متیل استر اسیدهای چرب

برای تهیه متیل استر اسیدهای چرب عصاره روغنی، به ۱۵ قطره از روغن پسته حاصل از عصاره گیری، ابتدا ۷ میلی لیتر ان-هگزان و ۲ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری ۵۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد که در این مدت هر ۵ دقیقه یکبار همزده شد[۱].

بررسی کیفی و کمی اسیدهای چرب

برای اندازه‌گیری کیفی و کمی اسیدهای چرب از دستگاه GC-MS مجهز به ستون مویین (BPX 70) و آشکارگر FID استفاده شد. متیل استرهای آماده شده به دستگاه تزریق شدند که در این دستگاه از ستون کروماتوگرافی برای جداسازی ترکیبات مختلف و از اسپکترومتر جرمی برای شناسایی اجزا جداسازی شده استفاده گردید[۱].

تهیه بانک میکروبی قارچ آسپرژیوس فلاووس

سوش استاندارد قارچ *Aspergillus flavus* (ATTC 15546) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، مرکز کلکسیون میکروبی تهیه شد. قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* در محیط پوتیتو دکستروز آگار (PDA) کشت داده شد و سپس در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد تا کامل شدن زمان رشد، گرماگذاری شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد[۱۲].

تهیه سوسپانسیون استاندارد

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

پس از رشد انبوه قارچ و اسپورزایی روی محیط به مدت ۷ روز، زیر هود میکروبی با ایجاد خراش بر سطح محیط کشت و اضافه کردن چند قطره سرم فیزیولوژی استریل حاوی توین ۸۰ روی محیط، برای تهیه سوسپانسیون استاندارد، محتویات پلیت را از گاز استریل عبور داده و درون فالکون در دمای یخچال نگهداری شد[۱۲]. تعداد سوسپانسیون استاندارد برای قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* طبق مقالات ۴×۱۰^{۵} اسپور در هر میلی‌لیتر می‌باشد که با لام نئوبار شمارش شد[۳].

طراحی آزمایش

در روش تاگوچی گروهی از متغیرها مانند عصاره‌های پسته و اسیدهای چرب که در آزمایش استفاده شد، تعریف می‌شود که روش استانداردی برای تحلیل نتایج را ارائه می‌کند. ترکیب طراحی روش استاندارد و روش تحلیل نتایج به سبک تاگوچی، باعث ایجاد ثبات و قابلیت تکرار پذیری در نتایج می‌شود[۹]. به این صورت که پارامترهای تعریف شده از قبیل عصاره‌های پسته و اسیدهای چرب اولئیک، پالمتیک، لینولئیک و استئاریک با غلظت‌های مشخص و موثره و فاکتورهای خارجی دیگر مانند دما و زمان که مشخصات ثابت می‌باشند در نرم افزار تاگوچی به طور تصادفی قرار گرفت و حالات بهینه‌تر و ترتیب آزمایشات استخراج شد.

آنتی بیوگرام کیفی

اثرات ضد قارچی عصاره‌های چهار کولتیوار پسته و چهار اسید چرب اولئیک، لینولئیک، پالمتیک و استئاریک با روش‌های دیسک دیفیوژن به صورت دوتایی و باهم در حالات مختلف انجام شد. بدین صورت که تمامی عصاره‌ها و اسیدهای چرب روی دیسک‌های بلانک تلقیح شدند و در پلیت حاوی کشت قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار گرفتند و نتیجه بررسی شد[۱۳].

آنتی بیوگرام کمی

حداقل غلظت مهار کنندگی[۳](MIC)

با توجه به نتایج طراحی آزمایش تاگوچی برای بررسی مهار رشد قارچ توسط عصاره پسته‌ها و اسیدهای چرب مربوطه، غلظت‌های مشخص و متفاوتی از نمونه‌ها (۱٪، ۵٪، ۱۰٪ و ۲۰٪) انتخاب و تست MIC انجام شد[۱۳].

حداقل غلظت کشندگی[۴](MFC)

بر اساس نتایج تست MIC، خانه‌های subMIC روی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار کشت و گرماگذاری شدند و بعد از ۲۴ ساعت با بررسی رشد و تشکیل کلنی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* روی محیط، غلظت MFC تعیین شد[۱۳].

بررسی میزان تولید توکسین

بعد از بررسی نتایج حاصل از تست MFC، ۴ نمونه که اثرگذاری بهتری بر کاهش رشد قارچ و تولید کلنی در محیط داشتند، بمنظور ارزیابی و تاثیر بر میزان تولید آفلاتوکسین B1 تولیدی توسط قارچ *آسپرژیلوس فلاووس*، تست HPLC انجام گرفت[۲۴]. در ابتدا ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB در فالکون-

[۳] MIC
[۴] MFC

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶
DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

های جدا تحت تاثیر بالاترین غلظت اسیدهای چرب و عصاره پسته‌ها، تلقیح شدند و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز گرمادهی گردیدند. سپس میسلیوم‌های رشد کرده، جدا شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر از محیط کشت با ۱۵ میلی‌لیتر متانول خالص به خوبی مخلوط شد و برای آنالیز به وسیله‌ی HPLC به آزمایشگاه مرجع فرستاده شد[۶].

آنالیز آماری: طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش با طراحی آزمایش تاگوچی بصورت کاملا تصادفی با ۳ بار تکرار انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به تجزیه کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی عصاره پسته‌ها

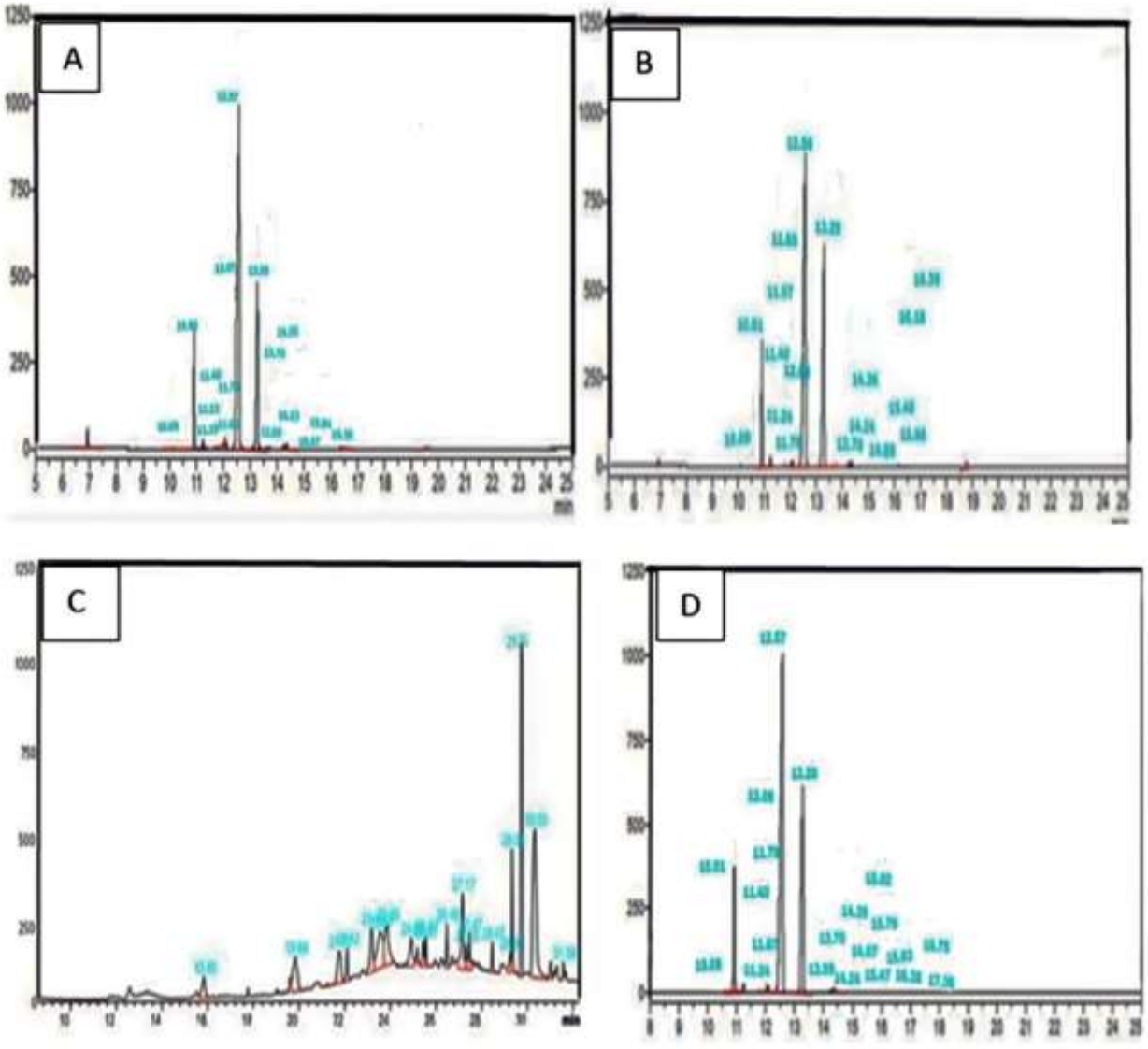
چهار ترکیب اسید چرب لینولئیک، اولئیک، پالمتیک و استئاریک، به مقدار متفاوت ترکیبات اصلی و عمده پسته‌های اکبری، احمد آقایی، کله قوچی و بادامی سفید محسوب می‌شوند. اسید چرب غیر اشباع اولئیک و اسید چرب اشباع پالمتیک در هر چهار کولتیوار پسته بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. نتایج پروفایل اسیدهای چرب پسته در جدول ۱ و شکل ۱ مشاهده می‌شود.[۱]

جدول۱.پروفایل اسیدهای چرب پسته حاصل از GC-MS

	پالمیتولئیک اسید	لینولئیک اسید	اولئیک اسید	میریستیک اسید	پالمتیک اسید	مارگاریک اسید	استئاریک اسید	آراشیدیک اسید
اکبری	٪ ۰/۶۱	٪ ۲۱/۰۳	٪ ۶۶/۳	٪ ۰/۰۸	٪ ۹/۲۷	٪ ۰/۰۵	٪ ۱/۳	٪ ۰/۱۴
احمد آقایی	٪ ۰/۷۵	٪ ۳۱/۳۱	٪ ۵۶/۶۳	٪ ۰/۱	٪ ۹/۴	٪ ۰/۰۵	٪ ۱/۱۱	٪ ۰/۱۴
کله قوچی	٪ ۰/۶۵	٪ ۲۷/۵۴	٪ ۶۰/۱۶	٪ ۰/۰۹	٪ ۹/۰۹	٪ ۰/۰۴	٪ ۱/۱۴	٪ ۰/۱۲
بادامی سفید	٪ ۰/۸	٪ ۲۷/۴۹	٪ ۵۸/۶۷	٪ ۰/۱	٪ ۱۰/۰۲	٪ ۰/۰۴	٪ ۱/۳۲	٪ ۰/۱۳

Preproof Article

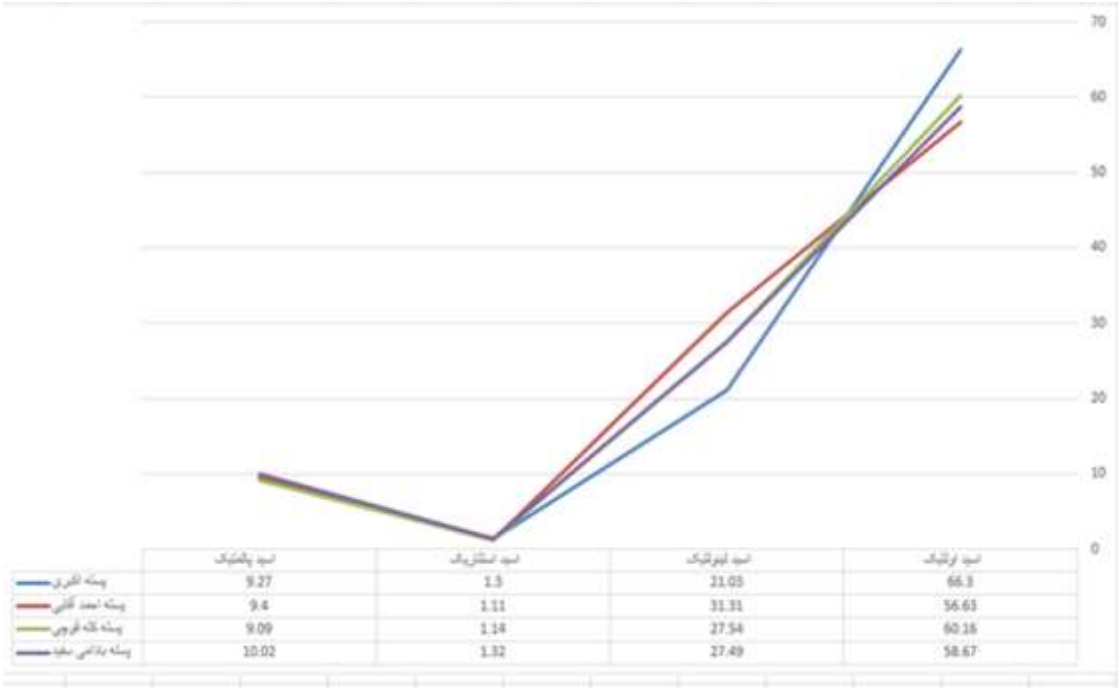
مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶
DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311



شکل ۱.نمودار GC-MS (A: پسته اکبری، B: پسته بادامی سفید، C: پسته احمدآقایی و D: پسته کله قوچی)

پس از رسم نمودار مقایسه اسیدهای چرب موجود در پسته‌ها که شامل اسیدهای چرب پالمتیک، استئاریک، لینولئیک و اولئیک می‌باشد و با رنگ‌های مختلف نشان داده شده است چنانچه در شکل ۲ مشخص است پسته اکبری با نمودار رنگ آبی در مقایسه با ارقام دیگر پسته دارای اسید اولئیک بیشتری بوده است. همچنین به ترتیب نمودار سبز(پسته کله قوچی)، نمودار بنفش(پسته بادامی سفید) و نمودار قرمز(پسته احمد آقایی) مقدار بیشتری اسید اولئیک را دارا هستند. پسته اکبری در مقایسه با ارقام دیگر پسته و طبق نمودار مقدار کمتری اسید لینولئیک دارد و پسته احمد آقایی با نمودار قرمز دارای بیشترین مقدار اسید لینولئیک می‌باشد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶
DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311



شکل۲. نمودار مقایسه اسیدهای چرب موجود در پسته‌ها

نتایج طراحی آزمایش تاگوچی

بر اساس هشت متغیر مورد بررسی در آزمایش(پسته اکبری: A، پسته احمد آقایی: B، پسته کله قوچی: C، پسته بادامی سفید: D، اسید چرب پالمتیک: E، اسید چرب استئاریک: F، اسید چرب اولئیک: G و اسید چرب لینولئیک: H) با روش تاگوچی و طبق جدول ۲ طراحی آزمایش صورت گرفت.

جدول ۲.طراحی آزمایش به روش تاگوچی

خوانش	فاکتور ۱ پسته اکبری	فاکتور ۲ پسته احمدآقایی	فاکتور ۳ پسته کله-قوچی	فاکتور ۴ پسته بادامی سفید	فاکتور ۵ اسید چرب پالمتیک	فاکتور ۶ اسید چرب استئاریک	فاکتور ۷ اسید چرب اولئیک	فاکتور ۸ اسید چرب لینولئیک
۱	۰/۵	۱	۱	۱	۰/۵	۰/۵	۱	۱
۲	۱	۰/۵	۱	۱	۰/۵	۱	۰/۵	۱
۳	۰/۵	۱	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۱
۴	۱	۰/۵	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۵	۰/۷۵	۰/۱۷۰۴	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵
۶	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۱	۰/۵	۰/۵	۱	۱
۷	۱	۰/۵	۱	۱	۱	۰/۵	۰/۵	۱

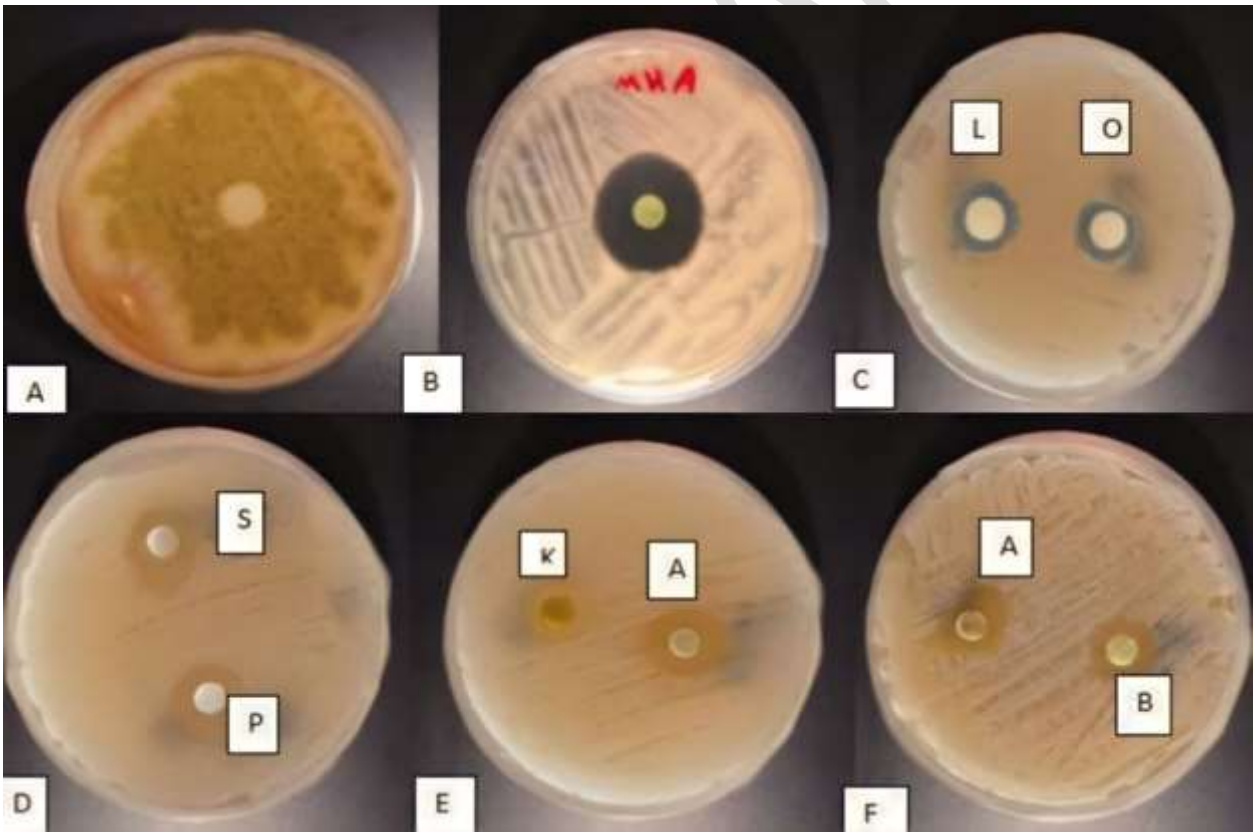
Preproof A

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

۸	۰/۷۵	۰/۳۲۹۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵
۹	۰/۳۲۹۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵
۱۰	۰/۵	۱	۰/۵	۱	۰/۵	۱	۰/۵	۱
۱۱	۰/۵	۱	۰/۵	۱	۱	۱	۱	۰/۵
۱۲	۱	۰/۵	۱	۰/۵	۰/۵	۱	۱	۰/۵

نتایج مربوط به دیسک دیفیوژن (disk diffusion)[۵]

بررسی کیفی تاثیر تمامی عصاره‌ها و اسیدهای چرب بر روی رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* انجام شد و در اطراف دیسک-ها هاله عدم رشد تشکیل شد. بدین صورت که دیسک‌های حاوی اسیدهای چرب و عصاره‌های پسته در پلیت‌های حاوی کشت چمنی *آسپرژیلوس فلاووس* قرار داده شد. در پلیت شاهد که دیسک بلانک تعبیه شده بود بعد از گذشت ۲۴ ساعت از کشت قارچ، رشد دیده شد و هاله عدم رشد پلیت حاوی دیسک دارویی آمفوتریسین B، عصاره ها و اسیدهای چرب در شکل ۳ قابل ملاحظه است. [۷،۲۵]



شکل ۳.رشد قارچ در پلیت بلانک(A)، هاله عدم رشد دیسک آمفوتریسینB(B)، پلیت حاوی اسیدهای چرب لینولئیک و اولئیک(C)، پلیت حاوی اسیدهای چرب پالمتیک و استئاریک(D)، پلیت حاوی عصاره پسته احمد آقایی و کله قوچی(E) و پلیت حاوی عصاره پسته اکبری و بادامی سفید(F)

[۵] Disk diffusion

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC)[۶]

نتایج MIC عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی، کله قوچی و بادامی سفید همچنین اسیدهای چرب لینولئیک، اولئیک، پالمتیک و استئاریک برای قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* که در پلیت ۹۶ خانه با غلظت‌های مشخص بعد از گذشت ۴۸ ساعت مشاهده شد در جدول ۳ بیان شده است.

جدول ۳.نتایج MIC عصاره پسته ها و اسیدهای چرب برای قارچ آسپرژیلوس فلاووس. (درصد غلظت های به کار رفته در تست میکرودیلوشن(µg/ml))

نام تیمار	۱ ٪	۵ ٪	۱۰ ٪	۲۰ ٪	کنترل +	کنترل _
اکبری	+	_	_	_	_	+
احمدآقایی	+	_	_	_	_	+
کله قوچی	+	_	_	_	_	+
بادامی سفید	+	+	_	_	_	+
اسید اولئیک	+	+	_	_	_	+
اسید لینولئیک	+	_	_	_	_	+
اسید پالمتیک	+	+	_	_	_	+
اسید استئاریک	+	+	_	_	_	+

_ عدم رشد + رشد

نتایج مربوط به حداقل غلظت کشندگی (MFC) [۷]

از میان ترکیبات مورد بررسی، عصاره پسته بادامی سفید و اسید چرب استئاریک به ترتیب با MFC معادل ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر کمترین اثر کشندگی بر روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* را داشت و عصاره پسته اکبری و اسید چرب اولئیک به ترتیب با MFC معادل ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین اثر کشندگی بر روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* را داشتند. نتایج MFC عصاره پسته‌ها و اسیدهای چرب بر روی قارچ تحت تیمار در جدول ۴ نشان داده شده است.

Preproof Article

۶ MIC
۷ MFC

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

جدول ۴.نتایج MFC عصاره پسته‌ها و اسیدهای چرب بر روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس(µg/ml)

نام تیمار	µg/ml/MFC
اکبری	۲۰۰
احمد آقایی	۲۵۰
کله قوچی	۱۲۰۰
بادامی سفید	۱۵۰۰
اسید اولئیک	۲۵۰
اسید لینولئیک	۲۵۰
اسید پالمتیک	۱۰۰۰
اسید استئاریک	۱۰۰۰

نتایج مربوط به بررسی کاهش تولید آفلاتوکسین B1 توسط عصاره و اسیدچرب HPLC

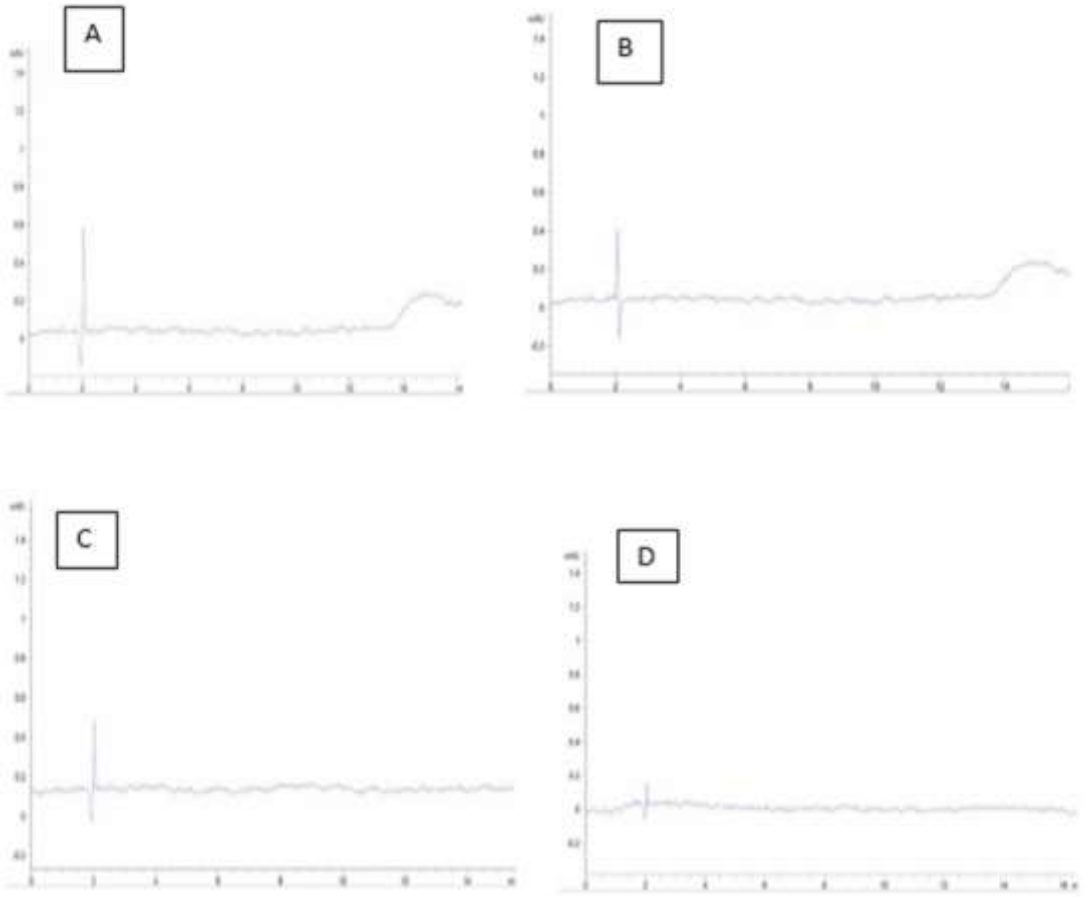
برای بررسی تاثیر عصاره پسته‌ها و اسیدهای چرب بر تولید آفلاتوکسین B1 توسط قارچ *آسپرژیلوس فلاووس*، چهار نمونه: مخلوط ۴ عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی، کله قوچی و بادامی سفید، مخلوط عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی و کله قوچی، مخلوط اسیدهای چرب پالمتیک و اولئیک، ترکیب عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی، کله قوچی و بادامی سفید به همراه اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک، پالمتیک و استئاریک که بیشترین تاثیر را در مهار رشد قارچ داشتند، کشت داده شدند و پس از ۷ روز تست کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) انجام شد[۱۹،۲۴]. نتایج بررسی تولید آفلاتوکسین B1 نشان داد که حضور هم زمان عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی، کله قوچی، بادامی سفید و اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک، پالمتیک، استئاریک باعث کاهش تولید آفلاتوکسین B1 در حد قابل قبولی در مقایسه با حالات دیگر شد.این نتایج نشان می‌دهد که می‌توان از اسیدهای چرب به عنوان نگهدارنده در صورتیکه در طعم و مزه پسته تاثیرگذار نباشد، بهره برد. نتایج در جدول ۵ و شکل ۴ نشان داده شده است.

جدول ۵. مقدار آفلاتوکسین B1 تولید شده در بستر نمونه‌ها

	قارچ آسپرژیلوس فلاووس همراه با ترکیبات تیمار شده	**آفلاتوکسین B1 تولید شده (µg/kg)**
A	قارچ همراه مخلوط عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی و کله قوچی	۳۲۸/۱۵
B	قارچ همراه مخلوط عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی، کله قوچی و بادامی سفید	۱۲۲/۴۷
C	قارچ همراه اسیدهای چرب پالمتیک و اولئیک	۲۶۴/۲۸
D	قارچ همراه عصاره پسته‌های اکبری، احمد آقایی، کله قوچی و بادامی سفید به همراه اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک، پالمتیک و استئاریک	۳۶/۷۷
E	قارچ آسپرژیلوس فلاووس(شاهد)	۸۴۳/۹۵

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶
DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311



شکل ۴. نتایج بررسی آفلاتوکسین B1 در بستر تیمارها

بحث و نتیجه گیری

با توجه به مستعد بودن دانه‌های روغنی به آلودگی قارچی، رشد سریع قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* بر روی محصولات غذایی خصوصا خشکبار و خسارت‌هایی که در زمینه صنایع غذایی، سلامتی و اقتصادی ایجاد می‌کند، در نتیجه مهار رشد این قارچ می‌تواند کمک شایانی به جامعه کند. برای کنترل آلودگی‌های قارچی محصولات باغی گاهی از محلول‌های قارچ کش استفاده می‌شود که برای سلامتی انسان مضر است.[۱۶،۴] با عنایت به ضرورت جهانی موضوع، انجام پژوهش حاضر حائز اهمیت می‌باشد. هدف از این تحقیق جداسازی و بررسی مقاومت پسته‌های تجاری ایران نسبت به مایکوتوکسین به منظور تسهیل تجارت و پسته علاوه بر گزارش‌های مبنی بر ویژگی آنتی اکسیدانی قوی، از خود فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد قارچی نشان داد. نتایج حاصل بیان کرد عصاره و اسیدهای چرب موجود در مغز پسته تا حدودی قدرت مهار رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس را داشت. و با توجه به اینکه اسیدهای چرب موجود در پسته، ترکیبات زیست سازگار هستند می‌توان از آن‌ها تحت عنوان نگهدارنده در صورتیکه باعث ایجاد تغییر در طعم پسته نشود، استفاده کرد.

بر اساس مطالعه‌ای توسط محمد مرادی قهدریجانی و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی تراکم جمعیت قارچ‌های گروه *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* در ترمینال‌های مختلف فرآوری پسته در استان کرمان پرداختند. نتایج تحقیق نشان

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

داد که اگرچه شرایط برای آلودگی و تولید آفلاتوکسین در باغ مهیا است، ولی شرایط فرآوری و انبارداری برای آلودگی مجدد مناسب نیست[۱۱].

مطالعه دیگری توسط حمید توکلی پور و همکاران در سال ۲۰۰۹ به اثرات دما و رطوبت نسبی محیط انبار بر روی شاخص-های کیفی پسته در طول دوره انبارمانی پرداختند، در این تحقیق اثرات دما و رطوبت نسبی محیط بر روی میزان رطوبت، عدد پراکسید و درصد اسیدهای چرب آزاد پسته بررسی گردید. نتایج نشان داد که در یک دمای معین با افزایش رطوبت نسبی هوا، درصد اسیدهای چرب آزاد در مجموع افزایش می‌یابد[۳۰].

در پژوهشی دیگر کاستا و همکاران سال ۲۰۱۰ در برزیل، اثر روغن چریش بر رشد، مورفولوژی، اسپور، آفلاتوکسین B1 و B2 تولید شده توسط *آسپرژیلوس فلاووس* بر روی محیط کشت عصاره مخمر ساکارز را مطالعه کردند. مشخص شد که روغن چریش رشد قارچ را در محیط جامد با غلظت های ۰/۵ تا ۵ ٪ مهار می‌کند، گرچه در همان شرایط به طور قابل توجهی باعث افزایش اسپور می‌شود. اسپورهای به دست آمده از کشت‌هایی که بدون روغن چریش رشد کردند، وقتی در محیط کشت مکمل روغن چریش رشد کردند، جوانه زنی را کاهش دادند. کلنی‌هایی که در محیط جامد و در حضور روغن چریش رشد کردند، تغییرات مورفولوژی تمایز نیافته‌ای را به نمایش گذاشتند. برای اندازه گیری آفلاتوکسین از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا استفاده شد. کشت‌های روغن چریش در غلظت‌های ۰/۵ تا ۴ ٪ باعث مهار حدود ۹۵ ٪ آفلاتوکسین B1 و B2 شد اما این شرایط رشد قارچ را سرکوب نکرد[۸].

در مطالعه دیگری بابایی و همکاران سال ۲۰۱۵ در ملایر اثر عصاره برگی آلوئه ورا بر رشد، تولید آفلاتوکسین B1 و الگوی پروتئین‌های خارج سلولی *آسپرژیلوس فلاووس* در شرایط آزمایشگاهی را مطالعه کردند. حلال‌های مختلف از جمله استون، اتانول، آب، متانول، کلروفرم و اتیل اتر برای استخراج عصاره از برگ‌های گیاه آلوئه ورا استفاده گردید. فعالیت ضدقارچی عصاره‌ها به روش Agar Plate Diffusion Plate انجام شد. هر کدام از عصاره‌ها در غلظت‌های µl ۲، ۲۰، ۲۰۰ و ۲۰۰۰ بر ۲۰ میلی لیتر محیط کشت، آزمایش شدند. بعد از بررسی، از عصاره استنی آلوئه ورا، به منظور ارزیابی و تاثیر آن بر میزان تولید آفلاتوکسین B1 و الگوی پروتئین‌های خارج سلولی تولیدی توسط قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* به ترتیب HPLC و SDS-PAGE انجام شد. بیشترین فعالیت ضد قارچی در عصاره استون در غلظت µl ۲۰۰۰ ، دیده شـد. با توجه به نتایج HPLC میزان مهار تولید آفلاتوکسین در غلظت µl ۲۰۰۰، ۹۴/۴۰٪ و در غلظت µl ۲ ،۱۴/۱۸٪ گزارش شـد. نتایج SDS-PAGE نشان داد که با کاهش رشد قارچی، میزان تولید پروتئین‌ها نیز کاهش پیدا کرده است. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که عصاره استنی آلوئه ورا می‌تواند بعنوان عامل ضدقارچی موثرتری بر مهار رشد *آسپرژیلوس فلاووس* نسبت به حلال‌های دیگر باشد[۶].

در پژوهش دیگری توسط رضایی صفت و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثرات نگهدارنده اسانس گیاه زنیان و آستاگزانتین بر میزان رشد و تولید آفلاتوکسین B1 از *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* را بررسی کردند. میزان آفلاتوکسین B1 با HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌های این تحقیق بیان داشت که اسانس اکوتیپ شیراز و هند در غلظت‌های µg/l ۲۵۰ و اکوتیپ نیشابور در غلظت µg/l ۱۲۵ علیه قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و اسانس هر سه اکوتیپ در غلظت µg/l ۲۵۰ علیه قارچ *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* مهارکنندگی کامل داشتند. آستاگزانتین و فرم ترکیبی آن با اسانس‌ها اثر مهارکنندگی بر رشد قارچ نداشتند. اسانس‌ها و فرم ترکیبی آستاگزانتین و اسانس‌ها باعث مهار ۱۰۰٪ آفلاتوکسین B1 شدند. با توجه به نتایج با وجود خاصیت قوی آنتی اکسیدانی آستاگزانتین، ترکیب زنیان و آستاگزانتین می‌تواند بعنوان مکمل غذایی ضدسرطان مطرح شود که از رشد قارچ‌های توکسین‌زا روی مواد غذایی خصوصا مغزها ممانعت بعمل آورد اسانس هر سه اکوتیپ گیاه زنیان

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

بطور قابل توجه‌ای از رشد قارچ‌ها و تولید آفلاتوکسین B1 جلوگیری کردند، در حالی که فرم ترکیبی آستاگزانتین و اسانس‌ها تنها از تولید آفلاتوکسین از دو گونه قارچ جلوگیری کرد[۲۷].

در مطالعه‌ای که توسط حبیبی رودباری و همکاران سال ۲۰۱۹ اثر نگهداری ماده موثره اکوتیپ‌های مختلف گیاه زنیان بر روی رشد قارچ‌های فاسد کننده مرکبات را مورد قیاس قرار دادند. آن ها در طی پژوهش خود اظهار کردند که موثرترین اکوتیپ اسانس‌ها روی قارچ‌های مورد بررسی، اکوتیپ شیراز و کرمان برای آسپرژیلوس نایجر با MIC و MFC برابر ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. کمترین درصد مهار رشد مربوط به اسانس شیرازی برای قارچ آلترناریا و اسانس اصفهان برای قارچ *آسپژیلوس نایجر* در غلظت‌های ۲۵/۳۱ تا ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب بین (۵۸/۵ تا ۱۰۰ درصد) و (۳/۵ تا ۱۰۰ درصد) می‌باشد. اسانس زنیان در مقایسه با عصاره و عرق این گیاهان اثر ضد قارچی قابل ملاحظه‌ای روی قارچ‌های مورد نظر دارد[۱۳]. نتایج این تحقیق با مطالعه ما همخوانی دارد.

هر چهار رقم پسته در ترکیبات خود به حاوی مقادیر زیادی اسید اولئیک هستند که در پسته اکبری این مقدار بیش از بقیه ارقام پسته می‌باشد. در مقایسه بعمل آمده عصاره پسته اکبری و اسید چرب اولئیک به ترتیب با MFC ۲۰۰ و ۲۵۰ اثر ضد قارچی قابل قبولی روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* دارد. بنابراین بین مقدار وجود اسید اولئیک در ارقام مختلف پسته‌ها و میزان مهار رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* ارتباط مستقیم برقرار است. با توجه به اینکه صادرات پسته در اقتصاد کشور بسیار حائز اهمیت است، بنابراین بررسی کولتیوار مقاوم تر و بکارگیری اسیدهای آلی موجود در مغز پسته بعنوان ترکیبات زیست سازگار و نگهدارنده طبیعی کاربردی است. نتایج این مطالعه نشان داد با توجه به طبیعی بودن ترکیبات ضد قارچ بکار رفته، اثرات زیست تخریب پذیری کمتری خواهیم داشت.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از دریافت کمک از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال اعلام می‌دارد. در این تحقیق تضاد منافعی وجود ندارد و هیچ کد اخلاقی استفاده نشده است.

منابع

1. Abdolshahi A, Majd MH, Rad JS, Taheri M, Shabani A, Teixeira da Silva JA. Choice of solvent extraction technique affects fatty acid composition of pistachio (Pistacia vera L.) oil. Journal of food science and technology. 2015 Apr;52:2422-7.

2. Abdoshahi A, Mortazavi SA, Shabani AA, Elhamirad AH, Taheri M. Evaluation of protein, fat and fatty acids content of the pistachio (Pistacia vera L.) cultivars of Damghan, Iran.

3. Aberkane A, Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Petrikkou E, Mellado E, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL. Comparative evaluation of two different methods of inoculum preparation for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2002 Nov 1;50(5):719-22.

4. Arrus K, Blank G, Abramson D, Clear R, Holley RA. Aflatoxin production by Aspergillus flavus in Brazil nuts. Journal of Stored Products Research. 2005 Jan 1;41(5):513-27.

5. Akhavan A, Gonçalves P. Managing the trade-off between groundwater resources and large-scale agriculture: the case of pistachio production in Iran. System dynamics review. 2021 Apr;37(2-3):155-96.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

6. Babaei A, Tavafi H, Manafi M, Fahimifar A. Comparing the in vitro antifungal activity of various Aloe vera leaf extracts on Aspergillus flavus growth and aflatoxin B1 production. Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences. 2014 Jan 1;17(6).

7. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology. 1966 Apr 1;45(4_ts):493-6.

8. da Costa CL, Geraldo MR, Arrotéia CC, Kemmelmeier C. In vitro activity of neem oil [Azadirachta indica A. Juss (Meliaceae)] on Aspergillus flavus growth, sporulation, viability of spores, morphology and aflatoxins B1 and B2 production. Advances in Bioscience and Biotechnology. 2010 Oct 27;1(04):292-9.

9. Darvishi F, Moradi M, Madzak C, Jolivalt C. Optimization of recombinant laccase production by Yarrowia lipolytica in a medium containing glucose as carbon source with Taguchi method. Biological Journal of Microorganism. 2017 Sep 23;6(23):49-56.

10. Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Khanizadeh S, Oldham JH. Control of growth and aflatoxin production of Aspergillus flavus under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. Food microbiology. 1993 Feb 1;10(1):9-21.

11. Fani S, Moradi M, Tajabadipour A, Dargahi R, Mirabolfathy M. The role of early splitting in contamination of pistachio nuts by Aspergillus species and aflatoxin in Kerman province. Journal of food technology and nutrition. 2014 Jun 22;3(43):97-105.

12. Gandomi Nasrabadi H, Misaghi A, Khosravi A, Bokaei S, Abbasifar A. Effects of Zataria multiflora boiss. essential oil on Aspergillus flavus. Journal of Medicinal Plants. 2008 Aug 10;7(27):45-51.

13. Habibi Roodbari A, Larypoor M, Sharifnia F. Comparison of preservative effect of effective material of ecotypes of Tracheyspermum ammi on the growth of citrus fungi. Developmental Biology. 2020;12(3):53-60.

14. Hamzehloo M, Ordaneh A, Mahdigholi K, Attar F, Niknam V. Investigation and comparison of fatty acids composition in different plant organs of Eremurus inderiensis (M. Bieb.) Regel. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 2021 Mar 21;34(1):1-5.

15. Hosseini N, Zamanibahramabadi E, Rezanejad F. Study of morphological and anatomical traits of male flower, development stages of anther and pollen grain of pistachio (Pistacia vera L.). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 2015 May 22;28(1):116-25.

16. Kadis S, Ciegler A, Ajl SJ. Microbial toxins. Vol. Vll. Algal and fungal toxins. Microbial toxins. Vol. Vll. Algal and fungal toxins.1971.

17. Kucukcakan B, Hayrulai-Musliu Z. Challenging role of dietary aflatoxin B1 exposure and hepatitis B infection on risk of hepatocellular carcinoma. Open access Macedonian journal of medical sciences. 2015 Jun 6;3(2):363.

18. Kumar R, Mishra AK, Dubey NK, Tripathi YB. Evaluation of Chenopodium ambrosioides oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity. International journal of food microbiology. 2007 Apr 30;115(2):159-64.

19. Lee LS, Wall JH, Cotty PJ, Bayman P. Integration of enzyme-linked immunosorbent assay with conventional chromatographic procedures for quantitation of aflatoxin in individual cotton bolls, seeds, and seed sections. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 1990 Jul 1;73(4):581-4.

20. Majidian M, Karari A, Poorhosein M, Afsharha S, Heidari H. Economic Evaluation of Establishing a 100-Hectare Pistachio Orchard in Savojbolagh County (Peik Village).

21. Mirbabaee SA, Mardi M, Mahmoodi P, Pirseyedi SM, Abbasi A, Farsi M, Soleimani H, Bakhshikhaniki G, Mohajeri-Naraghi S, Zeinolabedini M, Khayam-Nekouei SM. Development of new microsatellite markers from

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

an enriched genomic library of date palm (Phoenix dactylifera L.)The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 2011 Jan 1;86(5):539-41.

22. Moghadam MM, Hokmabadi H. Study on the Effect of Pistachio Testa on the Reduction of'Aspergillus flavus' Growth and Aflatoxin B1 Production in Kernels of Different Pistachio Cultivars. Australian Journal of Crop Science. 2010 Jan 1;4(9):744-9.

23. Moghadam MM, Rezaee S, Mohammadi AH, Zamanizadeh HR, Moradi M, Fani SR. The Potential of Aflatoxin Production in the Aspergillus Section Flavi Isolates of Pistachio in Iran. Journal of Nutrition, Fasting & Health. 2020 Sep 1;8(4).

24. Mortazavi M, Tabatabai F, Faraji H, Arekosh M. Evaluation of aflatoxin level of pistachio and the effect of physical and chemical properties. Journal of Innovation in Food Science and Technology. 2015;6(1):45-53.

25. Muyima NO, Nkata L. Inhibition of the growth of dermatophyte fungi and yeast associated with dandruff and related scalp inflammatory conditions by the essential oils of Artemisia afra, Pteronia incana, Lavandula officinalis and Rosmarinus officinalis. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2005 Jan 1;8(3):224-32.

26. Naeini A, Khosravi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. Journal de Mycologie Médicale. 2009 Sep 1;19(3):168-72.

27. RezaieSefat S, SharifNia F. Comparison of the preservative effects of Trachyspermum ammi and Astaxanthin essential oil on the growth rate and production of aflatoxin-B1 from Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus. Studies of Life Sciences and Biotechnology. 2018:4(11):1-11.

28. Shakeri Z, Rahimi E, Shakerian A. Evaluation of aflatoxin content in pistachio, almond, hazelnut and walnut in Isfahan. Food Hygiene. 2019 Jun 22;9(2 (34)):61-9.

29. Tai B, Chang J, Liu Y, Xing F. Recent progress of the effect of environmental factors on Aspergillus flavus growth and aflatoxins production on foods. Food Quality and Safety. 2020 Mar;4(1):21-8.

30. Tavakolipoor H, Basiri AR, Kalbasi Ashtari A. Effects of Temperature and Relative Humidity on Pistachio Quality factors during Storage Period. Journal of Food Science and Technology. 2009;5(4):66-57.

31. Trail F, Mahanti N, Linz J. Molecular biology of aflatoxin biosynthesis. Microbiology. 1995 Apr;141(4):755-65.

32. Zhang L, He R, Gu H-C. Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles. Applied Surface Science. 2006;253(5):2611-7.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۷۲-۴۵۶ DOI: 10.22034/jpr.2024.8309.3311

The effect of extracts of four Iranian pistachio cultivars (Pistacia vera) on the growth rate of *Aspergillus flavus* and the production of aflatoxin B1

Moodi Z.[1] , Larypoor M.[2] and Sharifnia F.[3]

[1] Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

[2] Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

[3] Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Abstract

Pistacia vera L. pistachio is considered as one of the most important export items of Iran, which can be a suitable substrate for the growth of toxin-producing fungi and, as a result, the production of aflatoxin B. The purpose of this study is to investigate the effects of four pistachio cultivars including Akbari, Ahmad Aghaei, Kalh-Qouchi from Damghan city and Badami sefid from Faizabad city as well as the oleic, linoleic, palmitic and stearic fatty acids contained in it on the growth of Aspergillus flavus and reducing the amount of aflatoxin B1. In the present research, pistachio extract was prepared with a rotary machine under vacuum and analyzed with a GC-MS machine. Antifungal effects of extracts and fatty acids were investigated separately by disc diffusion methods, minimum inhibitory concentration, minimum fungicidal concentration and the level of aflatoxin B1 by HPLC. The highest amount of oleic fatty acid with 66.3% was found in Akbari pistachios. Among the most effective extracts and fatty acids on the investigated fungi, Pistachio Akbari and Ahmed Aghaei with MIC equal to 10 µg/ml and MFC equal to 200 and 250 µg/ml respectively and oleic fatty acid with MIC and MFC equal to 15 and 250 µg/ml. In the combination of four pistachio extracts with four fatty acids, the highest reduction in aflatoxin production was observed with 36.77 µg/kg, compared to the control sample (843.95 µg/kg). Therefore, the results of this research show that the higher the amount of fatty acids in a pistachio cultivar, the higher the resistance of that type of pistachio against the growth of fungi and toxin production. And considering that the fatty acids in pistachios are biocompatible compounds, they can be used as preservatives if they do not affect the taste of pistachios.

Key words: Aflatoxin, pistacia vera., *A. flavus*, preservatives, fatty acid**.**

Preprint Article